

星形细胞瘤 MR 征象与 VEGF 表达的相关性研究

陈长青, 廖伟华, 王小宜, 刘凡, 姜新雅, 王润文

【摘要】 目的:探讨星形细胞瘤 MRI 征象与血管内皮生长因子(VEGF)表达程度的相关性。**方法:**对 33 例经手术和病理证实的星形细胞瘤分别行术前常规横断面 T₁WI、T₂WI 平扫和 Gd-DTPA 增强后三维 T₁WI, 术后取肿瘤组织行 VEGF 表达和微血管密度(MVD)免疫组化染色, 计算每一例肿瘤标本的 VEGF 表达程度和 MVD, 将 VEGF 表达程度分别与 MRI 征象、MVD 及病理分级进行相关分析。**结果:**星形细胞瘤病理分级越高, VEGF 表达越强($P<0.01$); 肿瘤周围水肿程度、囊变与坏死、强化形态与程度以及肿瘤 MVD 等与 VEGF 表达强度密切相关。**结论:**星形细胞瘤 MRI 表现与 VEGF 表达强度具有密切的相关性, MRI 对星形细胞瘤的分级诊断和判断其生物学行为及预后具有较高的价值。

【关键词】 磁共振成像; 星形细胞瘤; 血管内皮生长因子; 免疫酶技术

【中图分类号】 R445.2; R739.4 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2004)07-0483-04

The correlative study of MRI features and VEGF expression in astrocytomas CHEN Chang-qing, LIAO Wei-hua, WANG Xiao-yi, et al. Department of Radiology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, P. R. China

【Abstract】 Objective: To explore the correlation of MRI features with vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in astrocytomas. **Methods:** 33 cases of astrocytomas were proved by surgery and pathology and scanned by MRI before operation. Both VEGF expression level and microvascular density (MVD) were evaluated immunohistochemically. **Results:** The peritumoral edema, cyst formation and necrosis, degree and shape of contrast enhancement and MVD were correlated significantly with VEGF expression level respectively ($P<0.05$ or 0.01). The pathologic grading of astrocytomas was positively correlative with its VEGF expression level. **Conclusion:** The VEGF expression level in astrocytomas is closely correlated with MRI features. Therefore, MRI features could help to evaluate the grading and some biological behavior of astrocytomas to a certain extent.

【Key words】 Magnetic resonance imaging; Astrocytoma; Vascular endothelial growth factor; Immunoenzyme techniques

星形细胞瘤是颅内最常见的原发性肿瘤, 文献^[1,2]报道, MRI 对星形细胞瘤的分级诊断价值较大。研究表明血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是肿瘤血管生成过程中起关键作用的正性调节因子, 其表达强度与星形细胞瘤的病理分级和浸润性有密切的关系, 是临床与病理评价恶性肿瘤生物学行为和预后的参考指标^[3,4]。本研究通过对星形细胞瘤的 MRI 表现与 VEGF 表达强度进行相关性研究, 探讨术前 MRI 对星形细胞瘤的生物学行为和预后评估的价值。

材料与方法

2002 年 1 月~2003 年 1 月笔者对 33 例患者行术前 MRI 平扫和增强扫描, 全部患者术后均经病理证实为星形细胞瘤。患者年龄 8~65 岁, 平均 39.6 岁, 男 19 例, 女 14 例。

按照最新 WHO 肿瘤分类标准, 星形细胞瘤分为 I 级、II 级、III 级(间变型)及 IV 级(多形胶质母细胞瘤)。I 级的病理特点是细胞正常至轻度增生, 微量间变至不存在间变; II 级为 25% 以上细胞增生, 大约半数细胞有早期间变; III 级细胞增生达 50% 以上, 中度间变, 细胞大量增殖及多形性, 有丝分裂和血管内皮增生常见; IV 级胶质瘤细胞显著增殖、间变, 核异型性明显, 内皮细胞显著增生, 大量的有丝分裂、坏死和肿瘤新生血管形成。本组病例 33 例均按该标准进行分类, 其中 I 级 5 例, II 级 12 例, III 级 11 例, IV 级 5 例。除 2 例位于小脑, 其余均位于幕上。

使用 Siemens 公司 Impact Magnetom 1.0T 超导型 MR 机, 采用头颅线圈, 平扫采用横断面 T₁WI (FLASH 序列, TR 260 ms, TE 7 ms)、T₂WI (TSE 序列, TR 3400 ms, TE 90 ms); Gd-DTPA 增强 T₁WI (FLASH 序列, TR 260 ms, TE 7 ms), 包括横断面、矢状面或冠状面, Gd-DTPA 用量为 0.1 mmol/kg, 于 2 min 内经静脉注入。

免疫组织化学方法: 石蜡包埋病变组织块连续切

作者单位: 410008 长沙, 中南大学湘雅医院放射科

作者简介: 陈长青(1967-), 男, 湖南祁阳人, 硕士, 主治医师, 主要从事神经放射和介入放射工作。

片 3 张,厚约 4 μm ,一张 HE 染色用于病理分级诊断,一张行 VEGF 免疫组化染色,另一张用于微血管密度(microvascular density,MVD)免疫组化染色。VEGF 免疫组化染色采用兔抗人 VEGF 单克隆抗体,MVD 免疫组化染色采用Ⅷ因子相关抗原单克隆抗体,并设立阴性对照。

MRI 资料分析:分别对星形细胞瘤的瘤周水肿程度、有无囊变与坏死、强化形态和强度等重要 MRI 征象与 VEGF 表达的相关性进行分析。肿瘤 MRI 特征程度按照表 1 在每一征象内进行亚分组计算分值。

表 1 MRI 征象评分标准

分值	MRI 征象			
	水肿程度	囊变与坏死	强化形态	强化程度
0	无	无	—	无
1	轻度(水肿带<1 cm)	少量(散在小斑点状坏死或囊变,直径<0.5 cm)	斑片状	轻度(强化信号低于脂肪)
2	中度(水肿带 1~2 cm)	中度(坏死或囊变直径为 0.5~2 cm)	单环形	明显(强化信号高于脂肪)
3	重度(>2 cm)	重度(坏死或囊变直径>2 cm)	多环形或花瓣状	—

VEGF 表达半定量评价和 MVD 计算:根据文献^[5]报道的方法,以胞浆呈均一棕黄色着色的细胞为阳性,无着色的细胞为阴性。在阳性细胞最密集的区域计数 1000 个肿瘤细胞,表达阳性的细胞数占总的肿瘤细胞数的百分比即为标记指数(labeling index, LI),据其平均值分别得出 VEGF 表达程度:LI>41% 为(卅),11%≤LI≤40% 为(廿),LI<10% 为(+),LI=0 为(—)。在 100 倍镜下浏览全片,寻找肿瘤血管高密度区,选定 5 个血管密度最高区在高倍镜下(200 倍)观察,在目镜网格测微尺 0.25 μm^2 范围内计数,取平均值即为 MVD。

7. 统计学方法

所有数据用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。经 SPSS 10.0 版统计软件分析,多个样本均数比较用方差分析,两两样本均数比较用 q 检验。检验水准 α 均为 0.05。

结 果

1. VEGF 表达强度与星形细胞瘤病理分级的关系

星形细胞瘤细胞胞浆内常有 VEGF 表达,33 例星形细胞瘤中只有 2 例表达为(—),7 例为(+),8 例为(廿),16 例为(卅),故将星形细胞瘤 VEGF 表达分 3 级:—~+ 表达为 1 级,廿表达为 2 级,卅表达为 3 级

(表 2,图 1c,2c)。

表 2 VEGF 表达与病理分级

星形细胞瘤级别	VEGF 表达强度			合计
	1 级	2 级	3 级	
I 级	4	1	0	5
II 级	5	3	4	12
III 级	0	4	7	11
IV 级	0	0	5	5
合计	9	8	16	33

注:秩和检验中的 Kruskal-wallis 法, $P<0.01$

2. VEGF 表达强度与星形细胞瘤 MRI 征象的关系

按表 1 标准对各个病例的不同 MRI 征象进行评分,然后按 VEGF 不同表达程度将星形细胞瘤分成三组,比较各组之间 MRI 征象评分的差异(表 3,图 1a~c,2a~c),符合方差检验者用方差分析,两两样本均数的比较用 q 检验;否则用秩和检验中的 Kruskal-Wallis H 检验,两两均数的比较用秩和检验中 Nemenyi 法。

表 3 VEGF 表达强度与 MRI 征象的关系

MRI 征象	VEGF 表达强度		
	—~+(1 级)	++(2 级)	+++ (3 级)
水肿程度	0.82±0.60*	1.63±0.92*	2.38±0.81***
坏死、囊变	0.64±0.92**	2.00±1.20	2.13±0.96***
增强形态	0.73±0.47*	1.75±0.71	2.06±1.12***
增强程度	0.73±0.47*	1.38±0.52	1.69±0.70**

注:*、**代表自左向右相邻两组比较的 P 值,**、***代表自左向右非相邻两组比较的 P 值;* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ 。

3. VEGF 表达与 MVD 的关系

33 例星形细胞瘤组织 MVD 为 29.30~100.00,而且 VEGF 不同表达程度的星形细胞瘤之间 MVD 的差异均有显著性意义($P<0.05$),星形细胞瘤的 MVD 随着 VEGF 表达增高而增高(表 4,图 1c、1d、2c、2d)。

表 4 VEGF 表达与 MVD 的关系

VEGF 表达程度	例数	MVD($\bar{x}\pm s$)	q 检验 P 值
1 级(—~+)	9	42.50±6.22	0.047*
2 级(++)	8	52.92±8.91	0.017**
3 级(卅)	16	65.27±13.96	0.001***

注:* 1 级与 2 级间比较的 P 值,** 2 级与 3 级间比较的 P 值,*** 1 级与 3 级间比较的 P 值。

讨 论

星形细胞瘤的恶性程度随病理级别的增加而增高,肿瘤血管生成也随之越丰富,肿瘤血管生成与其生物学行为、组织分化程度及预后密切相关,血管生成程度可作为星形细胞瘤恶性度分级的指标之一。

血管发生是肿瘤生长和转移的基础,并由肿瘤和肿瘤相关的炎性细胞所分泌的信号传导分子所调控。一般认为,绝大多数直径>2mm 的实体肿瘤的生长

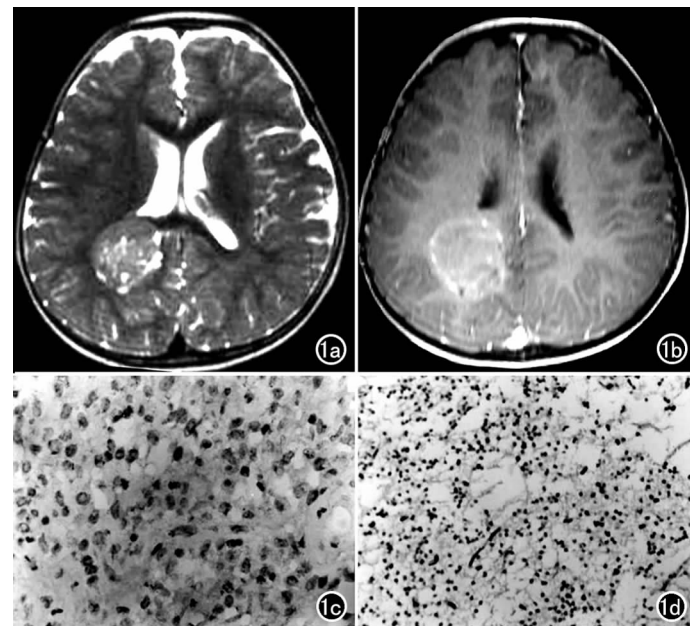


图 1 星形细胞瘤Ⅱ级。a) T_2 WI 示肿瘤位置, 肿瘤周围无水肿, 囊变坏死少; b) Gd-DTPA T_1 WI 示肿瘤呈片状轻度强化; c) VEGF 免疫组化染色示少数瘤细胞胞浆呈棕色, VEGF 反应强度为+ ($\times 200$); d) Ⅷ因子相关抗原血管染色示肿瘤微血管染成棕色, 呈索条状, 数目较少, MVD 为 42.30 ($\times 200$)。

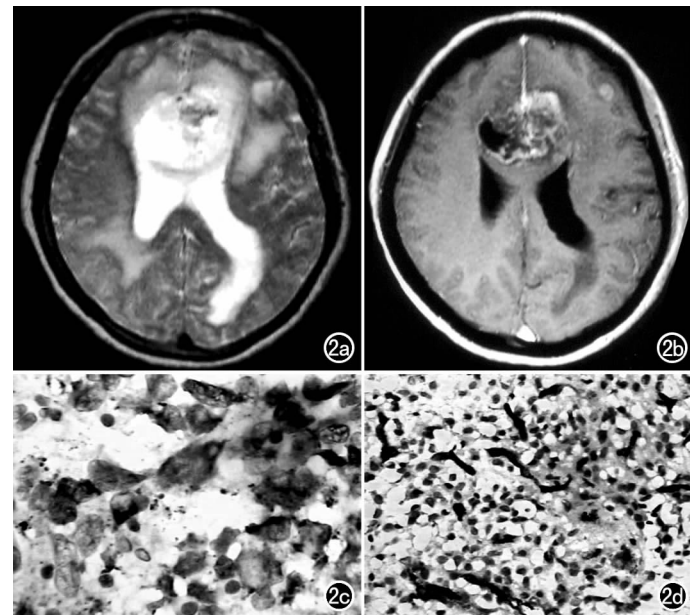


图 2 星形细胞瘤Ⅳ级。a) T_2 WI 示肿瘤位置, 瘤周重度水肿, 囊变坏死明显; b) Gd-DTPA T_1 WI 示肿瘤强化明显, 强化形态为环状强化; c) VEGF 免疫组化染色示多数瘤细胞胞浆染成深棕色, VEGF 表达程度为Ⅲ, 胞核被苏木素染成蓝色 ($\times 400$); d) Ⅷ因子相关抗原血管染色示肿瘤微血管呈索条状, 染成深棕色, 数目较多, MVD 为 75.00 ($\times 200$)。

必定伴随着血管发生, 即一种由宿主血管发芽长出新生血管的过程, 并为肿瘤的生长和转移提供必要的氧

和营养。没有新的血管形成, 肿瘤组织的直径将局限在 2~3 mm, 且不能向远处发生转移。肿瘤细胞本身可表达数种血管发生因子, 表明肿瘤可促进本身的血管形成。VEGF 被认为是在正常和肿瘤组织血管形成中起关键作用的诸多血管发生因子之一^[4]。许多生长因子是通过诱导 VEGF 的表达而实现的, VEGF 是这些生理过程的枢纽^[6]。VEGF 是由肿瘤细胞分泌的一种糖蛋白二聚体, 与肿瘤血管内皮细胞上 VEGF 受体 (即 flt-1 和 flk-1) 结合后, 使内皮细胞内钙离子增高, 产生以下生物学功能: ①高度特异性诱导和激活血管内皮细胞的有丝分裂, 直接刺激血管的生成; ②使微血管的通透性增加, 导致血管内大分子物质的渗出, 为血管内皮细胞的增殖、迁移及新血管形成提供基质支架^[4]。许多研究已表明星形细胞瘤的 MVD 与 VEGF 表达存在显著相关性^[3,7]。本研究也发现 VEGF 表达程度高的星形细胞瘤的 MVD 高于表达程度低的星形细胞瘤 ($P < 0.05$), 证明了 VEGF 是主要参与诱导肿瘤血管生成的因子之一。此外, 许多抗星形细胞瘤血管生成的实验治疗也验证了这一点, 如直接应用抗 VEGF 抗体、VEGF 反义核苷酸体内进行实验治疗, 星形细胞瘤生长明显受到抑制, 而对体外培养的瘤细胞则无抑制作用, 提示体内抑瘤作用与抑制血管生成有关, 支持 VEGF 在星形细胞瘤中具有促进内皮细胞增殖, 血管生成的观点^[8,9]。

肿瘤血管生成具有一定的组织侵袭性, 肿瘤细胞可沿新生血管的组织裂隙向外侵袭, 侵蚀周围组织, 伴随血管内皮细胞增生的大量微血管生成是恶性胶质瘤的标志, 血管生成也常被作为胶质瘤恶性程度分级标准之一^[10]。如前所述, 人脑胶质瘤 VEGF 基因 mRNA 表达水平与肿瘤血管密度有显著的正相关。通过对本组中各级别星形细胞瘤组织中 VEGF 表达强度与病理级别进行相关性分析, 发现星形细胞瘤的病理分级越高, 其 VEGF 表达水平越高, 说明 VEGF 作为调控肿瘤血管发生的关键性因子之一, 随着肿瘤恶性程度和生长活跃情况的变化, 其表达呈正相关, 可促进更多的肿瘤新生血管形成, 提供肿瘤生长所需要的氧和血供, 因此是判断肿瘤恶性程度非常有价值的指标。

瘤周水肿是星形细胞瘤常见的 MRI 征象, 其严重程度与肿瘤的恶性程度有关, 发生机制可能与血脑屏障破坏、血管通透性增加有关。文献^[1,2]报道瘤周水肿程度可反映星形细胞瘤的恶性程度, 对星形细胞瘤的分级诊断价值较大。VEGF 不仅能促进肿瘤血管生成, 而且能增加血管通透性, 使更多的血浆大分子成分漏出血管外, 造成血管外渗透压增高, 促进瘤周水肿的

发生。印弘等^[7]在脑胶质瘤大鼠模型的实验研究中亦发现, C6 胶质瘤 MRI 可见瘤周水肿, 瘤组织 VEGF 呈高度表达, 病理可见瘤组织中新生血管及血管内皮细胞, 瘤组织与脑组织交界处血管腔扩大, 提示瘤周水肿可能为血管源性水肿。本组研究结果表明, 随着 VEGF 表达增强, 瘤周水肿逐渐严重, 显示了 VEGF 表达强度对瘤周水肿有明显的影响。因此, 瘤周水肿可在一定程度上反映肿瘤 VEGF 表达的强度, 是判断星形细胞瘤恶性程度和侵袭力有价值的指标之一。当然, VEGF 不是影响瘤周水肿形成的唯一因素, 肿瘤病理级别、大小、部位及其与周围结构的关系也对瘤周水肿的形成产生程度不一的影响。

恶性肿瘤由于增殖能力强, 生长快, 导致局部血供不足, 肿瘤组织内出现缺血坏死和低氧环境, 而缺血和低氧环境又刺激肿瘤细胞分泌血管发生因子促进肿瘤的血管生成^[11], 因此瘤内出现坏死囊变较明显的肿瘤由于缺血和低氧环境可分泌较多的 VEGF。通过分析本组病例, 发现在瘤内坏死囊变程度不一的肿瘤组织中, 其 VEGF 表达强度存在明显差异, 坏死囊变程度越明显, 肿瘤组织中 VEGF 表达越强。因此, 在 MRI 征象中肿瘤坏死囊变程度可作为反映星形细胞瘤组织表达 VEGF 高低的一个指标, 与肿瘤的高度恶性浸润生长特性有关。

一般认为, 恶性程度高的肿瘤必须有丰富的肿瘤血管来满足其快速生长的需要, 因而 VEGF 表达强度较高^[12]。肿瘤的增强程度与肿瘤血管的丰富度和血脑屏障的破坏程度密切相关。肿瘤的早期强化与肿瘤血管的丰富程度相关, 而后期强化主要由肿瘤血管的通透性和血管外间隙大小决定。VEGF 表达高则肿瘤的血管生成活跃, 且可增加血管的通透性, 使对比剂流向肿瘤血管外间隙的量和速度增加, 从而使肿瘤的强化程度增加。比较分析本组病例中肿瘤组织的强化程度与 VEGF 表达强度的关系, 发现强化程度高的肿瘤, 其 VEGF 表达越强, 这在一定程度上证明 VEGF 表达越强, 其刺激肿瘤血管生成的能力越强, 导致血管通透性增大, 其结果是肿瘤强化越明显。肿瘤组织强化形态也是反映星形细胞瘤恶性程度的重要 MRI 征象之一, 除了与星形细胞瘤的恶性程度有关外, 主要与恶性肿瘤组织的异质性有关, 而引起肿瘤组织异质性的病理学基础包括囊变、坏死、出血以及肿瘤细胞分布不均匀。本组资料表明, 强化形态不同的星形细胞瘤其 VEGF 表达强度有明显差别, 多环状强化的肿瘤高于单环状强化的肿瘤, 而单环状强化的肿瘤又高于斑

片状强化或无强化的肿瘤。上述分析说明强化程度和强化形态可间接反映星形细胞瘤组织表达 VEGF 的高低, 对判断其恶性程度和恶性生长特性有较大的价值。

综上所述, VEGF 表达强度可影响星形细胞瘤的瘤周水肿、坏死囊变、强化程度和强化形态等形态学变化, 通过 MRI 分析星形细胞瘤的上述表现, 有助于判断肿瘤的恶性程度和某些恶性生物学行为, 为诊断和治疗提供有价值的依据。

参考文献:

- [1] 耿道颖, 沈天真, 陈星荣, 等. 星形细胞瘤 MRI 与病理对照研究 (附 280 例分析)[J]. 中华放射学杂志, 1999, 33(2): 79-84.
- [2] 漆剑频, 朱文珍. 脑星形细胞瘤 MRI 与病理对照统计学分析[J]. 放射学实践, 2002, 17(6): 464-467.
- [3] Leon SP, Follkerth RD, Black PM. Microvessel density is prognostic indicator for patients with astroglial brain tumor[J]. Cancer, 1996, 77(2): 362-372.
- [4] Harold FD, Lawrence FB, Michael D, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis[J]. Am J Pathol, 1995, 146(5): 1029-1039.
- [5] 李艳云, 张丽红, 李玉林, 等. bFGF 及其受体在脑星形细胞瘤中的表达和意义[J]. 中风与神经疾病杂志, 1999, 6(1): 27-29.
- [6] Tsai J, Goldman CK, Gillespie GY, et al. Vascular endothelial growth factor in human glioma cell line: induced secretion by EGF, PDGF-BB and b-FGF[J]. J Neurosurg, 1995, 82(7): 864-871.
- [7] 印弘, 李复, 高元桂, 等. 大鼠 C6 胶质瘤 VEGF 表达与 MRI 对照研究[J]. 中国医学影像学杂志, 2002, 10(3): 200-202.
- [8] Machein MR, Risau W, Plate KH, et al. Antiangiogenic gene therapy in rat glioma model using a dominant-negative vascular endothelial growth factor receptor 2[J]. Hum Gene Ther, 1999, 10(5): 1117-1128.
- [9] Sasaki M, Wizigmann VS, Risau W, et al. Retrovirus producer cells encoding antisense VEGF prolong survival of rats with intracranial BG9L gliomas[J]. Int J Dev Neurosci, 1999, 17(3): 579-583.
- [10] Chaudhry IH, O'Donovan DG, Brenchley PE, et al. Vascular endothelial growth factor expression correlates with tumour grade and vascularity in gliomas[J]. Histopathology, 2001, 39(4): 409-415.
- [11] Allalunis-Turner MJ, Franko AJ, Parliament MB. Modulation of oxygen consumption rate and vascular endothelial growth factor mRNA expression in human malignant glioma cells by hypoxia[J]. Br J Cancer, 1999, 80(1-2): 104-109.
- [12] Goldbrunner RH, Bendszus M, Sasaki M, et al. Vascular endothelial growth factor-driven glioma growth and vascularization in an orthotopic rat model monitored by magnetic resonance imaging[J]. Neurosurgery, 2000, 47(4): 921-930.

(收稿日期: 2003-10-13 修回日期: 2004-01-29)