

Correlation between mammographic features and vascular endothelial growth factor expression

CEN Dong-zhi¹, XU Li², ZHANG Ji-ren^{1*}

(1. Center of Oncology, Zhujiang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510280, China; 2. Department of Radiology, Guangdong General Hospital, Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the relationship between mammographic features and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression, and to establish regression equation to predict the expression of VEGF for guiding clinical application of bevacizumab (AVASTIN). **Methods** The mammographic appearance and pathological characteristics of 144 patients with invasive breast cancer were collected and were first tested with *t* test and χ^2 test, then analyzed with Logistic regression. Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to assess the forecast accuracy of regression equation. **Results**

Univariate analysis showed that expression of VEGF protein was significantly associated with age, pathological grade, tumor size, lobulated sign and mass with spiculation, and lymph node metastasis, whereas only age, tumor size and lymph node metastasis entered into the Logistic regression equation. Area under the ROC curve of pre-probability P (PRE_1) generated by the regression equation was 0.88. **Conclusion** Patient's age, tumor size and lymph node metastasis have better predictive value for VEGF expression in patients with invasive breast cancer, which can provide guidance for clinical use of AVASTIN.

[Key words] Vascular endothelial growth factors; X-rays; Molybdenum; Logistic models; ROC curve

钼靶 X 线征象与 VEGF 表达的相关性

岑东芝¹, 徐 莉², 张积仁^{1*}

(1. 南方医科大学珠江医院肿瘤中心, 广东 广州 510282; 2. 广东省人民医院放射科 广东省医学科学院, 广东 广州 510080)

[摘要] **目的** 探讨钼靶 X 线征象与血管内皮生长因子(VEGF)表达的关系, 并建立预测 VEGF 表达的回归方程, 以期指导靶向药物贝伐单抗(AVASTIN)的使用。**方法** 回顾性分析 144 例浸润性乳腺癌患者的钼靶 X 线和病理检查资料, 采用 *t* 检验和 χ^2 检验进行单因素分析, 再行 Logistic 回归以发现独立的预测指标, 建立回归方程; 针对各预测指标进行受试者工作特征(ROC)曲线分析, 判断回归方程的预测准确度。**结果** 单因素分析显示患者年龄、病理分级、肿块直径、肿块分叶征及毛刺征、淋巴结转移 6 个因素与 VEGF 蛋白的表达有显著相关性, 但进入 Logistic 回归方程的变量为年龄、肿块直径及淋巴结转移, 由回归方程产生各个体预概率 P(PRE_1) 的 ROC 曲线下面积为 0.88, 诊断价值较高。**结论** 年龄及钼靶 X 线表现中肿块直径和淋巴结转移对浸润性乳腺癌患者 VEGF 表达有较好的预测价值, 可为临床使用 AVASTIN 提供指导。

[关键词] 血管内皮生长因子; X 线; 钼; Logistic 模型; ROC 曲线

[中图分类号] R816.91; R737.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2010)07-1262-03

钼靶 X 线乳腺摄影目前是乳腺癌首选的影像学检查方法, 能提供高清晰对比度, 显示乳腺一些细微结构和小病灶, 尤其是能发现具有微小钙化的临床早期乳腺癌(T0 期)^[1]。贝伐单抗(bevacizumab, AVASTIN)是针对血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的分子靶向药物, 可抑

制肿瘤新生血管形成^[2], 但昂贵的价格限制了其广泛应用。为使 AVASTIN 治疗更有针对性, 提高治疗有效率, 寻找一种简便有效的方法来预测 VEGF 的表达就十分重要。本研究回顾性分析浸润性乳腺癌钼靶 X 线征象与 VEGF 表达的关系, 旨在以实用、廉价、无创伤的方法, 从影像学角度预测乳腺癌患者的 VEGF 表达情况, 为临床治疗方案提供指导。

1 资料与方法

1.1 一般资料 分析 2007 年 10 月—2009 年 10 月南方医科大学珠江医院收治的乳腺肿瘤患者资料, 经钼靶 X 线摄影检查可发现肿块且检查前未行治疗(化疗、放疗及内分泌治疗)

[作者简介] 岑东芝(1979—), 女, 湖北枣阳人, 在读博士, 医师。研究方向: 实体肿瘤的分子靶向治疗研究。E-mail: dongzhicen@163.com

[通讯作者] 张积仁, 南方医科大学珠江医院肿瘤中心, 510282,

E-mail: zjzhangjiren@163.com

[收稿日期] 2010-02-23 **[修回日期]** 2010-04-19

的 144 例患者入选,均为女性,年龄 27~80 岁,平均(49.3±10.7)岁。乳腺肿块的 VEGF 表达状态由术后标本免疫组化染色检查证实。

1.2 乳腺钼靶 X 线检查 使用 GE Senographe 2000D 型 X 线钼靶摄影机,常规摄双侧乳腺轴位及侧斜位片,必要时加照侧位片及局部放大。由两位影像诊断医生按照美国放射学会创立并推荐的 BI-RADS 标准,采用盲法阅片。

收集以下相关资料:①年龄;②病理分级(I 级、II 级、III 级);③肿块直径;④肿块分叶征;⑤肿块毛刺征;⑥有无血管阴影增粗;⑦有无钙化;⑧有无皮肤增厚;⑨有无乳头内陷;⑩有无腋下淋巴结转移。

1.3 免疫组化(SP)法 切片常规脱蜡至水,高温、高压抗原修复,一抗 4℃ 孵育过夜,DAB 显色,苏木素复染。以磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)代替一抗作为阴性对照,用已知阳性片作阳性对照。VEGF 蛋白主要分布于乳腺癌细胞的胞浆内。结果判定:在双盲法下进行,以肿瘤细胞胞浆内出现黄色或棕黄色颗粒为阳性表达。每张切片在光镜下随机选取 5 个视野,每个视野计数 100 个瘤细胞。着色强度分:无色(-):0 分,浅黄色(+):1 分,黄色及棕黄色(++) :2 分。阳性细胞数:<10%为 0 分,10%~50%:1 分,>50%:2 分。两项得分相乘结果≥2 记为阳性。

1.4 统计学处理 单因素分析时计量资料间的比较用 t 检验;计数资料间比较用 χ^2 检验。多因素分析采用 Logistic 逐步回归分析法,并建立回归方程。建立回归方程时在 SPSS16.0 工作表中产生一个新的变量预测概率 P(PRE_1),根据变量绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,计算曲线下面积和 95%可信区间。所有统计学结果均以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 与 VEGF 表达相关的单因素分析 资料完整的 144 例患者中,92 例 VEGF 阳性表达,平均年龄为(51.1±11.4)岁;52 例 VEGF 阴性表达,平均年龄为(46.3±8.9)岁,两者之间年龄差异有统计学意义(P=0.044)。

表 1 与 VEGF 表达具有显著相关性的因素[(例)%]

因素	VEGF		合计	χ^2 值	P 值
	阴性	阳性			
病理分级					
I、II 级	30(44.78%)	37(55.22%)	67	4.078	0.043
III 级	22(28.57%)	55(71.43%)	77		
肿块					
大小				10.228	0.001
>3 cm	37(48.05)	40(51.95)	77		
≤3 cm	15(22.39)	52(77.61)	67		
分叶征				4.870	0.027
深分叶	12(24.00)	38(76.00)	50		
无分叶	40(42.55)	54(57.45)	94		
毛刺征				5.016	0.025
有毛刺	21(27.63)	55(72.37)	76		
无毛刺	31(45.59)	37(54.41)	68		
淋巴结转移				9.005	0.003
有	7(17.07)	34(82.93)	41		
无	45(43.69)	58(56.31)	103		

对患者病理资料及钼靶 X 线表现的 χ^2 检验可见,VEGF 的表达与患者病理分级、肿块直径、分叶征及毛刺征及有无淋巴结转移 5 个因素有相关性(P<0.05)(表 1);而与有无血管阴影增粗、有无钙化、皮肤增厚、乳头内陷无相关性(P>0.05)。

2.2 多变量 Logistic 回归模型 经 Logistic 逐步回归分析,年龄、肿块直径及有无淋巴结转移进入回归方程(表 2),得出预测 VEGF 表达概率的回归方程如下: $P=1/(1+e^{-Z})$, $Z=-0.674+0.037 \times \text{年龄}+1.033 \times \text{肿块直径}-1.149 \times \text{有无转移}$ 。其中 $e=2.718$,为数学常数;有转移数值为 1,无转移为 0。回归模型检验 $\chi^2=25.901$ (P<0.01),模型有统计学意义,并在 SPSS 工作表中产生各个体表达概率预测值的一组新变量 PRE_1。

表 2 二分类 Logistic 回归模型分析结果

因素	B	S. E.	Wald	P 值	Exp(B)	95% CI	
						下限	上限
年龄	0.037	0.019	3.878	0.049	1.038	1.00	1.077
肿块直径	1.033	0.386	7.167	0.007	2.809	1.319	5.982
有无转移	-1.149	0.477	5.802	0.016	0.317	0.124	0.807
常数	-0.674	1.387	0.236	0.627	0.51	—	—

2.3 ROC 曲线 对新变量 PRE_1、年龄及肿块直径绘制 ROC 曲线,由图 1 可见,新变量 PRE_1 的 ROC 曲线在标准参照线的左上方,离标准参照线远,说明诊断效果较好。新变量 PRE_1 的 ROC 曲线下面积为 0.88,面积标准误为 0.03,经假设检验,认为新变量 PRE_1 用于预测 VEGF 表达概率有统计学意义(P<0.01),即新变量 PRE_1 值越大,VEGF 阳性表达的可能性越大;面积的 95%可信区间为(0.822~0.940),不包括 0.5,可得出相同结论。

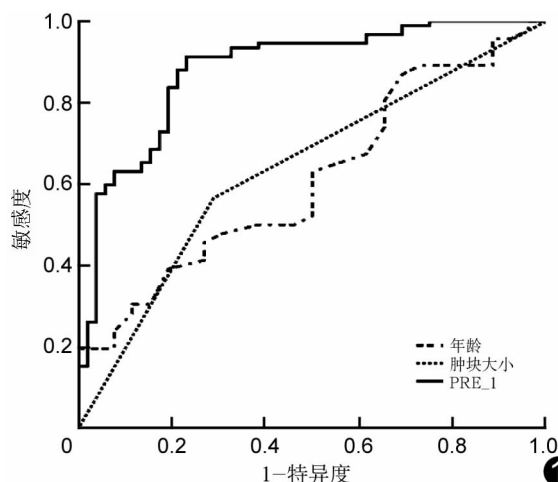


图 1 ROC 曲线 可见预测新变量 PRE_1 的 ROC 曲线远离标准参照线

3 讨论

实体肿瘤直径大于 2 mm 时,其生长必须依赖新生血管

形成。VEGF 在肿瘤的血管形成和内皮细胞存活过程中发挥关键作用,因此成为抗肿瘤血管生成的重要靶点^[3]。AVASTIN 是针对 VEGF 的单克隆抗体,可抑制肿瘤新生血管形成,使肿瘤细胞因血液供应中断而被“饿死”^[2],FDA 已批准用于治疗晚期大肠癌、肾癌及乳腺癌^[4-6]。AVASTIN 价格昂贵,1 年治疗费用近 10 万元。本组通过回顾性分析钼靶 X 线影像学征象与 VEGF 表达之间的相关性,预测浸润性乳腺癌患者 VEGF 的表达,以指导 AVASTIN 的临床应用。

浸润性导管癌钼靶 X 线表现形态多样,缺乏典型性,最常见的征象为肿块伴或不伴钙化、结构扭曲及单纯钙化^[7-8]。毛刺征系肿瘤新生血管形成,病灶沿阻力最小处向周围浸润生长所致,表现为自肿块边缘向周围伸展的放射状细索条影^[9];分叶征形成是由于肿瘤向不同方向生长不一致或受到血管等阻断所致^[10],两者均提示肿瘤细胞血供丰富、增殖活跃,同时也表明肿瘤细胞向周围浸润生长,是乳腺癌主要的恶性特征。本研究单因素分析结果表明,VEGF 表达与反映乳腺癌细胞增殖活跃、代谢旺盛、侵袭浸润的钼靶 X 线影像学征象如肿块直径、毛刺征及分叶征有密切关系。肿块直径 > 3 cm, VEGF 表达率显著升高;有毛刺征时 VEGF 表达率明显高于无毛刺征;深分叶 VEGF 的表达率明显高于无分叶或浅分叶。乳腺癌患者的乳腺内钙化发生率高达 30%~50%,钙化颗粒可呈点状、泥沙样或短杆状,研究^[11]表明钙化数量越多,恶性可能越大。本组结果表明,虽然钙化可作为恶性肿瘤诊断的重要特征之一,但其与 VEGF 的表达无明显相关。VEGF 促进乳腺肿瘤新生血管形成,既促进肿瘤细胞的增殖,又增加肿瘤细胞入侵血液循环及与毛细血管伴行的淋巴管和通过静脉-淋巴管吻合处进入淋巴管的概率,可促进癌细胞的浸润和淋巴转移^[12]。本研究中 VEGF 在有淋巴结转移的患者中阳性率为 82.93%(34/41),明显高于无淋巴结转移的病例(56.31%,58/103),差异有统计学意义($P=0.003$)。

为综合分析各指标间的相互作用,本研究进一步利用 Logistic 逐步回归分析的功能对钼靶 X 线影像学征象进行多因素分析,结果得到相关性较高的变量为年龄、肿块直径及有无转移,表明这 3 个变量是预测 VEGF 表达的独立因子,而并未发现病理分级、肿块分叶征及毛刺征具有其独立影响作用,可能由于这些变量单因素之间存在相互影响或受某些干扰因素,而多因素综合分析控制了各相关因素的混杂作用,需扩大样本量及详细分层进一步研究。研究中得出的预测 VEGF 表达概率的回归方程为: $P=1/(1+e^{-Z})$, $Z=-0.674+0.037\times\text{年龄}+1.033\times\text{肿块直径}-1.149\times\text{有无转}$

移,预测概率新变量 PRE_1 的 ROC 曲线下面积为 0.88,预测效果较理想。

总之,本文通过回顾性分析浸润性乳腺癌患者 VEGF 表达与钼靶 X 线征象的相关性,并采用 Logistic 逐步回归分析和 ROC 曲线分析方法,初步确立了年龄、肿块直径及有无淋巴结转移对 VEGF 表达的预测价值,对 AVASTIN 治疗方案的选择具有重要的指导意义。但由于本研究是单中心、回顾性临床研究,故存在一定的局限性,还需要在前瞻性、多中心、大规模的临床研究中证实其实临床预测价值。

[参考文献]

- [1] Nees AV. Digital mammography: are there advantages in screening for breast cancer? *Acad Radiol*, 2008, 15(4):401-407.
- [2] Lin A, Rugo HS. The role of trastuzumab in early stage breast cancer: current data and treatment recommendations. *Curr Treat Options Oncol*, 2007, 8(1):47-60.
- [3] Bando H. Vascular endothelial growth factor and bevacitumab in breast cancer. *Breast Cancer*, 2007, 14(2):163-173.
- [4] Patel DK. Clinical use of anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies in metastatic colorectal cancer. *Pharmacotherapy*, 2008, 28(11):31S-41S.
- [5] Sachdev JC, Jahanzeb M. Evolution of bevacizumab-based therapy in the management of breast cancer. *Clin Breast Cancer*, 2008, 8(5):402-410.
- [6] Traina TA. Bevacizumab in the treatment of metastatic breast cancer. *Oncology (Williston Park)*, 2009, 23(4):327-332.
- [7] 郑凯尔, 李宁, 刘万花, 等. 乳腺癌的 X 线表现和分型. *中国医学影像技术*, 2005, 21(8):1230-1232.
- [8] 汪秀玲, 吴笑松. 各种影像检查在乳腺癌诊治中的应用. *中国介入影像与治疗学*, 2009, 6(5):489-493.
- [9] Ildefonso C, Vazquez J, Guinea O, et al. The mammographic appearance of breast carcinomas of invasive ductal type: relationship with clinicopathological parameters, biological features and prognosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2008, 136(2):224-231.
- [10] 王玉霞, 徐香玖. 乳腺癌的钼靶 X 线表现、病理与分子生物学指标的相关性研究. *中国医学影像技术*, 2008, 24(1):60-63.
- [11] Liu X, Inciardi M, Bradley JP, et al. Microcalcifications of the breast: size matters! A mammographic-histologic correlation study. *Pathologica*, 2007, 99(1):5-10.
- [12] Eccles S, Paon L, Sleeman J. Lymphatic metastasis in breast cancer: importance and new insights into cellular and molecular mechanisms. *Clin Exp Metastasis*, 2007, 24(8):619-636.