

# VEGF 和 sCD44v6 在恶性腹水中的 诊断及意义探讨

孙晓敏,董卫国,余保平,罗和生,于皆平

Anex ploref VEGF and sCD44v6 in the diagnosis of malignant ascites

SUN Xiaomin, DONG Weiguang, YU Baoping, et al

Department of Gastroenterology, Renmin Hospital, Wuhan University, Wuhan 430060, China

**Abstract: Objective** To explore the diagnostic value of vascular endothelial growth factor (VEGF) and sCD44v6 in malignant ascites and determine their significance in malignant ascites formation. **Methods** To detect VEGF and sCD44v6 levels in various kinds of ascites and fluids of abdominal cavity by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** VEGF and sCD44v6 levels in malignant ascites were significantly higher than those of cirrhosis, tuberculosis peritonitis and other fluids of abdominal cavity of patients with benign malignant disease but without ascites ( $P < 0.01$ ). However, there were no significant differences of VEGF and sCD44v6 levels among the latter 4 groups ( $P > 0.05$ ). VEGF levels in malignant ascites from patients with ovarian cancers were higher than those with gastric and colon cancers ( $P < 0.01$ ), while sCD44v6 levels in malignant ascites from patients with ovarian, gastric and colon cancers were no significant difference ( $P > 0.05$ ). The sensitivity and specificity of this assay for malignant ascites were 91.3%, 88.9% and 73.9%, 91.7% respectively. **Conclusion** The detection of VEGF and sCD44v6 levels is useful in differential diagnosis of benign and malignant ascites. The enzyme-linked immunosorbent assay is an important role in malignant ascites formation.

**Keywords:** Ascites; VEGF; sCD44v6; Differential diagnosis

**摘要:**目的 探讨 VEGF、sCD44v6 对恶性腹水的诊断价值及其在恶性腹水形成中的作用。方法 收集各种类型腹水及腹腔液,采用 ELISA 法检测 VEGF、sCD44v6 水平。结果 癌性腹水组 VEGF、sCD44v6 水平明显高于肝硬化腹水组、结核性腹水组及良、恶性疾病不伴腹水患者腹腔液组 ( $P$  均  $< 0.01$ ),而后 4 组间比较 VEGF 及 sCD44v6 水平则均无明显差别 ( $P > 0.05$ )。不同恶性肿瘤腹水中卵巢癌组 VEGF 水平高于胃癌组和结肠癌组 ( $P$  均  $< 0.01$ );胃癌组 VEGF 水平高于结肠癌组;卵巢癌组 sCD44v6 水平高于胃癌组和结肠癌组,但差异均无显著性 ( $P > 0.05$ )。VEGF 诊断恶性腹水的敏感性为 91.3%,特异性为 88.9%;sCD44v6 诊断恶性腹水的敏感性和特异性则为 73.9% 和 91.7%。结论 VEGF、sCD44v6 对良、恶性腹水的鉴别诊断有重要价值,它们可能在恶性腹水的形成中起重要作用。

**关键词:** 腹水; VEGF; sCD44v6; 鉴别诊断

中图分类号: R730.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578 (2003) 05-0370-03

## 0 引言

腹水是一种常见的临床症状,可由多种疾病引起。不同疾病引起的腹水,其治疗和预后迥然不同,故良、恶性腹水的鉴别诊断一直是学者们关注的主要课题。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 通过促进肿瘤血管生成、增加血管通透性和下调宿主抗肿瘤免疫应答等机制,参与实体肿瘤的发生、发展<sup>[1,2]</sup>。细胞粘附分子 CD44

因其介导细胞-细胞、细胞-细胞外基质间的特异性粘附过程,与肿瘤生长和转移密切相关。本研究采用 ELISA 法检测各种类型腹水及腹腔液中 VEGF 及可溶性 CD44v6 (sCD44v6) 水平,旨在为临床腹水鉴别诊断提供重要参考,并对其在恶性腹水形成中的作用进行初步探讨。

## 1 材料和方法

**1.1 一般资料** 收集 2002 年 7 月~2003 年 3 月武汉大学人民医院、武汉大学中南医院、湖北省肿瘤医院住院患者 91 例,腹水患者 67 例,男 38 例,平均年龄 50.68 岁;女 29 例,平均年龄 48.60 岁;其中肝硬

收稿日期:2003-04-01;修回日期:2003-05-13  
基金项目:湖北省自然科学基金资助项目(99J163)  
作者单位:430060 武汉大学人民医院消化内科

化腹水 36 例,结核性腹水 8 例,癌性腹水 23 例(卵巢癌 8 例,胃癌 6 例,结肠癌 5 例,肝癌 2 例,胰腺癌 1 例,原发性腹膜癌 1 例);良、恶性疾病患者腹腔液(均不伴腹水)24 例,男 13 例,平均年龄 50.10 岁;女 11 例,平均年龄 41.55 岁;其中,良性疾病患者腹腔液 10 例(不孕症 5 例,子宫肌瘤 2 例,胃溃疡 2 例,结肠腺瘤 1 例),恶性疾病患者腹腔液 14 例(胃癌 8 例,结肠癌 4 例,胰腺癌及肝癌各 1 例)。以上病例均经细胞学检查、病理活检、B 超及 CT 等确诊。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 腹水经腹腔穿刺术采集,腹腔液(人体腹腔内对肠道蠕动起润滑作用的少量液体)经腹腔镜或剖腹术采集。标本采集后,3000 转/分离心 15min,取上清,按每次用量分装后立即置 -70 冰箱冻存待测。

1.2.2 实验分组 良性疾病患者腹腔液(不伴腹水)为(1)组,恶性疾病患者腹腔液(不伴腹水)为(2)组,肝硬化腹水为(3)组,结核性腹水为(4)组,癌性腹水为(5)组。

1.2.3 测定方法 采用 ELISA 法测定,VEGF 试剂盒为美国 R&D 公司产品,sCD44v6 试剂盒由奥地利 BenderMedes systems 生产。操作步骤严格按照说明书进行,采用国产 DigiscanSA1000 酶标仪比色定量。

1.2.4 统计学处理 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,各组间比较用方差分析,多个样本均数间多重比较用  $q$  检验。

2 结果

2.1 各组腹水间 VEGF 和 sCD44v6 水平 (5)组 VEGF 和 sCD44v6 水平显著高于(3)组、(4)组( $P$ 均  $< 0.01$ ),而(4)组和(3)组间,VEGF 和 sCD44v6 水平则均无明显差异( $P > 0.05$ ),见表 1。

表 1 不同组别间 VEGF、sCD44v6 水平( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	VEGF 含量 (pg/ml)	sCD44v6 含量 (ng/ml)
良性疾病腹腔液	10	51.10 $\pm$ 20.36	51.05 $\pm$ 20.28
恶性疾病腹腔液	14	56.79 $\pm$ 11.81	38.43 $\pm$ 12.38
肝硬化腹水	36	67.05 $\pm$ 51.91	44.79 $\pm$ 18.02
结核性腹水	8	88.25 $\pm$ 24.12	50.25 $\pm$ 12.57
癌性腹水	23	640.74 $\pm$ 264.81	89.22 $\pm$ 38.20

注:(1)vs(2)、(3)、(4)  $P > 0.05$ ,(1)vs(5)  $P < 0.01$ ,(2)vs(3)(4)  $P > 0.05$ ,(2)vs(5)  $P < 0.01$ ,(3)vs(4)  $P > 0.05$ ,(3)、(4)vs(5)  $P < 0.01$

2.2 各组腹水与各组腹腔液间 VEGF 和 sCD44v6 水平 见表 1 及表注。

2.3 不同恶性肿瘤腹水组间 VEGF 和 sCD44v6 水平 肝癌(2 例)、胰腺癌和原发性腹膜癌(各 1 例)因病例数少,未进行统计学比较。卵巢癌组、胃癌组与结肠癌组间 VEGF 和 sCD44v6 水平见表 2。

表 2 不同恶性肿瘤腹水中 VEGF、CD44v6 含量( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	VEGF 含量 (pg/ml)	sCD44v6 含量 (ng/ml)
卵巢癌(A组)	8	866.25 $\pm$ 208.46	89.42 $\pm$ 25.70
胃癌(B组)	6	541.30 $\pm$ 123.17 * #	83.91 $\pm$ 32.62 #
结肠癌(C组)	5	402.80 $\pm$ 140.10 *	80.10 $\pm$ 9.97

注:B组、C组与A组比较,\*  $P < 0.01$ ,  $P > 0.05$ ;B组与C组比较,#  $P > 0.05$

2.4 腹水 VEGF 和 sCD44v6 含量诊断恶性腹水的敏感性和特异性 以肝硬化腹水作为对照组,以其 VEGF 含量均值上限 118.96 pg/ml 为阳性界值时,恶性腹水组和对照组分别有 21 例和 4 例超过此数值,由此得出腹水中 VEGF 含量诊断恶性腹水的敏感性为 91.3% (21/23),特异性为 88.9% (32/36),阳性预测值为 84.0% (21/25),阴性预测值为 94.1% (32/34),总准确率为 89.8% (53/59)。同样的方法得出腹水中 sCD44v6 含量诊断恶性腹水的敏感性为 73.9% (17/23),特异性为 91.7% (33/36),阳性预测值为 85.0% (17/20),阴性预测值为 84.6% (33/39),总准确率为 84.7% (50/59)。

3 讨论

3.1 VEGF、sCD44v6 对恶性腹水的诊断价值

恶性腹水是肿瘤细胞腹膜腔浸润和转移的结果,是肿瘤患者死亡的主要原因之一。而新生血管的形成成为恶性肿瘤侵袭和转移的必要过程。大量研究证实,VEGF 可促进恶性肿瘤的生长、浸润和转移<sup>[3]</sup>。本实验结果表明,恶性腹水 VEGF 水平明显高于良性腹水,与上述研究结果一致;其诊断恶性腹水的敏感性高(91.3%),特异性强(88.9%)。不同恶性肿瘤腹水间,卵巢癌腹水 VEGF 水平高于胃癌和结肠癌腹水( $P < 0.01$ ),而胃癌组和结肠癌组相比 VEGF 水平则无明显差异( $P > 0.05$ ),这可能与卵巢癌细胞直接分泌大量 VEGF 入腹膜腔有关。这一实验结果提示腹水 VEGF 水平在一定程度上反映肿瘤生物学行为,它的检测极有可能成为恶性腹水诊断的一种新方法。

有体外实验表明,CD44v6 的表达是转移性大鼠胰腺癌细胞株获得转移潜能所必需的<sup>[4]</sup>。CD44v6 可通过蛋白水解酶的作用从细胞膜上脱落下来到血或体液中,从而为利用体液及外周血检测 sCD44v6

奠定了基础。已有不少资料显示肿瘤患者血清中存在可溶性 CD44v6 的高表达<sup>[5-7]</sup>,但未见腹水 sCD44v6 检测的报道。尽管 CD44v6 在癌组织中表达及血清中 sCD44v6 的高表达,其具体机制不明,但总的来说,大部分研究趋向于把它作为一种新的肿瘤标记物,作为判断肿瘤转移及预后的一种标志。本实验结果显示,癌性腹水组 sCD44v6 水平明显高于非癌性腹水组,提示 sCD44v6 可能在肿瘤转移中起重要作用,这与前述研究结果一致。ELISA 法不如分子生物学检测敏感,但与肉眼和病理切片相比,其敏感性提高了许多。本实验研究结果亦提示,sCD44v6 对癌性腹水具有较高的敏感性(73.9%)和特异性(91.7%)。因此,我们认为鉴于 sCD44v6 与肿瘤浸润转移之间的关联性,sCD44v6 有望成为良、恶性腹水的鉴别诊断指标。同时研究发现,不同组织来源癌性腹水间 sCD44v6 水平无明显差异,说明其不具备组织特异性,若与其他指标结合,可协助癌源诊断。

### 3.2 VEGF、sCD44v6 在恶性腹水形成中的作用

国外大量动物实验表明,VEGF 与恶性腹水形成密切相关。有资料显示,许多肿瘤的腹膜转移依赖于 VEGF 水平<sup>[8]</sup>,抑制 VEGF 及其受体表达可以抑制肿瘤生长、转移和腹水形成<sup>[9]</sup>。同时有报道 CD44 的表达与肿瘤细胞腹膜种植,诱发腹水形成密切相关<sup>[10]</sup>。本实验结果发现,癌性腹水 VEGF、sCD44v6 水平均显著高于肝硬化腹水、结核性腹水及良、恶性疾病不伴腹水患者腹腔液;而后四者间比较,VEGF、sCD44v6 水平差异均无显著性。实验还发现,恶性腹水中 sCD44v6 的含量随着 VEGF 水平的增加而增加,体现出肿瘤细胞对其自生的粘附、增殖、营养代谢时刻进行着微妙的调节,同时说明高水平 VEGF 及 sCD44v6 促进和诱发恶性腹水的形成,并在恶性腹水的发生、发展过程中起协同作用。在该过程中 VEGF 致毛细血管通透性增加可能是促使恶性腹水形成的最基本因素,而 sCD44v6 诱发恶性腹水形成则可能与其参与了肿瘤细胞与血管或

淋巴管内皮细胞之间、肿瘤细胞与基膜之间及肿瘤细胞穿出基膜与器官组成细胞之间的粘附这三个肿瘤浸润和转移的过程有关。

综上所述,腹水 VEGF 和 sCD44v6 的检测为良、恶性腹水的鉴别诊断提供了一种敏感性高、特异性强的新方法,他们可能在恶性腹水的发生、发展过程中起重要作用。

### 参考文献:

- [1] Neufeld G, Cohen T, Cen grinovitch S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors [J]. *FASEB J*, 1999, 13 (1): 9-22.
- [2] Oyama T, Ran S, Ishida T, et al. Vascular endothelial growth factor affects dendritic cell maturation through the inhibition of nuclear factor- $\kappa$ B activation in the thymopoietic progenitor cells [J]. *J Immunol*, 1998, 160 (8): 1224-1230.
- [3] Cheng WF, Chen CA, Lee CN, et al. Vascular endothelial growth factor in cervical carcinoma [J]. *Obstet Gynecol*, 1999, 93 (5): 761-765.
- [4] Gunther U, Hofmann M, Rudy W, et al. A new variant of glycoprotein CD44 confers metastatic potential to carcinoma cells [J]. *Cell*, 1991, 65 (1): 13-24.
- [5] Harn H, Ho L, Shyu RY, et al. Soluble CD44 isoforms in serum as potential markers of metastatic gastric carcinoma [J]. *J Clin Gastroenterol*, 1999, 22 (2): 107-110.
- [6] Fichter I, Dehmel A, Naundorf H, et al. Expression of CD44 standard and isoforms in human breast cancer xenografts and shedding of soluble forms into serum of nude mice [J]. *Anticancer Res*, 1997, 17 (5A): 3633-3645.
- [7] Zeimet AG, Widschwendt M, Uhl SM, et al. High serum levels of soluble CD44 variant isoforms are associated with favorable clinical outcome in ovarian cancer [J]. *Br J Cancer*, 1997, 76 (12): 1646-1651.
- [8] Mori A, Arii S, Furutani M, et al. Soluble Flt-1 gene therapy for peritoneal metastases using HVJ-cationic liposomes [J]. *Gene Ther*, 2000, 7 (7): 1027-1033.
- [9] Zebrowski BK, Liu W, Ramirez K, et al. Markedly elevated levels of vascular endothelial growth factor in malignant ascites [J]. *Ann Surg Oncol*, 1999, 6 (3): 373-378.
- [10] Peterson RM, Yu Q, Stamenkovic I, et al. Perturbation of hyaluronan interactions by soluble CD44 inhibits growth of murine mammary carcinoma cells in ascites [J]. *American journal of pathology*, 2000, 156 (6): 2159-2167.

(刘红武校对)