

· 临床研究 ·

40 例非霍奇金淋巴瘤患者 VEGF 与 sCD40L 的表达及临床意义*

杨 敏, 陈 琦, 黄丽娟

(遵义医学院附属医院血液内科, 贵州遵义 563003)

摘要:目的 探讨非霍奇金淋巴瘤(NHL) 血浆中血管内皮细胞生长因子(VEGF)与 sCD40L 表达、临床意义及相关性。方法 用 ELISA 检测 40 例 NHL 患者(NHL 组)和 10 例健康志愿者(对照组) VEGF、sCD40L 水平, 以及 NHL 患者化疗后 VEGF、sCD40L 水平变化。分析 NHL 患者血浆中 VEGF 与 sCD40L 表达水平、临床意义和相关性。结果 化疗前 NHL 组患者 VEGF 表达水平高于对照组($P < 0.001$); 而血浆 sCD40L 水平低于对照组($P < 0.001$), NHL 化疗缓解组 sCD40L 在化疗后上升, 与化疗前比较差异有统计学意义($P < 0.001$); VEGF 化疗后下降, 与化疗前比较差异有统计学意义($P < 0.001$); 化疗前 VEGF 与 sCD40L 表达无相关性($P > 0.05$); sCD40L 在首疗程化疗间歇期末达完全缓解(CR)组仍低于对照组($P < 0.001$); VEGF 在首疗程化疗间歇期末达 CR 组仍高于对照组($P < 0.001$)。结论 VEGF、sCD40L 可能与 NHL 的发病及预后有关, VEGF、sCD40L 正常可作为 NHL 化疗停药的指征。

关键词:淋巴瘤, 非霍奇金; 血管内皮细胞生长因子; 可溶性 CD40L 配体

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.02.011

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)02-0131-02

Clinical significance of VEGF and sCD40L expression in 40 cases of non-Hodgkin's lymphoma*

Yang Min, Chen Qi, Huang Lijuan

(Department of Hematology, the Affiliated Hospital, Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563003, China)

Abstract: Objective To explore the expression and clinical significance of VEGF and sCD40L in plasma of non-Hodgkins lymphoma(NHL) patients. **Methods** The expression of VEGF and sCD40L in plasma of 10 healthy persons and 40 NHL patients were detected by ELISA, The 40 NHL patients were divided into the before and after chemotherapy groups. Whose results were compared with each other and those of 10 healthy persons. The relationship between VEGF and sCD40L in plasma of NHL patients was also analyzed. **Results** The expression of VEGF in NHL patients was higher than that in the healthy matched controls($P < 0.001$); While the expression of sCD40L was lower than that of control group($P < 0.001$). The level of sCD40L expression was significantly increased after chemotherapy($P < 0.001$); The level of VEGF expression was significantly decreased($P < 0.001$). Before chemotherapy, There was no correlation between the expression of VEGF and sCD40L in plasma of NHL patients($P > 0.05$). The expression of sCD40L in NHL patients who could not be CR in the intermittent period was lower than the control groups($P < 0.001$); However the expression of VEGF was still higher than the control groups($P < 0.001$). **Conclusion** VEGF and sCD40L may be related to the development and prognosis NHL patients, Therefore they may be considered the important indication of withdrawal in NHL patients.

Key words: lymphoma, non-hodgkin; lymphoma; vascular endothelial growth factor; sCD40L

非霍奇金淋巴瘤(non-hodgkins lymphoma, NHL)近年来发病率逐年上升。按病理免疫分型, NHL 多数为全身性疾病, NHL 侵袭性原因十分复杂, 发病机制尚未完全明了。NHL 按目前常规的治疗方案(如 CHOP 方案), 5 年无病生存率达到 41%~80%, 但是仍有 20%~59% 的患者常规治疗失败和复发, 挽救性治疗的效果较差^[1]。NHL 患者在诊断或预后方面少有特异性标记物, 近年来, 发现了一些与淋巴瘤诊断或预后相关的新指标。这些新的淋巴瘤预后相关因素包括血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)^[2], VEGF 作为一种血管新生的正性调控因子, 在肿瘤的增殖、浸润和转移中起重要作用, 并且和预后有关。可溶性 CD40L 配体 sCD40L 是 CD40L 在与 CD40 相互作用时, 部分膜型 CD40L 被水解而形成, 它以同型三聚体的形式存在, 并保留了 CD40L 的生物学活性, sCD40L 可抑制人 CD40⁺ 肿瘤增殖^[3]。作者通过检测 NHL 患者血清中 sCD40L 和 VEGF, 以了解 sCD40L、VEGF 在 NHL 的表达及与 NHL 诊断、预后的相关性, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 40 例标本均来自本科 2008 年 10 月至 2010 年 3 月经活组织病理检查证实明确诊断的新发 NHL。经形态及免疫组化 T、B 细胞亚型检查证实为 B 细胞型 NHL 32 例, T 细胞型 NHL 8 例。所有患者均在化疗前采集血标本, 并在首疗程间歇期末采集标本。化疗后根据 1999 年 IWG 制定的非霍奇金淋巴瘤疗效评价标准分为缓解组[完全缓解(CR)、不确定的完全缓解(Cru)、部分缓解(PR)]、无效组[疾病稳定(SD)、复发、疾病进展(PD)]^[4]。另取 10 例体检正常的健康志愿者的血标本为对照组。

1.2 方法 静脉采血 2~3 mL 抗凝、离心、分离血浆在 -70℃ 冰箱冻存。使用 ELISA 检测 sCD40L 及 VEGF 水平。sCD40L 试剂盒购于奥地利 Bender 公司, VEGF 试剂盒购于 Gene Tech(上海)有限公司, 操作按说明书进行。

1.3 统计学处理 t 检验、配对资料 t 检验、直线相关分析, 使用 SPSS13.0 统计软件进行统计学分析。

* 基金项目:遵义医学院附属医院硕士启动基金资助项目[(2007)50]。

2 结 果

2.1 NHL 化疗前组与 NHL 化疗缓解组 sCD40L、VEGF 检测结果比较 见表 1。

表 1 各组 sCD40L、VEGF 检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	sCD40L($\mu\text{g/L}$)	VEGF(ng/L)
对照组	10	3.17 \pm 0.19	28.52 \pm 9.25
NHL 化疗前组	40	0.18 \pm 0.05 \blacktriangle	38.32 \pm 2.65 \blacktriangle
NHL 化疗缓解组	36	1.25 \pm 0.73 \blacksquare	16.32 \pm 9.48 \blacksquare

\blacktriangle : $P < 0.001$, 与对照组比较; \blacksquare : $P < 0.001$, 与 NHL 化疗前组比较。

2.2 NHL 治疗前组与对照组 sCD40L、VEGF 检测结果比较 sCD40: NHL 组与对照组比较, $t = -9.66$, $P < 0.001$; VEGF: NHL 组与对照组比较, $t = 4.254$, $P < 0.001$, 见表 1。

2.3 NHL 患者化疗前 sCD40L、VEGF 相关性分析 无相关性, $r = 0.122$, $P = 0.452$ 。

2.4 NHL 化疗缓解组化疗前、后 VEGF 水平比较 化疗后 VEGF 水平下降($t = 12.325$, $P < 0.001$)。

2.5 NHL 化疗缓解组化疗前、后 sCD40L 水平比较 化疗后 sCD40L 水平上升($t = -19.072$, $P < 0.001$)。

2.6 首疗程化疗间歇期末达 CR 组与对照组 sCD40L、VEGF 水平比较 sCD40L 仍低于对照组($t = 6.036$, $P < 0.001$); VEGF 仍高于对照组($t = -4.927$, $P < 0.001$)。

3 讨 论

VEGF 具有促进血管内皮细胞增殖、增强血管通透性及改变细胞外基质的作用, 与肿瘤的生长密切相关。有研究证实, VEGF 能特异性地刺激血管内皮细胞增殖, 并通过增加血管通透性和刺激新生血管的形成促使肿瘤生长^[5-7]。它可能是肿瘤侵袭、转移过程中的主要蛋白水解酶^[8-9], 在血管生成中起重要的促进内皮细胞微管网状结构形成的作用^[10]。

CD40 是相对分子质量为 40~50 kD 的 I 型跨膜糖蛋白, 由 227 个氨基酸残基组成, 属肿瘤坏死因子受体(TNF-R)超家族成员^[11]。sCD40L 是 CD40L 在与 CD40 相互作用时, 部分膜型 CD40L 被水解而形成, 它以同型三聚体的形式存在, 并保留了 CD40L 的生物学活性^[12]。文献^[13-15]报道 CD40L 与 CD40 结合具有可诱导肿瘤细胞表面 Fas 表达水平的提高, 抑制 CD40⁺T 肿瘤细胞生长并诱导其凋亡, 并且与肿瘤的生物行为密切相关; 用 CD40L 处理慢性淋巴细胞白血病细胞, 可明显增强其对抗肿瘤药氟达拉滨的敏感性, 其机制主要通过下调 Bcl-2, 上调 TNF-R-1 型和 TNF-R-2 型, 释放 TNF- α 和 TNF- γ , 从而促进肿瘤细胞发生凋亡; B-CLL 细胞转染 CD40L 后, 可上调协同刺激分子表达, 在体外可促进增殖并产生细胞毒 T 细胞, 杀死未转染的肿瘤细胞, 以上研究说明 sCD40L 从凋亡及细胞毒性水平产生抗肿瘤作用。

本研究结果显示, NHL 组化疗前 VEGF 表达水平高于对照组($P < 0.001$); 而 sCD40L 水平低于对照组($P < 0.001$), 提示 VEGF 促进 NHL 的侵袭性, 可能的机制是 VEGF 的高表达体现了细胞增殖活性的提高, 进而出现癌变及恶性度的变化, 而 sCD40L 在化疗前水平下降, 提示肿瘤细胞凋亡受阻, 细胞毒性抗肿瘤作用减弱, 肿瘤细胞生长。NHL 化疗缓解组化疗后 sCD40L 上升, 与化疗前比较差异有统计学意义; VEGF 下降, 与化疗前比较差异有统计学意义。化疗达到缓解时 sCD40L 上升, VEGF 下降, 提示 sCD40L、VEGF 可以作为诊断及预后判断的指标。化疗前 VEGF 与 sCD40L 表达无相关性($P = 0.452$), 提示 VEGF 与 sCD40L 的作用途径可能不同。首疗程化疗间歇期末达 CR 组 sCD40L 仍低于对照组($P < 0.001$); VEGF 仍高于对照组($P < 0.001$)。提示虽然 NHL 患

者首疗程化疗达缓解, 临床上没有症状、体征, 但由于患者体内存在残存肿瘤细胞, 在具作用下 VEGF、sCD40L 的表达仍为异常, 提示 VEGF、sCD40L 对 NHL 患者具有较高的敏感性, 在 VEGF 的刺激及 sCD40L 抗肿瘤作用不足的情况下, 肿瘤细胞继续生长, 而导致肿瘤的复发, 可将 VEGF、sCD40L 正常作为 NHL 化疗停药的指征。

参考文献:

- [1] Sehn LH. Optimal use of prognostic factors in non-Hodgkin lymphoma[J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2006, 295(3): 421-424.
- [2] Wrobel T, Poreba M, Mazur G, et al. Angiogenic and coagulation-fibrinolysis factors in non-Hodgkin's lymphoma[J]. Neoplasma, 2006, 53(3): 253-255.
- [3] Lee JK, Sayer TJ, Tetsuya FK, et al. Constitutive expression of functional CD40 on mouse renal cancer cell induction of Fas and Fas-mediated killing by CD40L[J]. Cell Immunol, 2005, 235(2): 145-152.
- [4] 张之南, 沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京: 科学技术出版社, 2008: 132-133.
- [5] Krupski T, Harding MA, Hecce ME, et al. The role of vascular endothelial growth factor in the tissue specific in vivo growth of prostate cancer cells[J]. Growth Factors, 2001, 18(4): 287-302.
- [6] Wroel T, Mazur G, Dziegiel P, et al. Density of intranodal lymphatics and VEGF-C expression in B-cell lymphoma and reactive lymph nodes[J]. Folia Histochem Cytobiol, 2006, 44(1): 43-47.
- [7] 王谊, 侯梅, 张智慧, 等. VEGF 在恶性淋巴瘤患者血清与骨髓中的表达及其临床意义的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2007, 14(6): 433-435.
- [8] Medinger M, Skoda R, Gratwchl A. Angiogenesis and vascular endothelial growth factor 2/receptor expression in myeloproliferative neoplasms: correlation with clinical parameters and JAK2-V617F mutational status[J]. Br J Haematol, 2009, 146(2): 150-157.
- [9] 林颖, 杨鹏麟, 姚荣欣. 急性白血病患者血清 VEGF 及 VEGFR-2 的临床研究[J]. Clinical Hematology, 2009, 22(11): 608-609.
- [10] Roskoski R. Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2007, 62(3): 179-182.
- [11] de Totero D, Tazzari PL, Capaia M, et al. CD40 triggering enhances fludarabine-induced apoptosis of chronic lymphocytic leukemia B-cells through autocrine release of tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma and tumor necrosis factor receptor-1-2 upregulation[J]. Haematologica, 2003, 88(2): 148-158.
- [12] Ottaiano A, Pisano C, De Chiara, et al. CD40L activation as potential tool in malignant neoplasms[J]. Tumori, 2002, 88(5): 361-366.
- [13] Ho L, Davis RE, Conne B, et al. MALT1 and the API2-MALT1 fusion act between CD40 and IKK and confer NF-kappa B-dependent proliferative advantage and resistance against FAS-induced cell death in B(下转第 134 页)

或血尿症状消失;术后 2 年 GFR 为 (86.2 ± 18.5) mL/min, 显示术侧肾功能明显改善;B 超检查示术侧肾脏集合系统分离 $[(8 \pm 4.3)$ mm] 明显缓解,输尿管扩张 $[(5.7 \pm 12.0)$ mm] 明显缓解;IVP+KUB 检查示术侧造影剂排泄通畅,CT 检查示术侧肾积水改善、狭窄处恢复通畅。12 例无效患者因输尿管扭曲、斑马导丝不能通过狭窄处等原因行输尿管狭窄切除输尿管再吻合术治愈(表 1)。

表 1 治疗前、后相关指标变化($\bar{x} \pm s$)

时间	GFR(mL/min)	集合系统分离(mm)	输尿管直径(mm)
治疗前	$47.6 \pm 12.7^*$	$23.5 \pm 11.7^*$	$12.7 \pm 9.6^*$
治疗后	86.2 ± 18.5	8.0 ± 4.3	5.7 ± 12.0

*: $P < 0.05$, 与治疗前比较。

3 讨论

输尿管狭窄常见于输尿管的炎症、结石、外伤以及医源性操作后。输尿管狭窄是造成输尿管梗阻的常见原因,梗阻以上尿路扩张是输尿管狭窄的继发病变,可以引起继发患侧集合系统扩张、肾积水、肾功能下降直至肾脏无功能,还可能继发结石、感染。因此,对输尿管狭窄应及时处理解除梗阻,在输尿管梗阻导致患侧肾功能丧失前及时挽救肾功能^[4-6]。自文献等^[7-10]首先报道采用逆行输尿管镜下内切开术治疗输尿管及肾盂输尿管连接部狭窄以来,此技术被泌尿外科医师广泛接受并得到了较快的发展。本科自 2003 年逐渐开展输尿管镜下钬激光内切开治疗单纯输尿管狭窄,选择的病例不包括患侧肾脏皮质变薄无功能、输尿管闭锁、泌尿系统重度感染、异位血管或纤维索带压迫、腔静脉后输尿管、泌尿系统结核等。

73 例患者中 49 例取得了较好的效果,治愈率为 67.1%, 术后腰痛或血尿症状消失, GFR 升高 $[(86.2 \pm 18.5)$ mL/min], B 超检查示术侧肾脏集合系统分离 $[(8 \pm 4.3)$ mm] 较术前明显缓解,输尿管扩张 $[(5.7 \pm 12)$ mm] 较术前明显缓解;IVP+KUB 检查示术侧造影剂排泄通畅,CT 检查示术侧肾积水改善、狭窄处恢复通畅。输尿管镜下钬激光在进行组织切割的同时,还可以对组织进行止血处理,而其他内切开是无法进行止血处理的,激光对组织的切割、汽化和止血作用,基本无热损伤,且操作精确,增加了手术安全性、准确性^[11-12]。本研究中作者选择了单纯的输尿管狭窄患者,因为据文献报道对于患侧肾脏皮质变薄无功能、输尿管闭锁、泌尿系统重度感染、异位血管或纤维索带压迫、腔静脉后输尿管、泌尿系统结核等患者内切开治疗效果欠佳,往往需要再次手术治疗或者开放手术治疗。对于继发肾结石患者,本次手术不处理肾结石,如结石较小,术前行体外冲击波碎石治疗;结石较大者则 II 期行经皮肾镜碎石取石术。对于输尿管狭窄以上并发输尿管结石者切开狭窄处输尿管后进行钬激光输尿管镜下碎石术,如结石滑回肾脏,则术前行体外冲击波碎石治疗^[13-14]。作者认为手术关键在于在输尿管镜下必须确认输尿管导管或者斑马导丝通过狭窄处,切开部位要避开输尿管血管走行方向,一般选择后外侧切开比较安全,切开深度要达到脂肪组织,切开长度一定要超过狭窄段 5~10 mm。12 例无效患者因输尿管扭曲、斑马导丝不能通过狭窄处等原因行输尿管狭窄切除输尿管再吻合术治愈^[15]。

参考文献:

- Coloma PA, Bocardo FG, Teba PF, et al. Endoscopic treatment of a giant fibroepithelial polyp of the ureter [J]. Arch Esp Urol, 2010, 63(4): 305-308.
- Lin CM, Tsai TH, Lin TC, et al. Olmium: yttrium-aluminum-garnet laser endoureterotomy for benign ureteral strictures: a single-centre experience [J]. Cta Chir Belg, 2009, 109(6): 746-750.
- Gnessin E, Yossepowitch O, Holland R, et al. Holmium laser endoureterotomy for benign ureteral stricture: a single center experience [J]. J Urol, 2009, 182(6): 775-779.
- Lefi M. Retrograde endopyelotomy for stenosis of the renal pelvis and ureter junction [J]. Prog Urol, 2009, 19(7): 512-514.
- Xi Q, Wang S, Ye Z, et al. Combined removal of stones with resection of concurrent pathologic ureter may be a preferred treatment for impacted ureteral stones with stricture lesions [J]. J Endourol, 2009, 23(2): 243-247.
- Shao Y, Zhuo J, Sun XW, et al. Nonstented versus routine stented ureteroscopic holmium laser lithotripsy: a prospective randomized trial [J]. Urol Res, 2008, 36(5): 259-563.
- Inglis JA, Tolly DA. Ureteroscopic pyelolysis for pelviureteric junction obstruction [J]. Br J Urol, 1986, 58: 250-255.
- Straub M, Strauss W, Falkenstein W, et al. Current status of the holmium laser in treatment of strictures of the urinary tract [J]. Urologe A, 2007, 46(9): 1238-1239.
- Carey RI, Bird VG. Endoscopic management of 10 separate fibroepithelial polyps arising in a single ureter [J]. Urology, 2006, 67(2): 413-415.
- 胡志全, 庄乾元, 王志华, 等. 钬激光内切开术治疗输尿管及 UPJ 狭窄(附 26 例报道) [J]. 中国现代医学杂志, 2005, 15(11): 1698-1700.
- 陈刚, 吴小候, 唐伟, 等. 输尿管镜下钬激光治疗合并息肉的输尿管结石 [J]. 重庆医学, 2009, 38(17): 2144-2155.
- 曹伟, 刘齐贵, 窦昆, 等. 输尿管狭窄行钬激光内切开术治疗体会 [J]. 临床泌尿外科杂志, 2007, 15(10): 720-721.
- 沈华, 吴宏飞, 于洪波, 等. 输尿管镜钬激光碎石术中输尿管狭窄的处理 [J]. 中华腔镜泌尿外科杂志, 2010, 4(5): 391-393.
- 袁琳, 顾晓箭, 朱清毅, 等. 钬激光经输尿管镜手术治疗输尿管狭窄(附 52 例报道) [J]. 中国微创外科杂志, 2008, 8(10): 883-885.
- 尹志康, 吴小候, 唐伟, 等. 重庆地区多家医院经输尿管镜治疗结石并发输尿管断裂撕脱防治分析 [J]. 重庆医学, 2010, 39(22): 3059-3061.

(收稿日期: 2011-07-09 修回日期: 2011-09-22)

(上接第 132 页)

cells [J]. Blood, 2005, 105(17): 2891-2849.

- Tolba KA, Bowers WJ, Hilchey SP, et al. Development of herpes simplex virus-1 anplicon-based immunotherapy for chronic lymphocytic leukemia [J]. Blood, 2001, 98(2): 287-295.

- Tong AW, Stone MJ. Prospects for CD40-directed experimental therapy of human cancer [J]. Cancer Gene Ther, 2003, 10(1): 10-13.

(收稿日期: 2011-06-17 修回日期: 2011-08-15)