

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.23.015

## 肝细胞癌多普勒超声征象与血清 HMGB1、VEGF 水平的关系

祁红

(武警福建总队医院特检科,福州 350003)

**摘要:**目的 探讨肝细胞癌多普勒超声征象与血清高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)和血管内皮生长因子(VEGF)表达的关系。方法 采用多普勒超声对 96 例肝癌患者肿瘤大小进行大体形态分型,同时检测血流分级,采用 ELISA 法测定患者血清 HMGB1 和 VEGF 的水平。结果 结节型和巨块型患者血清 HMGB1 明显高于小肝癌型( $53.5 \pm 4.3$ ) ng/mL,巨块型患者血清 HMGB1( $102.9 \pm 9.7$ )ng/mL 明显高于结节型( $76.0 \pm 6.2$ ) ng/mL( $P < 0.05$ );小肝癌型、结节型、巨块型患者血清 VEGF 比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。随血流分级增高,血清 HMGB1 和 VEGF 水平亦逐渐增加( $P < 0.05$ )。结论 血清 HMGB1 与肝细胞癌形态分型有关,血清 HMGB1 和 VEGF 水平随超声血流分级增加而升高。

**关键词:**肝细胞癌;多普勒超声;高迁移率族蛋白 1;血管内皮生长因子

**中图分类号:**R735.7;R445.1

**文献标识码:**A

**文章编号:**1671-8348(2014)23-3017-02

## The relationship between the ultrasonic sign and expression of HMGB1, VEGF in serum of hepatocellular carcinoma

Qi Hong

(The Special Inspection Department of Fujian Armed Police Corps Hospital, Fuzhou, Fujian 350003, China)

**Abstract:** Objective To investigate the relationship between the ultrasonic sign and expression of HMGB1, VEGF in serum of hepatocellular carcinoma patients. Methods Doppler ultrasound was used to inspect the size of the tumor and to analyze the typing and flow classification. The ELISA was used to check the HMGB1 and VEGF in serum. Results The expression level of HMGB1 in nodular and massive group was higher than that in small modelgroup ( $53.5 \pm 4.3$ ) ng/mL. The expression level of HMGB1 in massive group( $102.9 \pm 9.7$ )ng/mL was higher than that in nodular group( $76.0 \pm 6.2$ ) ng/mL( $P < 0.05$ ). The VEGF among three groups had no difference( $P > 0.05$ ). With the increase of flow classification, the levels of HMGB1 and VEGF also increased( $P < 0.05$ ). Conclusion The HMGB1 in serum has some connection with morphology types. The HMGB1 and VEGF in serum increase with the flow classification.

**Key words:** hepatocellular carcinoma; doppler ultrasound; high mobility group box protein 1; vascular endothelial growth factor

原发性肝癌是指原发于肝细胞或肝内胆管细胞的恶性肿瘤,是中国常见的恶性肿瘤之一,其病死率仅次于胃癌、食管癌。在细胞分型中,90%以上为肝细胞癌。肝细胞癌患者起病隐匿,早期症状多不明显;一旦出现症状,病情则迅速进展,往往在数月至 1 年内死亡。早期发现、早期诊断仍是当前的研究热点<sup>[1]</sup>。肝细胞癌是典型的血管密集型恶性肿瘤,已知血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是作用最强的血管生成促进因子。近年研究发现,高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box protein 1, HMGB1)与肝癌的发生、发展也有密切关系<sup>[2]</sup>。本研究通过观察肝细胞癌多普勒超声征象与患者血清 HMGB1 和 VEGF 表达的关系,探讨超声联合血清学指标对肝细胞癌的诊断价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2012 年 1 月至 2013 年 7 月在本院接受治疗的 96 例肝细胞癌患者为研究对象,所有患者均于术后经病理检查确诊,其中,男 53 例,女 43 例,年龄 43.5~78.0 岁,平均( $55.0 \pm 7.5$ )岁。癌肿块最大直径为 14.6 cm,最小直径为 1.9 cm,平均直径为 6.2 cm。

## 1.2 方法

**1.2.1 主要试剂和仪器** 人 HMGB-1 ELISA 试剂盒购自厦门慧嘉生物科技有限公司,人 VEGF ELISA 试剂盒购自日本 IBL 公司。MGLG10-2.4A 型台式高速离心机购自北京中西远大科技有限公司;680 型全自动酶标仪购自美国 Bio-Rad 伯

乐公司,LOGIQ7 型彩色超声诊断仪购自美国 GE 公司。

**1.2.2 肝脏彩色多普勒超声** 应用腹部凸阵探头,探头频率为 3.5~5.0 MHz,仪器具备彩色多普勒血流图和脉冲多普勒频谱功能。患者空腹取平卧位、左侧卧位,在剑突下、右肋间、右肋缘下作不同方向、不同切面检查,必要时嘱患者深吸呼气,以利于肝脏盲区显像;行二维超声检查,观察肝脏回声、肿瘤大小形态、周边及内部回声。根据肝细胞癌直径的大小分为小肝癌型(小于或等于 3 cm)、结节型(3~10 cm)及巨块型(大于 10 cm)。

彩色多普勒血流显像探测肿瘤组织内及其周边的血流情况,用脉冲多普勒测血流频谱,观察病灶周边及内部的彩色血流分布情况。调整各技术参数,直至肿瘤血流显示最佳,对癌肿块进行血流分级:瘤内及周边见稀疏星点状或短线状血流信号为 I 级;瘤内及周边血流呈 3 条以上长线状或分支状彩色血流为 II 级;瘤内密集团块状或弥漫分布的彩色血流为 III 级<sup>[3]</sup>。

**1.2.3 ELISA 法检测血清 HMGB1、VEGF 变化** 所有患者于入院后、未手术前,空腹 12 h,抽取外周静脉血 5 mL,以 3 000 r/min 离心 10 min,分离血清,放置于 -70 ℃ 低温冰箱保存待测。ELISA 法检测血清 HMGB1:标准品浓度 200 ng/mL,倍比稀释:200、100、50、25、12.5、6.25、3.125 ng/mL。设置空白孔,加待测样品 100 μL,加终止液 100 μL,取标准品和待测样品各 100 μL 加于反应板微孔,轻轻混匀,加盖 37 ℃ 温

育 2 h。弃液,加入 100  $\mu\text{L}$  生物素标记抗体工作液,加盖 37  $^{\circ}\text{C}$  温育 1 h。弃液,洗板 5 次,甩干加辣根过氧化物酶标记亲和素工作液 100  $\mu\text{L}$ ,加盖 37  $^{\circ}\text{C}$  温育 1 h。弃液,洗板 5 次,甩干加 TMB 溶液 100  $\mu\text{L}$ ,加盖 37  $^{\circ}\text{C}$  温育 30 min,每孔加 50  $\mu\text{L}$  终止液。在 450 nm 处检测各孔吸光度值,对照标准曲线,计算血清 HMGB1 的浓度<sup>[4]</sup>。ELISA 法检测血清 VEGF:标准品浓度 2 000 pg/mL,倍比稀释得 1 000、500、250、125、62.5、31.25、15.63 pg/mL。加酶标抗体前洗板 7 次,加显色剂前洗板 9 次。其余操作同 HMGB1 检测<sup>[5]</sup>。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS16.0 软件进行统计学处理,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,多组均数间的比较采用方差分析,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同类型肝细胞癌血清 HMGB1、VEGF 的表达** 结节型和巨块型患者血清 HMGB1 明显高于小肝癌型,巨块型患者血清 HMGB1 明显高于结节型( $P<0.05$ );小肝癌型、结节型、巨块型患者血清 VEGF 依次升高,但组间比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 1。

表 1 不同类型肝细胞癌血清 HMGB1、VEGF 的表达( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	HMGB1(ng/mL)	VEGF(pg/mL)
小肝癌型组	35	53.5 $\pm$ 4.3	205.6 $\pm$ 74.0
结节型组	34	76.0 $\pm$ 6.2*	243.5 $\pm$ 82.4
巨块型组	27	102.9 $\pm$ 9.7#▲	262.7 $\pm$ 88.5

\*: $P<0.05$ ,#:  $P<0.01$ ,与小肝癌型组比较;▲: $P<0.05$ ,与结节型组比较。

**2.2 不同血流分级 HMGB1、VEGF 的表达** 血流分级 II 级组患者血清 HMGB1 和 VEGF 均明显高于 I 级组( $P<0.05$ ),血流分级 III 级组患者血清 HMGB1 和 VEGF 均明显高于 II 级组( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 不同血流分级 HMGB1、VEGF 的表达( $\bar{x}\pm s$ )

血流分级	n	HMGB1(ng/mL)	VEGF(pg/mL)
I 级	30	52.8 $\pm$ 5.0	201.5 $\pm$ 68.2
II 级	31	84.2 $\pm$ 7.9*	295.7 $\pm$ 91.3*
III 级	35	107.4 $\pm$ 9.6#▲	385.0 $\pm$ 94.9*▲

\*: $P<0.05$ ,#:  $P<0.01$ ,与 I 级比较;▲: $P<0.05$ ,与 II 级比较。

## 3 讨论

中国是肝癌的高发区,死亡数与发病数接近,肝癌已成为威胁人民生命健康的一大杀手。肝癌中绝大多数为肝细胞癌,其发生、发展的过程较为复杂,目前认为与肝脏损伤性炎性、乙型及丙型肝炎病毒感染、肝纤维化等多种因素有关<sup>[6]</sup>。

HMGB1 是一种含有 215 个氨基酸残基的核蛋白,相对分子质量约为  $25\times 10^3$ ,因其在聚丙烯酰胺凝胶电泳中迁移速度快而得名。HMGB1 在乳腺癌、肺癌、胃癌、膀胱癌等多种肿瘤中高表达,被认为与肿瘤和新生物形成有关。Cheng 等<sup>[7]</sup>研究发现,肝细胞癌患者 HMGB1 水平比慢性肝炎及肝硬化患者均升高。肿瘤血管新生是肿瘤生长和转移的基础,是肿瘤发生、发展的关键环节之一。属于血小板衍生生长因子(PDGF)家族的成员之一,是目前已知的作用最强、特异性最高的血管生成调控因子,由正常细胞和肿瘤细胞产生和分泌 VEGF<sup>[8]</sup>。

本研究观察了肝细胞癌多普勒超声征象与患者血清

HMGB1 和 VEGF 表达的关系。结果显示,结节型和巨块型患者血清 HMGB1 明显高于小肝癌型,巨块型患者血清 HMGB1 明显高于结节型;小肝癌型、结节型、巨块型患者血清 VEGF 比较差异无统计学意义;随血流分级增高,血清 HMGB1 和 VEGF 水平亦逐渐增加。周宝勇对肝癌组织的研究发现,肝癌组织中异常增高的 HMGB1、VEGF 与肝癌微血管生成过程相关,与本研究肝细胞癌患者血清中的研究结果一致。HMGB1 作为一种细胞凋亡抑制蛋白抑制细胞凋亡,促进肿瘤的发生;同时肝癌细胞主动分泌 HMGB1,在被释放到细胞外基质前, HMGB1 的分泌促进肿瘤细胞的生长<sup>[9]</sup>。HMGB1 能调节基因组的转录水平,改变细胞的基因表达从而在肝细胞癌的发生、迁移中起一定作用<sup>[10]</sup>。总之,血清 HMGB1 与肝细胞癌形态分型有关,血清 HMGB1 和 VEGF 水平随超声血流分级增加而升高。超声联合血清检测,具有方便、费用低、时间短、患者依从性好等优点,具有较好的临床诊断价值。

## 参考文献:

- [1] Caturelli E, Ghittoni G. Early diagnosis of hepatocellular carcinoma: it's not a matter of opinion[J]. Hepatology, 2012, 56(2): 787.
- [2] Liu F, Zhang Y, Peng Z, et al. High expression of high mobility group box 1 (HMGB1) predicts poor prognosis for hepatocellular carcinoma after curative hepatectomy [J]. J Transl Med, 2012, 10(135): 1-10.
- [3] 杨利霞, 骈林萍, 李超. 肝细胞癌多普勒超声影像与血管密度、血管内皮生长因子表达的相关性分析[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2009, 44(5): 1006-1009.
- [4] 勾宏娜, 孙连桃, 韩丽红. 肝癌患者血清中高迁移率族蛋白 B1 的检测及临床意义[J]. 现代预防医学, 2013, 40(15): 2875-2876.
- [5] 杨焕东, 杨桂莲, 张春元, 等. 肝癌患者血清血管内皮生长因子和内皮抑素水平的变化及意义[J]. 中国全科医学, 2011, 14(6): 2034-2036.
- [6] Matsumura H, Nirei K, Nakamura H, et al. Histopathology of type C liver disease for determining hepatocellular carcinoma risk factors[J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(30): 4887-4896.
- [7] Cheng BQ, Jia CQ, Liu CT, et al. Serum high mobility group box chromosomal protein 1 is associated with clinicopathologic features in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Dig Liver Dis, 2008, 40(6): 446-452.
- [8] 陈芳艳, 贺福初, 姜颖. 肝纤维化发生发展及逆转过程中肝巨噬细胞亚群分类[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2012, 28(10): 879-887.
- [9] Zhang J, Zhu JS, Zhou Z, et al. Inhibitory effects of ethyl pyruvate administration on human gastric cancer growth via regulation of the HMGB1-RAGE and Akt pathways in vitro and in vivo[J]. Oncol Rep, 2012, 27(5): 1511-1519.
- [10] Smolarczyk R, Cichoń T, Jarosz M, et al. HMGB1--its role in tumor progression and anticancer therapy[J]. Postepy Hig Med Dosw(Online), 2012, 22(66): 913-920.

(收稿日期: 2014-01-19 修回日期: 2014-02-17)