

门脉高压症患者食管壁组织血管内皮生长因子的表达及其与门脉和脾脏血流动力学的关系

潘一明, 黄旭, 曹亚娟, 包善华, 谢敏

(南京大学医学院附属鼓楼医院普通外科, 南京医科大学鼓楼临床医学院普通外科, 江苏 南京 210008)

[摘要] **目的:**探讨门脉高压症患者食管壁组织中血管内皮因子(VEGF)的表达及其与门脉和脾脏血流动力学之间的关系。**方法:**36例接受联合断流术的门脉高压症患者术前行多普勒超声检查,测量门静脉和脾静脉直径(D)及平均流速(V),计算流量(Q)。术中留取食管壁组织,并通过胃网膜右静脉属支穿刺测量自由门静脉压力。对食管壁组织行VEGF免疫组化并进行半定量分析。**结果:**食管壁组织VEGF的表达情况:0分(-)3例,1~4分(+)10例,5~8分(++)18例,9~12分(+++)5例,阳性表达率为91.7%,高表达比率为63.9%。食管壁组织VEGF高表达组门静脉内径(Dp)和流量(Qp)、脾静脉内径(Ds)和流量(Qs)明显高于低表达组($P < 0.01$);食管壁组织VEGF高表达组的门静脉流速(Vp)明显低于低表达组($P < 0.01$),但两组间脾静脉流速(Vs)差异不明显($P > 0.05$)。食管壁组织VEGF高表达组的自由门静脉压力明显低于低表达组($P < 0.01$)。**结论:**门脉高压症患者食管壁组织中VEGF呈高表达,VEGF的高表达与门脉和脾脏血流动力学指标以及门静脉压力有关。VEGF所介导的血管新生是内脏高动力循环形成因素之一。

[关键词] 门脉高压症;血管内皮生长因子;血流动力学

[中图分类号] R657.34

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2013)03-352-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20130313

The expression of vascular endothelial growth factor in esophagus of patients with portal hypertension and its relationship with the dynamics of portal vein and spleen

Pan Yiming, Huang Xu, Cao Yajuan, Bao Shanhua, Xie Min

(Department of General Surgery, Drum Tower Hospital, Medical College of Nanjing University, and Drum Tower Clinical Medical College, NJMU, Nanjing 210008, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in esophagus of patients with portal hypertension and its relationship with the dynamics of portal vein and spleen. **Methods:** Thirty-six patients who were undergone selective devascularization were received Doppler ultrasound examination, and the diameter and mean flow rate of portal vein and splenic vein were measured before operation, and the blood flow were calculated. The esophagus tissue was reserved and FPP (free portal hypertension) was measured by puncturing the right gastroepiploic vein during the operation. Immunohistochemistry was used to detect the expression of VEGF in esophagus tissues. **Results:** The ranking of VEGF expression in esophagus tissues: 0 (-) 3 cases; 1-4 (+) 10 cases; 5-8 (++) 18 cases; 9-12 (+++) 5 cases. The positive rate was 91.7% and the high expression rate of VEGF in esophagus is 63.9%. The diameter and flow of portal vein and splenic vein of the VEGF high expression group is higher than those of the VEGF low expression group ($P < 0.01$). The velocity of portal vein of the VEGF high expression group is lower than that of the VEGF low expression group ($P < 0.01$), but there was no obviously significant in the velocity of splenic vein between two groups ($P < 0.01$). The free portal pression of the VEGF high expression group is obviously higher than that of the VEGF low expression group ($P < 0.01$). **Conclusion:** The expression of VEGF in esophagus tissues of portal hypertension patients was high, and its high expression was related to parameters of portal and splenic hemodynamics and free portal pression. VEGF-mediated angiogenesis was one of the factors that caused hyperperfusion of splanchnic circulation in portal hypertension patients.

[Key words] tportal hypertension;vascular endothelial growth factor;hemodynamics

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(3): 352-355]

内脏高动力循环状态是门脉高压症的主要病理特征之一。传统观点认为门脉高压症内脏高动力循环是由血管收缩和扩张介质相互作用来调节的。最近的动物实验研究表明血管新生因子在门脉高压症内脏高动力循环和门体侧枝循环的形成中发挥重要作用,并对门脉高压症抗血管新生治疗进行了探索^[1]。目前对门脉高压症患者内脏组织血管新生因子与内脏高动力循环关系的研究较少,为此本文对 36 例门脉高压症患者的食管壁组织血管内皮生长因子(VEGF)的表达、门脉和脾脏血流动力学指标进行了分析,结果如下。

1 对象和方法

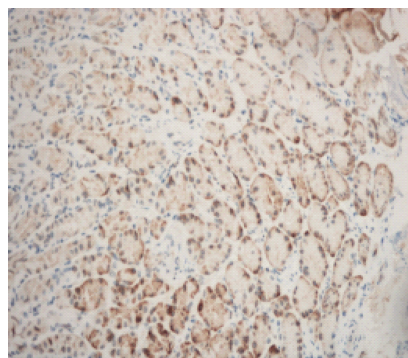
1.1 对象

本院 2011 年 3 月~2012 年 3 月间住院治疗的门脉高压症患者 36 例,其中男 33 例,女 3 例,年龄 19~64 岁,平均年龄 48 岁。原发病中包括乙型肝炎 32 例,丙型肝炎 1 例,血吸虫肝硬化 1 例,酒精性肝硬化 2 例。36 例中 34 例有呕血或黑便病史。患者入院后经临床、生化、内镜及影像学等检查确诊为门脉高压症,排除手术禁忌证后接受联合断流术。术中留取吻合器横断食管后的吻合圈,标本离体 40 min 内以 10%中性福尔马林固定 24 h。

1.2 方法

1.2.1 血流动力学测定

采用频率为 3.5MHz 探头,检测时间取术前 24~48 h 内进行,受检前禁食 8 h 以上。测定时取平卧位,于平静呼吸吸气位暂停呼吸,于第一肝门处显示门静脉主干长轴,测定门静脉内径(D_p)和流速(V_p),同样于吸气末屏息后距脾门 0.5~1.0cm 处测定脾静脉内径(D_s)和流速(V_s)。按照公式 $Q(\text{ml}/\text{min})=1/4 \times \pi \times D^2 \times V \times 60$,分别计算出门静脉流量(Q_p)和脾静脉流量(Q_s)。



VEGF 低表达组(+)

1.2.2 自由门静脉压力测定

开腹后用装有 6 号针头玻璃测压管,以生理盐水充盈后取胃网膜右静脉的分支大网膜静脉弓右侧支穿刺,待水柱不再下降之高度到脊缘距离为厘米水柱测得值。

1.2.3 免疫组化分析

鼠抗 VEGF 单克隆抗体(Thermo Scientific 公司,美国),Envision 二步法免疫组化染色试剂盒(Kit K5007, Dako 公司,丹麦)。实验步骤参照说明书进行。

VEGF 表达强弱参照免疫反应计分(immunoreactive score, IRS)来综合评分。每张切片随机选取 10 个高倍镜视野,以胞浆着黄色或棕黄色为 VEGF 阳性表达。阳性数量评分:≤5%为 0 分,6%~25%为 1 分,26%~50%为 2 分,51%~75%为 3 分,>75%为 4 分;着色强度评分:无着色为 0 分,浅黄着色为 1 分,黄色为 2 分,棕黄着色为 3 分。两者相乘,0 分为(-),1~4 分为(+),5~8 分为(++),9~12 分为(+++)。

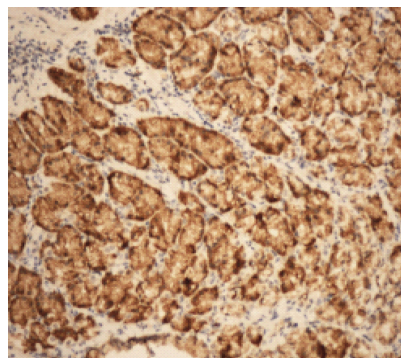
1.3 统计学方法

使用 SPSS19.0 统计软件处理数据,各数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,其中血流动力学指标和自由门静脉压力与 VEGF 表达的关系采用 *t* 检验,以 $P \leq 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 食管壁组织 VEGF 表达情况

VEGF 在食管壁组织中主要表达区域主要为黏膜层腺体细胞的胞浆,间质细胞少量着色(图 1)。对所有切片进行半定量分析:0 分(-)3 例,1~4 分(+)10 例,5~8 分(++)18 例,9~12 分(+++)5 例,阳性率为 91.7%。以 - 和 + 为低表达组,++ 和 +++ 为高表达组对患者进行分组,高表达组 23 例,低表达组 13 例,高表达比率为 63.9%。



VEGF 高表达组(+++)

图 1 食管壁组织 VEGF 表达情况

Figure 1 The expression of VEGF in esophagus tissues

2.2 食管壁组织 VEGF 的表达与血流动力学

食管壁组织 VEGF 高表达组的 D_p 、 D_s 、 Q_p 、 Q_s 明显高于低表达组 ($P < 0.01$); VEGF 高表达组的 V_p 明显低于低表达组 ($P < 0.01$), 两组间 V_s 差异不明显 ($P > 0.05$, 表 1)。

表 1 食管 VEGF 高、低表达两组间血流动力学参数比较
Table 1 The parameters of dynamics of splanchnic circulation between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

参数	高表达组(n=23)	低表达组(n=13)	P 值
D_p (mm)	15.61 ± 1.22	13.41 ± 1.02	< 0.05
V_p (cm/s)	13.84 ± 2.31	16.00 ± 1.63	< 0.01
Q_p (ml/min)	1573 ± 223	1354 ± 233	< 0.01
D_s (mm)	11.62 ± 1.15	10.05 ± 1.13	< 0.01
V_s (cm/s)	18.57 ± 1.74	17.21 ± 1.96	> 0.05
Q_s (ml/min)	1086 ± 199	886 ± 224	< 0.01

2.3 食管壁组织 VEGF 表达与门静脉压力的关系

食管壁组织 VEGF 高表达组自由门静脉压力 FPP 为 (44.3 ± 8.2) cmH₂O, VEGF 低表达组 FPP 为 (37.5 ± 7.3) cmH₂O, 两组间有显著性差异 ($P < 0.01$, 图 2)。

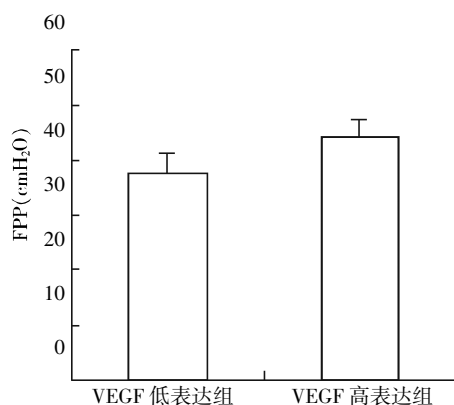


图 2 食管壁组织 VEGF 表达与门静脉压力的关系

Figure 2 The expression of VEGF in esophagus tissues and its relationship with FPP

3 讨论

门脉高压症引起的食管胃底静脉曲张破裂大出血来势凶险,病死率较高。对于门脉高压症的治疗,无论是分流、断流或内镜下治疗等措施均不能从根本上得到治疗,而肝脏移植又面临费用高、器官短缺等诸多问题,尚不能广泛应用。因此积极探索门脉高压症病理机制和新的治疗途径具有重要的临床意义^[2]。

1971年,Folkman首次提出了血管新生(angio-genesis)的概念^[3]。血管新生是在原来存在的血管结

构上长出新血管的生物学过程,是由于细胞-细胞、细胞-基质及细胞-细胞因子相互作用的结果。血管新生受血管新生促进因子和血管新生抑制因子的共同调控。VEGF是血管新生形成最重要的细胞因子。近年来血管新生在门脉高压症病理生理中的作用受到广泛的关注。应用门静脉部分缩窄型小鼠模型(partial portal vein ligation, PPVL)研究发现:在不同内脏区域 VEGF 和血管内皮细胞生长因子受体 2 (VEGF receptor-2, VEGF-R2) 蛋白表达量随时间推移而明显增高。同样的模型研究表明门脉高压形成时内脏十二指肠、小肠、肠系膜存在时间依赖性的 CD31(又称血小板-内皮细胞黏附分子)蛋白表达的增加^[4-5]。CD31 在内皮细胞膜表达,并通过与内皮细胞的结合在血管新生方面起着关键作用。这些动物实验研究表明在门脉高压症形成过程中血管新生发挥重要的调节作用。

门脉高压症最主要的表现是内脏高动力循环状态以及门-体侧支循环的建立和开放^[6]。内脏高动力循环导致门静脉系统血流量增加,维持和加重了门静脉的高压状态。内脏高动力循环的形成原因尚不十分清楚。传统观点认为内脏血管活性物质变化以及门静脉系统的低反应性是内脏高动力循环形成的主要原因。门脉高压症时内脏血管受血管扩张因子和血管收缩因子共同调控,其中一氧化氮(nitric oxide, NO)和内皮素-1(endothelin-1, ET-1)是主要的血管调节因子,通过调节门体侧支血管活性来参与门脉高压症的病理生理过程。

随着对血管新生和门脉高压症相互关联的深入研究,许多学者认为内脏组织新生血管的增加可能是维持内脏高动力循环的主要原因^[6]。在实验动物应用 SU5416 和雷帕霉素(分别抑制 VEGF 和 VEGFR-2)可显著降低大鼠门静脉压力、肠系膜上动脉血流量以及门体侧支的血流量^[7-8]。PPVL 大鼠术后即给予索拉非尼(Sorafenib,一种酪氨酸激酶抑制剂,可抑制 VEGFR2 及 PDGFR),内脏组织 VEGF 和 PDGF 表达下调了 45%,肠系膜及空肠的 CD31 表达也明显降低,大鼠的门静脉压力、肠系膜上动脉的血流量以及门体侧支的血流量都显著减少^[9]。

门脉高压症时内脏组织血管新生形成机制尚不清楚,可能与缺氧、细胞因子和机械应力等有关^[6]。尽管抗血管新生治疗在门脉高压症大鼠实验研究中取得了一定进展^[10],但有关血管新生和门脉高压症内脏动力循环的相关研究尚未在临床得到证实。本研究以需要行联合断流术治疗的门脉高压症患者为

研究对象,结果表明门脉高压症患者食管壁组织 VEGF 呈高表达,而 VEGF 是最主要的血管新生调节因子,且这种高表达与内脏血流动力学指标和门静脉压力明显相关。本研究表明血管新生因子 VEGF 在门脉高压症患者发病机制尤其是内脏高动力循环形成机制中发挥重要作用。目前临床上针对门脉高压症的治疗方法无论是内科还是外科,都存在疗效有限、复发率高、费用高昂等问题,因此,国外有学者认为抗血管新生治疗有望成为门脉高压症最具突破性和彻底的治疗方法之一^[11]。本研究为门脉高压症的抗血管新生治疗提供了一定的临床依据,VEGF 介导的血管新生是门脉高压症治疗的重要靶点之一。

[参考文献]

- [1] Chan CC. Portal-systemic collaterals and angiogenesis[J]. J Chin Med Assoc, 2009, 72(5): 223-224
- [2] Bosch J, Berzigotti A, Garcia-Pagan JC, et al. The management of portal hypertension; rational basis, available treatment and future options[J]. J Hepatol, 2008, 48(Suppl.1): S68-S92
- [3] Folkman J. Tumor angiogenesis; therapeutic implications [J]. N Engl J Med, 1971, 285(21): 1182-1186
- [4] Fernandez M, Mejias M, Garcia-Pras E, et al. Reversal of portal hypertension and hyperdynamic splanchnic circulation by combined vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor blockade in rats[J]. Hepatology, 2007, 46(4): 1208-1217
- [5] Fernandez M, Vizzutti F, Garcia-Pagan JC, et al. Anti-VEGF receptor-2 monoclonal antibody prevents portal-systemic collateral vessel formation in portal hypertensive mice[J]. Gastroenterology, 2004, 126(3): 886-894
- [6] Fernandez M, Semela D, Bruix J, et al. Angiogenesis in liver disease[J]. J Hepatology, 2009, 50(3): 604-620
- [7] Fernandez M, Mejias M, Angermayr B, et al. Inhibition of VEGF receptor-2 decreases the development of hyperdynamic splanchnic circulation and portal-systemic collateral vessels in portal hypertension rats[J]. J Hepatol, 2005, 43(1): 98-103
- [8] Mejias M, Garcia-Pras E, Tiani C, et al. Beneficial effects of sorafenib on splanchnic, intrahepatic, and portocollateral circulations in portal hypertensive and cirrhotic rats [J]. Hepatology, 2009, 49(4): 1245-1256
- [9] Reiberger T, Angermayr B, Schwabl P, et al. Sorafenib attenuates the portalhypertensive syndrome in partial portal vein ligated rats[J]. Hepatol, 2009, 51(5): 865-873
- [10] Patsenker E, Popov Y, Stickel F, et al. Pharmacological inhibition of integrin alphavbeta3 aggravates experimental liver fibrosis and suppresses hepatic angiogenesis [J]. Hepatology, 2009, 50(5): 1501-1511
- [11] Rosmordue O. Antiangiogenic therapies in portal hypertension: A breaththrough in hepatology [J]. Gastroenterologie Clinique et Biologique, 2010, 34 (8-9): 446-449

[收稿日期] 2012-11-17

本刊现已启用网上稿件管理系统,作者登陆
<http://jnmu.njmu.edu.cn/>即可在线投稿并查询稿件
审理情况。