

超声下肺腺癌血流分级与肿瘤组织 MVD、VEGF、HIF-1 α 表达及临床分期的关系及其意义

雷威¹ 李慧²

(1 郑州大学第一附属医院超声科,河南 郑州 450052; 2 河南大学第一附属医院超声科)

[摘要] 目的 探讨超声下肺腺癌血流分级与肿瘤组织微血管密度(MVD)、血管内皮生长因子(VEGF)、缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)表达及临床分期的关系及其意义。方法 回顾性分析 108 例肺腺癌患者的临床资料,根据肿瘤超声下血流分级分为血流 0 级组(A组)、I 级组(B组)、II 级组(C组)、III 级组(D组)。对比 4 组患者肿瘤组织 MVD 值及 VEGF、HIF-1 α 阳性表达情况,分析超声下肺腺癌血流分级与肿瘤组织 MVD 值及 VEGF、HIF-1 α 表达及临床分期的相关性。结果 各组肿瘤组织 MVD 值和 VEGF、HIF-1 α 阳性表达比例比较差异均具有显著性($F=116.487, \chi^2=7.143, 6.982, P<0.05$),B、C、D 组肿瘤组织 MVD 值明显高于 A 组,C、D 组明显高于 B 组,D 组明显高于 C 组($P<0.05$);C、D 组 VEGF、HIF-1 α 阳性表达比例均高于 A 组,D 组高于 B、C 组($\chi^2=4.589 \sim 112.502, P<0.05$)。血流分级与肿瘤组织 MVD 值、VEGF 阳性表达比例、HIF-1 α 阳性表达比例及临床分期均呈正相关($r=0.705 \sim 0.836, P<0.05$)。结论 超声下肺腺癌血流分级与肿瘤组织 MVD 值及 VEGF、HIF-1 α 表达均具有相关性,且与临床分期相关,此有助于超声下对肿瘤早期及术前情况进行评估。

[关键词] 肺腺癌;超声检查;微血管密度;血管内皮生长因子类;缺氧诱导因子 1, α 亚基;血流分级

[中图分类号] R730.261.1;R734.2

[文献标志码] A

CORRELATIONS OF THE BLOOD FLOW GRADE OF LUNG ADENOCARCINOMA ON ULTRASOUND WITH MVD AND EXPRESSION OF VEGF AND HIF-1 α IN TUMOR TISSUE AS WELL AS CLINICAL STAGE AND ITS SIGNIFICANCE

LEI Wei, LI Hui (Department of Ultrasound, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the correlations of the blood flow grade of lung adenocarcinoma on ultrasound with microvascular density (MVD) and expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) in tumor tissue as well as clinical stage and its significance. **Methods** A retrospective analysis was performed on the clinical data of 108 patients with lung adenocarcinoma. The patients were divided into blood flow level 0 (group A), blood flow level I (group B), blood flow level II (group C), and blood flow level III (group D) based on the blood flow level of tumor tissue on ultrasound. The four groups were compared for MVD values and positive expression of VEGF and HIF-1 α in the tumor tissue; meanwhile, analyses were performed for the correlations of the blood flow grade of lung adenocarcinoma on ultrasound with MVD and expression of VEGF and HIF-1 α in the tumor tissue as well as clinical stage. **Results** There were significant differences in MVD and positive expression rates of VEGF and HIF-1 α in the tumor tissue between the groups ($F=116.487, \chi^2=7.143, 6.982, P<0.05$), with significantly higher MVD values in groups B, C, and D than in group A, significantly higher MVD values in groups C and D than in group B, and significantly higher MVD values in group D than in group C ($P<0.05$), and with significantly higher positive expression rates of VEGF and HIF-1 α in groups C and D than in group A and significantly higher positive expression rates of VEGF and HIF-1 α in group D than in groups B and C ($\chi^2=4.589 \sim 112.502, P<0.05$). There were positive correlations of blood flow grade with MVD and positive expression rates of VEGF and HIF-1 α in the tumor tissue as well as clinical stage ($r=0.705 \sim 0.836, P<0.05$). **Conclusion** There are correlations of the blood flow grade of lung adenocarcinoma on ultrasound with MVD and expression of VEGF and HIF-1 α in the tumor tissue as well as clinical stage. This is useful in evaluation of early-stage tumors and preoperative conditions.

[KEY WORDS] Adenocarcinoma of lung; Ultrasonography; Microvascular density; Vascular endothelial growth factors; Hypoxia-inducible factor 1, alpha subunit; Blood flow gradation

目前,全球范围内肺腺癌的发病率逐年上升^[1],并且在早期即可发生血液以及淋巴结的转移^[2]。微血管密度(MVD)能够定量地反映血管的生成情况,与肿瘤患者的预后紧密相关^[3]。血管内皮生长因子

(VEGF)是参与肿瘤血管生成的主要正向调节因子,与肿瘤血管的发生、增殖以及肿瘤细胞浸润转移等均有关^[4]。缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)是肿瘤细胞缺氧的核心因子,可参与血管生成、细胞凋亡、肿瘤细胞侵袭、转移等过程^[5]。超声检测具有无创、无辐射、切面灵活等优点,但超声下肺腺癌血流分级对患者病情早期评估的价值尚不明确。本研究通过回

[收稿日期] 2023-08-26; **[修订日期]** 2023-10-25

[基金项目] 2021 年河南省科技厅科技攻关项目(21210231-0784)

[通讯作者] 雷威,Email:leiwei0525@163.com

回顾性分析本院收治的 108 例确诊为肺腺癌患者的临床资料,探讨超声下肺腺癌血流分级与肿瘤组织中 MVD、VEGF、HIF-1 α 阳性表达情况及临床分期的关系及其意义。

1 资料与方法

回顾性分析 2015 年 1 月—2019 年 12 月河南大学第一附属医院收治的 108 例肺腺癌患者的临床资料。纳入标准:①经手术切除标本病理学检查或肺组织活检确诊为肺腺癌者^[6];②影像学检查首次发现肺内占位性病变者;③超声检测前均未接受放疗、化疗及手术治疗等任何形式的治疗者;④临床资料完整者。排除标准:①有其他部位肿瘤者;②有心、肝、肾等重要器官疾病者。

收集所有患者一般资料,包括年龄、性别、肺腺癌 TNM 分期、肿瘤组织分化情况;收集患者肿瘤血流分级超声检测结果,依据文献^[7]将所有患者分为血流 0 级(A)组、I 级(B)组、II 级(C)组、III 级(D)组;收集患者肿瘤组织的 MVD 值及 VEGF、HIF-1 α 表达情况,其中 MVD 值采用 Weidner 法来进行计数^[8];VEGF、HIF-1 α 表达分为阴性、弱阳性、中等阳性、强阳性 4 个等级^[9],并计算患者肿瘤组织中 VEGF、HIF-1 α 的阳性表达比例。

使用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素分析,进一步两两比较采用 SNK- q 法;计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 Pearson 方法分析血流分级与 MVD 的相关性,采用 Spearman 秩相关方法分析血流分级与 VEGF、HIF-1 α 表达及临床分期的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

108 例肺腺癌患者中,男 77 例,女 31 例;年龄 42~75 岁,平均(56.13 \pm 9.76)岁;肺腺癌临床分期情况:I 期 18 例,II 期 46 例,III 期 31 例,IV 期 13 例;组织分化情况:低分化 19 例,中分化 43 例,高分化 46 例。血流分级平均(1.57 \pm 0.28)级,其中 A 组 26 例,B 组 19 例,C 组 38 例,D 组 25 例。

2.2 患者肿瘤组织 MVD 值及 VEGF、HIF-1 α 阳性表达情况比较

4 组患者肿瘤组织 MVD 值和 VEGF、HIF-1 α 阳性表达比例比较差异均有显著性($F = 116.487$, $\chi^2 = 7.143, 6.982, P < 0.05$);各组间肿瘤组织 MVD

值比较差异均有显著性($P < 0.05$);C、D 组 VEGF、HIF-1 α 阳性表达比例均高于 A 组,D 组高于 B、C 组($\chi^2 = 4.589 \sim 112.502, P < 0.05$)。见表 1。

2.3 患者血流分级与肿瘤组织 VEGF、HIF-1 α 阳性表达的相关性

肺腺癌血流分级与肿瘤组织中 VEGF、HIF-1 α 阳性表达情况均呈现正相关($r = 0.791, 0.713, P < 0.05$)。见表 2。

2.4 肺腺癌患者血流分级与临床分期的相关性

肺腺癌患者血流分级与临床分期呈正相关($r = 0.705, P < 0.05$)。见表 3。

表 1 4 组患者的 MVD 值及 VEGF、HIF-1 α 阳性表达情况比较

组别	<i>n</i>	MVD 值(个/视野, $\bar{x} \pm s$)	VEGF 阳性表达比例($\chi/\%$)	HIF-1 α 阳性表达比例($\chi/\%$)
A 组	26	9.84 \pm 1.73	26.92	30.77
B 组	19	21.35 \pm 5.82	52.63	52.63
C 组	38	34.26 \pm 7.13	60.53	65.79
D 组	25	40.27 \pm 8.64	96.00	96.00

表 2 血流分级与 VEGF、HIF-1 α 表达的相关性(例)

组别	VEGF 表达				HIF-1 α 表达			
	阴性	弱阳性	中等阳性	强阳性	阴性	弱阳性	中等阳性	强阳性
A 组	19	2	3	2	18	5	2	1
B 组	9	9	1	0	9	10	0	0
C 组	15	3	16	4	13	4	18	3
D 组	1	2	5	17	1	2	3	19

表 3 肺腺癌患者血管生成与临床分期的相关性(例)

组别	I 期(<i>n</i> =18)	II 期(<i>n</i> =46)	III 期(<i>n</i> =31)	IV 期(<i>n</i> =13)
A 组	18	8	0	0
B 组	0	19	0	0
C 组	0	15	22	1
D 组	0	4	9	12

3 讨论

目前临床上可通过血流储备分数检测技术、CT 灌注成像技术等多种方法检测肺腺癌患者的血供情况,其中超声检测方法较为常用,并且还兼具简便、无创等的优势^[10-13]。血管生成是肺腺癌细胞生长的必要条件,与血流分级密切相关,MVD 和组织中 VEGF、HIF-1 α 等血管形成相关因子仅可应用于术后的病理检查,无法评估肺腺癌患者术前病情,超声下血流分级则可在术前对肺腺癌患者的血流情况进行分析,能够直观地反映肿瘤组织的血供状态,可在术前对患者的病情进行评估。

血液循环可为肺腺癌的癌细胞增殖、转移提供必需的营养物质^[14], MVD 以及组织中的 VEGF、HIF-1 α 表达水平均为反映肿瘤组织血管生成情况的指标。MVD 是衡量肿瘤血管密度、评估肿瘤血管生成程度的指标。在肺腺癌中, MVD 值越高表示血管生成程度越活跃, 血管密度也越高, 可为肿瘤组织提供足够的氧和营养物质, 促进其生长和扩散, 因此, MVD 值可作为肺腺癌诊断和治疗参考依据之一^[15]。VEGF 是血管生成早期的持续性启动因子, 具有高度特异性, 可促进血管内皮细胞生成, 诱导新血管形成, 并且还可促进血管通透性的增高和细胞外基质变性, 进一步促进血管内皮细胞迁移、增殖和血管形成, 对肺腺癌血管和淋巴管生成、淋巴结转移等均有促进作用^[16]。HIF-1 α 则是调节细胞对缺氧环境适应的蛋白质, 是在缺氧状态下发挥活性的转录因子, 研究表明, HIF-1 α 在缺氧相对明显、分化程度较低的肿瘤组织中表达水平显著升高^[17], 可参与缺氧反应基因的转录、表达及血管生成、肿瘤生长及能量代谢等过程^[18]。目前研究报道, 肺腺癌组织 VEGF 的高表达与患者的生存期呈负相关, 而与 MVD 值则呈正相关^[19]。另有研究表明, 肿瘤组织中 VEGF、HIF-1 α 的表达与肝癌血管生成密切相关, 且肿瘤血流分级越高, VEGF、HIF-1 α 阳性表达比例越高, 且均呈正相关^[20]。本研究结果显示, 在肺腺癌患者中, 超声下肿瘤组织的血流分级越高, MVD 值和组织中 VEGF、HIF-1 α 表达水平越高。这些结果提示, 超声下血流分级可作为评估肺腺癌患者术前病情的有效指标。与传统的术后检测患者肿瘤组织中 MVD 值及 VEGF、HIF-1 α 表达水平以评估患者病情相比, 超声下血流分级可以较为直观地反映病变位置的血供状态, 间接反映肿瘤组织中 VEGF、HIF-1 α 表达水平, 有助于医生在初诊或术前了解患者病情, 以选择合适的诊疗方案。

最近有研究显示, 乳腺癌患者超声血流参数(血流搏动指数、血流阻力指数、峰值流速、容量转移常数、速率常数)及 MRI 定量动态增强参数的数值越高, 表明疾病分期越高, 肿瘤的分化程度越低^[21], 提示在恶性肿瘤组织中, 肿瘤的血供越丰富, 超声血流参数变化越显著。本研究结果与此一致, 本研究显示肺腺癌患者血流分级与临床分期呈正相关, 即随着血流分级的增加, 患者的临床分期也随之升高。这提示我们可以通过血流分级来评估肺腺癌患者的临床分期, 并在临床上进行更加精准的治疗和管理。而且超声下血流分级是一种完全无创的、简便易行

的检查方法, 成本低, 但诊断的准确度高, 有望为肺癌患者的治疗提供指导帮助。

综上所述, 肺腺癌患者超声下血流分级与肿瘤组织中 MVD 值和 VEGF、HIF-1 α 阳性表达比例均呈正相关, 且血流分级与临床分期呈正相关。超声下血流分级可以用于评估肺腺癌的 MVD 值以及 VEGF、HIF-1 α 阳性表达特征和临床分期, 以辅助临床医生制定个性化诊疗方案, 建议在临床中推广。

伦理批准和知情同意: 本研究涉及的所有试验均已通过河南大学第一附属医院科学伦理委员会的审核批准(文件号 2021-03-036)。受试对象或其亲属已经签署知情同意书。

作者声明: 所有作者均参与了研究设计及论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文, 且均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] KIM E Y, LEE S H, KIM A, et al. Tumor clonal status predicts clinical outcomes of lung adenocarcinoma with EGFR-TKI sensitizing mutation[J]. J Cancer, 2019, 10(22):5549-5556.
- [2] 鲁文洁, 李红伟, 宋轶鹏. 早期肺腺癌病人淋巴结转移的影响因素分析[J]. 青岛大学学报(医学版), 2021, 57(1):55-58.
- [3] GONAI T, KAWASAKI K, NAKAMURA S, et al. Microvascular density under magnifying narrow-band imaging endoscopy in colorectal epithelial neoplasms[J]. Intest Res, 2020, 18(1):107-114.
- [4] MYINT M Z Z, JIA J, ADLAT S, et al. Effect of low VEGF on lung development and function[J]. Transgenic Res, 2021, 30(1):35-50.
- [5] WINATA I G S, HIDAYAT Y M, WINARNO G N, et al. Pulsatility index and hypoxia inducible factor-1 α expression predict the clinical response after external radiation in patients with stage IIB to IVA cervical cancer[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2019, 20(7):2073-2078.
- [6] 黄莹, 陈琼霞, 李艳, 等. 肺活检组织的病理诊断分析[J]. 重庆医科大学学报, 2013, 38(10):1245-1246.
- [7] 刘艳君, 王学梅. 超声读片指南[M]. 2 版. 北京: 化学工业出版社, 2015:102-110.
- [8] MÖBIUS C, DEMUTH C, AIGNER T, et al. Evaluation of VEGF A expression and microvascular density as prognostic factors in extrahepatic cholangiocarcinoma[J]. Eur J Surg Oncol, 2007, 33(8):1025-1029.
- [9] 王伯沅. 病理学技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000:366.
- [10] ABDULJABBAR K, RAZA S E A, ROSENTHAL R, et al. Geospatial immune variability illuminates differential evolution of lung adenocarcinoma[J]. Nat Med, 2020, 26(7):1054-1062.
- [11] JOHNSON N, GOULD K. How do PET myocardial blood flow reserve and FFR differ? [J]. Curr Cardiol Rep, 2020, 22(4):20.

- tion[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2013,9(9):522-536.
- [2] EKICI M A, CİKLA U, BAUER A, et al. Osteopetrosis and Chiari type I malformation: A rare association[J]. *J Surg Case Rep*, 2015, 2015(10):rjv084.
- [3] KANG S, KANG Y K, LEE J A, et al. A case of autosomal dominant osteopetrosis type 2 with a clcn7 gene mutation[J]. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*, 2019,11(4):439-443.
- [4] 杨婵,杨婧妃,谢春光. 石骨症研究进展[J]. *新医学*, 2016,47(5):286-289.
- [5] NORWOOD I, SZONDI D, CIOCCA M, et al. Transcriptomic and bioinformatic analysis of Clcn7-dependent Autosomal Dominant Osteopetrosis type 2. Preclinical and clinical implications[J]. *Bone*, 2021,144:115828.
- [6] NORWOOD I, SZONDI D, RUCCI N, et al. Transcriptome analysis reveals potential biomarkers of CLCN7-dependent Autosomal Dominant Osteopetrosis Type 2 (ADO2) [J]. *Bone Rep*, 2020,13:100657.
- [7] 吴爱国,何丛馨,杨少军,等. 石骨症特异诱导多能干细胞的建立及其功能研究[J]. *海南医学*, 2020,31(17):2177-2180.
- [8] 宋玉文,徐晓杰,吕芳,等. CLCN7 基因突变致常染色体显性遗传性骨硬化症:1 例家系研究[J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2017,10(4):328-335.
- [9] 刘雪婷,王双义,王永亮. 合并颌骨髓炎的石骨症家系临床特点及遗传学特征分析[J]. *实用医学杂志*, 2014,30(14):2281-2283.
- [10] 王晨秀,章振林. CLCN7 基因突变致 2 型常染色体显性遗传骨硬化症一个家系报告[J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2022,15(5):529-533.
- [11] XUE Y, WANG W G, MAO T Q, et al. Report of two Chinese patients suffering from CLCN7-related osteopetrosis and root dysplasia[J]. *J Craniomaxillofac Surg*, 2012,40(5):416-420.
- [12] PENG H, HE H B, WEN T. A novel variant in CLCN7 regulates the coupling of angiogenesis and osteogenesis[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020,8:599826.
- [13] PANG Q, CHI Y, ZHAO Z, et al. Novel mutations of CLCN7 cause autosomal dominant osteopetrosis type II (ADO-II) and intermediate autosomal recessive osteopetrosis (IARO) in Chinese patients[J]. *Osteoporos Int*, 2016, 27(3):1047-1055.
- [14] ZHENG H, SHAO C, ZHENG Y, et al. Two novel mutations of CLCN7 gene in Chinese families with autosomal dominant osteopetrosis (type II) [J]. *J Bone Miner Metab*, 2016, 34(4):440-446.
- [15] CHATTOPADHYAY P, KUNDU A K, SAHA A K, et al. Mandibular osteomyelitis and multiple skeletal complications in Albers-Schönberg disease[J]. *Singap Med J*, 2008,49(9):e229-33.
- [16] WAGUESPACK S G, KOLLER D L, WHITE K E, et al. Chloride channel 7 (CLCN7) gene mutations and autosomal dominant osteopetrosis, type II [J]. *J Bone Miner Res*, 2003, 18(8):1513-1518.
- [17] WANG C, ZHANG H, HE J W, et al. The virulence gene and clinical phenotypes of osteopetrosis in the Chinese population: Six novel mutations of the CLCN7 gene in twelve osteopetrosis families[J]. *J Bone Miner Metab*, 2012, 30(3):338-348.
- [18] MAURIZI A, CAPULLI M, CURLE A, et al. Extra-skeletal manifestations in mice affected by Clcn7-dependent autosomal dominant osteopetrosis type 2 clinical and therapeutic implications[J]. *Bone Res*, 2019,7:17.
- (本文编辑 耿波 厉建强)
-
- (上接第 552 页)
- [12] YOTSUKURA M, ASAMURA H, MOTOI N, et al. Long-term prognosis of patients with resected adenocarcinoma in situ and minimally invasive adenocarcinoma of the lung[J]. *J Thorac Oncol*, 2021,16(8):1312-1320.
- [13] SHI R, BAO X W, UNGER K, et al. Identification and validation of hypoxia-derived gene signatures to predict clinical outcomes and therapeutic responses in stage I lung adenocarcinoma patients[J]. *Theranostics*, 2021,11(10):5061-5076.
- [14] WANG K P, WANG B, WANG Z Q, et al. Alginate acid inhibits non-small cell lung cancer-induced angiogenesis via activating miR-506 expression[J]. *J Nat Med*, 2021,75(3):553-564.
- [15] VITORATOU D I, TOLIA M, LIAKOS P, et al. Clinical value of significance of Hypoxia Inducible Factor-1 α , Glucose Transporter-1 and Carbonic Anhydrase IX in rectal cancer after preoperative chemoradiotherapy[J]. *J BUON*, 2019, 24(2):456-463.
- [16] 刘凯,杜合娟,胡惠良,等. 肝动脉化疗栓塞术对进展期肝癌淋巴转移者疗效及血管内皮生长因子表达的影响[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2019,29(5):410-412,488.
- [17] ZHANG J, HAN L, YU J, et al. miR-224 aggravates cancer-associated fibroblast-induced progression of non-small cell lung cancer by modulating a positive loop of the SIRT3/AMPK/mTOR/HIF-1 α axis[J]. *Aging*, 2021,13(7):10431-10449.
- [18] ZHANG Y N, BIAN Y Y, WANG Y, et al. HIF-1 α is necessary for activation and tumour-promotion effect of cancer-associated fibroblasts in lung cancer[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(12):5457-5469.
- [19] LE X N, NILSSON M, GOLDMAN J, et al. Dual EGFR-VEGF pathway inhibition: A promising strategy for patients with EGFR-mutant NSCLC[J]. *J Thorac Oncol*, 2021,16(2):205-215.
- [20] FU R, DU W W, DING Z L, et al. HIF-1 α promoted vasculogenic mimicry formation in lung adenocarcinoma through NR1 upregulation in the hypoxic tumor microenvironment [J]. *Cell Death Dis*, 2021,12(4):394.
- [21] 阮佳泉,张健颖,叶江. 超声血流参数及 MRI 定量动态增强参数与乳腺癌分期、淋巴结转移及分化程度的关系[J]. *中国 CT 和 MRI 杂志*, 2022,20(9):99-101.
- (本文编辑 耿波 厉建强)