

非小细胞肺癌血清 VEGF、bFGF 和 TNF- α 的临床意义

李 英, 董 良, 李海金, 尚官敏, 陈亚男, 葛丽娜, 王伟英, 赵建刚
(中国医科大学绍兴医院, 浙江 绍兴 312030)

摘 要: [目的] 观察非小细胞肺癌(NSCLC)患者血清血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)与 NSCLC 临床特征的相关性,探讨三者在 NSCLC 疗效评价中的临床价值。[方法] 采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)检测 NSCLC 患者化疗前 1d、化疗结束 1 周后血清 VEGF、bFGF 和 TNF- α 的含量。[结果] NSCLC 患者化疗前血清 VEGF、bFGF 和 TNF- α 与患者临床分期有关 ($P<0.05$), 与患者年龄、性别及病理类型无关;分析 68 例晚期 NSCLC 患者化疗前后血清 VEGF、bFGF 和 TNF- α 的变化,临床获益组与疾病进展组比较三者均有明显下降($P<0.05$)。[结论] 血清 VEGF、bFGF 和 TNF- α 与 NSCLC 肿瘤负荷有关;血清 VEGF、bFGF 和 TNF- α 水平可作为 NSCLC 患者化疗疗效预测的参考指标。

关键词: 癌, 非小细胞肺; 血管内皮生长因子; 碱性成纤维细胞生长因子; 肿瘤坏死因子 α
中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2013)01-0050-05

The Clinical Significance of Serum VEGF, bFGF and TNF- α in Non-small Cell Lung Cancer

LI Ying, DONG Liang, LI Hai-jin, et al.

(Shaoxing Hospital, China Medical University, Shaoxing 312030, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the levels of serum vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) and their relationships with clinical characteristics, and their clinical significance in the evaluation of treatment outcomes were studied. [Methods] The levels of serum VEGF, bFGF and TNF- α were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in NSCLC patients before chemotherapy and one week after chemotherapy. [Results] Serum VEGF, bFGF and TNF- α before chemotherapy were correlated with clinical stage ($P<0.05$), but not with age, gender and pathological type. Among 68 patients with advance NSCLC, the levels of serum VEGF, bFGF and TNF- α declined significantly after chemotherapy in clinical benefit patients than those in patients with progressive disease (PD) ($P<0.05$). [Conclusion] Serum VEGF, bFGF and TNF- α are related to the cancer load in NSCLC patients. Serum VEGF, bFGF and TNF- α might be helpful in predicting of chemotherapeutic response.

Subject words: carcinoma, non-small cell lung; vascular endothelial growth factor; basic fibroblast growth factor; tumor necrosis factor- α

非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 是最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率与死亡率逐年上升, 在发达国家和我国大中城市已居恶性肿瘤首位, 是对人类健康和生命危害最严重的疾病。而恶性实体瘤的生长、转移都依赖血管生成, 肿

瘤血管生成是一个复杂的多步骤过程, 这一过程中有多种细胞因子参与其中, 共同影响新生血管的形成。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 和碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 被认为是两个重要的促血管生成和生长的因子。本研究通过检测 NSCLC 患者血清 VEGF、bFGF 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 的水平, 探讨其与 NSCLC

基金项目: 浙江省医学会临床科研基金项目 (2009ZY43)

通讯作者: 李海金, 主任医师, 硕士生导师, 学士; 中国医科大学绍兴医院肿瘤内科, 浙江省绍兴县柯桥华宇路 1 号 (312030);
E-mail: lihajin@csc.org.cn。

收稿日期: 2012-09-10; **修回日期:** 2012-11-23

生物学行为的关系,以及化疗前后各指标值的变化,评估 VEGF、bFGF 和 TNF- α 在 NSCLC 疗效评价中的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

中国医科大学绍兴医院肿瘤内科 2009 年 1 月 1 日至 2011 年 12 月 30 日共入组 NSCLC 患者 90 例,均经影像学检查并由病理和免疫组化确诊,符合 NSCLC 诊断标准,其中 22 例为已行根治手术者,另 68 例均具有可测量或可评价的肿瘤病灶,KPS^[1]评分大于 60 分,血常规、肝肾功能、电解质和心电图正常,预计生存期大于 3 个月,无化疗禁忌证。患者年龄 42~81 岁,中位年龄 58 岁;男性 60 例,女性 30 例;按 1999 年 WHO NSCLC 分类标准,腺癌 45 例,鳞癌 38 例,腺鳞癌 4 例,其它 3 例;根据 AJCC2010 年第 7 版 NSCLC 分期标准,Ⅰb 期 10 例,Ⅱ期 12 例,Ⅲ期 8 例,Ⅳ期 60 例。术后辅助化疗 22 例,姑息性化疗 68 例(部分患者为二、三线治疗)。

1.2 治疗方案

全部患者均使用 GP 联合方案全身化疗,吉西他滨(gemcitabine,GEM,200mg/支,江苏豪森制药有限公司,批号:09081922)1 000mg/m²加入生理盐水 250ml 中,静脉滴注 30min,d_{1,8},顺铂(cisplatin,DDP,10mg/支,山东齐鲁制药有限公司,批号:0918227)25mg/m²加入生理盐水 500ml 中,静脉滴注 2h,d₁₋₃,适当水化,常规托烷司琼预防呕吐,出现粒细胞减少应用粒细胞集落刺激因子支持治疗。每 3 周重复 1 个疗程,治疗 2 个疗程为 1 个评估周期(仅评估 68 例行姑息性化疗的晚期 NSCLC 患者)。

1.3 检测方法

90 例病人均于化疗前 1d 及化疗结束 1 周后采取病人晨起空腹外周静脉血 4ml,即刻 3 500r/s 离心 5min,将分离的血清放入-80℃冰箱冷藏待检。本实验采用双抗夹心酶联免疫吸附法(ELISA)检测目标样品的 VEGF、bFGF 和 TNF- α 的浓度(ELISA 试剂盒购于深圳晶美生物工程有限公司)。实验操作步骤:将标准品、待测样本分别加入到预先包被 VEGF、bFGF、TNF- α 单克隆抗体透明酶标包被板中,温育足够时间后,洗涤除去未结合的成分,再

入酶标工作液,温育足够时间后,洗涤除去未结合的成分,依次加入底物 A、B,底物(TMB)在辣根过氧化物酶(HRP)催化下转化为蓝色产物,在酸的作用下变成黄色,颜色的深浅与样品中的 VEGF、bFGF、TNF- α 浓度呈正相关,450nm 波长下测定 OD 值,根据标准品和样品的 OD 值,计算样本中 VEGF、bFGF、TNF- α 含量。

1.4 疗效评定标准

按 2009 年实体肿瘤的疗效评价标准 1.1 版(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors,RECIST)进行疗效评价:完全缓解(CR):所有靶病灶消失,全部病理淋巴结(包括靶结节和非靶结节)短直径必须减少至<10mm。部分缓解(PR):靶病灶直径之和比基线水平减少至少 30%。疾病进展(PD):以整个实验研究过程中所有测量的靶病灶直径之和的最小值为参照,直径和相对增加至少 20%;除此之外,必须满足直径和的绝对值增加至少 5mm(出现一个或多个新病灶也视为疾病进展)。疾病稳定(SD):靶病灶减小的程度没达到 PR,增加的程度也没达到 PD 水平,介于两者之间。

CR+PR 为有效(RR),CR+PR+SD 为疾病控制(临床获益)。

1.5 统计学处理

用 SPSS16.0 软件进行数据分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验或配对 *t* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 90 例 NSCLC 患者化疗前血清 VEGF、bFGF 和 TNF- α

90 例 NSCLC 患者化疗前血清 VEGF、bFGF 和 TNF- α 在不同性别、年龄及病理类型组间没有显著差异(*P*>0.05);在不同临床分期组间血清 VEGF、bFGF 和 TNF- α 存在显著差异,差异有统计学意义(*P*<0.05)(Table 1)。

2.2 68 例晚期 NSCLC 患者不同疗效组间化疗前后血清 VEGF、bFGF 和 TNF- α 的变化

对 68 例仅行姑息性化疗的晚期 NSCLC 患者进行疗效评价,其中 CR 0 (0/68),PR 41.1%(28/68),SD 32.4%(22/68),PD 26.5%(18/68),临床获益(CR+

PR+SD)50 例(73.5%),疾病进展组 18 例,有效率 41.1%。结果显示,临床获益组化疗前后患者血清 VEGF、bFGF 和 TNF-α 的变化水平与疾病进展组患者比较有显著差异($P<0.05$)(Table 2)。

3 讨 论

近年来,抗血管生成治疗已经成为治疗肿瘤侵袭和转移的一个重要研究领域,越来越多的资料表明,抗血管生成药物与化疗药联合有可能提高疗效,带来生存受益^[2]。

VEGF 是目前已知的作用最强的促血管生成因子之一,它通过活化磷脂酶 C 和刺激第二信使形成

直接促进血管内皮细胞的有丝分裂,参与细胞外蛋白水解和基底膜降解,促进血管细胞的迁移和增生;能增加血管的通透性,使血浆蛋白包括纤维蛋白外渗形成纤维网络,为毛细血管延伸生长提供良好的基质,参与细胞间的黏附,促进细胞浸润,有利于血管形成^[3]。VEGF 能与位于血管、淋巴管内皮细胞表面的受体结合,调节血管和淋巴管的生成、增加其通透性而促进肿瘤生长和转移,以及通过自分泌途径与肿瘤细胞表面的受体结合,直接促进肿瘤生长^[4]。有研究发现肺癌组织中 VEGF 的表达明显高于癌旁组织,且其 VEGF 表达水平与肿瘤组织的微血管密度呈正相关,进一步证实了 VEGF 强大的促血管生成作用^[5]。进展期 NSCLC 患者血清 VEGF 水平明显

高于早期 NSCLC 患者,其原因是 NSCLC 组织中 VEGF 表达含量增加,释放 VEGF 进入血液循环,VEGF 又刺激癌组织微血管的生长和促使血管通透性增加而促进 NSCLC 进展和转移,本组Ⅲ、Ⅳ期水平明显高于Ⅰ、Ⅱ期($P<0.05$),因而 NSCLC 患者血清 VEGF 高水平预示病期较晚,浸润范围广泛,病灶远处转移,也提示根据患者血清 VEGF 水平可判断病情进展^[6,7]。

bFGF 是一种生物活性较强的促分裂素,定位于染色体 4q26~27,bFGF 能刺激和调节血管内皮细胞、上皮细胞、成纤维细胞等分化增殖,促进成纤维细胞产生胶原,调节基质合成和降解,在肿瘤浸润转移及血管生成方面发挥重要作用^[8,9]。bFGF 又是一种多肽类物质,由内皮细胞合成后结合并储存在基底膜上,血管内皮细胞是 bFGF 的合成细胞,同时也是其效应细胞,它参与血管内皮细胞增殖、迁移并形成新生血管,这些新生血管是肿瘤组织生长的必备条件,同时也

Table 1 Serum VEGF,bFGF and TNF-α comparison according to different clinicopathologic characteristics before chemotherapy($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	VEGF(pg/ml)	bFGF(ng/L)	TNF-α(ng/L)
Gender				
Male	60	278.6±58.6	65.5±13.3	80.4±16.0
Female	30	261.7±62.9	65.9±10.9	77.7±19.8
t		1.482	0.144	0.683
P		0.132	0.886	0.496
Age(years)				
≤65	46	260.4±64.7	63.8±16.5	81.4±15.1
>65	44	278.6±57.1	64.6±19.2	79.0±20.0
t		1.373	0.212	0.631
P		0.173	0.833	0.530
Stage				
Ⅰ、Ⅱ	22	245.5±59.4	59.4±9.6	74.9±8.3
Ⅲ、Ⅳ	68	278.5±61.7	67.7±12.7	80.9±19.2
t		2.198	2.841	2.005
P		0.031	0.006	0.043
Pathologic type				
Adenocarcinoma	45	264.3±70.7	77.7±19.6	67.7±11.4
Squamous cell carcinoma	38	286.8±42.0	84.1±14.1	63.2±12.5
t		1.781	1.670	1.668
P		0.078	0.099	0.100

Table 2 Comparison of serum VEGF,bFGF and TNF-α Pre- and post-chemotherapy between clinical benefit group and progressive disease group($\bar{x}\pm s$)

Items	Groups	n	Pre-chemotherapy	Post-chemotherapy	Difference value	t	P
VEGF (pg/ml)	CR+PR+SD	50	278.80±61.17	265.70±57.28	-13.14±16.09	3.382	0.001
	PD	18	281.90±58.13	284.28±54.20	2.43±18.49		
bFGF (ng/L)	CR+PR+SD	50	66.98±12.80	55.99±13.19	-10.99±10.55	2.175	0.033
	PD	18	70.41±12.18	66.06±13.62	-4.30±12.61		
TNF-α (ng/L)	CR+PR+SD	50	83.49±18.67	76.67±17.42	-6.83±4.16	6.433	0.000
	PD	18	78.25±14.64	80.99±13.93	2.74±5.80		

是肿瘤转移的基础。由于新生血管的基膜不完整,通透性大,肿瘤细胞容易侵犯这些血管,从而出现转移;bFGF在肺癌组织过表达,具有促进肿瘤细胞有丝分裂和诱导新血管生成的作用,增强肿瘤细胞分化、浸润、生长、转移^[10]。李艳等^[11]应用组织芯片技术检测肺癌组织中bFGF的表达情况,发现在NSCLC癌前病变中bFGF表达水平只有轻度升高,癌形成后其表达水平才有显著升高,在转移癌中表达率更高,并且随着淋巴结转移和临床分期的升高其阳性率显著增高,说明bFGF的表达与NSCLC的进展程度和侵袭性相关,在肿瘤发展中起到促进作用,这与bFGF促进肿瘤增殖和肿瘤血管生长的特性有关,也提示bFGF对预后估计具有一定的参考价值。本组Ⅲ、Ⅳ期bFGF水平明显高于Ⅰ、Ⅱ期($P<0.05$)。传统的化疗是应用细胞毒类药物杀伤或抑制肿瘤细胞的过度增殖,周红凤等^[12]检测乳腺癌复发转移患者中化疗后有效者血清bFGF水平较治疗前明显下降,提示化疗后疾病控制者bFGF合成减少,bFGF可作为评价NSCLC化疗疗效的参考指标。本组化疗后临床获益患者bFGF下降与疾病进展者比较差异有统计学意义($P=0.033$),与其吻合。

TNF- α 是由被激活的单核巨噬细胞及肿瘤内源性合成产生,除了具有抗肿瘤作用外,还参与机体的炎症与免疫应答,TNF- α 还能使血管丰富的肿瘤发生明显坏死和生长抑制^[13]。恶性肿瘤患者血清TNF- α 升高的原因可能与肿瘤细胞在转移过程中激活循环内单核细胞或肿瘤浸润细胞接受肿瘤抗原刺激TNF- α 产生增多有关,也可能是肿瘤细胞有自分泌TNF- α 能力,使血清TNF- α 升高^[14]。NSCLC患者根治术后血清TNF- α 水平明显低于晚期患者,分析其原因,能接受手术的患者分期较早,尚未发生远处转移,或仅有微转移灶临床尚未发现,术后临床病灶被切除,减少肿瘤抗原的刺激,同时也符合肿瘤细胞自分泌学说,显示血清TNF- α 的变化情况可以直接观察细胞免疫抗肿瘤效果,也是间接观察反映化疗疗效的可靠指标^[15,16]。

本研究观察到化疗前68例Ⅲ、Ⅳ期NSCLC患者血清VEGF、bFGF和TNF- α 明显高于22例Ⅰ、Ⅱ期NSCLC根治术后患者($P<0.05$),反映了NSCLC根治术后随着肿瘤负荷的去除,肿瘤分泌减少,而术后复发或无手术机会的晚期NSCLC患者血清

VEGF、bFGF和TNF- α 呈高水平,提示病情较晚、浸润范围广泛、病灶远处转移。68例晚期NSCLC患者临床获益组化疗后1周血清VEGF、bFGF和TNF- α 较化疗前显著下降,疾病进展组则较化疗前变化不明显,两组化疗前后血清VEGF、bFGF和TNF- α 的差值比较有显著性($P<0.05$),这与临床获益组患者大量肿瘤细胞的杀灭有关。目前评价肺癌化疗疗效通常为化疗2周期后进行影像学评估,本研究中第2次抽血时间为化疗结束后7d,已显示血清VEGF、bFGF和TNF- α 水平的变化与疗效相关,故NSCLC化疗患者可早期检测血清VEGF、bFGF和TNF- α ,明显下降者预示临床获益较大。此外,肺癌患者血清VEGF、bFGF和TNF- α 的变化与预后生存期长短是否有关,需待进一步随访观察及研究。

参考文献:

- [1] Kelly H,Goldberg RM. Systemic therapy for metastatic colorectal cancer: current options,current evident [J]. J Clin Oncol,2005,23(20):4553-4560.
- [2] Roodhart JM,Langenberg MH,Vermaat JS,et al.Late release of circulating endothelial cells and endothelial progenitor cells after chemotherapy predicts response and survival in cancer patients[J]. Neoplasia,2010,12(1):87-94.
- [3] Lin YE,Liu ZH,Cai WM. Expressin of VEGF in non-small cell lung cancer and its clinical significance[J].Journal of Chinese Oncology,2009,15 (6):521-522.[林尤恩,刘祖宏,蔡伟明. VEGF在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J]. 肿瘤学杂志,2009,15(6): 521-522.]
- [4] Qi C,Zhou CC. Bevacizumab as the first-line chemotherapy in the treatment for non-small cell lung cancer[J].Journal of Chinese Oncology,2011,17 (4):294-297.[戚川,周彩存. 贝伐单抗一线治疗非小细胞肺癌研究进展[J]. 肿瘤学杂志,2011,17(4): 294-297.]
- [5] Wang CC,Qin XJ,Ma Q,et al. The Expression of RECK, VEGF and MVD in non-small cell lung cancer and their correlation[J]. Journal of Chinese Oncology,2012,18(1): 40-44.[王茈茈,秦学金,马强,等.RECK、VEGF和MVD在非小细胞肺癌中的表达及相关性 [J]. 肿瘤学杂志,2012,18(1):40-44.]
- [6] Kawaiishi M,Fujiwara Y,Fukai T,et al.Circulating endothelial cells in non-small cell lung cancer patients treated with carboplatin and paclitaxel[J]. J Thorac Oncol, 2009,4(2):208-213.
- [7] Hai HY,Hu XJ,Hou KZ,et al.Clinical significance of ex-

- pressions of EGFR, VEGF and Cbl in NSCLC tissues[J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2010, 17(3): 209-212.[海红艳, 胡雪君, 侯科佐, 等. 非小细胞肺癌组织 EGFR 和 VEGF 及 Cbl 表达的临床意义[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2010, 17(3): 209-212.]
- [8] Zhao M, Gao FH, Wang JY, et al. JAK2/STAT3 signaling pathway activation mediates tumor angiogenesis by upregulation of VEGF and bFGF in non-small cell lung cancer [J]. Lung Cancer, 2011, 73(3): 366-374.
- [9] Pardo OE, Latigo J, Jeffery RE, et al. The fibroblast growth factor receptor inhibitor PD173074 blocks small cell lung cancer growth in vitro and in vivo [J]. Cancer Res, 2009, 69(22): 8645-8651.
- [10] Donnem T, AL-Shibli K, AL-Saad S, et al. Prognostic impact of fibroblast growth factor 2 in non-small cell lung cancer: coexpression with VEGFR-3 and PDGF-B predicts poor survival[J]. J Thorac Oncol, 2009, 4(5): 578-582.
- [11] Li Y, Wang XY, Liu T, et al. Expression and significance of bFGF in lung cancer detected by tissue microarray technology[J]. Journal of Qilu Oncology, 2005, 12(9): 668-674.[李艳, 王新允, 刘婷, 等. 组织芯片技术研究肺癌及癌前病变 bFGF 的表达和意义 [J]. 肿瘤防治杂志, 2005, 12(9): 668-674.]
- [12] Zhou HF, Wu J, Liu WT, et al. The relationship between serum levels of vascular endothelial growth factor(VEGF), basic fibroblast growth factor(bFGF) and the biological behaviors of breast cancer [J]. Journal of Modern Oncology, 2010, 18(7): 1296-1299.[周红凤, 吴瑾, 刘文涛, 等. 血清 VEGF、bFGF 与乳腺癌生物学行为的关系[J]. 现代肿瘤医学, 2010, 18(7): 1296-1299.]
- [13] Erdman SE, Rao VP, Poutahidis T, et al. Nitric oxide and TNF-alpha trigger colonic inflammation and carcinogenesis in helicobacter hepaticus-infected, Rag2-deficient mice [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(4): 1027-1032.
- [14] He BP, Wang JJ, Zhang X, et al. Differential reactions of microglia to brain metastasis of lung cancer [J]. Mol Med, 2006, 12(7-8): 161-170.
- [15] He XZ, Wang L, Zhang YY. An effective vaccine against colon cancer in mice use of recombinant adenovirus interleukin-12 transduced dendritic cells[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(4): 532-540.
- [16] Gianotti L, Sargenti M, Galbiati F, et al. Phenotype and T-lymphocyte polarization in the human colonic mucosa and adenocarcinoma[J]. Eur J Surg Oncol, 2008, 34(8): 883-889.

中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会 第十二届全国学术大会征文及第一轮通知

中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会第十二届全国学术大会将于 2013 年 9 月在杭州召开。会议由中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会主办, 浙江省肿瘤医院承办, 肿瘤学杂志社协办。

大会将介绍妇科肿瘤领域的新进展、新技术, 总结和交流临床诊断与治疗中存在的问题, 包括妇科肿瘤的基础研究、诊断学探索、规范化治疗、手术技巧、放化疗应用、靶向治疗及一些热点问题。对全程参会者将按规定授予国家级 I 类继续教育学分。

征文内容重点: ①妇科肿瘤诊断与治疗的临床总结与评价; ②妇科肿瘤相关基础研究; ③妇科肿瘤流行病学研究、筛查、实验室检查新技术等。欢迎全国各地相关专业的临床医师、科研人员和研究生踊跃报名和投稿。

征文要求: ①未公开发表的妇科肿瘤相关学术论文均可投稿, 务请注重科学性、先进性和实用性, 要求文字精炼、数据可靠。②投稿一律通过电子邮件完成, 文稿以附件形式发送至 zjsgyn@163.com, 提交全文的同时必须有 500~800 字以内的中文摘要。请注明第一作者的姓名、单位、科室、地址、邮编、联系电话、手机号码等, 邮件主题请标注“妇科肿瘤学术大会投稿”。③大会学术委员会将组织专家对论文进行审阅, 评审通过论文将收入《第十二届全国妇科肿瘤学术大会论文摘要汇编》。经作者同意, 优秀论文可推荐到有关杂志发表。④截稿日期 2013 年 8 月 20 日。所有论文恕不退还, 请作者自留底稿。