

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.18.014
文章编号: 1005-8982 (2022) 18-0090-05

临床研究·论著

血管内皮生长因子、单核细胞趋化蛋白1、分化抑制因子1在脑胶质瘤中的表达及与血管生成的相关性分析*

吴佩涛¹, 丁凡², 欧阳伟¹, 王少兵¹

(1.湖北省中西医结合医院 神经外科, 湖北 武汉 430000; 2.武汉普仁医院 脊髓病中心, 湖北 武汉 430081)

摘要: 目的 分析血管内皮生长因子(VEGF)、单核细胞趋化蛋白1(MCP-1)、分化抑制因子1(Id1)在脑胶质瘤中的表达及与血管生成的相关性。**方法** 选取2018年4月—2020年5月湖北省中西医结合医院脑胶质瘤患者150例作为病例组。另选取该院因脑外伤后行颅内减压术的50例非肿瘤患者(正常脑组织)作为对照组。对比两组患者血清VEGF、MCP-1、Id1水平,绘制ROC曲线分析血清VEGF、MCP-1、Id1水平预测脑胶质瘤发生的价值;比较不同级别脑胶质瘤患者血清VEGF、MCP-1、Id1水平及肿瘤微血管密度(MVD)值, Pearson法分析血清VEGF、MCP-1、Id1水平与MVD值的相关性。**结果** 病例组血清VEGF、Id1水平较对照组高, MCP-1水平较对照组低($P < 0.05$)。ROC曲线结果显示, 血清VEGF、MCP-1、Id1水平及三者联合预测胶质瘤发生的AUC分别为0.873(95% CI: 0.823, 0.923)、0.776(95% CI: 0.699, 0.853)、0.898(95% CI: 0.850, 0.946)、0.908(95% CI: 0.851, 0.978)。高级别组血清VEGF、Id1水平及MVD较低级别组高, MCP-1水平较低级别组低($P < 0.05$)。Pearson相关性分析显示, 脑胶质瘤患者MVD与血清VEGF水平、Id1水平呈正相关($r = 0.532$ 和 0.697 , 均 $P < 0.05$), 与MCP-1水平呈负相关($r = -0.395$, $P < 0.05$)。**结论** 脑胶质瘤患者血清VEGF、Id1水平上调, MCP-1水平下调, 三项指标与肿瘤血管生成密切相关, 且可有效预测胶质瘤的发生。

关键词: 脑胶质瘤; 血管内皮生长因子; 单核细胞趋化蛋白1; 分化抑制因子; 血管生成

中图分类号: R739.41

文献标识码: A

Expressions of vascular endothelial growth factor, monocyte chemotactic protein 1 and inhibitor of differentiation 1 in glioma and their correlations with angiogenesis*

Pei-tao Wu¹, Fan Ding², Wei Ouyang¹, Shao-bing Wang¹

(1. Department of Neurosurgery, Hubei Provincial Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Wuhan, Hubei 430000, China; 2. Spinal Cord Disease Center, Wuhan Puren Hospital, Wuhan, Hubei 430081, China)

Abstract: Objective To analyze the expressions of vascular endothelial growth factor (VEGF), monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1), and inhibitor of differentiation 1 (Id1) in glioma and their correlations with angiogenesis. **Methods** A total of 150 glioma patients admitted to Hubei Provincial Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine from April 2018 to May 2020 were selected as the case group, and 50

收稿日期: 2022-04-20

* 基金项目: 中国金属学会冶金安全与健康分会健康卫生科研项目(No.: jkws201824)

[通信作者] 王少兵, E-mail: shaobingwangs@163.com

non-tumor patients (with normal brain tissues) undergoing intracranial decompression after brain trauma were selected as the control group. The serum levels of VEGF, MCP-1 and Id1 were compared between the two groups. The values of these indicators in predicting the occurrence of glioma were determined via ROC curve analysis. The serum levels of VEGF, MCP-1 and Id1 as well as the intratumoral microvessel density (MVD) were compared among patients with different degrees of glioma. The correlations between the serum levels of VEGF, MCP-1 and Id1 and the intratumoral MVD were analyzed by the Pearson method. **Results** The serum levels of VEGF and Id1 in the case group were higher than those in the control group ($P < 0.05$), while the serum level of MCP-1 was lower in the case group compared with the control group ($P < 0.05$). The ROC curve analysis revealed that the AUCs of serum levels of VEGF, MCP-1 and Id1 as well as their combination for predicting the occurrence of glioma were 0.873 (95% CI: 0.823, 0.923), 0.776 (95% CI: 0.699, 0.853), 0.898 (95% CI: 0.850, 0.946), and 0.908 (95% CI: 0.851, 0.978), respectively. The serum levels of VEGF and Id1 and intratumoral MVD were higher, and the serum level of MCP-1 was lower in patients with high degrees of glioma than those in patients with low degrees of glioma ($P < 0.05$). The Pearson correlation analysis showed that the intratumoral MVD was positively correlated with the serum levels of VEGF ($r = 0.532, P = 0.000$) and Id1 ($r = 0.697, P = 0.000$), but negatively correlated with the serum level of MCP-1 ($r = -0.395, P = 0.003$). **Conclusions** In glioma patients, serum levels of VEGF and Id1 are upregulated while the serum level of MCP-1 is down-regulated. These indicators are closely related to tumor angiogenesis and effectively predict the occurrence of glioma.

Keywords: glioma; vascular endothelial growth factor; monocyte chemotactic protein 1; inhibitor of differentiation 1; angiogenesis

脑胶质瘤属于一种原发性颅脑肿瘤疾病,具有高度侵袭性、肿瘤生长无明确边界、细胞无限增生三大特征^[1]。流行病学发现,恶性脑胶质瘤的 5 年生存率 $< 5\%$, 5 年病死率仅次于胰腺癌、肺癌^[2]。有研究证实,血管为肿瘤提供营养物质并促进代谢产物排出,而血管新生化程度与肿瘤细胞增殖、生物侵袭性、恶性程度、预后等密切相关^[3-4]。因此,寻找一种对肿瘤早期诊断、血管生成评估、预后判断的可靠方法尤为关键。

脑胶质瘤细胞可产生或通过旁分泌方式与肿瘤细胞或血管内皮细胞表面的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)受体特异性结合,直接刺激内皮细胞增殖,减少血管密度,促进血管生成^[5]。作为转录因子的共同作用分子,分化抑制因子(inhibitor of differentiation 1, Id1)高表达可激活 VEGF 转录,促进血管内皮细胞增殖,进而抑制胶质瘤生长^[6]。单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)是 CC 类趋化因子之一,可由内皮细胞、单核细胞、肿瘤组织等分泌,在维持肿瘤细胞生长等生物学行为中发挥重要作用^[7]。本研究进一步分析 VEGF、MCP-1、Id1 在脑胶质瘤中的表达及与血管生成的相关性,为临床防治本病提供潜在靶点。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 4 月—2020 年 5 月湖北省中西医结合医院脑胶质瘤患者 150 例作为病例组。其中男性 82 例,女性 68 例;年龄 33 ~ 62 岁,平均 (51.43 ± 6.58) 岁;体质量指数 $(22.46 \pm 2.15) \text{ kg/m}^2$;肿瘤直径: $< 5 \text{ cm}$ 79 例, $\geq 5 \text{ cm}$ 71 例;肿瘤部位:小脑幕下 70 例,小脑幕上 80 例;分化程度:低分化 61 例,中高分化 89 例;脑胶质瘤 Kemohan 分级: I、II 级 59 例患者作为低级别组, III、IV 级 91 例患者作为高级别组。纳入标准:①符合《临床神经外科学》^[8]的脑胶质瘤诊断标准;②原发脑胶质瘤;③镜下接受脑胶质瘤切除术治疗;④经手术病理学及术前影像学明确病情;⑤未接受放疗;⑥卡氏评分 > 70 分。排除标准:①伴有其他恶性肿瘤;②合并免疫系统、血液系统、内分泌系统疾病;③重要脏器功能严重受损,如心、肝、肾等;④入组前接受放疗、激素治疗;⑤预计生存时间 < 1 年。另选取本院因脑外伤后行颅内减压术的 50 例非肿瘤患者作为对照组。其中男性 29 例,女性 21 例;年龄 32 ~ 68 岁,平均 (52.64 ± 7.02) 岁;体质量指数 $(22.03 \pm 2.67) \text{ kg/m}^2$;经手术病理证实为正常脑组织。两组一般资料比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可对比性。本研究经医院医学伦

理委员会批准,患者家属均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 血清指标检测 术前采集所有患者空腹静脉血4 mL,常温静置30 min,2 000 r/min离心15 min,取上层血清,置于-80℃冰箱冷冻保存。通过酶联免疫吸附试验(广东固康生物科技有限公司)测定血清VEGF、MCP-1水平,双抗体夹心酶联免疫吸附试验(上海羽喙生物科技有限公司)测定血清Id1水平,所有操作严格按照试剂盒说明书执行。

1.2.2 肿瘤微血管密度(MVD)计数 术后采集所有患者脑组织标本,置于-80℃冰箱冷冻保存,用10%浓度的甲醇浸泡脑组织,石蜡包埋,切片。将脑组织切片置于光学显微镜(CX21型,日本Olympus株式会社)下观察,并确定独立微血管,以CD105为特异性标志物,取5个视野的微血管数平均值作为MVD值。

1.3 统计学方法

数据分析采用SPSS 23.0统计软件。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示;比较用 t 检验;相关性分析用Pearson法;绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者血清VEGF、MCP-1、Id1水平比较

两组患者血清VEGF、MCP-1、Id1水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),病例组血清VEGF、Id1水平较对照组高,MCP-1水平较对照组低。见表1。

表1 两组患者血清VEGF、MCP-1、Id1水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	VEGF/(pg/mL)	MCP-1/(pg/mL)	Id1/(μ g/L)
对照组	50	202.62 ± 50.23	428.84 ± 96.19	29.31 ± 5.53
病例组	150	315.75 ± 46.98	327.97 ± 86.96	39.96 ± 5.49
t 值		9.887	6.915	11.851
P 值		0.000	0.000	0.000

2.2 血清VEGF、MCP-1、Id1水平预测脑胶质瘤发生的价值

ROC曲线结果显示,血清VEGF、MCP-1、Id1水平及三者联合预测胶质瘤发生的AUC分别为0.873(95% CI: 0.823, 0.923)、0.776(95% CI: 0.699, 0.853)、0.898(95% CI: 0.850, 0.946)、0.908(95% CI: 0.851, 0.978)。见表2和图1、2。

表2 血清VEGF、MCP-1、Id1水平预测脑胶质瘤发生的价值

指标	截断值	AUC	95% CI		敏感性/ %	95% CI		特异性/ %	95% CI		P 值
			下限	上限		下限	上限		下限	上限	
VEGF	263.685 pg/mL	0.873	0.823	0.923	0.736	0.625	0.813	0.802	0.753	0.895	0.000
MCP-1	374.542 pg/mL	0.776	0.699	0.853	0.702	0.613	0.801	0.782	0.702	0.864	0.000
Id1	34.751 μ g/L	0.898	0.850	0.946	0.769	0.682	0.842	0.813	0.765	0.917	0.000
联合	-	0.908	0.851	0.978	0.792	0.701	0.859	0.834	0.782	0.934	0.000

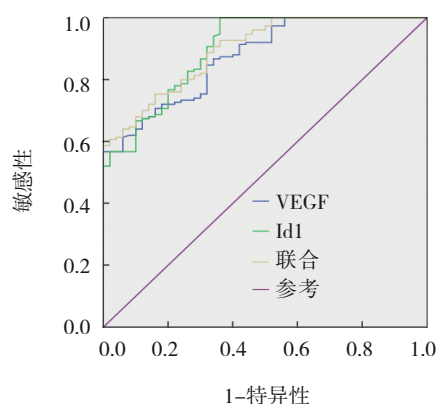


图1 血清VEGF、Id1水平及联合预测胶质瘤发生的ROC曲线

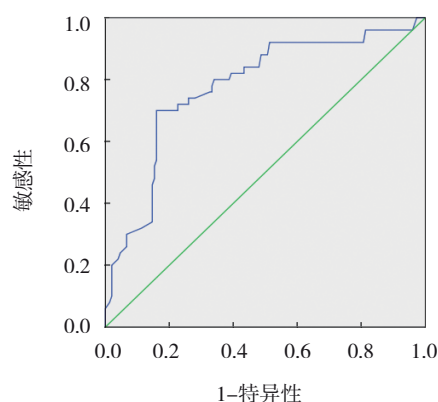


图2 血清MCP-1水平预测胶质瘤发生的ROC曲线

2.3 不同级别脑胶质瘤患者血清 VEGF、MCP-1、Id1 水平及 MVD 比较

不同级别脑胶质瘤患者血清 VEGF、MCP-1、Id1 水平及 MVD 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 高级别组血清 VEGF、Id1 水平及 MVD 较低级别组高, MCP-1 水平较低级别组低。见表 3。

表 3 不同级别脑胶质瘤患者血清 VEGF、MCP-1、Id1 水平及 MVD 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	VEGF/(pg/mL)	MCP-1/(pg/mL)	Id1/(μ g/L)	MVD/(个/视野)
低级别组	59	284.65 \pm 43.77	374.45 \pm 59.75	34.18 \pm 4.76	24.96 \pm 8.05
高级别组	91	367.74 \pm 59.35	300.48 \pm 43.77	43.85 \pm 6.29	57.65 \pm 9.72
<i>t</i> 值		9.243	8.740	10.080	21.487
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000

3 讨论

VEGF 是血管生成的主要调控因子, 具有刺激内皮细胞分化、提高血管通透性、抑制成熟树突细胞及内皮细胞凋亡、促进内皮细胞分化及迁移、介导血管形成等生物学作用^[9]。有报道, 由 VEGF 介导的沿血管基底膜侵袭是脑胶质瘤最常见的侵袭途径, 间接证实了 VEGF 在胶质瘤血管新生、细胞增殖及侵袭、转移中发挥重要作用^[10]。SEYEDMIRZAEI 等^[11]在 1 项 Meta 分析中提到, 脑胶质瘤患者血清 VEGF 水平比健康者高, 且不同级别脑胶质瘤患者的血清 VEGF 水平存在明显差异。SHAMSDIN 等^[12]研究报道, 中枢神经系统肿瘤患者血清 VEGF 水平升高, 且 VEGF 水平与脑胶质瘤患者炎症反应、预后密切相关。本研究中, 病例组血清 VEGF 水平较对照组高, 预测脑胶质瘤发生的 AUC 为 0.873, 且高级别组血清 VEGF 水平比低级别组高, 再次证实 VEGF 高表达可能会增加脑胶质瘤的发生风险, 加重病情程度及细胞恶性生物学行为, 其原因在于高表达的 VEGF 可增加血管通透性, 诱导血管持续生成, 促进血液纤维蛋白原外渗, 形成肿瘤周围水肿, 为脑胶质瘤细胞快速生长及细胞侵袭提供了血液、营养供应, 加剧脑胶质瘤病情^[13]。

MCP-1 可由诸多组织细胞分泌, 可调节记忆性 T 细胞、单核细胞、中性粒细胞的浸润、迁移^[14]。张景杰等^[15]研究发现, 脑胶质 I 级、II 级、III 级、IV 级患者血清 MCP-1 水平低于健康对照组, 且动态观察血清 MCP-1 水平有利于判断微创手术效果及评估预后。

2.4 脑胶质瘤患者血清 VEGF、MCP-1、Id1 水平与 MVD 的相关性分析

Pearson 相关性分析显示, 脑胶质瘤患者 MVD 与血清 VEGF 水平、Id1 水平呈正相关 ($r = 0.532、0.697$, 均 $P = 0.000$), 与 MCP-1 水平呈负相关 ($r = -0.395$, $P = 0.003$)。

本研究中病例组血清 MCP-1 水平比对照组低, 高级别组血清 MCP-1 水平比低级别组低, 表明脑胶质瘤患者血清 MCP-1 水平下调, 且与级别程度呈负相关, 分析其原因可能与 MCP-1 具有抑制抗肿瘤免疫应答、促进肿瘤细胞生长、趋化炎症细胞浸润等机制有关; 同时 MCP-1 可对肿瘤相关巨噬细胞产生趋化作用, 促使其分泌 VEGF、IL-8 等因子诱导血管生成, 刺激局部组织血管化; 此外, 肿瘤相关巨噬细胞可分泌降解细胞外基质的金属蛋白酶 2、金属蛋白酶 9 等, 从而损伤细胞外基质稳定性, 促进肿瘤侵袭、生长; 而高级别胶质瘤可破坏血脑屏障, 进一步促使 MCP-1 更容易穿过血脑屏障而进入肿瘤组织内部^[16]。

Id1 是转录因子的共同作用分子, 其异常升高可通过多条信号通路控制 Rb 蛋白活性以促进肿瘤细胞增殖^[17]。SOROCEANU 等^[18]实验发现, Id1 表达上升与培养的脑胶质瘤细胞侵袭性呈正比, 而沉默 Id1 表达可延长脑胶质瘤模型大鼠的生存期, 降低肿瘤细胞侵袭性。周保丹^[19]研究报道, 脑胶质瘤中 Id1 蛋白过表达, 且其表达与患者临床病理分级、侵袭程度、预后有关。本研究结果显示, 脑胶质瘤患者血清 Id1 水平上升, 且与级别程度呈正相关, 与上述研究相似, 故推测 Id1 可能成为脑胶质瘤治疗的潜在分子靶点, 作用机制可能与 Id1 可通过降低肿瘤细胞黏附力, 促进上皮细胞间质转化及血管内皮祖细胞增殖, 从而加剧肿瘤侵袭有关。

MVD 是用免疫组织化学法标记肿瘤组织中的微血管, 可间接反映肿瘤血管生成能力。本研究发

现,高级别组 MVD 比低级别组高,支持脑胶质瘤的富血管性的说法,且病理学分级恶性程度越高,其 MVD 越高,新生血管数量越多。Pearson 相关分析结果显示,脑胶质瘤患者 MVD 与血清 VEGF、Id1 水平呈正相关,与 MCP-1 水平呈负相关,提示血清 VEGF、Id1 水平高表达及 MCP-1 水平低表达可分别促进脑胶质瘤新生血管生成,为脑胶质瘤细胞的侵袭、增殖、浸润等恶性生物学行为提供充足的血液、营养供应。进一步绘制 ROC 曲线发现,血清 VEGF、MCP-1、Id1 水平及联合预测脑胶质瘤发生的 AUC 分别为 0.873、0.776、0.898 和 0.908,提示临床应密切监测血清 VEGF、MCP-1、Id1 水平变化,识别脑胶质瘤高危人群,指导抗血管生成治疗方案,以抑制脑胶质瘤新生血管生成,预防细胞侵袭、浸润。

综上所述,脑胶质瘤患者血清 VEGF、Id1 水平上调,MCP-1 水平下调,三项指标与肿瘤血管生成密切相关,且可有效预测脑胶质瘤的发生。但由于例数有限、随访时间有限,肿瘤血管生成受诸多因素影响,故针对 VEGF、MCP-1、Id1 在脑胶质瘤发生、血管生成中的确切意义仍需进一步探讨。

参 考 文 献 :

- [1] 贾国萍,李鑫,宋雨茜,等. Glypican-1 在脑胶质瘤中的表达及与临床病理特征和预后的关系[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(14): 19-23.
- [2] LIU B L, SU Q P, XIAO B L, et al. RAB42 promotes glioma pathogenesis via the VEGF signaling pathway[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 657029.
- [3] 孙小明,陈雅妮,李露,等. 星形胶质细胞分泌 IL-1 β 激活 NF- κ B 通路促进脑胶质瘤生长的机制研究[J]. 湖北医药学院学报, 2021, 40(5): 460-465.
- [4] 李密,魏剑波,黄志刚. 血清 GFAP、HIF-1 α 、VEGF 水平与脑胶质瘤患者预后的关系[J]. 脑与神经疾病杂志, 2020, 28(4): 213-217.
- [5] RAINER E, WANG H, TRAUB-WEIDINGER T, et al. The prognostic value of [123I]-vascular endothelial growth factor ([123I]-VEGF) in glioma[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2018, 45(13): 2396-2403.
- [6] 王怡春,黄毓杰,钟根深. 分化抑制因子 2 对胶质瘤发生和发展的影响[J]. 新乡医学院学报, 2022, 39(1): 88-91.
- [7] SINGH S, ANSHITA D, RAVICHANDIRAN V. MCP-1: function, regulation, and involvement in disease[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 101(Pt B): 107598.
- [8] 朱新洪. 临床神经外科学[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2007: 236.
- [9] LIU X J, GUO A S, TU Y Y, et al. Fruquintinib inhibits VEGF/VEGFR2 axis of choroidal endothelial cells and M1-type macrophages to protect against mouse laser-induced choroidal neovascularization[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(11): 1016.
- [10] WANG F, LI C Y, HAN F, et al. BMAL1 may be involved in angiogenesis and peritumoral cerebral edema of human glioma by regulating VEGF and ANG2[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(22): 24675-24685.
- [11] SEYEDMIRZAEI H, SHOBEIRI P, TURGUT M, et al. VEGF levels in patients with glioma: a systematic review and meta-analysis[J]. *Rev Neurosci*, 2021, 32(2): 191-202.
- [12] SHAMSDIN S A, MEHRAFESHAN A, RAKEI S M, et al. Evaluation of VEGF, FGF and PDGF and serum levels of inflammatory cytokines in patients with glioma and meningioma in southern Iran[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2019, 20(10): 2883-2890.
- [13] 谢云鹏,柳新,刘兵,等. TGF- β ₁、Smad7 及 VEGF 在脑胶质瘤中表达及与病理特征、预后的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(1): 38-42.
- [14] JUNG Y, AHN S H, PARK H, et al. MCP-1 and MIP-3 α secreted from necrotic cell-treated glioblastoma cells promote migration/infiltration of microglia[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(3): 1332-1346.
- [15] 张景杰,刘志军. 脑胶质瘤患者微创手术前后血清 IL-17MCP-1TNF- α 的表达及意义[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2021, 24(18): 1642-1649.
- [16] BRAGANHOL E, KUKULSKI F, LÉVESQUE S A, et al. Nucleotide receptors control IL-8/CXCL8 and MCP-1/CCL2 secretions as well as proliferation in human glioma cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(1): 120-130.
- [17] 张涛,王辉,杨晓文. 脑胶质瘤中 Id1 与 VEGF 的表达及其与肿瘤血管生成的关系[J]. 解剖学研究, 2018, 40(5): 390-393.
- [18] SOROCEANU L, MURASE R, LIMBAD C, et al. Id-1 is a key transcriptional regulator of glioblastoma aggressiveness and a novel therapeutic target[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(5): 1559-1569.
- [19] 周保丹. 人脑胶质瘤中 LRG1、ID-1 和 CD105 蛋白的表达及临床意义[D]. 承德: 承德医学院, 2016.

(李科 编辑)

本文引用格式: 吴佩涛,丁凡,欧阳伟,等. 血管内皮生长因子、单核细胞趋化蛋白 1、分化抑制因子 1 在脑胶质瘤中的表达及与血管生成的相关性分析[J]. 中国现代医学杂志, 2022, 32(18): 90-94.

Cite this article as: WU P T, DING F, OU Y W, et al. Expressions of vascular endothelial growth factor, monocyte chemotactic protein 1 and inhibitor of differentiation 1 in glioma and their correlations with angiogenesis[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(18): 90-94.