

# 血管内皮生长因子在乳腺浸润性导管癌组织中的表达及其临床意义

李梅<sup>1</sup> 陈伟光<sup>1</sup> 李艳薇<sup>1</sup> 华兴<sup>2</sup>

(1 广州市红十字会医院乳腺科 广东 广州 510220 2 广州市红十字会医院病理科 广东 广州 510220)

**摘要** 目的:探讨血管内皮生长因子(VEGF)在乳腺浸润性导管癌(IDC)组织中的表达及其与临床病理特征的关系。方法:采用SP免疫组化法检测72例IDC患者(IDC组)和30例乳腺纤维腺瘤(对照组)组织中VEGF的表达。结果:IDC组VEGF阳性表达率为68.1%,显著高于对照组(23.3%),两组相比较有显著性差异( $P<0.05$ );VEGF阳性表达与IDC患者年龄和肿瘤直径大小无相关性,其阳性表达率差异无统计学意义( $P>0.05$ );而VEGF水平与临床分期和病理组织学分级,以及肿瘤远处转移之间存在相关性,其阳性表达率有显著性差异( $P<0.05$ )。结论:VEGF在IDC组织中呈高表达,VEGF参与了IDC发生发展和浸润转移,VEGF可以作为评价IDC恶性程度和淋巴结转移的一个新型指标。

**关键词** 乳腺浸润性导管癌;血管内皮生长因子;SP免疫组化

**中图分类号** R737.9 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)02-273-03

## Expression and Clinical Significance of VEGF in Tissues of Patients with Invasive Ductal Carcinoma of Breast

LI Mei<sup>1</sup>, CHEN Wei-guang<sup>1</sup>, LI Yan-wei<sup>1</sup>, HUA Xing<sup>2</sup>

(1 Departments of Breast, Guangzhou Red Cross Hospital, Guangzhou, 510220;

2 Department of Pathology, Guangzhou Red Cross Hospital, Guangzhou, 510220)

**ABSTRACT Objective:** To study the expression and clinical significance of vascular endothelial growth factor (VEGF) in tissues of patients with invasive ductal carcinoma of breast (IDC). **Methods:** The VEGF expression from 72 cases of patients with IDC (IDC group) and 30 cases of patients with breast fibroadenoma (control group) tissues were detected by SP immunohistochemical method. **Results:** The positive rate of VEGF expression of the IDC group was 68.1%, the control group was 23.35%; there was significant difference between the two groups ( $P<0.05$ ); The positive expression of VEGF was no significant correlation among the different age and tumor diameter, the positive rate of VEGF expression had no significant difference ( $P>0.05$ ); The positive expression of VEGF was significantly correlated with clinical stage, histological grade and distant metastasis of tumor, the positive rate of VEGF expression had significant difference ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** The VEGF has high expression in tissues of patients with IDC, the VEGF involves in the occurrence, development, invasion and metastasis of IDC. The VEGF is a new indicator for evaluating the malignant degree and lymph node metastasis of IDC.

**Key words:** Invasive ductal carcinoma of breast; Vascular endothelial growth factor; SP immunohistochemical method

**Chinese Library Classification (CLC):** R737.9 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2012)02-273-03

### 前言

乳腺癌是严重危害女性生命健康的恶性肿瘤,已跃居世界女性恶性肿瘤第一位。大约有70%的乳腺癌为乳腺浸润性导管癌(invasive ductal carcinoma of breast, IDC)<sup>[1]</sup>。近年来我国乳腺癌的发病率呈迅速上升的趋势。随着乳腺癌诊疗技术的进步,乳腺癌患者的总生存率和无复发生存率大大改善,但我国每年仍有40万妇女死于乳腺癌<sup>[2]</sup>。目前有关乳腺癌的发病机制尚不十分清楚。恶性肿瘤是一个多基因参与、多步骤、多阶段进展的复杂过程,细胞正常的生长发育过程中受多基因产物精密调节,其中任何一个环节出现问题都会导致细胞的生长失控,从而导致细胞的异常增殖和恶性转化<sup>[3,4]</sup>。目前有关癌基因及其表达产物的研究受到重视,成为肿瘤研究的热点难点之一。血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)是迄今发现的

作用最强的特异性促内皮细胞生长因子,可诱导肿瘤内淋巴管生成,还可以导致瘤细胞向淋巴结的播散<sup>[5]</sup>,其在乳腺癌的发病机制中的作用日益受到人们的重视。因此,本研究采用SP免疫组化法,检测VEGF在IDC组织中的表达,揭示VEGF的表达与IDC临床病理特征的关系,为IDC的早期诊断、治疗和预后判断提供理论依据。

### 1 资料与方法

#### 1.1 一般资料

选择2005年4月~2010年6月在我院就诊并经病理检查证实的IDC患者为研究对象,其中资料完整并获成功随访者72例(IDC组)。所有患者均为女性患者,术前未经放疗、化疗及激素治疗。72例患者年龄30~75岁,平均年龄( $49.6\pm 9.15$ )岁,中位年龄为47.5岁。根据国际抗癌联盟提出乳腺癌的TNM分期法进行临床分期<sup>[6]</sup>:期24例、期31例、期17例;有无淋巴结转移15例,无淋巴结转移57例;肿瘤直径 $<3\text{cm}$ 52例, $\geq 3\text{cm}$ 20例。根据Elson-Ellis半定量分级法进行病理组织

作者简介 李梅(1970-),女,医学学士,研究方向:乳腺病;

E-mail: 709318668@qq.com

(收稿日期 2011-04-30 接受日期 2011-05-22)

学分级<sup>[6]</sup>, 级(高分化)20例, 级(中分化)34例, 级(低分化)18例。另选择30例乳腺良性病变(乳腺纤维腺瘤)为对照组, 年龄28~70岁, 平均年龄(46.43±7.67)岁。

1.2 主要试剂

即用型鼠抗人 VEGF 单克隆抗体、抗原修复试剂 0.01M 柠檬酸型缓冲液、0.1M PBS 缓冲液(pH 7.2~7.4)均购自福建迈新公司。

1.3 方法

1.3.1 方法 手术切除标本速度经 10%中性福尔马林固定, 常规石蜡包埋, 厚度 4μm 切片, 采用常规免疫组化 SP 法染色检测, 实验步骤严格按照说明书进行, 抗原修复采用高压高温热修复。阳性对照为已知的乳腺癌组织 VEGF 阳性切片, 由试剂公司提供, 以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3.2 免疫组化染色判断乎 VEGF 阳性表达位于肿瘤细胞胞

浆内, 表现为棕黄色细颗粒。所有切片采用普通光学显微镜, 在高倍视野(×400)下随机取 5 个视野观察记数 1000 个细胞, 计算阳性细胞所占百分率, 并判断阳性细胞着色程度, 阳性判定标准参照相关文献<sup>[7]</sup>进行, 0~4 分判定为低表达, 记为阴性, 5~12 分判定为高表达组, 记为阳性。

1.3.3 统计学方法 所有计量资料采用均数±标准差表示 ( $\bar{x} \pm s$ ), 数据分析采用 SPSS13.0 统计分析软件, 计数资料比较采用  $\chi^2$  检验, 计量资料比较采用 t 检验, 以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 VEGF 在 IDC 组和正照组表达结果比较

IDC 组 VEGF 阳性表达率为 68.1%, 显著高于对照组 (23.3%), 两组相比较有显著性差异(P<0.05)。结果见表 1。

表 1 VEGF 在 IDC 组和正照组表达结果比较

Table 1 Comparison of VEGF expression between the IDC group and control group

组别 Group	n	阳性(例) Positive (case)	阴性(例) Negative (cases)	阳性表达率(%) Positive rate(%)	$\chi^2$	P
IDC 组 IDC group	72	49	23	68.1	9.608	0.001*
对照组 Control group	30	7	23	23.3		

注: 与对照组比较 \*P<0.05

Note: compared with the control group \*P<0.05

2.2 VEGF 阳性表达与 IDC 临床病理指标的关系

VEGF 阳性表达与 IDC 患者年龄和肿瘤直径大小无相关性, 其阳性表达率差异无统计学意义(P>0.05); 而 VEGF 水平

与临床分期和病理组织学分级、以及肿瘤远处转移之间存在相关性, 其阳性表达率有显著性差异(P<0.05)。结果见表 2。

表 2 VEGF 阳性表达与 IDC 临床病理指标的关系( $\bar{x} \pm s$ , 例/%)

Table 2 The relationship of the VEGF expression and clinicopathological parameters of IDC

临床病理指标 Clinicopathological parameters	n	VEGF				$\chi^2$	P
		+	-	阳性率 Positive rate			
年龄(岁) Age (years)	<50	38	25	13	65.8	0.213	0.586
	≥ 50	34	24	10	70.6		
1 期 1 stage		24	12	12	50.0	9.128	0.000*
临床分期 Clinical stage	期 stage	31	21	10	67.7		
	期 stage	17	16	1	94.1		
远处转移 Distant metastasis	有 yes	15	2	13	13.3	8.137	0.003*
	无 no	57	47	10	82.5		
肿瘤直径(cm) Tumor diameter(cm)	<3	52	35	17	67.3	2.015	0.217
	≥ 3	20	14	6	70.0		
1 级 1 grade		20	8	12	40.0	10.782	0.000*
组织学分级 Histological grade	级 grade	34	24	10	70.6		
	级 grade	18	17	1	94.4		

注: \*P<0.05

Note: \*P<0.05

### 3 讨论

恶性肿瘤的发生、发展是一个复杂的多步骤、多种生物学指标共同参与的过程。随着乳腺癌的发病率不断升高,早期发现、准确判断其恶性程度及浸润转移潜能对于临床上制定合理的乳腺癌治疗方案具有重要意义。由于乳腺癌的发病机制尚不完全清楚,目前仍然没有找到特异性的诊断和治疗方案,乳腺癌的治疗和预防一直是临床研究的重点。

血管内皮生长因子(VEGF)是目前发现的可以特异地促进血管内皮细胞生长的一种多功能的细胞因子,它在人体的多个正常组织及绝大多数的肿瘤组织中表达均可以表达<sup>[8]</sup>。VEGF可以直接或间接地促进血管新生,增强血管壁的通透性,促进大分子蛋白外渗,为新生血管网建立提供良好的基质<sup>[9]</sup>;另外,VEGF可以促进血管内皮的分裂增殖,促使血管的形成<sup>[10]</sup>。大量研究已证实 VEGF 在恶性肿瘤组织血管形成中发挥着重要作用,与恶性肿瘤侵袭和转移有关,是衡量肿瘤生长、浸润和转移的重要指标,可作为血清、组织肿瘤标志物,用于良、恶性肿瘤的鉴别<sup>[11,12]</sup>。因此,对 IDC 组织中 VEGF 表达情况进行研究具有重要的现实意义。

本研究采用 SP 免疫组化法检测 72 例 IDC 组织中 VEGF 的表达水平,并与乳腺纤维腺瘤组织为对照,结果显示,IDC 组 VEGF 阳性表达率为 68.1%,显著高于对照组( $P<0.05$ )。表明 VEGF 在 IDC 组织中呈高表达。本研究进一步对 VEGF 表达水平与 IDC 的临床病理指标之间关系进行研究,结果显示:VEGF 阳性表达与 IDC 患者年龄和肿瘤直径大小无相关性( $P>0.05$ );而 VEGF 水平与临床分期和病理组织学分级、以及肿瘤远处转移之间存在相关性( $P<0.05$ )。表明 IDC 组织中 VEGF 表达水平与临床分期、病理组织学分级以及肿瘤远处转移有关,TNM 期别越晚、组织学级别越高、肿瘤发生远处转移,则 VEGF 的表达越强。分析其原因可能在于:临床分期和病理组织学分级越高、以及肿瘤转移决定了肿瘤的生长方式与速度,它们使癌细胞呈快速侵袭性生长,致使肿瘤组织局部缺血、缺氧,导致肿瘤细胞血清 VEGF 呈高表达,从而加速结构和功能异常的血管生成<sup>[13-14]</sup>,导致肿瘤细胞更易侵入血管,发生浸润和转移。

综上所述,VEGF 在 IDC 组织中呈高表达,VEGF 参与了 IDC 发生发展、浸润转移等生物学行为。因此,我们认为 VEGF 可以作为评价 IDC 恶性程度和淋巴结转移的一个新型指标来预测 IDC 的侵袭转移情况,可以为 IDC 的临床治疗提供重要参考。

#### 参考文献(References)

- [1] 王明华,郑晶,丁莉丽,等.三阴性乳腺浸润性导管癌的临床病理特征探讨[J].海南医学院学报,2010,16(11):1409-1432  
Wang Ming-hua, Gheng Ding, Ding Lili, et al. Pathological features of triple-negative invasive ductal carcinoma of breast [J]. Journal of Hainan Medical University, 2010,16(11):1409-1432
- [2] 张玉宝,马春雷,张国强,等.乳腺癌原发灶和淋巴结转移灶 MDR-1 基因表达及临床分析[J].中国肿瘤临床,2004,31(21):1221-1224  
Zhang Yubao, Ma Chunlei, Zhang Guoqiang, et al. The research on relations between MDR-1 mRNA expression and clinical pathological features of patients with breast cancer [J]. Chin J Clin Oncol, 2004,31(21):1221-1224
- [3] 王晔,王建丰,仇生龙,等. P-gp、MMP-2、C-erbB-2 在乳腺癌原发灶和转移淋巴结中的表达对比研究[J].现代生物医学进展,2011,11(1):94-96  
Wang Ye, Wang Jian-feng, Qiu Sheng-long, et al. Expression and clinical significance of P-gp, MMP-2 and c-erbB-2 in infiltrating ductal breast cancer and metastatic axillary lymph nodes [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2011,11(1):94-96
- [4] 张飞,史玉荣,张霖,等.乳腺癌多药耐药细胞 MCF-7/ADR 中 Twist 的表达与 EMT 现象的实验研究[J].中国肿瘤临床,2007,34(7):361-365  
Zhang Fei, Shi Yurong, Zhang Lin, et al. Epithelial-mesenchymal transition and the expression of Twist in MCF-7/ADR a human multidrug resistant breast cancer cell line [J]. Chin J Clin Oncol, 2007,34(7):361-365
- [5] Ferrara N, Gerber HP, Lecouter J. The biology of VEGF and its receptors[J]. Nat Med, 2003, 9:669-676
- [6] 牛昀. 乳腺肿瘤病理诊断学 [M]. 天津科学技术出版社,2006:290-297  
Niu Yun. pathologic diagnosis of breast cancer [M]. Tianjin Science and Technology Press, 2006:290-297
- [7] Guo X, Chen Y, Xu Z, et al. Prognostic significance of VEGF expression in correlation with COX-2, lymphatic microvessel density, and clinicopathologic characteristics in human non-small cell lung cancer [J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2009, 41(3):217-222
- [8] 张晓,徐文华,葛银林,等.VEGF 基因特异性 siRNA 转染后对人乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J].细胞与分子免疫学杂志,2007,23(1):14-17  
Zhang Xiao, Xu Wen-hua, Ge Yin-lin, et al. Effect of siRNA transfection targeting VEGF gene on proliferation and apoptosis of human breast cancer cells [J]. Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology, 2007, 23(1):14-17
- [9] Matsumura S, Oue N, Mitani Y, et al. DNA demethylation of Vascular endothelial growth factor is associated with gene expression and its possible involvement of lymphangiogenesis in gastric cancer[J]. International Journal of Cancer, 2007, 120(8):1689-1695
- [10] 孟晓云,陈跃. Glut1、VEGF、HIF-1 $\alpha$  在乳腺癌中的表达和临床意义[J].中国现代医学杂志,2008,18(11):1557-1559  
Meng Xiao-yun, Chen Yue. Expression of Glut1, VEGF, HIF-1 $\alpha$  in breast carcinoma and their relations and significance in clinic[J]. China Journal of Modern Medicine, 2008, 18(11):1557-1559
- [11] Gerber HP, Ferrara N. The role of VEGF in normal and neoplastic hematopoiesis[J]. J M Med, 2003, 81(1):20-31
- [12] Howard EIVI, Lau SK, Lyles RH, et al. Corelation and expression of p53, HER-2, vascular endothelial growth factor (VEGF) and E-cadherin in a high-risk breast-cancer population [J]. Int J Clin Oncol, 2004, 9(1):154-159
- [13] Guo B, Zhang Y, Luo G, et al. Lentivirus-Mediated Small Interfering RNA Targeting VEGF Inhibited Tumor Lymphangiogenesis and Growth in Breast Carcinoma [J]. Anatomical Record, 2009, 292(5):633-639
- [14] 张金玉,葛银林,张晓,等.抑制 VEGF 基因表达对乳腺癌细胞细胞周期的影响[J].现代生物医学进展,2009,9(15):2834-2837  
Zhang Jin-yu, Ge Yin-lin, Zhang Xiao, et al. Inhibition of expression of VEGF gene by siRNA influences cell cycle in breast cancer cells [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2009, 9(15):2834-2837