VM、VEGF 在子宫内膜癌中表达的意义及预后影响

李美艳

摘　要　目的　检测子宫内膜癌(endometrial carcinoma,EC)组织标本中是否存在血管生成拟态(vasculogenic mimicry,VM),探讨 VM 与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)在 EC 中的表达情况及关系,并讨论二者与患者术后生存之间的关系。**方法**　采用 CD34 - PAS 双重染色法,检测 EC 组织、不典型增生和正常子宫内膜组织中 VM 的表达,免疫组织化学 SP 法检测 VEGF 蛋白的表达情况,并分析二者与 EC 患者临床病理因素及术后生存之间的关系。**结果**　VM 和 VEGF 的阳性表达率在 EC 组织中分别为 39.59% 和 68.02%,在不典型增生子宫内膜中分别为 4.71% 和 21.18%,在正常子宫内膜中分别为 1.59% 和 4.76%,二者表达在 EC 组较其他组差异均有统计学意义($\chi^2=60.668$,$P<0.05$;$\chi^2=98.976$,$P<0.05$)。VM 和 VEGF 蛋白均与手术 - 病理分期、组织学分化有关($P<0.05$),二者表达呈正相关关系($r=0.293$,$P=0.000$)。EC 患者预后的 *Kaplan - Meier* 单因素分析显示,VM 阳性和 VEGF 过表达患者 5 年总体生存率分别为 66.67% 和 79.10%,低于 VM 阴性和 VEGF 低表达患者的 95.80% 和 95.24%(P 均 <0.05)。EC 患者预后的 Cox 多因素分析显示,手术 - 病理分期、组织学分化、淋巴结转移、VM 阳性和 VEGF 过表达是影响 EC 预后的显著因素。**结论**　EC 组织标本中存在 VM,联合检测 VM、VEGF 对 EC 患者侵袭、转移及预后判断有重要意义,二者可能作为诊断和评估 EC 预后的参考指标。

关键词　子宫内膜癌　血管生成拟态　VEGF 蛋白　预后

中图分类号　R71　　**文献标识码**　A　　**DOI**　10.11969/j.issn.1673-548X.2018.06.022

Expression and Prognostic Significance of VM and VEGF in Endometrial Carcinoma.

Li Meiyan. Handan Central Hospital, Hebei 056008, China

Abstract　Objective　To detect the presence of vasculogenic mimicry (VM) in endometrial carcinoma (EC) tissue specimens, and to investigate the expression and relationship between VM and vascular endothelial growth factor (VEGF) in EC, and discuss the relationship between the two and the survival of patients after surgery. **Methods**　The expression of VM in EC tissue, atypical hyperplasia and normal endometrial tissue was detected by CD34 - PAS double staining. The expression of VEGF protein was detected by immunohistochemical SP method, and the relationship between the clinicopathological factors and the survival of EC patients was analyzed. **Results**　The positive expression rates of VM and VEGF were 39.59% and 68.02% in EC tissues, 4.71% and 21.18% in atypical hyperplasia endometrium respectively, 1.59% and 4.76% in normal endometrium respectively, the expression of the two in the EC group were statistically significant compared with the other groups($\chi^2=60.668$,$P<0.05$;$\chi^2=98.976$,$P<0.05$). Both VM and VEGF protein were associated with surgical - pathological stage and histological differentiation ($P<0.05$), positive correlation was found between them ($r=0.293$, $P=0.000$). *Kaplan - Meier* univariate analysis of the prognosis of patients with EC showed that the 5 - year overall survival rates of VM - positive and VEGF - positive patients were 66.67% and 79.10% respectively, which were lower than 95.80% and 95.24% in VM negative and VEGF negative patients(P all <0.05). Cox multivariate analysis of prognostic factors in EC patients showed that surgical - pathological stage, histological differentiation, lymph node metastasis, VM positive and overexpression of VEGF were significant factors influencing EC prognosis. **Conclusion**　VM was present in EC tissue specimens. Combined detection of VM and VEGF plays an important role in the invasion, metastasis and prognosis of EC patients, both of which may serve as a reference for the diagnosis and evaluation of EC prognosis.

Key words　Endometrial carcinoma; Vasculogenic mimicry; VEGF protein; Prognosis

子宫内膜癌(endometrial carcinoma,EC)为发生于子宫内膜的一组上皮性恶性肿瘤,是女性常见疾病之一,具有较高的发生率,严重威胁着女性的身体健康[1]。血管生成在肿瘤的发展转移过程中发挥着重要作用。血管生成拟态(vasculogenic mimicry,VM)是 Maniotis 等发现的一种全新肿瘤血管结构,VM 被证实在多种恶性肿瘤中存在,是除血管外供应肿瘤生长的重要结构[2~6]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)是一种刺激血管内皮细胞

基金项目:河北省科技厅科技项目(162777198)

作者单位:056008　邯郸市中心医院妇一科

增殖的重要因子,可促进内皮细胞的增殖、迁移,并参与 EC 等肿瘤的生长和转移等过程[1,7]。

资料与方法

1. 临床资料:选取 2012 年 1 月 ~2013 年 11 月经病理检查为 EC 并进行了手术治疗的患者 197 例(癌组),同期接诊的子宫内膜不典型增生患者 85 例(癌前病变组),及正常子宫内膜者 63 例(正常对照组)为研究对象。EC 患者年龄范围 24 ~72 岁,平均年龄 50.19 ±0.68 岁。按照平均年龄分组:≥50 岁 104 例,<50 岁 93 例;根据国际妇产科联盟(FIGO 2009)手术 - 病理分期标准:Ⅰ ~ Ⅱ期 170 例,Ⅲ ~ Ⅳ期 27 例;组织学分化:中 - 高分化为 144 例,低分化为 53 例;肌层浸润深度:≥1/2 肌层 51 例,<1/2 肌层 146 例;组织学类型:腺癌 155 例,其他 42 例;术后证实是否有淋巴结转移:有转移 25 例,无转移 172 例。实验标本均来自于诊刮及手术切除子宫的内膜标本,排除合并其他内科疾病和其他系统肿瘤和有心脏、脑、肾脏器官功能障碍、凝血系统障碍、出血疾病者,就诊前均未行放射、化疗治疗,未用过激素类药物,EC 组患者均为初次手术。所有病理切片由 2 名高年资病理医生复习,选取包含肿瘤组织及非癌的内膜组织的石蜡标本备用。

2. 实验方法和试剂:采用 CD34 - PAS 双重染色法,检测内膜组织中 VM 的表达;免疫组织化学 SP 法检测 VEGF 蛋白的表达情况。PAS 染色试剂盒购自美国 Sigma 公司,大鼠抗小鼠 CD34 抗体购自美国 Santa Cruz 公司,免疫组织化学 SP 试剂盒、PBS 缓冲液、DAB 试剂盒均购自福州迈新生物技术公司,各实验步骤均严格按相应试剂的说明书进行操作。

3. 判断标准和测定方法:CD34 - PAS 双染色步骤参见文献[8],存在 VM 结构的判定标准:由 CD34 染色结果阴性的肿瘤细胞构成管腔样结构,PAS 阳性物质(紫红色)衬附其周围,且未见 CD34 阳性的内皮细胞,部分管腔内可见红细胞,即 VM 结构阳性标志为 $CD34^-/PAS^+$[9]。免疫组化 SP 法步骤和判定评分标准参见文献[10],VEGF 蛋白阳性染色大多数定位于癌细胞胞质或胞膜中,阳性着色呈淡黄色至棕黄色颗粒。实验结果提示,CD34 - PAS 双重染色:VM 阳性 78 例,阴性 119 例;免疫组化 SP 法染色:VEGF 阳性 134 例,阴性 63 例。

4. 随访:通过复查、微信等方式随访,手术时间即为生存起始时间,复发或转移为终止,末次随访时间为 2017 年 7 月 31 日。随访范围为 6 ~67 个月,中位随访时间 28 个月,平均生存 31.02 ±1.06 个月,标准差 14.92。随访期内共 33 例死亡,失访者自失访之日按截尾数据处理,随访率 98.48% (194/197)。

5. 统计学方法:采用 SPSS 19.0 统计学软件对数据进行统计分析,各计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验,用 *Pearson* 法和连续校正公式计算。采用 *Spearman* 等级相关检验进行相关性分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。生存分析中将年龄处理为分类变量,采用 *Kaplan - Meier* 法和 *Log - rank* 来检验评价各因素与 EC 患者生存时间的关系,并用 *Cox* 风险模型进行多因素分析,回归方法选择基于条件参数估计的向前逐步 *Forward* 法(将年龄处理为分类变量 X1:年龄是否≥50),以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结　　果

1. VEGF 蛋白和 VM 在各组组织中的表达:VM 结构和 VEGF 蛋白的阳性表达率在 EC 组较其他组差异均有统计学意义($\chi^2=60.668$, $P<0.05$; $\chi^2=98.976$, $P<0.05$),见表 1。

表 1　VEGF 和 VM 在各组中表达情况

组别	n	VM		阳性率(%)	VEGF 蛋白				阳性率(%)
		阴性	阳性		-	+	+ +	+ + +	
正常子宫内膜组	63	62	1	1.59*	34	26	2	1	4.76*
不典型增生组	85	81	4	4.71*	32	35	8	10	21.18*
子宫内膜癌组	197	119	78	39.59	36	27	56	78	68.02

与子宫内膜癌组比较,* $P=0.000$

2. VEGF 蛋白和 VM 与 EC 临床病理参数的关系:研究 197 例 EC 组织中 VEGF 蛋白和 VM 在各临床病理参数分组中的表达情况发现,VEGF 蛋白和 VM 表达均与手术 - 病理分期、组织学分化有关($P<0.05$),另外,VM 表达还与淋巴结转移有关($P<0.05$),而在其他组(年龄、肌层浸润深度、组织学类型)中差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2　VEGF 蛋白和 VM 与 EC 临床病理特征的关系

临床病理特征		n	VEGF 表达			χ^2	P	VM 表达			χ^2	P
			阳性	阳性率(%)	阴性			阳性	阳性率(%)	阴性		
年龄(岁)	≥50	104	68	65.38	36	0.704	0.402	42	40.38	62	0.058	0.810
	<50	93	66	70.97	27			36	38.71	57		
手术－病理分期	Ⅰ～Ⅱ	170	108	63.53	62	11.500	0.001	61	35.88	109	7.144	0.008
	Ⅲ～Ⅳ	27	26	96.30	1			17	62.96	10		
组织学分化	中－高	144	91	63.19	53	5.730	0.017	28	19.44	116	90.860	0.000
	低	53	43	81.13	10			50	94.34	3		
肌层浸润深度	≥1/2 肌层	51	35	68.63	16	0.012	0.914	26	50.98	25	3.730	0.053
	<1/2 肌层	146	99	67.81	47			52	35.62	94		
组织学类型	腺癌	155	107	69.03	48	0.342	0.559	60	38.71	95	0.238	0.626
	其他	42	27	64.29	15			18	42.86	24		
淋巴结转移	有	25	18	72.00	7	0.208	0.648	17	68.00	8	9.660	0.002
	无	172	116	67.44	56			61	35.47	111		

3. VEGF 蛋白和 VM 在 EC 中的相关关系：应用 *Speaman* 相关性分析 VEGF 蛋白和 VM 二者的表达之间的关系，二者呈正相关，二者在 EC 的发生、发展中具有明显的正向协同效应（r 为正数；$P<0.05$），见表 3。

表 3　VEGF 蛋白和 VM 表达的关系

VM	VEGF 蛋白			
	－	＋	＋＋	＋＋＋
阴性	29	19	40	31
阳性	6	9	22	41

4. VEGF 蛋白和 VM 对 EC 预后影响的单因素分析：可能的影响因素均进行分析，手术－病理分期、组织学分化、淋巴结转移、VEGF 表达阳性、VM 阳性 5 项因素与 EC 的预后有关，它们都明显影响患者的 1、3、5 年生存率和各组生存期，差异有统计学意义（$P<0.05$），而年龄、肌层浸润及组织学类型对 EC 患者的生存率和各组生存期的差异无统计学意义（$P>0.05$），结果见表 4；*Kaplan－Meier* 生存分析的 VEGF 表达和 VM 各分组的生存曲线见图 1、图 2。

表 4　EC 患者临床病理和生物学特征单因素分析

临床病理和生物学特征		n	生存期均值*		生存期百分位数			生存率(%)			χ^2	P
			估计	标准误	25%	50%	75%	1 年	3 年	5 年		
年龄(岁)	≥50	104	55.34	2.58	－	－	47.00	99.04	85.58	83.65	0.677	0.411
	<50	93	56.53	2.14	－	－	61.00	100.00	89.25	84.95		
手术－病理分期	Ⅰ～Ⅱ	170	57.95	1.71	－	－	47.00	100.00	90.59	87.06	10.936	0.001
	Ⅲ～Ⅳ	27	46.35	4.63	－	61.00	15.00	96.30	66.67	66.67		
组织学分化	中－高	144	62.35	1.17	－	－	－	100.00	94.44	94.44	37.563	0.000
	低	53	41.90	3.35	－	39.00	20.00	98.11	67.92	56.60		
肌层浸润深度	≥1/2	51	52.61	3.28	－	－	39.00	98.04	80.39	78.43	1.851	0.174
	<1/2	146	57.29	1.84	－	－	47.00	100.00	89.73	86.30		
组织学类型	腺癌	155	55.43	1.88	－	64.00	47.00	99.35	87.74	85.16	0.012	0.913
	其他	42	55.94	3.45	－	－	40.00	100.00	85.71	80.95		
淋巴结转移	有	25	35.03	4.46	64.00	27.00	16.00	96.00	48.00	36.00	46.647	0.000
	无	172	60.41	1.57	－	－	61.00	100.00	93.02	91.28		
VEGF 阳性	是	134	52.02	2.27	－	64.00	37.00	99.25	82.84	79.10	12.301	0.000
	否	63	63.21	1.57	－	－	－	100.00	96.83	95.24		
VM 阳性	是	78	46.14	2.94	－	61.00	24.00	98.72	71.79	66.67	32.482	0.000
	否	119	63.17	1.25	－	－	－	100.00	97.48	95.80		

* 如果估计值已删失，那么它将限制为最长的生存时间

5. VEGF 蛋白和 VM 与 EC 预后影响因素的 *Cox* 多因素分析：对于 VEGF 蛋白和 VM 以及各临床病理因素（共 8 项）进行 *Cox* 多因素生存分析，采用基于条件参数估计的向前逐步 *Forward* 法，以 0.05 和

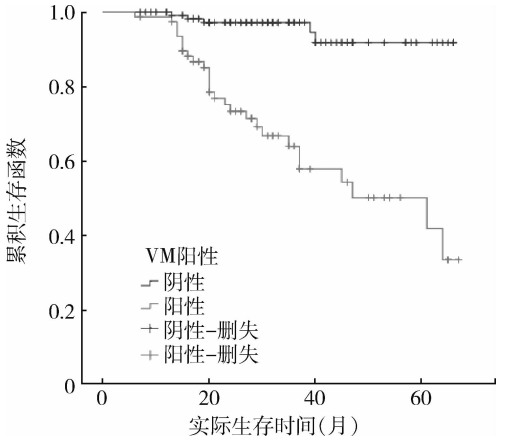

图 1　VM 结构表达情况的生存曲线

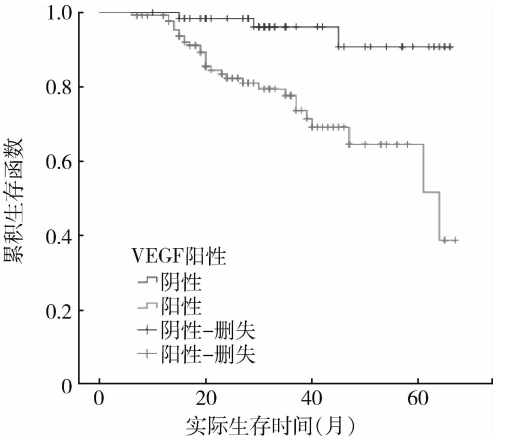

图 2　VEGF 表达情况的生存曲线

0.06 分别作为进入和剔除回归方程的筛选标准，*Cox* 分析结果显示，回归过程共进行了 5 步，最后筛选出进入 *Cox* 模型的影响 EC 手术预后的显著因素分别为（按相对危险度由高至低排序）：组织学分化、淋巴结转移、VEGF 阳性、手术－病理分期、VM 阳性共 5 项；而其余因素，年龄是否 >50 岁、组织学类型、肌层浸润深度则未入选模型。197 例实验数据 *Cox* 模型分析结果见表 5（*Forward* 法，递归最后一步）。

表 5　影响 EC 患者预后的 *Cox* 多因素分析（Forward 法）

因素	偏回归系数（B）	偏回归系数的标准误（SE）	Wald	*P*	相对危险度估计 Exp(B)	95% CI
手术－病理分期	1.318	0.546	5.817	0.016	3.734	1.280～10.893
组织学分化	1.760	0.561	9.846	0.002	5.810	1.936～17.437
淋巴结转移	1.533	0.385	15.865	0.000	4.633	2.179～9.851
VEGF 阳性	1.403	0.617	5.161	0.023	4.065	1.212～13.634
VM 阳性	1.024	0.551	3.449	0.063	2.784	0.945～8.205

讨　　论

肿瘤的发生和细胞增殖、凋亡及肿瘤血管生成密切相关[7]。而肿瘤组织的生存、转移和复发需要足够的血液供应，传统观点认为只有内皮细胞才能形成血管[11]。但 Maniotis 等[2]在研究黑色素瘤时提出了 VM 这一特殊的血液供应方式，证实存在 VM 阳性的肿瘤预后更差。可以说，VM 不依赖血管内皮细胞，这为抗肿瘤血管治疗提供了新思路[12,13]。

1. VM 和 VEGF 蛋白在各组织中的表达：以血管内皮细胞为靶点的肿瘤抗血管治疗被认为是最重要途径之一，但在部分高度恶性的肿瘤中并没有明显改善患者的 5 年生存率。VM 是近来被证实的全新血管形成方式，拥有 VM 的恶性肿瘤，更易复发转移、预后差、生存率低[8]。VM 由肿瘤细胞通过塑形改变，模拟内皮细胞而形成的管状结构，是不依赖内皮细胞的肿瘤血管模式，血液在该结构内流动，为肿瘤的持续生长及转移提供营养支持[14]。为更好阻止肿瘤血供，必须对 VM 与肿瘤血管生成进行联合治疗，才能起到良好疗效[15]。本研究中 VM 结构染色结果显示，197 例 EC 组织中有 78 例存在符合标准的通道结构，占比 39.59%，而在不典型增生子宫内膜和正常子宫内膜中分别仅为 4.71% 和 1.59%，说明 EC 中存在 VM 现象，EC 组 VM 存在的概率显著增高，在 EC 组较其他组差异有统计学意义（$\chi^2 = 60.668$，$P < 0.05$），这与陈纯等[12]研究结果一致。

VEGF 蛋白方面报道显示，癌细胞的生长、转移依赖新生血管的形成，VEGF 是一种具有较强促进血管内皮细胞分裂的因子，可促进内皮细胞的活化和迁移，是一重要的促血管生成蛋白[16]。王玎等[7]研究发现，VEGF 在肝癌、宫颈癌等肿瘤组织中表达较正常组织明显升高并和预后密切相关，已成为目前在肿瘤血管生成中作用最强的血管生成诱导因子[15]。Sallinen 等[17]研究卵巢癌显示，恶性肿瘤患者比良性者具有更高水平的 VEGF。近期，王淑贞等[1]也研究发现，EC 组织中 VEGF 表达明显高于子宫内膜不典型增生、正常子宫内膜患者的表达。证实了 VEGF 表

达与 EC 有着密切的联系,VEGF 能刺激肿瘤血管内皮的生长,增加血管通透,为肿瘤的生长、浸润和转移提供了良好物质基础[1]。本研究中 VEGF 蛋白表达检测结果显示,197 例 EC 患者中 VEGF 表达阳性 134 例(68.02%),而在不典型增生子宫内膜和正常子宫内膜中分别仅为 21.18% 和 4.76%,表明 VEGF 在 EC 组较其他组表达差异有统计学意义($\chi^2=98.976$, $P<0.05$),提示 VEGF 的高表达和 EC 的形成发展过程密切相关。VEGF 可能是通过促进内皮细胞的分化和增生发生迁移以及浸润,从而促进肿瘤形成与发展,预示 EC 组织中 VEGF 的高侵袭性及易转移性,VEGF 的高表达可作为 EC 诊断和预后判断的有效指标之一,这与王淑贞等的研究结果相一致[1,7]。

2. VM 和 VEGF 蛋白与 EC 临床病理参数关系及二者相关性:VM 与肿瘤临床病理参数的关系方面,陈纯等[12]研究表明,口腔鳞癌中存在 VM,并与肿瘤临床分期及有无淋巴结转移密切相关。王龙等[18]研究指出,在食管鳞状上皮癌中 VM 的表达与淋巴结转移有关。梁军等[6]研究指出,VM 的形成与 EC 患者分期、组织学分级、肌层浸润深度及淋巴结是否转移密切相关。由于 VM 的管壁样结构无血管内皮细胞内衬,肿瘤细胞的迁移更加自由,极易脱落而进入血液循环从而易导致肿瘤远处转移[3]。因此,有 VM 结构的 EC 患者具有更高的恶性度、侵袭性和转移能力,预后不良。本研究采用免疫组化和 CD34 - PAS 双重染色技术从蛋白质水平研究 VM 结构,结果显示,EC 组织中 VM 的形成与患者的年龄、肌层浸润深度及组织学类型均无关(χ^2 值分别为 0.058、3.730 和 0.238,P 值分别为 0.810、0.053 和 0.626),而与 EC 手术 - 病理分期、组织学分化程度及淋巴结转移均密切相关,差异有统计学意义(χ^2 值分别为 7.144、90.860 和 9.660,P 值分别为 0.008、0.000 和 0.002)。提示具有 VM 的 EC 恶性程度高易发生转移,随着较晚的手术 - 病理分期、较差的组织学分化和淋巴结转移,VM 存在的概率显著增高($P<0.05$)。组织学分化程度越低及恶性程度越高的 EC 形成 VM 的能力越强,越易发生转移,预后越差,这与陈纯等[12]的研究结果相一致,提示 VM 可能会成为诊断 EC 的重要指标之一。

VEGF 属于血管内皮生长的重要因子,能较好地诱导血管新生。王龙等[18]实验显示,VEGF 的表达与食管癌的临床分期有关。王淑贞等[1]研究同样证实,VEGF 阳性表达率在不同临床分期中的差异有统计学意义,与年龄和淋巴结转移无相关性。本研究结果显示,EC 组织中 VEGF 的高表达与患者的年龄、肌层浸润深度、组织学类型及淋巴结转移均无关(χ^2 值分别为 0.704、0.012、0.342 和 0.208,P 值分别为 0.402、0.914、0.559 和 0.648),而与 EC 患者的手术 - 病理分期、组织学分化程度均密切相关,差异有统计学意义(χ^2 值分别为 11.500 和 5.730,P 值分别为 0.001 和 0.017)。说明,VEGF 阳性表达会随着 EC 的临床分期增加而增高,会随肿瘤恶性程度的增高而增强,VEGF 表达与 EC 病情进展有着紧密的联系,可能成为判断 EC 预后的指标,这与王淑贞等[1]的研究结果大体一致。但组织学分化因素的不太一致,这可能由于本研究病例数相对较少,有必要在以后的诊断治疗过程中收集更多的病例,展开更深入的研究。

VM 和 VEGF 蛋白的相关关系方面,廖丹等[15]研究发现,VEGF 在 EC 中的 VM 形成过程中发挥着重要调节作用。本研究针对 197 例子宫内膜组织,根据 VEGF 和 VM 染色结果定性分析,显示 VEGF 阳性表达与 VM 的结构阳性呈正相关(*Spearman* 相关分析显示,$r=0.293$, $P=0.000$),存在 VM 的 EC 中 VEGF 表达水平更高($P<0.05$)。VEGF 高表达和存在 VM 结构的病例具有更高的临床分期和更差的组织学分化,VEGF 蛋白表达与 VM 具有正相关关系,对 EC 具有重要作用,这提示 VM 结构和 VEGF 高表达可能在 EC 的发展、侵袭、转移等过程中共同起着重要作用,共同影响 EC 患者的预后,可作为 EC 诊断新的标志物,有望成为肿瘤检测排查的新方法。

3. VM 和 VEGF 蛋白与 EC 预后的单因素生存分析:本研究在可能影响 EC 患者预后的临床病理因素中,通过 *Kaplan - Meier* 生存分析结果显示年龄、肌层浸润深度、组织学类型对 197 例 EC 患者各生存影响差异无统计学意义($P>0.05$,表 4),而手术 - 病理分期、组织学分化和淋巴结转移对预后生存影响有统计学意义($P<0.05$)。分期为Ⅰ~Ⅱ期的 EC 患者各生存率和平均生存期均显著高于Ⅲ~Ⅳ期者,组织学低分化患者各生存率和平均生存期明显低于组织学中 - 高分化患者,有淋巴结转移的 EC 患者各生存率和平均生存期明显低于无淋巴结转移者。可以认为手术 - 病理分期、组织学分化和淋巴结转移均是影响 EC 患者预后的临床病理独立危险因素之一,和相关报道相符[19]。VM 结构预后影响方面,高赛楠等[8]研究显示,拥有 VM 的恶性肿瘤易复发转移,预后差。

国外也有资料表明,VM 在结肠癌、卵巢癌等恶性肿瘤中均表现出预后不良[4,20]。本研究结果显示,VM 结构阳性的 EC 患者 1、3 和 5 年生存率分别为 98.72%、71.79% 和 66.67%,平均生存期为 46.14 个月,明显低于 VM 结构阴性患者的 100.00%、97.48%、95.80% 和平均生存期的 63.17 个月,在 *Kaplan - Meier* 生存曲线图 1 中亦可见,VM 阳性组患者的生存曲线明显低于 VM 阴性组,*Log - rank* 检验表明两组生存差异有统计学意义($P < 0.05$)。这提示 VM 结构在肿瘤侵袭转移中发挥了重要作用,不但能为肿瘤生长供血,而且能促进肿瘤生长从造成 EC 患者预后不良,VM 阳性可作为 EC 预后不良的标志之一[6]。VEGF 蛋白表达对 EC 预后的影响方面,有研究表明 VEGF 高水平可预测患者的不良预后,其高表达可视为影响患者预后的不利因素[21]。VEGF 作为一种与肿瘤密切相关的生物活性物质,在疗效评估和预后判断方面均有积极意义[16]。本研究结果显示,VEGF 阳性表达的 EC 患者 1、3 和 5 年生存率分别为 99.25%、82.84% 和 79.10%,明显低于 VEGF 阴性表达患者的 100.00%、96.83% 和 95.24%,VEGF 阳性组患者的生存时间也比 VEGF 阴性组短 52.02 vs 63.21 个月。通过 *K - M* 生存曲线图 2 可见,VEGF 阳性组患者的生存曲线明显低于 VM 阴性组。*Log - rank* 检验显示 VEGF 表达阳性与阴性患者的生存差异有统计学意义($P < 0.05$)。提示 VEGF 阳性表达可作为 EC 侵袭进展及预后不良的生物学标志物之一,与以往研究相符。VM 和 VEGF 蛋白均是有价值的监测 EC 病情变化的肿瘤标志物,与廖丹等研究结果具有一致性[15]。VM 结构和 VEGF 蛋白的联合检测能更有效地鉴别子宫内膜良恶性肿瘤,评估 EC 患者预后,故建议有条件的医院可行 VM 和 VEGF 蛋白联合检测,以提高 EC 的诊断效能。

4. VM 和 VEGF 蛋白与 EC 预后的多因素生存分析:对可能影响 EC 患者预后的因素应用 *Cox* 风险比例模型进行多因素分析,结果仅手术 - 病理分期、组织学分化、淋巴结转移、VM 阳性和 VEGF 蛋白阳性 5 个因素进入 *Cox* 模型,即是影响 EC 患者预后的危险因素。临床病理预后因素方面,由表 5 中 *Cox* 分析可知,Ⅲ ~ Ⅳ 期的死亡危险度是 Ⅰ ~ Ⅱ 期的 3.734 倍,分期愈晚,预后愈差;组织学低分化者死亡危险度是中 - 高分化者的 5.810 倍,组织学分化越差,预后越差;而有淋巴结转移者死亡危险度是有淋巴结转移者的 4.633 倍,有淋巴结转移者,预后相对更差。因此,可以认为手术 - 病理分期、组织学分化、淋巴结转移是影响 EC 手术预后的最重要临床病理因素,*Wald* 检验结果这 3 项因素比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),均对 EC 预后有不利影响,可作为预测 EC 预后的指标之一。VM 阳性者的死亡危险度是阴性者的 2.784 倍,VM 阳性者,预后更差;VEGF 阳性的死亡危险度是阴性者的 4.065 倍,VEGF 表达阳性者,预后也更差。VM 阳性和 VEGF 蛋白阳性均对 EC 预后有不利影响,与单因素分析结果一致,再次表明 EC 组织中的 VM、VEGF 蛋白的表达均为影响 EC 的负性预后因子之一,联合检测 VM、VEGF 蛋白可作为判断 EC 预后和术后复发的重要生物学标志物,有可能为 EC 的诊断和治疗提供新的方法。

综上所述,本研究结果表明 EC 中存在 VM 结构,在 VM 结构中发现了血细胞残影,VM 结构构成了 EC 的血液循环,VM 和 VEGF 表达呈正相关,为 EC 以血管生成为靶点的靶向治疗提供了实验依据。联合检测 VM 和 VEGF 蛋白表达可作为新的靶点,能有效评估 EC 恶性程度及更精确判断预后,为 EC 的临床诊断提供参考。

参考文献

1 王淑贞, 王秋红. HIF - 1α 和 VEGF 在子宫内膜癌中的临床表达及相关性[J]. 实用癌症杂志, 2017, 32(4): 536 - 538

2 Maniotis AJ, Folberg R, Hess A, *et al*. Vascular channel formation by human melanoma cells in vivo and in vitro: vasculogenic mimicry [J]. Am J Pathol, 1999, 155(3): 739 - 752

3 孙清华, 尹格平, 陈铭, 等. 子宫内膜癌中血管生成拟态及基质金属蛋白酶 - 2 表达情况研究[J]. 中华妇幼临床医学杂志:电子版, 2016, 12(1): 29 - 34

4 Du J, Sun B, Zhao X, *et al*. Hypoxia promotes vasculogenic mimicry formation by inducing epithelial - mesenchymal transition in ovarian carcinoma[J]. Gynecol Oncol, 2014, 133(3):575 - 583

5 Qi L, Song W, Liu Z, *et al*. Wnt3a promotes the vasculogenic mimicry formation of colon cancer via Wnt/β - Catenin signaling[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(8):18564 - 18579

6 梁军, 苗蕊, 邢慧敏. 血管生成拟态在子宫内膜癌组织中的表达及意义[J]. 中国肿瘤临床, 2015, 42(23): 1124 - 1127

7 王玎, 李志英, 罗飞, 等. 子宫内膜癌患者组织中 COX - 2 蛋白及 VEGF 的表达及临床意义[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(10): 2418 - 2420

8 高赛楠, 张玉泉, 苏敏, 等. CGB5 对卵巢癌 OVCAR - 3 细胞血管生成拟态形成的影响[J]. 肿瘤防治研究, 2016, 43(9): 733 - 737

9 Gong L, Zhang W, Zhou J, *et al*. Prognostic value of HIFs expression in head and neck cancer: a systematic review[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e75094

10 李美艳. HE4、OPN 及 uPA 检测对子宫内膜癌患者诊断的临床意义[J]. 国际肿瘤学杂志, 2017, 44(5):351 - 355

(下转第 103 页)

tients with spontaneous intracerebral hemorrhage: evidence of microangiopathy - related microbleeds[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 1999,20(4):637 - 642

2 Tanaka A, Ueno Y, Nakayama Y, *et al*. Small chronic hemorrhages and ischemic lesions in association with spontaneous intracerebral hematomas[J]. Stroke, 1999,30 (8):1637 - 1642

3 Raposo N, Curtze S. Cerebral microbleeds in acute ischemic stroke: a red flag for Ⅳ thrombolysis[J]. Neurology, 2016,87(15):1526 - 1527

4 Akoudad S, Ikram MA, Koudstaal PJ, *et al*. Cerebral microbleeds are associated with the progression of ischemic vascular lesions[J]. Cerebrovasc Dis, 2014,37(5):382 - 388

5 Berkowitz AL, Westover MB, Bianchi MT,*et al*. Aspirin for secondary prevention after stroke of unknown etiology in resource - limited settings[J]. Neurology, 2014, 83(11):1004 - 1011

6 Fisher MJ. Brain regulation of thrombosis and hemostasis: from theory to practice[J]. Stroke, 2013,44(11):3275 - 3285

7 Haji S, Planchard R, Zubair A, *et al*. The clinical relevance of cerebral microbleeds in patients with cerebral ischemia and atrial fibrillation[J]. J Neurol, 2016, 263(2):238 - 244

8 Liu C, Dong Z, Xu L, *et al*. MR image features predicting hemorrhagic transformation in acute cerebral infarction: a multimodal study [J]. Neuroradiology, 2015, 57(11):1145 - 1152

9 Staals J, Makin SD, Doubal FN, *et al*. Stroke subtype, vascular risk factors, and total MRI brain small - vessel disease burden[J]. Neurology, 2014, 83(14):1228 - 1234

10 Hashimoto T, Yokota C, Koshino K,*et al*. Cerebral blood flow and metabolism associated with cerebral microbleeds in small vessel disease[J]. Ann Nucl Med, 2016, 30(7):494 - 500

11 Miwa K, Tanaka M, Okazaki S, *et al*. Multiple or mixed cerebral microbleeds and dementia in patients with vascular risk factors[J]. Neurology, 2014,83(7):646 - 653

12 Special report from the National Institute of Neurological Disorders and Stroke: classification of cerebrovascular diseases Ⅲ [J]. Stroke, 1990,21(4):637 - 676

13 Kothari RU, Brott T, Broderick JP, *et al*. The ABCs of measuring intracerebral hemorrhage volumes[J]. Stroke, 1996, 27(8):1304 - 1305

14 Melkas S, Sibolt G, Oksala NK,*et al*. Extensive white matter changes predict stroke recurrence up to 5 years after a first - ever ischemic stroke[J]. Cerebrovasc Dis,2012,34(3):191 - 198

15 Potigumjon A, Watcharakorn A, Dharmasaroja PA. Prevalence of cerebral microbleeds in Thai patients with ischemic stroke[J]. J Neurosci Rural Pract,2017, 8(2):216 - 220

16 Ungvari Z, Tarantini S, Kirkpatrick AC,*et al*. Cerebral microhemorrhages: mechanisms, consequences, and prevention[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2017, 312(6): 1128 - 1143

17 Shoamanesh A, Catanese L, Romero JR, *et al*. High prevalence of cerebral microbleeds in inner city young stroke patients[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis,2016,25(4):733 - 738

18 Miwa K, Tanaka M, Okazaki S, *et al*. Multiple or mixed cerebral microbleeds and dementia in patients with vascular risk factors[J]. Neurology. 2014,83(7):646 - 653

19 Kono Y, Wakabayashi T, Kobayashi M, *et al*. Characteristics of cerebral microbleeds in patients with fabry disease[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2016,25(6):1320 - 1325

20 Kim YJ, Kim HJ, Park JH,*et al*. Synergistic effects of longitudinal amyloid and vascular changes on lobar microbleeds[J]. Neurology, 2016,87(15):1575 - 1582

21 Sakamoto N, Ishikawa E, Aoki K, *et al*. Clinical outcomes of intracerebral hemorrhage in hemodialysis patients[J]. World Neurosurg, 2014,81(3):538 - 542

22 Park YS, Chung PW, Kim YB, *et al*. Small deep infarction in patients with atrial fibrillation: evidence of lacunar pathogenesis[J]. Cerebrovasc Dis, 2013,36(3):205 - 210

(收稿日期:2017 - 10 - 15)
(修回日期:2017 - 10 - 20)

(上接第 98 页)

11 Qiao L, Liang N, Zhang J, *et al*. Advanced research on vasculogenic mimicry in cancer[J]. J Cell Mol Med, 2015, 19(2): 315 - 326

12 陈纯, 赵小朋, 吴宇翎, 等. 舌鳞状细胞癌上皮 - 间质转化与血管生成拟态的关系及意义[J]. 中华口腔医学研究杂志:电子版, 2016, 10(3):161 - 165

13 汪丛丛, 庄静, 冯福彬, 等. 姜黄素抑制肺癌细胞血管拟态形成机制探讨[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(4): 243 - 246

14 梁军, 杨波, 吴小华. 肿瘤干细胞标志物 CD117 在上皮性卵巢癌血管生成拟态中的表达及意义[J]. 肿瘤, 2016, 36(1): 70 - 76

15 廖丹, 邓亚丽, 禹正扬, 等. 子宫内膜癌血管生成拟态与 VEGF、COX - 2 表达的意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2015, 14(17): 1418 - 1421

16 贾志凌, 杨永昌, 张淑艳, 等. 血管内皮生长因子诊断多种恶性肿瘤临床价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2015, 29(7): 701 - 705

17 Sallinen H, Heikura T, Koponen J, *et al*. Serum angiopoietin - 2 and soluble VEGFR - 2 levels predict malignancy of ovarian neoplasm and poor prognosis in epithelial ovarian cancer[J]. BMC Cancer, 2014, 14: 696

18 王龙, 戴天阳. VEGF 和 VM 对食管鳞状上皮癌血液供应的影响及临床意义[J]. 重庆医学, 2014, 43(11): 1380 - 1382

19 王静, 陆晓媛. 术前中性粒细胞/淋巴细胞比值与子宫内膜癌分期术患者预后的关系[J]. 中国肿瘤外科杂志, 2016, 8(6): 377 - 380

20 Wang L, Lin L, Chen X, *et al*. Metastasis - associated in colon cancer - 1 promotes vasculogenic mimicry in gastric cancer by upregulating TWIST1/2[J]. Oncotaget, 2015, 6(13):11492 - 11506

21 Hui G, Meng M. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in women with ovarian cancer: a meta - analysis[J]. J BUON, 2015, 20(3): 870 - 878

(收稿日期:2017 - 09 - 29)
(修回日期:2017 - 10 - 12)