

# 原发性肝癌的 CT 血供分型与 VEGF 相关性

李运成<sup>1,2</sup>, 王群兴<sup>2</sup>, 谭光喜<sup>1,2</sup>, 向希映<sup>2</sup>, 鲁 际<sup>2</sup>, 曾志华<sup>2</sup>, 李丽亚<sup>2</sup>, 张晓磷<sup>2</sup>, 宋 浩<sup>2</sup>

MSCT Feature of Tumor Blood Supply Type in Patients with Hepatocellular Carcinoma : Correlation with Serum Vascular Endothelial Growth Factor( VEGF)

LI Yun-cheng<sup>1,2</sup>, WANG Qun-xing<sup>2</sup>, TAN Guang-xi<sup>1,2</sup>, XIANG Xi-ying<sup>2</sup>, LU Ji<sup>2</sup>, ZENG Zhi-hua<sup>2</sup>, LI Li-ya<sup>2</sup>, ZHANG Xiao-lin<sup>2</sup>, SONG Hao<sup>2</sup>

1. The First College of Clinical Medical Science, Three Gorges University, Yichang 443003, China;

2. Yichang Central People's Hospital

**Abstract :Objective** To study the correlation between the multislice helical CT(MSCT) feature of tumor blood supply type in patients with hepatocellular carcinoma(HCC) and the serum level of vascular endothelial growth factor(VEGF). **Methods** According to the contrast-enhanced characteristic of lesion on MSCT, the tumor blood supply in 60 patients with HCC were classified into different types such as arterial blood supply, portal blood supply, arteroportal blood supply, and poorly blood supply. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to test the serum levels of VEGF collected from 20 healthy individuals and 60 patients with HCC respectively. At last, the CT features of tumor blood supply type were performed statistical analysis with the serum levels of VEGF. **Results** The serum levels of VEGF in 20 patients with arterial blood supply type and 20 patients with arteroportal blood supply were significantly higher than that in 20 healthy individuals and 20 patients with portal blood supply or poorly blood supply type ( $P < 0.01$ ). There was no statistical significance of serum VEGF levels between 20 patients with portal blood supply or poorly blood supply type and 20 healthy individuals( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The pattern of tumor blood supply for HCC on MSCT is correlative with the serum level of VEGF, and it is of great value in the interventional therapy for HCC.

**Key words**: Hepatocellular carcinoma; Endothelial cell-derived growth factors; Type of tumor blood supply; Tomography; X-ray computer

**摘要**:目的 检测肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)患者血清血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)水平与 HCC 血供分型的关系。方法 根据多层螺旋 CT(multislice helical computed tomography, MSCT)增强扫描时病灶的强化特点分为肝动脉、肝动脉加门静脉、少血供等不同血供类型 HCC 患者 60 例;采用酶联免疫吸附(ELISA)法检测 20 例健康人和 60 例 HCC 患者血清中的 VEGF 水平,并将 HCC 血供类型与血管内皮细胞生长因子(VEGF)水平的相关性作统计学分析。结果 20 例肝动脉血供 HCC 患者血清中 VEGF 含量及 20 例门静脉与肝动脉双重血供 HCC 患者 VEGF 水平明显高于少血供和健康人群( $P < 0.01$ );20 例少血供 HCC 患者 VEGF 水平与健康人群无明显差异( $P > 0.05$ )。结论 HCC 患者的 CT 不同血供类型与血清 VEGF 水平有关,可为 HCC 介入治疗方案的制定提供帮助。

**关键词**:肝细胞癌;血供分型;血管内皮细胞生长因子;断层摄影术;X 线计算机

中图分类号:R735.704 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2007)06-0446-03

## 0 引言

原发性肝细胞性肝癌(primary hepatocellular carcinoma, PHCC)在我国是居第 3 位的恶性肿瘤,预后甚差。基础及临床研究人员在基因学、分子生物学等方面进行了深入的研究。大量研究表明, HCC 患者血清中 VEGF 的表达水平是反映 HCC 侵袭生长及转移潜能的有效生物学指标<sup>[1]</sup>。新生血

收稿日期:2007-02-01;修回日期:2007-04-06

作者单位:1. 443003 湖北宜昌,三峡大学第一临床医学院;2. 宜昌市中心人民医院

通讯作者:谭光喜, E-mail: tanguangxi2003@hotmail.com

作者简介:李运成(1968-),男,硕士,医师,主要从事 CT 临床应用

管生成是肝癌生长过程中最重要的现象,血管形成的过程是肿瘤生长和转移所必需的阶段,并影响患者的预后。而 VEGF 是肿瘤血管形成的主要促进因子。HCC 肿瘤病灶的 MSCT 强化方式及影像学表现又与 VEGF 浓度必然有一定的内在联系。本文在前人研究的基础上对 HCC 的 MSCT 多期表现进行肿瘤血供分型,并与 HCC 患者血清中 VEGF 的表达指标进行单因素相关性分析研究,试图以 MSCT 多期扫描评价 HCC 的生物学特性,为 HCC 选择治疗方法提供帮助。

## 1 材料与方法

### 1.1 一般资料

选择 60 例经综合诊断或手术病理证实而肝功能正常的 HCC 患者,术前均进行多层螺旋 CT 动脉期、门脉期和实质期扫描。为排除其他因素干扰,入选病例均无转移和并发症,肝功能正常,术前不进行任何抗肿瘤治疗,空腹抽取外周静脉血 5ml。患者中男 49 例,女 11 例。年龄 28 ~ 74 岁,平均 50.7 岁。甲胎球蛋白阳性者 47 例(占 78%)。

### 1.2 检查方法

采用 GE 公司生产的 Lightspeed QXi 型多层螺旋 CT(4i)机, Liebel-Flarsheim 型高压自动注射器。扫描条件 120 KV, 220mA,层厚及间距均为 5mm。进行动脉期,门脉期及平衡期全肝扫描。对比剂为碘海醇 300mg/ml,总量按 1.5 ml/kg 体重计算。用高压注射器单相注射,注射流量为 3ml/s,经肘静脉注入对比剂后 25 ~ 30s 行动脉期扫描,60 ~ 70s 时行门脉期扫描,110 ~ 120 s 时行平衡期扫描。

### 1.3 肿瘤血供的 MSCT 分型

根据动脉期、门脉期、延迟期扫描 CT 表现,参考黄娟等<sup>[2]</sup>的方法,分为 动脉血供型; 肝动脉和门静脉双重血供型; 少血供型。不同血供类型的肿瘤在强化时间和强化程度上有所不同。在平扫基础上 CT 值增加幅度 < 20HU 为轻度强化;20 ~ 40HU 为一般强化;> 40HU 为明显强化。

### 1.4 实验方法

血标本经 3 000r/min 离心 5min,取上清分装于无菌干燥 EP 管, - 20 °C 冰箱保存。实验前 20min 取出平衡至室温。采用双抗体夹心 ELISA 法检测人血清 VEGF 表达水平。人 VEGF ELISA 试剂盒(进口分装)购自 ADL 生物工程公司,最小可测人 VEGF 达 30pg/ml。实验过程严格按照试剂盒说明进行。

## 2 结果

### 2.1 螺旋 CT 扫描对 HCC 血供的显示

60 例 HCC 中,肝动脉血供型 20 例;肝动脉和门静脉双重血供型共 20 例;少血供型 20 例。

### 2.2 HCC 血供分型与其血清中 VEGF 的表达水平关系见表 1。

表 1 肝癌的 CT 不同血供类型与 VEGF 的表达水平关系

MSCT 分型	VEGF 浓度	P
动脉供血	4.2427 ± 2.4056	0.063 * < 0.01 **
动、门静脉混合供血	2.7280 ± 1.0405	< 0.01 ***
少血供	1.2110 ± 0.3601	0.544 ****
健康人	1.0013 ± 0.4910	

\* 动脉血供与动、门静脉双量血供比较; \*\* 动脉血供与少血供比较; \*\*\* 动、门静脉双量血供与少血供; \*\*\*\* 少血供与健康人

## 3 讨论

### 3.1 VEGF 与肝癌血管生成的关系

恶性肿瘤细胞能分泌多种血管活性物质直接或间接作用于血管内皮细胞,促进血管生成(angiogenesis),其中血管内皮细胞生长因子(VEGF)在肿瘤血管生长中起着很重要的作用,它通过与 VEGF 受体结合,引起一系列信号传导,释放各种生长因子与细胞因子,促进内皮细胞的增殖与迁移,最终引起血管增殖<sup>[3]</sup>,使肿瘤内出现新生毛细血管而获得进一步生长的能力,并呈指数生长,侵犯血管、淋巴而发生转移。

肝脏有肝动脉和门静脉两套供血系统,正常肝组织大都由门静脉供血,而肝癌血供比较复杂多样。新生血管的形成是肝癌血供多样化的关键环节。多数肿瘤在发生后以无血管的方式在组织中存在数月甚至数年而不生长,只有一部分肿瘤可以成功启动血管生成。Folkman 等<sup>[4]</sup>提出了肿瘤诱导血管生成“开关”概念,并且提出了肿瘤血管生成“开关”平衡假说,认为肿瘤局部的血管生成取决于该局部血管生成促进和抑制因子之间的平衡关系,促进因子增加或抑制因子减少都会引起“开关”趋向开启。VEGF 是最主要的促进因子,当局部微环境发生改变使 VEGF 过分表达时,可促进血管的形成,从而引起肝癌血供方式的改变。本研究显示小肝癌早期强化不明显,呈少血供,VEGF 表达水平不高;坏死明显的肿瘤强化也不明显,VEGF 表达水平也不高。这种现象可以说明因 VEGF 表达水平不高,肿瘤血管生成“开关”没有开启而肿瘤新生血管少,肿瘤缺血坏死,导致 CT 强化不明显。而血供丰富的肿瘤 CT 强化明显,VEGF 表达水平高,这说明肿瘤血管生成“开关”已开启,有大量的肿瘤新生血管形成。

### 3.2 HCC 的 CT 血供分型与 VEGF 表达

VEGF 诱导肿瘤血管生成“开关”开启。肿瘤新生血管的形成决定 HCC 血供类型,血供类型又决定了 CT 的强化表现。HCC 血供类型与 VEGF 表达和 CT 表现之间存在着必然的联系。本研究 CT 显示,动脉血供型在动脉早期可以看见异常血管显影,而肿瘤的强化在动脉晚期和毛细血管期最明显,CT 值较平扫增高 40 HU 以上;动、门脉双重血供型的肿瘤强化时间较动脉血供型稍晚,最佳强化时间在毛细血管期和平衡期,强化程度与动脉血供型无显著差异;部分小肝癌或肝癌大面积坏死时肿瘤表现为少血供,少血供型仅表现平衡期病灶内或边缘轻微强化,CT 值较平扫仅增高 20HU 左右。肿瘤强化程度与 VEGF 的表达水平呈正相关;动脉血供型与动、门脉双重血供型的血清 VEGF 表达水平都高,二者无明显差异 ( $P > 0.05$ );动脉血供型与动、门脉双重血供型的血清 VEGF 表达水平明显高于少血供型血清 VEGF 表达水平 ( $P < 0.01$ );少血供型血清 VEGF 表达水平与正常组血清 VEGF 表达水平无明显差异 ( $P > 0.05$ )。从肿瘤的最佳强化时间来看,说明肿瘤微血管越丰富,强化越明显,

VEGF 表达水平也越高。同时也说明 VEGF 表达与肿瘤的微血管密度有关<sup>[5]</sup>。

通过 CT 增强扫描既可以了解肿瘤的血供类型,又可以预测肿瘤的 VEGF 表达水平,帮助我们选择治疗方法。TACE 治疗血供丰富的肿瘤短期效果较好,被广泛采用。但是血供丰富的肿瘤 VEGF 表达水平都高。采用 TACE 灌注化疗与抗血管生成抑制剂相结合可提高疗效。

#### 参考文献:

- [1] 赵建军,胡敬群,蔡建强,等. 血管内皮生长因子在肝细胞癌血清中的表达意义[J]. 中华肿瘤杂志,2001,23(5):389-392.
- [2] 黄娟,周祥平,刘荣波,等. 原发性肝癌血供特点的类型螺旋 CT 表现及其与病理学特点的相关性研究[J]. 中华放射学杂志,2000,34(11):753-756.
- [3] 姚登福,祝勇,吴信华,等. 人肝癌组织血管内皮生长因子及微血管密度分析的临床价值[J]. 中华肝脏病杂志,2004,12(2):92-94.
- [4] Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenesis switch during tumorigenesis[J]. Cell,1996,86(3):353-364.
- [5] Mise M, Arii S, Higashitani H, et al. Clinical significance of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor gene expression in liver tumor[J]. Hepatology,1996,23:455-464.

[编辑:贺文;校对:马福元]

(上接第 411 页)

肿瘤的治疗提供新方法,我们克隆出了 Livin 两种异构体形式,并发现其在第 528 位碱基(第 176 位密码子)发生突变,由于是同义突变(TCC~TCT 丝氨酸),不影响蛋白表达氨基酸序列,这一点同孙建国等<sup>[11]</sup>的研究结果一致,并认为这是人种误差造成的结果。

由于 Livin 的分子结构、生物学功能、活性调节等多方面尚待进一步阐明,得到足够数量和纯度的蛋白是进一步研究的关键。因此,我们利用基因重组技术构建工程菌,采用 his 基因融合表达系统 pET32a(+) 构建了 pET32a(+)/livin 融合表达重组体,成功表达了 Livin 和 Livin 融合蛋白。实验证明,pET32a(+)-livin/BL21 和 pET32a(+)-livin/BL21 表达条件基本一致,这两种工程菌生长营养要求简单,易于表达,稳定性好。本研究确定了工程菌的最适诱导条件,即选定了 LB 作为最佳培养基,pH 6.5~7.0,对数中期开始诱导 4.5h,表达量高,为进一步扩大生产打下了良好的基础,此融合蛋白也可进一步用于抗体制备、免疫鉴定和诊断等研究,其应用价值非常广泛。

#### 参考文献:

- [1] Kasof GM, Gomes BC. Livin, a novel inhibitor of apoptosis protein family member[J]. J Biol Chem,2001,276(5):3238-

3246.

- [2] Vucic D, Stennicke HR, Pisabarro MT, et al. ML-IAP, a novel inhibitor of apoptosis that is preferentially expressed in human melanomas[J]. Curr Biol,2000,10(21):1359-1366.
- [3] Gazzaniga P, Gradilone A, Guliani L, et al. Expression and prognostic significance of LIVIN, SURVLIVIN and other apoptosis-related genes in the progression of superficial bladder cancer[J]. Ann Oncol,2003,14(1):85-90.
- [4] Crnkovic M I, Hoppe S F, Butz K. Induction of apoptosis in tumor cells by siRNA-mediated silencing of the livin/MLIAP/KIAP gene[J]. Oncogene,2003,22(51):8330-8336.
- [5] Crnkovic-Mertens, Semzow J, Hoppe-Seyler F, et al. Isoform-specific silencing of the Livin gene by RNA interference defines Livin as key mediator of apoptosis inhibition in HeLa cells[J]. J Mol Med,2006,84(3):232-240.
- [6] Wright CW, Duckett CS. Reawakening the cellular death program in neoplasia through the therapeutic blockade of IAP function[J]. J Clin Investigation,2005,115(10):2673-2678.
- [7] Sanna MG, da Silva Correia J, Ducrey O, et al. IAP suppression of apoptosis involves distinct mechanisms: The TAK1/JNK1 signaling cascade and caspase inhibition[J]. Mol Cell Biol,2002,22(6):1754-1766.
- [8] Yagihashi A, Asanuma K, Kobayashi D, et al. Detection of autoantibodies to livin and survivin in sera from lung cancer patients[J]. Lung Cancer,2005,48(2):217-221.
- [9] Yagihashi A, Ohmura T, Asanuma K, et al. Detection of autoantibodies to survivin and livin in sera from patients with breast cancer[J]. Clin Chim Acta,2005,362(1-2):125-130.
- [10] Ma L, Y Huang, Z Song, et al. Livin promotes Sac/DIABLO degradation by ubiquitin-proteasome pathway[J]. Cell Death Differ,2006,13(12):2079-2088.
- [11] 孙建国,陈正堂,王志新,等. 凋亡抑制蛋白 Livin 两种异构体真核表达载体的构建及表达鉴定[J]. 第三军医大学学报,2005,27(19):1935-1938.

[编辑:周永红;校对:安凤]