

## · 论 著 ·

大肝癌 TACE 后肿瘤组织 VEGF、 $\alpha_v$  整合素表达及 MVD 变化周建平<sup>1</sup>, 周伟平<sup>2</sup>

**[摘要]** 目的 观察大肝癌经导管动脉化疗栓塞(TACE)后残存肿瘤组织血管内皮生长因子(VEGF)、 $\alpha_v$ 整合素表达及微血管密度(MVD)变化的意义。方法 96例大肝癌前瞻性分成术前TACE组40例(TACE组)与一期手术组56例(手术组),用免疫组化方法检测96例手术切除标本肿瘤组织VEGF、 $\alpha_v$ 整合素表达及MVD值。结果 术前TACE组肿瘤组织VEGF、 $\alpha_v$ 整合素表达免疫反应积分显著高于手术组(分别为 $P=0.042$ ,  $P=0.033$ ),MVD两者无显著差异( $P=0.103$ )。结论 大肝癌术前TACE促使残存肿瘤组织VEGF及 $\alpha_v$ 整合素的表达增高,有可能促进肿瘤细胞转移。

**[关键词]** 肝细胞癌;化疗栓塞;血管内皮生长因子;整合素;微血管密度

中图分类号: R735.7 文献标志码: A 文章编号: 1672-271X(2010)03-0206-03

### Expression of VEGF, integrin- $\alpha_v$ and MVD in viable residual tumor tissues from large hepatocellular carcinoma after TACE

ZHOU Jian-ping<sup>1</sup>, ZHOU Wei-ping<sup>2</sup>. 1. Department of General Surgery, 113 Hospital of PLA, Ningbo, Zhejiang 315040, China; 2. The Third Department of Hepatic Surgery, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Shanghai 200438, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the significance of expression of vascular endothelial growth factor (VEGF), integrin- $\alpha_v$  and microvessel density (MVD) in viable residual tumor tissues from large hepatocellular carcinoma (HCC) after transcatheter arterial chemoembolization (TACE). **Methods** 96 patients with large HCC were divided to a preoperative TACE group (40 patients) and one-stage operation group (56 patients). Expression of VEGF, integrin- $\alpha_v$  and MVD were examined in all viable residual tumor tissues of 96 patients using immunohistochemical staining. **Results** There were significant differences in the expression levels of VEGF and integrin- $\alpha_v$  between preoperative TACE group and one-stage operation group ( $P=0.042$  and  $P=0.033$ ). No significant difference was in MVD between two groups ( $P=0.103$ ). **Conclusion** TACE may enhance expression levels of VEGF and integrin- $\alpha_v$  in viable residual tumor tissues from large HCC, and may promote cancer cells to metastasize.

**[Key words]** hepatocellular carcinoma; chemoembolization; vascular endothelial growth factor; integrin; microvessel density

在临床上观察到一部分大肝癌,术前经导管动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)后疗效不一,大肝癌术前是否行TACE存有争议<sup>[1-2]</sup>。研究表明TACE能使肿瘤大部分坏死,但其局限性在于它不能完全彻底杀死肿瘤细胞,而残存的肿瘤细胞是肿瘤复发转移的根源<sup>[3]</sup>。为此,我们采用免疫组织化学方法测定一期切除肿瘤组织

和TACE后二期切除残存肿瘤组织中与肿瘤复发转移相关血管内皮生长因子(VEGF)、 $\alpha_v$ 整合素的表达及微血管密度(MVD),以探讨TACE对大肝癌肿瘤生物学特性的影响。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择2001年7月1日至2003年12月31日入第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外三科96例大肝癌病例(主瘤直径 $\geq 5$  cm),根据CT、MRI、B超、甲胎蛋白(AFP)等临床和(或)病理诊断为原发性肝细胞癌。详细告知患者及家属术前先行TACE治疗的优缺点,患者及家属自愿选择治疗

**作者简介:** 周建平(1971-),男,浙江诸暨人,硕士,主治医师,从事肝胆外科临床工作

**作者单位:** 1. 315040 浙江宁波,解放军113医院普通外科;  
2. 200438 上海,第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外三科

方法,即手术前先行 TACE 或直接手术治疗。根据术前是否行 TACE 将 96 例患者分成两组,即术前 TACE 组 40 例(简称 TACE 组),与一期手术组 56 例(简称手术组)。两组首次入院时平均年龄、性别、HBsAg 阳性例数、AFP 阳性例数、肝功能分级、肿瘤直径、主瘤部位、子灶、癌栓等一般资料间比较无统计学意义。

**1.2 治疗方法** TACE 采用 Seldinger 法<sup>[4]</sup>,化疗药物选用氟脲嘧啶(5-FU)、丝裂霉素(MMC)、顺铂(DDP)、卡铂(CBP)、阿霉素(ADM)或表阿霉素(PADM)中的三种,栓塞剂为碘油和明胶海绵或单用碘油。手术方法均采用常温下间歇性肝门阻断肝叶切除进行肝癌根治性或非根治性切除。TACE 组经 TACE 后再行手术治疗,手术组入院后即予手术治疗。行 TACE 前或手术前除部分患者保肝治疗外未作其他任何治疗。两组手术方式比较无显著差异。

**1.3 材料与试剂** 两组标本取材后,分别行免疫组化染色。采用 En Vision 法,按试剂盒说明进行。鼠抗人  $\alpha_v$  整合素单克隆抗体(美国 Sant Craze 公司产品),工作浓度为 1:50。鼠抗人 VEGF 单克隆抗体(丹麦 Dako 公司产品),工作浓度为 1:50。鼠抗人 CD34 单克隆抗体(丹麦 Dako 公司产品),工作浓度 1:100。En Vision 试剂盒(丹麦 Dako 公司产品)。

**1.4 结果判定** VEGF 及  $\alpha_v$  整合素表达测定每张切片随机观察 10 个高倍视野或高倍镜下至少记数 300 个细胞阳性结果判断参照 Remmele 和 Stegner 等的免疫反应积分(IRS),兼顾阳性细胞的百分比(PP)及阳性染色强度(SI):将阳性细胞的百分比分为 5 级,无阳性细胞为 0 分,阳性细胞占视野内同类细胞总数的 25% 以下(含 25%)为 1 分,占 26% ~ 50% 为 2 分,占 51% ~ 75% 为 3 分,占 75% 以上为 4 分。将染色强度分为 4 级,未着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。结果判定:将阳性细胞百分比记分与着色强度记分相乘为结果判定标准,即  $IRS = PP \times SI$ ,IRS 为 0 分判为阴性(-),1 ~ 2 分为弱阳性( $\pm$ ),3 ~ 5 分为阳性(+),6 ~ 8 分为中等阳性(++),9 ~ 12 分为强阳性(+++)。

肿瘤 MVD 测定按 Weidner 方法:先用 40 倍光镜寻找高血管密度区域,即“热点”区,再在 200 倍视镜下计数染成棕色的血管数目,任何染色的内皮细胞或血管内皮簇,只要它们和邻近的微血管、肿瘤细胞或其它结缔组织分开,就可作为一个血管,计数 5 个视镜下的血管数目,取其均值。

**1.5 统计学处理** 统计处理用 SPSS 11.5 软件进行,数据采用均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间差异

比较采用  $t$  检验, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

两组大肝癌患者治疗后 VEGF、 $\alpha_v$  整合素及 MVD 结果比较见表 1。

表 1 两组大肝癌治疗后 VEGF、 $\alpha_v$  整合素、MVD 比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	VEGF(分)	$\alpha_v$ 整合素(分)	MVD(个)
TACE 组	40	7.23 $\pm$ 3.78	3.70 $\pm$ 3.20	129.2 $\pm$ 32.6
手术组	56	5.50 $\pm$ 4.21*	2.38 $\pm$ 2.76*	118.3 $\pm$ 36.4

注:与 TACE 组比较,\* $P < 0.05$

## 3 讨论

肝癌为富血供的实体肿瘤,其复发和转移依赖于血管生成,VEGF 是肝癌细胞产生的最主要的血管生成因子,在肝癌组织中常高表达<sup>[5]</sup>,能刺激血管内皮细胞增殖和迁移,并增加微血管通透性,促进血浆纤维蛋白外渗,这不仅有利于血管生成,而且还有利于肿瘤细胞脱落进入血管或向邻近纤维蛋白和结缔组织基质扩散,与肿瘤的浸润、转移有关<sup>[6]</sup>。肿瘤细胞  $\alpha_v$  整合素的表达与肿瘤的浸润转移密切相关<sup>[7-8]</sup>。在肝癌血管生成及侵袭转移过程中, $\alpha_v$  整合素起着重要作用,其表达或结构异常与恶性肿瘤的生物学特性密切相关。

本研究显示大肝癌 TACE 后残存的肿瘤细胞 VEGF 表达水平显著高于一期手术组,可能是 TACE 阻断肿瘤血供、使其缺血坏死的同时因缺氧而诱导缺氧诱导因子表达,增加 VEGF 基因转录,使 VEGF、mRNA 稳定性增加,上调 VEGF 表达<sup>[9]</sup>。本研究同时也显示大肝癌 TACE 后残存的肿瘤细胞  $\alpha_v$  整合素表达水平显著高于一期手术组,此外 TACE 后因侧枝循环建立或栓塞血管再通,发生缺血再灌注损伤,可产生大量的肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),TNF- $\alpha$  能促进肝癌细胞  $\alpha_v$  整合素的表达及其与体外粘连蛋白结合使癌细胞粘附与迁移,也诱导肝癌细胞  $\alpha_v$  整合素表达<sup>[8]</sup>。大肝癌 TACE 后残存的肿瘤细胞 VEGF 及  $\alpha_v$  整合素表达水平上调,提示 TACE 后残存的肿瘤侵袭性增高,可能增加大肝癌术后复发转移。

MVD 是判断肝癌的预后的有效指标<sup>[10]</sup>,但本组资料未见差异,原因不明。

本研究显示,可切除大肝癌术前 TACE 可能使肿瘤 VEGF 及  $\alpha_v$  整合素表达上调,有可能促进肿瘤细胞转移可能,应首选一期切除。

## 【参考文献】

- [1] 肖恩华,胡国东,李锦清,等. 经导管动脉化疗栓塞治疗肝细胞癌的疗效观察[J]. 中华肿瘤杂志,2005,27(8):478-482.
- [2] Zhou WP, Lai EC, Li AJ, et al. A prospective, randomized, controlled trial of preoperative transarterial chemoembolization for resectable large hepatocellular carcinoma[J]. Ann Surg, 2009, 249(2):195-202.
- [3] Cristofori C, Cardin R, Pivetta G, et al. Transcatheter arterial chemoembolization (TACE) in hepatocellular carcinoma (HCC): the role of angiogenesis and invasiveness[J]. Am J Gastroenterol, 2008, 103(4):914-921.
- [4] 吴孟超. 肝脏外科[M]. 上海:上海科学技术文献出版社, 2000:589-590.
- [5] Poon RT, Ronnie TP. From molecular biology to targeted for hepatocellular carcinoma: the future is now[J]. Oncology, 2007, 72(1):30-44.
- [6] Park JW, Lee JA, Park JE, et al. Association between vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and survival in hepato-

cellular carcinoma patients[J]. Hepatology, 2007, 46(2):446-455.

- [7] Chen QM, Millar HJ, McCabe FL, et al. Alphav integrin-targeted immunoconjugates regress established human tumors in xenograft models[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(12):3689-3695.
- [8] Mimoun N, Zakia H, Geraldine G, et al. Expression, Regulation, and Function of  $\alpha_v$  integrins in hepatocellular carcinoma: An in vivo and in vitro study[J]. Hepatology, 2002, 36(2):418-426.
- [9] Kim HJ, Chung H, Yoo YG, et al. Inhibitor of DNA binding 1 activates vascular endothelial growth factor through enhancing the stability and activity of hypoxia-inducible factor-1  $\alpha$ [J]. Mol Cancer Res, 2007, 5(4):321-329.
- [10] Tai MH, Huang CC, Wang CC, et al. Overexpression of VEGF is associated with positive p53 immunostaining in hepatocellular carcinoma (HCC) and adverse outcome of HCC patients[J]. J Surg Oncol, 2008, 98(5):349-357.

(收稿日期:2009-10-09;修回日期:2009-11-25)

(本文编辑:潘雪飞; 英文编辑:王建东)

(上接第 205 页)

## 2 讨论

**2.1 卡前列甲酯栓的药理作用** 它是前列腺素  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) 的衍生物,一般 5 min 内即对子宫产生兴奋作用。半衰期为 30 min,作用时间 2~3 h,6~9 h 由尿中排出。它对子宫平滑肌有明显的兴奋及很强的收缩作用,活性强,作用时间长<sup>[2]</sup>。近年临床经口、阴道、直肠一次性给药,而我们采用术中、术后间隔半小时连续给药 5 次,时间共 2 h,减少剖宫产术后出血,尤其是胎儿娩出后 2 h 内的出血。

**2.2 联合用药预防剖宫产术后出血的效果** 产后出血是产科常见的严重的并发症,剖宫产术本身易引起子宫收缩乏力,故成为产后出血的首位原因,其次为胎盘因素、手术操作因素<sup>[3]</sup>。因此,剖宫产后出血比阴道分娩的危险性高得多。产后急性失血近期待易造成产妇抵抗力下降和贫血,伤口愈合不良,甚至脑垂体缺血坏死,远期出现席汉综合征。因此术中术后促进子宫收缩尤为重要,常用的催产素半衰期仅 3~4 min,作用时间短(20~30 min),在体内

很快被肝、肾、肠灭活及清除。而卡前列甲酯栓能强而持久的使子宫平滑肌收缩,有效促进子宫创面血窦关闭止血,且可使子宫肌层催产素的受体增加,加强了催产素的作用<sup>[4]</sup>,两者联合应用使剖宫产后出血的发生率明显低于单用催产素组。由此可见,卡前列甲酯栓和催产素联合应用可更快、更持久地维持子宫收缩,两者在药效时间差异和个体敏感性差异上有互补作用。

## 【参考文献】

- [1] 乐杰. 妇产科学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社. 2008: 205-208.
- [2] 于江红. 卡前列甲酯栓预防产后出血 101 例临床观察[J]. 黑龙江医药科学, 2008, 31(12):58.
- [3] 刘晓敏,耿影红. 282 例剖宫产后出血原因及危险因素分析[J]. 贵阳医学院学报, 2009, 34(3):321.
- [4] 贾红光,吴丽萍. 舌下含服卡孕栓联合催产素预防产后出血的效果观察[J]. 首都医药, 2007, 14(18):24-25.

(收稿日期:2010-01-26)

(本文编辑:黄攸生)