

论著·临床研究

血清血管内皮生长因子/内皮抑素比值与 儿童急性白血病的相关性

顾教伟¹ 胡忠栋² 刘壮³

(1. 湖北医药学院附属太和医院儿科, 湖北 十堰 442000; 2. 广东省东莞市常平医院儿科, 广东 东莞 523573;
3. 广西医科大学附属第一医院儿科, 广西 南宁 530021)

[摘要] 目的 检测急性白血病(AL)患儿血清血管内皮生长因子(VEGF)、内皮抑素(ES)水平,探讨VEGF/ES(V/E)比值与儿童AL的临床相关性。方法 采用酶联免疫双抗体夹心法检测35例AL患儿化疗前后血清VEGF、ES水平及V/E比值,并与30例健康儿童进行比较。结果 化疗前AL患儿血清中VEGF和ES水平分别为 196 ± 66 pg/mL和 31 ± 7 ng/mL,显著高于对照组(29 ± 10 pg/mL、 19 ± 4 ng/mL; $P < 0.01$);化疗前AL患儿V/E比值为 6.7 ± 3.0 ,亦显著高于对照组(1.6 ± 0.7)。20例AL完全缓解(CR)后血清VEGF、ES水平及V/E比值分别为 83 ± 35 pg/mL、 27 ± 5 ng/mL和 3.1 ± 1.3 ,均低于化疗前($P < 0.01$),其中VEGF和ES水平仍显著高于对照组($P < 0.01$),而V/E比值与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。35例AL患儿化疗前血清VEGF、V/E比值与骨髓白血病细胞数呈正相关($r = 0.301$ 和 0.411 , $P < 0.05$)。结论 血清VEGF和ES与儿童AL的发生发展有关,V/E比值能更准确反映AL患儿疾病动态变化情况,有利于指导相关治疗。

[中国当代儿科杂志,2011,13(6):475-477]

[关键词] 急性白血病;血管内皮生长因子/内皮抑素比值;儿童

[中图分类号] R733 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2011)06-0475-03

Correlation between the ratio of serum vascular endothelial growth factor/endostatin and childhood acute leukemia

GU Jiao-Wei, HU Zhong-Dong, LIU Zhuang. Taihe Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China (Liu Z, Email: prof_liu@163.com)

Abstract: Objective To investigate the correlation between the ratio of serum vascular endothelial growth factor (VEGF)/endostatin (ES) and childhood acute leukemia (AL). **Methods** Serum levels of VEGF and ES were measured using ELISA in 35 children with acute AL before and after chemotherapy. The ratio of VEGF/ES was calculated. Thirty healthy children served as the control group. **Results** The serum levels of VEGF (196 ± 66 pg/mL vs 29 ± 10 pg/mL) and ES (35 ± 7 ng/mL vs 19 ± 4 ng/mL) in the AL group before chemotherapy were significantly higher than those in the control group ($P < 0.01$). The ratio of VEGF/ES in the AL group before chemotherapy was significantly higher than that in the control group (6.7 ± 3.0 vs 1.6 ± 0.7 ; $P < 0.01$). In 20 children with AL who achieved complete remission, the serum levels of VEGF and ES and the VEGF/ES ratio were reduced after chemotherapy (83 ± 35 pg/mL, 27 ± 5 ng/mL, 3.1 ± 1.3 , respectively; $P < 0.01$), although the serum levels of VEGF and ES were still higher than those in the control group ($P < 0.01$). The VEGF/ES ratio in CR patients was not significantly different from that in the control group. The serum levels of VEGF ($r = 0.301$, $P = 0.045$) and the VEGF/ES ratio ($r = 0.411$, $P = 0.015$) were positively correlated with the count of blast cells in juvenile bone marrow in 35 children with AL before chemotherapy. **Conclusions** Serum VEGF and ES levels are associated with the development of childhood AL. The VEGF/ES ratio can be used to evaluate the disease progression in children with AL. [Chin J Contemp Pediatr, 2011, 13 (6):475-477]

Key words: Acute leukemia; Ratio of vascular endothelial growth factor/endostatin; Child

白血病是儿童时期最常见的恶性肿瘤,约占儿童时期所有恶性肿瘤的35%,其中急性白血病(acute leukemia,AL)占儿童白血病的90%以上^[1]。白血病的发病机制目前尚未完全明确,原癌基因的

转化、抑癌基因畸变和细胞凋亡受抑等可能在白血病的发病中起重要作用^[2]。随着对细胞因子生物学活性研究的深入,发现血管生成及其调控因子与白血病的发生、演变、预后密切相关^[3]。而作为血

[收稿日期]2010-09-03;[修回日期]2010-12-23

[作者简介]顾教伟,男,硕士,主治医师。

[通信作者]刘壮,教授。

管新生主要的正负调节因子,血管内皮生长因子(VEGF)和内皮抑素(ES)与机体血管新生和肿瘤细胞的增殖浸润转移可能起着极其重要的作用。

本研究拟对AL患儿血清VEGF、ES水平进行观察,探讨VEGF/ES(V/E)比值在儿童AL发生发展过程以及临床治疗的相关意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2007年8月至2008年8月我院儿科依照儿童急性白血病诊疗建议^[4-5]诊断的35例AL患儿[急性淋巴细胞白血病(ALL)30例,急性非淋巴细胞白血病(ANLL)5例]作为病例组,其中男18例,女17例,中位年龄6.4岁(2~14岁)。所有患儿确诊前均未接受过化疗。30例ALL患儿中20例接受化疗,诱导缓解治疗1疗程后,19例完全缓解(CR),1例未缓解;5例ANLL患儿均接受化疗,诱导缓解治疗1疗程后,1例CR,2例未缓解,2例死亡。化疗方案及疗效判定按照儿童急性白血病诊疗建议^[4-5]。

选取同期在我院儿科门诊进行体检的健康儿童30例(排除肿瘤、结缔组织病、感染性疾病等)作为对照组,男性12例,女性8例,中位年龄7.8岁(2.5~13岁)。

1.2 研究方法

病例组在治疗前与诱导缓解治疗结束后14d内分别于清晨空腹抽取静脉血2mL,检测血清VEGF、ES的水平。记录患儿的年龄、性别、白血病分型、血常规、骨髓原始细胞比例等。同时取2mL对照组静脉血进行VEGF和ES的检测。计算VEGF/ES比值。血清VEGF、ES浓度的测定,采用双抗体夹心ELISA法。VEGF试剂盒由南宁恒因生物公司提供,ES试剂盒由美国USCNLIFE公司提供。

1.3 统计学分析

采用SPSS 11.0软件进行统计学分析。数据采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,均数之间比较用t检验;相关分析采用Bivariate相关分析; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病例组CR患儿化疗前的血清VEGF、ES表达及V/E比值

病例组20例CR患儿化疗前的血清VEGF、ES水平和V/E比值显著高于对照组,差异具有统计学

意义($P < 0.01$)。见表1。

2.2 CR患儿化疗前后血清VEGF、ES水平及V/E比值

病例组中20例CR患儿化疗后血清VEGF、ES水平及V/E比值较化疗前明显下降($P < 0.01$);但其VEGF、ES水平仍高于正常对照组($P < 0.01$),而V/E比值与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表1 20例CR患儿治疗前后血清VEGF和ES水平及V/E比值 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	VEGF (pg/mL)	ES (ng/mL)	V/E
对照组	30	29 ± 10	19 ± 4	1.6 ± 0.7
治疗前	20	196 ± 66 ^a	31 ± 7 ^a	6.7 ± 3.0 ^a
治疗后	20	83 ± 35 ^{a,b}	27 ± 5 ^{a,b}	3.1 ± 1.3 ^b

a:与对照组比较, $P < 0.01$; b:与治疗前比较, $P < 0.01$

2.3 病例组化疗前VEGF和ES之间的相关性

Bivariate相关分析发现,病例组化疗前血清VEGF水平与血清ES水平呈显著正相关($r = 0.363$, $P < 0.05$)。

2.4 病例组CR前后血清VEGF和ES水平及V/E比值与骨髓白血病细胞数量的关系

Bivariate相关分析发现,病例组化疗前血清VEGF水平、V/E比值与骨髓白血病细胞数呈正相关($P < 0.05$);血清ES水平与骨髓中白血病细胞数无相关性($P > 0.05$);CR患儿治疗后血清VEGF和ES水平及V/E比值与骨髓中白血病细胞数无相关性($P > 0.05$)。见表2。

表2 病例组治疗前后血清VEGF和ES水平及V/E比值与骨髓白血病细胞数量的关系

组别	例数	VEGF (pg/mL)		ES (ng/mL)		V/E	
		r值	P值	r值	P值	r值	P值
治疗前	35	0.301	0.045	0.056	0.348	0.411	0.035
治疗后	20	0.165	0.376	0.096	0.606	0.347	0.056

3 讨论

1971年Folkman^[6]提出肿瘤生长依赖血管形成。当肿瘤直径超过1~2mm,直接由微环境提供的营养已不能满足其生长需要,此时肿瘤的生长依赖于新生血管运送营养物质。血管生成不仅在肿瘤的生长过程中必需,而且在肿瘤的侵袭和转移阶段也发挥作用。血管生成是一个多因素调控、多步骤的复杂过程,该过程受到“血管生成开关”系统精密调控,使促血管生成因子和抗血管生成因子保持动

态平衡过程^[7]。在 ALL 儿童的骨髓中也存在血管新生的现象^[8], 并发现 VEGF 在白血病的发病过程中起着重要的作用^[9], 白血病患者不仅高水平表达 VEGF, 并且白血病细胞能通过自分泌和旁分泌 VEGF, 和其受体(VEGFR)结合并通过蛋白酪氨酸激酶(PTK)途径促进血管内皮细胞增生和新生血管形成, 促进骨髓血管密度增加, 能减缓白血病细胞凋亡, 增强血液肿瘤对放化疗的抵抗^[10-11]。

ES 介导的肿瘤生长抑制作用的机制可能是通过抑制血管生成, 提高肿瘤细胞凋亡的速率来抑制肿瘤的生长。其可能的机制有: ①ES 可阻碍增生内皮细胞与基质蛋白的相互作用, 从而诱导内皮细胞凋亡, 同时还可减少 Bcl-2、Bcl-X1 抗凋亡蛋白的量^[12-13]。②引起内皮细胞 G1 期停滞, 从而抑制内皮细胞增殖^[14]。③与 VEGF 和 bFGF 等血管生成刺激因子竞争性结合生长因子信号传导系统中的硫酸肝素蛋白聚糖受体, 从而抑制血管生成^[15-16]。Iversen 等^[17]在髓性白血病动物实验模型中, 用 ES 注入白血病动物观察发现骨髓微血管密度和白血病细胞明显减少, 但对于体外培养的白血病细胞没有抑制作用, 从而认为 ES 对髓性白血病具有抑制作用是通过骨髓内的新生血管形成来实现的。

VEGF 和 ES 分别是促进血管生成及抑制血管生成的两个主要因子, 正常处于平衡状态, AL 时则平衡失调。AL 患儿血清 ES 和 VEGF 水平升高不一致, 如果 VEGF 增高的水平超过了 ES 增高的水平, 则表现出促血管生成作用, 导致肿瘤生长。本研究发现病例组化疗前血清 VEGF 水平、V/E 比值与骨髓中白血病细胞数呈正相关, 而血清 ES 水平与骨髓中白血病细胞数无相关性。提示白血病细胞自分泌、旁分泌 VEGF, 血清 VEGF 水平在一定程度上可以反映 AL 患儿骨髓细胞的恶性增殖状态及肿瘤负荷^[9]; 而 ES 拮抗血管新生且并非白血病细胞分泌^[18]。化疗前 AL 患儿骨髓白血病细胞数量与 V/E 比值呈正相关, 提示 V/E 可判断 AL 患儿肿瘤负荷及侵袭程度。CR 患儿化疗后血清 VEGF 水平和 ES 水平无明显相关性, 较化疗前明显下降, 且 VEGF 下降的程度较 ES 下降的程度更大, 故 CR 患儿 V/E 比值较化疗前明显下降, 但与对照组比较差异无统计学意义, 提示 CR 后, 骨髓中白血病细胞几乎全部被化疗药物所清除, VEGF 的分泌明显下降, 其促进血管生成作用明显减弱, 而 ES 并非白血病细胞分泌, 故其下降程度相对较低, 以维持其拮抗血管新生、抑制肿瘤的作用。经过化疗后 CR 患儿血清 VEGF 和 ES 水平达到了新的相对平衡, 新的促进和抑制新生血管生长的平衡重新建立, 致使疾病处于相对稳定状态, V/E 比值降低提示肿瘤负荷减轻, 疾病呈缓解趋势。故认为采用 V/E 比值指标能更

准确反映 AL 患儿疾病动态变化情况, 有利于指导相关治疗。

[参 考 文 献]

- [1] 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2002, 2199.
- [2] 沈晓明, 王卫平. 儿科学[M]. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2009, 375.
- [3] Aguayo A, Kantarjian H, Manshouri T, Gidel C, Estey E, Thomas D, et al. Angiogenesis in acute and chronic leukemia and myelodysplastic syndrome[J]. Blood, 2000, 96(6): 2240-2245.
- [4] 中华医学会儿科学分会血液学组. 儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议(第三次修订草案)[J]. 中华儿科杂志, 2006, 44(5): 392-395.
- [5] 中华医学会儿科学分会血液学组. 儿童急性髓细胞白血病诊疗建议[J]. 中华儿科杂志, 2006, 44(11): 877-878.
- [6] Folkman J. Tumor angiogenesis; therapeutic implications[J]. N Engl J Med, 1971, 285(16): 1182-1186.
- [7] Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis[J]. Semin Oncol, 2002, 29(6): 15-18.
- [8] Perez-Atayde AR, Sallan SE, Tedrow U, Connors S, Allred E, Folkman J. Spectrum of tumor angiogenesis in the bone marrow of children with acute lymphoblastic leukemia [J]. Am J Pathol, 1997, 150(3): 815-821.
- [9] Bellamy WT, Richter L, Sirjani D, Roxas C, Glinsmann-Gibson B, Frutiger Y, et al. Vascular endothelial cell growth factor is an autocrine promoter of abnormal localized immature myeloid precursors and leukemia progenitor formation in myelodysplastic syndromes[J]. Blood, 2001, 97(5): 1427-1434.
- [10] Zhang H, Li Y, Li H, Bassi R, Jimenez X, Witte L, et al. Inhibition of both the autocrine and the paracrine growth of human leukemia with a fully human antibody directed against vascular endothelial growth factor receptor-2[J]. Leuk Lymphoma, 2004, 45(9): 1887-1897.
- [11] Fiedler W, Graeven U, Ergün S, Verago S, Kilic N, Stockschröder M, et al. Vascular endothelial growth factor, a possible paracrine growth factor in human acute myeloid leukemia[J]. Blood, 1997, 89(6): 1870-1875.
- [12] Dhanabal M, Ramchandran R, Waterman MJ, Lu H, Knebelmann B, Segal M, et al. Endostatin induces endothelial cell apoptosis[J]. J Biol Chem, 1999, 274(17): 11721-11726.
- [13] Chavakis E, Dimmeler S. Regulation of endothelial cell survival and apoptosis during angiogenesis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2002, 22(6): 887-893.
- [14] Chang Z, Choon A, Friedl A. Endostatin binds to blood vessels in situ independent of heparan sulfate and does not compete for fibroblast growth factor-2 binding[J]. Am J Pathol, 1999, 155(1): 71-76.
- [15] Dixelius J, Larsson H, Sasaki T, Holmqvist K, Lu L, Engström A, et al. Endostatin induced tyrosine kinase signaling through the Shb adaptor protein regulates endothelial cell apoptosis[J]. Blood, 2000, 95(11): 3403-3411.
- [16] Schuch G, Heymach JV, Nomi M, Machluf M, Force J, Atala A, et al. Endostatin inhibits the vascular endothelial growth factor induced mobilization of endothelial progenitor cells[J]. Cancer Research, 2003, 63(12): 8345-8350.
- [17] Iversen PO, Sorensen DR, Benestad HB. Inhibitors of angiogenesis selectively reduce the malignant cell load in rodent models of human myeloid leukemias[J]. Leukemia, 2002, 16(3): 376-381.
- [18] Aref S, El-Sherbiny M, Azmy E, Goda T, Selim T, El-Refaie M, et al. Elevated serum endostatin levels are associated with favorable outcome in acute myeloid leukemia[J]. Hematology, 2008, 13(2): 95-100.

(本文编辑: 俞 燕)