

· 临床研究 ·

急性淋巴细胞白血病患儿童血浆血管内皮生长因子及组织因子的测定及其临床意义

杨华强¹, 张荣环², 章正华¹, 万楚成¹, 夏云金¹

(1. 郧阳医学院附属太和医院血液科, 湖北 十堰 442000; 2. 十堰市妇幼保健院保健科, 湖北 十堰 442000)

[摘要] **目的** 检测血浆血管内皮细胞生长因子(VEGF)和组织因子(TF)在急性淋巴细胞白血病(ALL)患儿中的含量变化并探讨其临床意义。**方法** 用双抗体夹心酶联免疫吸附法检测33例ALL患儿血浆VEGF及TF在不同组别治疗前后含量的变化,并探讨两者之间的相关性及其临床意义。**结果** 与正常对照组相比,ALL初治患儿在治疗前血浆VEGF、TF含量明显增高,两组差异有显著性(均 $P < 0.01$)。未缓解组患者化疗前血浆VEGF及TF的含量与缓解组化疗前和对照组相比明显升高,差异有显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),未缓解组化疗后血浆VEGF和TF的含量无明显下降,与化疗前相比差异无显著性,但明显高于缓解组治疗后患者和对照组(均 $P < 0.01$)。血浆VEGF和TF在ALL患儿治疗前后低危、中危和高危组之间其差别具有显著性(均 $P < 0.05$)。高危组治疗后血浆VEGF和TF水平下降,与化疗前相比差异无显著性,但仍高于对照组($P < 0.01$)。ALL初治患儿治疗前血浆VEGF与TF含量的增加呈正相关($r = 0.50$, $P < 0.01$)。**结论** VEGF、TF可作为了解ALL病情、观察疗效和判断预后的指标之一。
[中国当代儿科杂志, 2007, 9(6): 526-528]

[关键词] 急性淋巴细胞白血病; 血管内皮细胞生长因子; 组织因子; 儿童

[中图分类号] R733.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2007)06-0526-03

Plasma concentrations of vascular endothelial growth factor and tissue factor in children with acute lymphoblastic leukemia

YANG Hua-Qiang, ZHANG Rong-Huan, ZHANG Zheng-Hua, WAN Chu-Cheng, XIA Yun-Jin. Department of Hematology, Taihe Hospital, Yunyang Medical College, Shiyan, Hubei 442000, China (Email: yanghuaqiang2004@126.com)

Abstract: Objective To detect plasma concentrations of vascular endothelial cell growth factor (VEGF) and tissue factor (TF) in children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) and explore their clinical significance in ALL. **Methods** Thirty-three children with newly diagnosed ALL, including 18 cases of low risk, 7 cases of moderate risk and 8 cases of high risk, were enrolled in this study. Twenty-five patients received a complete remission and 8 cases were in non-remission after conventional remission induction chemotherapy. Plasma concentrations of VEGF and TF in the patients were detected using ELISA before and after treatment. Sixteen healthy children served as normal control group. **Results** Plasma concentrations of VEGF and TF in ALL patients before treatment were significantly higher than those in normal controls ($P < 0.01$). Plasma concentrations of VEGF and TF in the non-remission group before treatment were significantly higher than those in the remission group ($P < 0.05$) and the control group ($P < 0.01$). After treatment the plasma concentrations of VEGF and TF in the non-remission group were not significantly reduced and higher than those in the remission and the control groups ($P < 0.01$). There were significant differences in plasma concentrations of VEGF and TF among the low-risk, moderate-risk and high-risk groups before and after treatment ($P < 0.05$). Plasma concentrations of VEGF and TF in the high risk group were not significantly reduced after treatment and higher than those in the control group ($P < 0.01$). A linear correlation was noted between plasma VEGF and TF concentrations in ALL patients before treatment ($r = 0.50$, $P < 0.01$). **Conclusions** VEGF and TF play an important role in the development of ALL and may be useful to the evaluation of the severity and the outcome in ALL.
[Chin J Contemp Pediatr, 2007, 9(6): 526-528]

Key words: Acute lymphoblastic leukemia; Vascular endothelial growth factor; Tissue factor; Child

血管内皮细胞生长因子(VEGF)是一种促进血管内皮细胞有丝分裂的细胞因子,为血管新生的正调控因子,在肿瘤细胞的增殖、浸润和转移中起重要作用,并且与某些肿瘤的预后有关^[1]。组织因子(TF)是机体内活性最强的促凝物质之一,在生理性止血过程及多种血栓栓塞性疾病中发挥重要作用。

[收稿日期]2007-01-28;[修回日期]2007-03-12
[作者简介]杨华强,男,硕士,主治医师。主攻方向:恶性血液病的诊断和治疗。

用,近年来在 TF 的非凝血功能研究中,其与肿瘤生长、侵袭、转移的关系成为研究的焦点^[2,3]。本研究采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)检测 16 例正常儿童和 33 例急性淋巴细胞白血病(ALL)患儿血浆 VEGF,TF 含量,旨在探讨 VEGF,TF 在 ALL 发生、发展中的作用,以及两者之间的相互关系和其临床意义。

1 对象和方法

1.1 研究对象

33 例 ALL 患儿均为本院 2002 年 1 月至 2006 年 5 月住院的初治患者,其中男 20 例,女 13 例,年龄 15 个月至 13 岁,中位年龄 7 岁,所有患者均经临床及骨髓细胞形态学、细胞化学染色和遗传学标准确诊,FAB 分型包括 ALL-L₁8 例,ALL-L₂19 例,ALL-L₃6 例。免疫分型:B 细胞型 27 例,T 细胞型 6 例。染色体核型分析:正常 15 例,多倍体 10 例,低二倍体 5 例,t(9,22)2 例,t(4,11)1 例。脑脊液检查异常 2 例。33 例初治患者确诊时骨髓中原始+幼稚淋巴细胞占 39%~85%,并且外周血白细胞 25 例升高、5 例正常、3 例减低。所有患者化疗结束后 14 d 复查骨髓细胞学,原始+幼稚淋巴细胞≤5%者为完全缓解。正常对照组:健康体检儿童 16 例,男 10 例,女 6 例,年龄 7~13 岁,中位年龄 10 岁,排除肿瘤、结缔组织病、感染性疾病等。

1.2 治疗方法

按照全国小儿白血病会议制订的临床相关危险因素评定标准 and 治疗方法,33 例 ALL 初治患者包括:低危组 18 例、中危组 7 例、高危组 8 例。治疗方案:ALL 诱导缓解,采用 VDLP 或 CVDP + L-ASP,巩固用 CAT 方案,HDMTX-CF 预防髓外白血病,维持治疗间断强化(V:长春新碱、D:柔红霉素、L-ASP;左旋门冬酰胺酶、C:环磷酰胺、A:阿糖胞苷、P:泼尼松、MTX;甲氨蝶呤、CF:甲酰四氢叶酸钙)。

1.3 治疗结果

一个标准化疗方案治疗结束后 25 例完全缓解,

其中 ALL-L₁ 7 例、ALL-L₂ 15 例、ALL-L₃ 3 例,另 8 例未缓解。

1.4 测定方法

分别于治疗前以及化疗结束后 15 d 取患者外周血 2 mL,用肝素(50×10³ U/L)抗凝,以 1 800 r/min 离心 20 min,吸取上层血浆,置 -20℃ 冰箱内冷冻保存待测。VEGF,TF 检测采用双抗体夹心 ELISA 法,测定试剂盒购自深圳晶美生物工程有限公司。酶联免疫检测仪为 WellscanM K3,操作步骤按试剂盒说明书进行。健康对照组测定方法同上。

1.5 统计学方法

结果数据以样本平均数±标准差表示,两组间比较用 *t* 检验,三组间比较采用 *F* 检验,两指标间关系用直线相关分析。使用统计软件 SPSS11.5 软件包对实验数据进行统计学处理。

2 结果

2.1 ALL 患儿各组血浆 VEGF 和 TF 的含量

与正常对照组相比,ALL 初治患儿治疗前血浆 VEGF,TF 含量明显增高,两组差异有显著性(*t* = 2.94,3.50;均 *P* < 0.01)。未缓解组患者治疗前血浆 VEGF 和 TF 的含量与缓解组治疗前和对照组相比明显升高,差异具有显著性(*t* = 2.43,2.10,3.58,5.11;*P* < 0.05 或 *P* < 0.01),未缓解组治疗后血浆 VEGF 和 TF 的含量无明显下降,与治疗前相比差异无显著性,但明显高于缓解组治疗后患者和对照组(*t* = 2.98,5.91,3.25,6.01;均 *P* < 0.01),见表 1。

2.2 VEGF 和 TF 与 ALL 临床相关危险因素之间的关系

VEGF 和 TF 在治疗前、后不同危险因素组间比较 3 组间均有差别。高危组治疗后 VEGF 和 TF 与治疗前相比无明显下降,但仍高于对照组,见表 2。

2.3 ALL 患儿血浆 VEGF 与 TF 水平的关系

采用直线相关分析,结果显示 ALL 初治患儿治疗前血浆 VEGF 和 TF 含量增高具有一定的相关性(*r* = 0.50, *P* < 0.01)。

表 1 VEGF 和 TF 在 ALL 患儿治疗前后和缓解前后的含量比较 (x̄ ± s)

组别	例数	VEGF (ng/L)		TF (ng/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	16	78.26 ± 32.19	—	58.26 ± 12.19	—
ALL 组	33	115.28 ± 45.08 ^a	80.62 ± 36.92	90.22 ± 35.30 ^a	72.31 ± 10.45
完全缓解组	25	97.28 ± 29.06	79.12 ± 35.81	80.13 ± 24.27	62.11 ± 11.45
未缓解组	8	125.31 ± 26.07 ^{a,b}	119.20 ± 21.13 ^{a,c}	102.1 ± 30.27 ^{a,b}	90.12 ± 12.35 ^{a,c}

a 与对照组比较, *P* < 0.01; b 与 ALL 完全缓解组治疗前相比, *P* < 0.05; c 与 ALL 完全缓解组治疗后比较, *P* < 0.01

表2 VEGF和TF与ALL临床相关危险因素之间的关系 (x±s)

组别	例数	VEGF(ng/L)		TF(ng/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
低危组	18	92.28±20.01	79.62±18.43	82.12±26.30	63.31±11.26
中危组	7	117.28±30.02	82.22±36.51	98.12±25.25	70.11±19.23
高危组	8	123.31±28.01	112.20±17.43	103.1±31.23	89.12±10.12
F		3.823	3.946	4.521	4.782
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

3 讨论

肿瘤细胞的生长和数目的增多需依赖于新生血管的形成。以往对血管新生的研究主要集中于实体瘤,近期的研究表明在血液系统恶性肿瘤中也存在着血管的新生^[1,4],VEGF作为血管新生的正调控因子可以自分泌或旁分泌机制作用于白血病细胞,促进其增殖。本研究检测了33例ALL患儿血浆VEGF含量,与对照组相比明显升高,这与Aguayo等^[4]的报道一致,间接反映了患者骨髓中血管新生的程度,提示血管新生参与了ALL的发病,其机制可能为:ALL骨髓细胞的异常增生,刺激产生缺氧诱导因子(HIF),促进其分泌、合成,进一步上调VEGF的表达,诱导血管新生,癌基因与抑癌基因异常活化,导致该病的发生^[5,6]。已有研究^[4,7]证实就白血病而言,VEGF除了有促进白血病细胞增殖、浸润作用外,还发现VEGF可延缓树突状细胞的成熟,抵抗化疗所致的白血病细胞的凋亡。本研究观察到未缓解组患者治疗前血浆VEGF的含量与缓解组治疗前和对照组相比明显升高,治疗后血浆VEGF的含量无明显下降,但明显高于缓解组治疗以后的患者和对照组,因此血浆VEGF浓度与白血病患者预后有关。此外,本研究还表明VEGF在ALL不同危险因素组间比较差异均有显著性,高危组ALL治疗后VEGF无明显下降,但显著高于对照组,因此VEGF有望成为判断ALL预后的一个因素。

TF是机体内活性最强的促凝物质之一,与因子FVIIa结合后启动外源性凝血途径,目前已在急性白血病等多种恶性肿瘤中检测到TF的活性变化^[8,9],本研究结果显示ALL患者血浆TF浓度与对照组相比以及TF在ALL的不同危险因素组间比较其差异具有显著性,说明TF在ALL的发生和发展中具有重要作用。有研究^[2,8,9]表明TF与FVIIa结合以后可通过复杂的胞内信号转导机制影响肿瘤细胞的细胞骨架系统和基因表达来促进肿瘤细胞的生长、浸润和转移,在肿瘤的发生和发展中具有重要作用。此外,本研究还表明未缓解组患者治疗前血浆TF

的含量与缓解组治疗前和对照组相比明显升高,化疗后无明显下降,但与缓解组治疗后的患者和对照组相比明显升高,说明TF与ALL患者的疗效和预后有关。

本研究还表明ALL初治患儿治疗前血浆VEGF和TF含量的增高具有明显的正相关。TF可在肿瘤细胞和肿瘤血管内皮细胞表达,促进肿瘤细胞生长、浸润与转移,原因之一是TF能诱导肿瘤细胞表达VEGF,调节肿瘤细胞的血管生成抗血管生成平衡,调节细胞分化,即TF在肿瘤的发生发展过程中起到重要的作用之一是通过VEGF实现的,因此靶向抑制VEGF的表达有望成为治疗ALL的一条新途径。

[参 考 文 献]

[1] Aguayo A, Kantarjian HM, Estey EH, Giles FJ, Verstovsek S, Manshoury T, et al. Plasma vascular endothelial growth factor levels have prognostic significance in patients with acute myeloid leukemia but not in patients with myelodysplastic syndromes [J]. Cancer, 2002, 95 (9): 1923-1930.

[2] 方峻, 宋善俊. 活化的血液凝固因子VIIa和组织因子复合物介导信号传导与肿瘤生长、浸润及转移[J]. 中华血液学杂志, 2002, 23 (5): 279-280.

[3] Lykke J, Nielsen HJ. The role of tissue factor in colorectal cancer [J]. Eur J Surg Oncol, 2003, 29 (5):417-422.

[4] Aguayo A, Kantarjian H, Manshoury T, Gidel C, Estey E, Thomas D, et al. Angiogenesis in acute and chronic leukemias and myelodysplastic syndromes [J]. Blood, 2000, 96 (6): 2240-2245.

[5] Wellmann S, Guschmann M, Griethe W, Eckert C, von Stackelberg A, Lottaz C, et al. Activation of the HIF pathway in childhood ALL, prognostic implications of VEGF [J]. Leukemia, 2004, 18(5):926-933.

[6] Yu JL, Rak JW, Coomber BL, Hicklin DJ, Kerbel RS. Effect of p53 status on tumor response to antiangiogenic therapy [J]. Science, 2002, 295 (5559):1526-1528.

[7] Aguayo A, Estey E, Kantarjian H, Mansouri T, Gidel C, Keating M, et al. Cellular vascular endothelial growth factor is a predictor of outcome in patients with acute myeloid leukemia [J]. Blood, 1999, 94(16): 3717.

[8] Yu JL, May L, Klement P, Weitz JI, Rak J. Oncogenes as regulators of tissue factor expression in cancer; implications for tumor angiogenesis and anti-cancer therapy [J]. Semin Thromb Hemost, 2004, 30 (1): 21-30.

[9] Nakasaki T, Wada H, Watanabe R, Mori Y, Gabazza EC, Kageyama S, et al. Elevated tissue factor levels in leukemic cell homogenate [J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2000, 6 (1): 14-17.

(本文编辑:吉耕中)