

VEGF在三阴性乳腺癌中的表达及临床意义

杨艳芳^① 刘君^① 姜战胜^② 顾林^①

摘要 目的:探讨VEGF在三阴性乳腺癌中的表达及临床意义。**方法:**选取天津医科大学附属肿瘤医院2007年11月至2008年6月间560例乳腺癌,用免疫组织化学方法检测肿瘤组织VEGF的表达状态,分析其与各临床病理特征的关系,以及在三阴性乳腺癌中的表达和预后作用。**结果:**乳腺癌患者中VEGF的阳性表达率为36.1%(202/560),其中三阴性乳腺癌中阳性表达率为45.0%(49/109),明显高于非三阴性组33.9%($P=0.031$)。VEGF的表达与患者年龄、肿瘤部位、病理类型、肿瘤大小、淋巴结状态、病理分期、组织学分级和p53状态均无明显相关($P>0.05$),但在低年龄组(66.7% vs. 41.7%)、淋巴结转移组(51.1% vs. 37.1%)和p53阳性组(51.8% vs. 34.0%)方面发现VEGF表达有增多的趋势。三阴性乳腺癌VEGF阳性者较阴性者易发生复发和转移(23.9% vs. 9.7%),3年无疾病复发率明显低于VEGF阴性组(76.6% vs. 90.3%, $P=0.044$)。**结论:**VEGF可以作为三阴性乳腺癌影响复发的预后因素之一,有可能成为三阴性乳腺癌靶向治疗的研究靶点。

关键词 VEGF 三阴性乳腺癌 预后

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2012.08.005

VEGF Expression in Triple-Negative Breast Cancer and Its Clinical Significance

Yanfang YANG¹, Jun LIU¹, Zhansheng JIANG², Lin GU¹

Correspondence to: Lin GU, E-mail: gulindr@yahoo.com

¹The Second Department of Breast Cancer, ²Department of Integrated Traditional Chinese Medicine and Western Medicine, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 300060, China

Abstract Objective: The current study aims to investigate the expression of the vascular endothelial growth factor (VEGF) in triple-negative breast cancer (TNBC) and its relationship with the prognosis. **Methods:** The medical records of 560 breast cancer patients who underwent surgery in Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital between November 2007 and June 2008 were reviewed. Immunohistochemistry was used to determine the VEGF expression in TNBC patients and to analyze the relationship between VEGF expression with clinicopathologic characteristics and the prognostic value. **Results:** The VEGF positive rate was 36.1% in all of the breast cancer cases (202/560). Moreover, the VEGF expression was significantly higher in TNBC cases than in non-TNBC cases (45% versus 33.9%, $P=0.031$). No significant correlation was observed between the different VEGF expression levels and patients' age, tumor location, histology, tumor size, lymph node, pathological stage, histology grade, or p53 ($P>0.05$). The VEGF positive rate was higher in younger (66.7% versus 41.7%), lymph node-positive (51.1% versus 37.1%), and p53-positive (51.8% versus 34.0%) patients. However, the differences were insignificant. Moreover, TNBC patients with positive VEGF expression were more prone to relapse and metastasis (23.9% versus 9.7%). The 3-year disease-free relapse (DFR) rate was lower in VEGF-positive patients than in VEGF-negative patients (76.6% versus 90.3%, $P=0.044$). **Conclusion:** VEGF is one of the predictive factors for the DFR rate of TNBC patients, which could be an important research topic for future studies.

Keywords Vascular endothelial growth factor (VEGF); Triple-negative breast cancer (TNBC); Prognosis

三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)是指雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)和人表皮生长因子受体2(Her-2)均为阴性的乳腺癌^[1],约占全部乳腺癌的10%~20.8%^[2-3]。三阴性乳腺癌与其他类型的乳腺癌相比,具有侵袭性强、易发生内脏转移、预后差的特点^[4-5],而且缺乏内分泌及特异性靶向治疗,目前的治疗手段主要为化疗。因此,探索三阴性乳腺癌的相关生物

学指标和分子靶点对于判断其预后和指导治疗尤为重要。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是肿瘤血管生成的主要因子,很多研究已经证实高表达VEGF的乳腺癌患者生存期往往较短^[6-7]。然而,VEGF在三阴性乳腺癌中的表达情况研究较少,因此本研究通过免疫组织化学的方法分析VEGF在三阴性乳腺癌中的表达,了解其与病理特征和预后的关系。

1 材料与方法

1.1 一般资料

收集2007年11月至2008年6月于本院行手术治疗且经病理证实为乳腺癌患者560例。纳入条件包括:完整的临床资料,包括一般情况、病理诊断、肿瘤分期、治疗方式和生存状况;完整的随访资料,包括转移的时间和部位或死亡时间;有ER、PR、HER-2生物学指标的检测结果,所有进入分析的患者均未行新辅助化疗。术后辅助化、放疗依据《乳腺癌临床实践指南(中国版)》的治疗原则。其中三阴性乳腺癌109例,非三阴性乳腺癌451例。

1.2 VEGF检测方法

采用免疫组化SP法,鼠抗人VEGF单克隆抗体和免疫组化试剂盒均购自北京中杉生物技术有限公司,操作步骤按试剂盒说明书进行,用柠檬酸缓冲液高压抗原修复2.5 min,用已知的阳性组织做对照,阴性对照组采用磷酸盐缓冲液代替VEGF抗体。

1.3 判定结果

VEGF蛋白阳性染色主要定位于细胞浆,胞浆棕黄色颗粒沉着为阳性细胞。阳性细胞 $<30\%$ 为表达阴性, $\geq 30\%$ 为表达阳性。

1.4 随访

采用门诊定期复查、信访和电话结合的方式,随访至患者死亡或截至2011年6月。随访时间以月为单位。预后评价指标为患者的无复发生存时间(re-lapse-free survival, RFS),计算方法为自手术日期至发现肿瘤复发的日期。

1.5 统计学方法

采用SPSS 13.0统计软件进行分析。临床资料的描述采用百分比,组间的临床病理指标(年龄、肿瘤家族史、肿瘤大小、腋窝淋巴结数目、病理学分期、组织学分级、病理类型、p53、PCNA、手术方式、放化疗情况等)比较采用 χ^2 检验或Fisher's精确概率分析。Kaplan-Meier法计算生存率,Log-rank法进行单因素分析,Cox模型进行多因素分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床病理资料

109例三阴乳腺癌患者均为女性。发病年龄24~76岁,中位发病年龄50岁,35~60岁为高发年龄段,共91例患者,占83.5%。绝经前51例,绝经后58例。病灶位于左乳63例,右乳46例。肿瘤最大径0.8~10 cm,中位最大径为2.5 cm。T₁期43例,T₂期63例,T₃期3例,T₁和T₂期患者占97.2%。浸润性导管癌88例,占79.8%,为主要病理类型;其他包括:浸润性小叶癌3例,髓样癌7例,浸润性乳头状癌6例,导管内

癌4例,其他类型2例。组织学分级1级9例,2级82例,3级18例。47例(43.1%)有淋巴结转移,转移数目1~29枚,中位转移数目为3枚。I、II、III期患者分别为31、60、18例。有脉管瘤栓者2例,p53阳性表达者56例(51.4%),增殖细胞核抗原(PCNA)阳性表达107例(98.2%)。94例患者行改良根治术,15例行保乳术。42例患者接受术后辅助放疗。104例患者接受术后辅助化疗,均为以蒽环类药物为基础的化疗,其中含紫杉醇方案63例,其他方案(多为联合氟尿嘧啶和环磷酰胺)41例,蒽环类药物包括阿霉素和表阿霉素。

2.2 VEGF蛋白在乳腺癌中的表达

本组560例乳腺癌标本,其中109例三阴性乳腺癌,占19.4%,非三阴性乳腺癌451例,占80.6%。451例非三阴性乳腺癌标本中VEGF的阳性表达率为33.9%(153/451),109例三阴性乳腺癌标本中VEGF的阳性表达率为45.0%(49/109),三阴性组乳腺癌的VEGF表达率明显高于非三阴性组,差异有统计学意义($P=0.031$)。见表1。

表1 VEGF在不同类型乳腺癌患者中的表达

Table 1 VEGF expression in different types of breast cancer

类型	VEGF		阳性率(%)	χ^2	P
	阳性	阴性			
三阴性乳腺癌	49	60	45.0	4.631	0.031
非三阴性乳腺癌	153	298	33.9		
合计	202	358	36.1		

2.3 三阴性乳腺癌临床病理特点与VEGF蛋白阳性表达的关系

VEGF阳性表达与患者年龄、部位、病理类型、肿瘤大小、淋巴结状态、病理分期、组织学分级和p53状态均无明显相关($P > 0.05$),但在低年龄组(66.7% vs. 41.7%)、淋巴结转移组(51.1% vs. 37.1%)和p53阳性组(51.8% vs. 34.0%)发现VEGF的表达有增多的趋势,p53阳性组较阴性组增加($P=0.06$)。

2.4 三阴性乳腺癌预后(3年RFS率)与VEGF表达的关系

至随访截止,全组中位随访时间39个月,(3~44个月)。全组共有17例复发,RFS中1~37个月,3年内复发者占94.1%(16/17),全组3年RFS率为85.3%。其中以肺转移为首发者10例,骨转移2例,肝转移1例,脑转移3例,区域淋巴结复发1例。VEGF阳性组3年RFS率明显低于VEGF阴性组(76.6% vs. 90.3%),差异具有统计学意义($P=0.044$)。对其他影响预后的因素进行分析发现,年轻患者和有淋巴结转移的患者3年RFS率明显较低($P < 0.05$),而病理类型、肿瘤大小、病理分期、组织学分级、手术方式及p53的状态与3年RFS率无相关性。见表2。

表2 各临床病理特征与三阴乳腺癌患者预后的关系

Table 2 Prognostic role of clinicopathologic factors in TNBC

临床特征	例数	3年RFS	χ^2	<i>P</i>
年龄/岁				
≤35	6	50.0	6.190	0.013
>35	103	86.4		
病理类型				
浸润性导管癌	88	84.1	0.022	0.882
其他	21	85.7		
肿瘤大小				
T ₁	43	86.0	0.101	0.751
T _{2/3}	66	83.3		
淋巴结转移				
无	62	90.3	4.058	0.044
有	47	76.6		
病理分期				
I期	31	93.5	4.325	0.115
II期	60	83.3		
III期	18	72.2		
组织学分级				
1~2级	91	85.7	0.008	0.928
3级	18	83.3		
p53状态				
阴性	53	90.6	3.188	0.074
阳性	56	78.6		
VEGF状态				
阴性	60	90.3	4.038	0.044
阳性	49	76.6		
手术方式				
全乳	94	85.1	0.388	0.534
保乳	15	80.0		

对影响两组患者RFS的因素(年龄、淋巴结状态和VEGF状态)进行COX多因素分析,结果显示VEGF的表达和年龄、淋巴结是否转移均不是影响患者复发的独立因素。见表3。

表3 影响三阴性乳腺癌患者预后的多因素分析

Table 3 Multivariate analysis of the factors influencing TNBC prognosis

项目	B	SE	Wald	<i>P</i>	Exp(B)
淋巴是否转移(无=0,有=1)	0.843	0.51	2.733	0.098	2.324
VEGF状态(阳性=0,阴性=1)	0.791	0.513	2.377	0.123	2.206
年龄(≤35=0,>35=1)	-1.162	0.645	3.246	0.072	0.313

3 讨论

VEGF是一种特异性促使血管内皮细胞增殖的有丝分裂原,是由多种亚型组成的多家族蛋白质,在许多正常组织中呈低水平表达,但在多种恶性肿瘤中存在过表达,并且在肿瘤的发生、发展和转移过程中起重要作用^[8]。本研究显示乳腺癌总体VEGF的阳性表

达率为36.1%,其中三阴类型乳腺癌的阳性率为45.0%,非三阴类型为33.9%,两者差异有统计学意义,与Linderholm等^[9]的研究结果一致。

VEGF虽然在三阴乳腺癌中阳性率较高,但本研究结果发现其与患者的临床病理特征,如年龄、部位、病理类型、肿瘤大小、淋巴结状态、病理分期、组织学分级和p53状态均无明显相关性($P>0.05$)。Jobim等^[10]的研究同样发现乳腺癌的VEGF的阳性表达与患者的年龄、肿瘤大小、组织学分级、淋巴结转移均无相关性。但本研究发现在年轻患者、有淋巴结转移和p53阳性者中VEGF的表达有增多的趋势。Linderholm等^[11]和Nishimura等^[12]研究也表明p53过表达者VEGF往往水平较高,且患者易复发、预后差。Mukhopadhyay等^[13]提示野生型p53能够通过激活凝血酶敏感蛋白1基因的转录和下调VEGF的启动子区域来抑制血管生成。因此,两者的关系值得进一步研究。

三阴性乳腺癌较其他类型乳腺癌更易复发转移,且研究发现复发时间多集中在3年以内^[5,14],这也是本研究病例选择的依据。本研究结果显示17例复发转移患者在3年内复发者16例,比例高达94.1%,另外1例RFS也仅为37个月。本研究结果还发现VEGF可促进三阴乳腺癌的复发转移,46例VEGF阳性患者中有11例(23.9%)出现复发转移,而62例VEGF阴性表达者中仅6例(9.7%)出现复发转移,3年RFS率亦有明显差异(76.6% vs. 90.3%, $P=0.044$)。对其他影响预后的临床病理特征进行分析发现,年龄和淋巴结是否转移是影响患者RFS的其他两个因素,而病理类型、肿瘤大小、病理分期、组织学分级、手术方式及p53的状态与3年RFS率无明显相关。经多因素分析,VEGF状态、年龄和淋巴结是否转移均不是影响三阴性乳腺癌RFS的独立预后因素。关印等^[15]研究发现淋巴结转移、脉管瘤栓与三阴性乳腺癌预后有关,淋巴结转移是其独立的预后因素。袁中玉等^[16]认为肿块大小和淋巴结转移是影响预后的主要因素。Linderholm等^[9]也认为VEGF在单因素分析中是影响乳腺癌患者预后的因素之一,但在多因素分析时则未发现统计学意义。本研究纳入病例中仅2例有脉管瘤栓,而且随访时间短于前几项研究,这可能是未能确认淋巴结转移或脉管瘤栓是影响预后因素的原因之一。

总之,本研究发现VEGF在三阴性乳腺癌中过表达,而且是其容易复发转移和预后差的影响因素之一,临床试验^[17]证实针对VEGF的靶向治疗可以改善晚期三阴癌的PFS,提高有效率。因此,VEGF有望成为三阴性乳腺癌分子靶向治疗的新靶点,从而提高该

疾病的治愈率,延长患者生存期,改善患者生存质量。

参考文献

- Bauer KR, Brown M, Cress RD, et al. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California cancer Registry[J]. *Cancer*, 2007, 109(9): 1721-1728.
- Cleator S, Heller W, Coombes RC. Triple-negative breast cancer: therapeutic options[J]. *Lancet Oncol*, 2007, 8(3): 235-244.
- Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, et al. Prognostic markers in triple-negative breast cancer[J]. *Cancer*, 2007, 109(1): 25-32.
- Haffty BG, Yang Q, Reiss M, et al. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(36): 5652-5657.
- Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(15Pt1): 4429-4434.
- Shivakumar S, Prabhakar BT, Jayashree K, et al. Evaluation of serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and microvessel density(MVD) as prognostic indicators in carcinoma breast[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2009, 135 (4): 627-636.
- Linderholm B, Tavelin B, Grankvist K, et al. Vascular endothelial growth factor is of high prognostic value in node-negative breast carcinoma[J]. *J Clin Oncol*, 1998, 16(9): 3121-3128.
- Kowanetz M, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor signaling pathways: therapeutic perspective[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12 (17): 5018-5022.
- Linderholm BK, Hellborg H, Johansson U, et al. Significantly higher levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and shorter survival times for patients with primary operable triple-negative breast cancer[J]. *Ann Oncol*, 2009, 20(10): 1639-1646.
- Jobim FC, Schwartsmann G, Xavier NL, et al. Expression of MMP-9 and VEGF in breast cancer: correlation with other prognostic indicators [J]. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 2008, 30(6): 287-293.
- Linderholm BK, Lindahl T, Holmberg L, et al. The expression of vascular endothelial growth factor correlates with mutant p53 and poor prognosis in human breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(5): 2256-2260.
- Nishimura R, Nagao K, Miyayama H, et al. Higher plasma vascular endothelial growth factor levels correlate with menopause, overexpression of p53, and recurrence of breast cancer[J]. *Breast Cancer*, 2003, 10 (2): 120-128.
- Mukhopadhyay D, Tsiokas L, Sukhatme VP. Wild-type p53 and v-Src exert opposing influences on human vascular endothelial growth factor gene expression[J]. *Cancer Res*, 1995, 55(24): 6161-6165.
- Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(8): 1275-1281.
- 关 印,徐冰河.三阴性乳腺癌的临床病理特征及预后分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2008, 30(03): 196-199.
- 袁中玉,王树森,高 岩,等.305例三阴性乳腺癌患者的临床特征及预后因素分析[J]. *癌症*, 2008, 27(06): 561-565.
- Miller K, Wang M, Gralow J, et al. Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(26): 2666-2676.

(2011-08-25收稿)

(2011-12-19修回)

(本文编辑:邢颖)

Clinical Oncology and Cancer Research

被中国科学引文数据库(CSCD)核心版收录

Clinical Oncology and Cancer Research(CN 12-1404/R, ISSN 1674-5361)2004年创刊,主编郝希山院士,主要报道肿瘤学科具有创新性的基础与临床研究成果,反映国内外肿瘤学科发展前沿。创刊以来严格审稿质量,注重学术水平,影响力日益提高,为肿瘤临床医师、基础研究人员、相关交叉学科专业人员及医学生提供最新的肿瘤学理论、方法、研究进展及学术动态信息,促进国内外肿瘤学领域的交流。

中国科学引文数据库(Chinese Science Citation Database,简称CSCD)创建于1989年,收录我国数学、物理、化学、天文学、地学、生物学、农林科学、医药卫生、工程技术、环境科学和管理科学等领域出版的中英文科技核心期刊和优秀期刊千余种,目前已积累从1989年到现在的论文记录300万条,引文记录近1700万条。为我国第一个引文数据库,以ISI Web of Knowledge为平台,实现与Web of Science的跨库检索,在我国科研院所、高等学校的课题查新、基金资助、项目评估、成果申报、人才选拔以及文献计量与评价研究等多方面作为权威文献检索工具获得广泛应用,被誉为“中国的SCI”。