

乳腺癌中 VEGF 的表达及其临床意义

曹荣华¹, 袁宏银², 杨国梁²

摘要:目的 分析乳腺癌中血管内皮生长因子(VEGF)的表达状况及其对预后的影响。方法 检测 58 例乳腺癌组织切片中 VEGF 及增殖细胞核抗原(PCNA)的表达状况,统计分析 VEGF 表达与 PCNA、雌激素受体(ER)表达的关系,与乳腺癌组织学分级的关系,并结合临床随访资料进行生存分析。结果 VEGF 阳性表达 33/58,组织学分级 级与 级、级之间 VEGF 表达有显著性差异, $P=0.037$,VEGF 表达阳性组 PCNA 的表达显著高于阴性组且其生存时间显著低于后者;COX 模型比例风险回归分析显示,VEGF 表达是影响乳腺癌预后的独立因素之一。结论 乳腺癌中 VEGF 的表达显著影响预后,是独立的预后因子。

关键词:乳腺癌;VEGF;免疫组化;预后

中图分类号:R737.9

文献标识码:A

文章编号:1000-8578(2002)05-0400-03

Expression of VEGF and its significance in breast cancer

CAORon g-hua, YUANHon g-yin, YANGGuo -liang

Institute of Organ Transplantation, Affiliated Tongji Hospital,

Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Abstract: Objective To research the expression of VEGF and its influence to prognosis of breast cancer.

Methods A retrospective analysis of the breast cancer tissue was examined immunohistochemically for VEGF and PCNA, and the data were analyzed by SPSS statistical software according to clinical material. **Results** The positive expression of VEGF was 33/58. It was significantly higher in VEGF expression in higher histological grade and higher PCNA expression group. However accompanied with poor prognosis. Cox proportional hazard model indicated that the positive expression of VEGF correlated positively with decreased survival (risk ratio=3.37, $P=0.02$). **Conclusion** The expression of VEGF had a significant influence to prognosis of breast cancer, and it was an independent risk factor.

Keywords: Breast cancer; VEGF; Immunohistochemistry; Prognosis

恶性实体肿瘤的生长、扩散和转移都依赖于其间质血管的生成,研究表明,血管生成因子在恶性实体瘤的发生、发展和转移中起重要作用。血管内皮生长因子(Vascularendothelial growth factor, VEGF)是其中促血管生成作用最强的一种^[1]。本文将探讨 VEGF 在乳腺癌的表达状况,结合临床随访资料,分析 VEGF 与乳腺癌的预后关系。

1 材料与方

1.1 材料 本实验采用武汉大学附属中南医院肿瘤科 1988 年 4 月~1995 年 12 月乳腺癌手术后的组织石蜡块 58 例,临床常规行雌激素受体(ER)检测。

1.2 病例资料 每一病例均具有完整的临床资料,

病理诊断及随访资料,本组病例共 58 例,均为女性,发病年龄自 32~74 岁,随访时间从 1988 年 4 月~2000 年 9 月。

1.3 免疫组化法 采用 S-P 法,抗 VEGF 多克隆抗体及 S-P 试剂盒均购自福建福州迈新公司,实验操作按免疫组化操作规程进行。阳性染色反应判断标准: VEGF 和 PCNA 阳性标准:阳性细胞 >10%。每张切片 2 人双盲计数,至少观察阳性细胞最密集的 5 个高倍镜视野(5HP),取两人计数的均值。若两人计数结果相差 10% 以上,则需重新计数。

1.4 乳腺癌组织学分级方法 按 Bloom-Richardson 法 Nottin gham 改良方案依据组织分化程度(以腺管的形成为主要依据)、核多形性和核分裂三方面状况计分相加,分为 级(3~5 分)分化好, 级(6~7 分)分化中等,和 级(8~9 分)分化差。

1.5 统计方法 采用 SPSS 统计软件,做 ²检验,分析 VEGF 表达与乳腺癌组织学分级、ER 表达、PCNA

收稿日期:2002-03-25; 修回日期:2002-07-25

作者单位:1.430030 武汉,华中科技大学同济医学院附属同济医院器官移植研究所;2. 武汉大学医学院附属中南医院肿瘤科

表达的关系及与淋巴结转移的联系,生存分析及 COX 比例风险模型进行预后判断。

2 结果

2.1 VEGF、PCNA 和 ER 的表达状况 VEGF 阳性染色定位于肿瘤细胞浆内,乳腺癌中 VEGF 阳性表达 33 例,阴性表达 25 例。VEGF 表达与患者年龄和淋巴结转移无显著相关性,ER 表达情况:19 例阴性表达,39 例阳性表达。VEGF 与 ER 的表达无显著相关性,但不同乳腺癌组织学分级之间 VEGF 表达有显著性差异, $P=0.037$,其结果见表 1、表 2。

表 1 乳腺癌组织学分级与 VEGF 表达

因素	状况	VEGF 表达		总计
		(-)	(+)	
组织学		11	5	16
分级		8	12	20
		6	16	22
总计		25	33	58

PCNA 表达定位于肿瘤细胞核,阳性表达 38 例,阴性表达 20 例。VEGF 阳性组与阴性组 PCNA 表达有显著性差异, $P=0.015$ 。

表 2 PCNA 与 VEGF 表达的卡方检验

变量	状况	VEGF 表达		合计
		(-)	(+)	
PCNA	(-)	13	7	20
	(+)	12	26	38
合计		25	33	58

2.6 生存分析 生存分析显示,VEGF (+) 组与 VEGF (-) 组患者累计生存率有显著性差异,Log-Rank 检验 $P=0.0337$,见图 1。采用 SPSS 统计软件 COX 模型单因素比例风险回归分析发现,VEGF 使乳腺癌患者死亡风险变大,危险度为 3.088,与预后显著相关, $P=0.020$ 。而多因素回归显示,VEGF、淋巴结转移和 ER 表达是影响乳腺癌患者预后的独立因素。

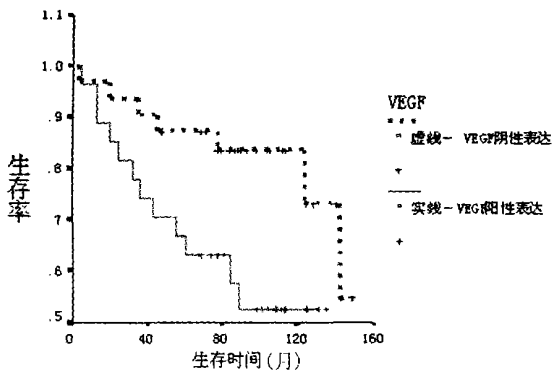


图 1 生存分析图

3 讨论

新生血管的不断形成是肿瘤生长的必要条件,当实体肿瘤生长直径达到或超过 1mm 时,就需要新生血管的营养支持^[2]。VEGF 的表达与恶性肿瘤血管生成

密切相关。癌细胞是产生 VEGF 的主要场所。VEGF 又称为血管渗透因子,是一种内皮细胞特异性有丝分裂原,其两种受体 Flt/Flk 为酪氨酸蛋白激酶型膜受体,与 VEGF 有高度的亲和力^[3,4]。VEGF 与受体的结合刺激血管内皮细胞的增殖,并促进血管的渗透性,有助于肿瘤细胞侵出血管,促进肿瘤侵袭和转移。

YamamuraT 等报道^[5],VEGF 的过度表达和扩增与大肠癌的肝转移高度相关,有肝转移者的微血管密度(Microvesseldensit y,MVD)显著高于无肝转移者;MasuyaD 等^[6]的研究指出,血管生成因子,尤其是 VEGF 对非小细胞肺癌的预后有显著的影响。

本组研究中,VEGF 的表达与乳腺癌的组织学分级密切相关,而乳腺癌的组织学分级从癌细胞的分化程度、核的多形性和核分裂像三方面综合分析,是反映乳腺癌生物学行为的根本指标。不同组织学分级之间的 VEGF 表达有显著性差异,表明 VEGF 对乳腺癌的发生发展和转移有直接的影响。

生存分析显示,高表达 VEGF 组的患者累计生存率显著低于阴性表达组,Log-rank 检验 $P=0.020$,表明 VEGF 表达显著影响乳腺癌的生存率;COX 模型单因素和多因素比例风险回归结果发现:VEGF 表达是影响乳腺癌预后的一个重要因素,而且是独立的预后因子之一。其相对危险度为 3.088,表明 VEGF 阳性表达者的死亡风险是阴性表达者的 3 倍以上。

血管生成是肿瘤发生发展的早期事件,积极干预肿瘤血管生成有可能成为恶性肿瘤治疗的重要措施。血管的新生受多种因素调节,正性调节因子主要有 VEGF、PDGF(血小板衍生生长因子)、TGF(转化生长因子)和 FGF(成纤维细胞生长因子)等,它们促进血管的新生和生长;而负性调控因子是抑制血管生长的因素,主要有血管抑制素、内皮抑制素、紫杉醇、维甲酸和烟曲霉素及其内似物 TPN-470 等。利用血管生成抑制剂特异性的抑制血管内皮细胞增殖活性,理论上可有效抑制恶性肿瘤的生长和转移。McNamara DA 等^[7]体外实验及在大鼠的体内实验均表明,Tamoxifen 直接阻止 VEGF 对内皮细胞的作用,可作为 VEGF 依赖性肿瘤的辅助治疗措施。

参考文献:

- [1] Ferrara N. Vascularendothelial growthfactorandthere gulationof angiogenesis[J].ReccentPro gHormRes,2000,55 (1):15-35.
- [2] Boehnr ViswanathanT.Isan giogenesisinhibitiontheHol yGrailof cancerthera py?[J].CurrO pinOncol,2000,12 (1):89-94.
- [3] HaradaY,O gataY,ShirouzuK.Ex pressionofvascularendothelial growthfactoranditsrece ptorKDR (kinasedomain -containgre ceptor)/Flk -1 (fetalliverkinase -1) as prognosticfactorsinhuman colorectalcancer[J].IntJClinOncol,2001,6 (5):221-228.
- [4] GiatromanolakiA,SivridisE,BrekkenR,Thor pePE,etal.Thean

angiogenicvascularendothelial growthfaktor/flk-1 (KDR) receptor patha yin patientswithendometrialcarcinoma[J].Cancer,2001,92 (10) :2569-2577.

[5] YamamuraT,TsukikawaS,YamadaK,etal.Morphologicanalysis ofmicrovesselsincolorectal tumorswith respecttotheformationof livermetastases[J].JSurg Oncol,2001,78 (4) :259-264.

[6] MasuyaD,HuangC,LiuD,etal.Theintratumoral expressionof vascularendothelial growthfactorandinterleukin-8associatedwith angiogenesisinnonsmallcelllung carcinoma patients[J].Cancer, 2001,92 (10) :2628-2638.

[7] McNamaraDA,Harme yJ,Wan gJH,etal.Tamoxifeninhibits endothelialcell proliferationandattenuatesVEGF-mediatedangiogenesisinmigratingin vivo[J].EurJSurg Oncol,2001,27 (8) :714-718.

(周永红校对)

乳腺癌血管内皮生长因子与微血管密度的免疫组织化学研究

范伟¹,卢丽艳²,王世军³

关键词:乳腺肿瘤;内皮生长因子;微血管密度
中图分类号:R737.9 文献标识码:D
文章编号:1000-8578(2002)05-0402-01

血管内皮生长因子(VEGF)是特异作用于血管内皮细胞、上调血管生成的重要因子,能刺激血管内皮细胞增殖、迁徙和诱导血管生成,而血管新生是实体瘤生长、浸润、转移与复发的重要前提。本实验采用免疫组织化学 SP 法对 48 例乳腺癌组织中 VEGF 表达、MVD 与乳腺癌生物学行为间的关系进行探讨。

1 资料和方法

1.1 临床资料 收集教学医院 1986~1990 年间行乳腺癌根治术、手术切除乳腺癌组织石蜡包埋标本有完整临床和随访资料者 48 例。患者皆女性,年龄 31~73 岁,术前未行化疗或放疗。48 例组织学分型皆为浸润性导管癌,淋巴转移者 29 例,远处转移者 9 例。随访 2~8 年,18 例复发,生存期小于 5a 者 20 例。

1.2 主要试剂与方法 兔抗人 VEGF 多克隆抗体、鼠抗人 RAg 单克隆抗体(Dako 公司),S-P 试剂盒(Zymed 公司)。采用免疫组织化学 SP 法,DAB 显色,以 PBS 缓冲液代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判定及统计 VEGF 以肿瘤组

织内出现黄色或棕黄色颗粒为阳性,着色细胞数 >25%MVD 检测按 Weidner 等方法,先在低倍(100 倍)镜下选取被 RAg 染棕黄色最丰富的区域,再在高倍(200 倍)镜下观察 5 个视野的微血管,计取平均值作为癌组织的 MVD。统计用 *t* 检验和 ²检验,*P*<0.05 为显著性标准。

2 结果

48 例乳腺癌组织中 VEGF 表达率为 54.17% (26/48),癌旁组织表达率为 10% (1/10)。48 例乳腺癌组织 MVD 均值为 84.48 ±28.15,10 例癌旁组织 MVD 均值为 18.31 ±3.15。48 例乳腺癌组织中 VEGF 阳性表达者 MVD 均值为 100.58 ±18.99,VEGF 阴性表达者 MVD 均值为 65.45 ±25.38。淋巴转移组乳腺癌组织 VEGF 表达率为 68.97% (20/29),MVD 均值为 101.97 ±15.69,无淋巴转移组 VEGF 表达率为 31.58% (6/19),MVD 均值为 57.79 ±21.03。远处转移组癌组织 VEGF 表达率为 100% (9/9),MVD 均值为 113.56 ±23.56,无远处转移组 VEGF 表达率为 43.59% (17/39),MVD 均值为

77.77 ±24.84。肿瘤复发组癌组织 VEGF 表达率为 83.33% (15/18),MVD 均值为 108.00 ±17.19,无复发组 VEGF 表达率为 36.67% (11/30),MVD 均值为 70.30 ±23.82。生存期小于 5a 组癌组织 VEGF 表达率为 80.00% (16/20),MVD 均值为 107.00 ±16.50,生存期大于 5a 组 VEGF 表达率为 35.71% (10/28),MVD 均值为 68.39 ±23.32, (*P*<0.05 或 0.01)。

3 讨论

3.1 乳腺癌 VEGF 表达的意义 VEGF 作为上调血管生成的重要因子能特异性地直接作用于血管内皮细胞,诱导血管内皮细胞增殖、迁徙及血管腔形成,是血管形成必不可少的因子。国外有研究表明,VEGF 通过刺激血管形成而促进肿瘤的生长、浸润和转移,并与肿瘤的预后密切相关。本实验发现 48 例乳腺癌组织中 VEGF 表达阳性者 MVD 明显高于 VEGF 阴性者,而在临床上有淋巴转移、远处转移、肿瘤复发或生存期小于 5a 的患者,与没有淋巴转移、远处转移、肿瘤复发或生存期大于 5a 的患者比较,其乳腺癌组织中 VEGF 阳性高表达,差异显著 (*P*<0.05 或 *P*<0.01),因此 VEGF 表达可作为监测乳腺癌生物学行为的重要指标。

3.2 乳腺癌 MVD 值的意义 微血管是实体瘤生长、发展的重要前提,没有血管新生和血液供应的肿瘤是不能持续生长的,而一旦肿瘤形成自己的血管系统就会呈指数生长,并侵犯血管、淋巴而发生转移。Weidner 等研究发现,在 200 倍视野下 MVD>100 时,100% 病人出现转移。本实验结果与之相符,提示 MVD 与乳腺癌的生物学行为密切相关,即随着 MVD 值增大,淋巴转移、远处转移、复发的可能性大大增加,而 5a 生存率却在下降。

(李奇明校对)

收稿日期:2001-10-24;修回日期:2002-03-12
作者单位:1.276002 山东临沂医学专科学校病理教研室;
2. 山东临沂市中医院;3. 山东中医药大学重点实验室

77.77 ±24.84。
肿瘤复发组癌组织 VEGF 表达率为 83.33% (15/18),MVD 均值为 108.00 ±17.19,