论著

文章编号:1000-5404(2007)20-1964-04

乳腺癌组织 COX-2、VEGF-C 的表达与淋巴结转移的关系

李昌秀,曹友德 (重庆医科大学病理学教研室,重庆 400016)

提 要:目的 研究 COX-2、VEGF-C 在乳腺癌组织中的表达及其与淋巴管生成、淋巴结转移间的相关性。**方法** 采用免疫组化学 S-P 法检测 46 例浸润性导管癌组织中 COX-2、VEGF-C 的表达,通过淋巴管特异性标记物 D2-40 记数淋巴管密度(LVD),分析 COX-2、VEGF-C 的表达与淋巴管生成和淋巴结癌组织转移的相关性。**结果** ①乳腺癌组织 COX-2、VEGF-C 表达阳性率分别为 73.91%(34/46)和 71.74%(33/46)。②有淋巴结转移组 COX-2 阳性率为 86.48%(32/37)、VEGF-C 为 81.08%(30/37),D2-40 阳性淋巴管密度为(13.350±3.097)/×200。无淋巴结转移组 COX-2 为 22.22%(2/9)、VEGF-C 为 33.33%(3/9)、LVD 为(9.560±2.031)/×200,转移组中 COX-2、VEGF-C 的表达及淋巴管密度均明显高于无转移组($P<0.01$)。③VEGF-C 表达与 COX-2 表达呈正相关($r=0.757$,$P<0.01$),并且 COX-2、VEGF-C 的表达与 LVD 也呈正相关($P<0.01$)。**结论** VEGF-C、COX-2 在人乳腺癌组织呈高水平表达,其表达与肿瘤淋巴管密度及癌组织淋巴结转移有关;COX-2 可能通过诱导 VEGF-C 表达促进肿瘤淋巴管生成和淋巴结转移。

关键词: 乳腺肿瘤;血管内皮生长因子-C;环氧化酶-2;淋巴管生成

中图法分类号: R73-37;R730.231;R737.9 **文献标识码:** A

Correlation of COX-2 and VEGF-C expressions in breast carcinoma with lymph node metastasis

LI Chang-xiu, CAO You-de (Department of Pathology, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To investigate the expressions of COX-2 and VEGF-C in breast carcinoma and their correlation with lymphangiogenesis and lymph node metastasis. **Methods** The expressions of COX-2 and VEGF-C and D2-40 were evaluated in 46 cases of breast carcinoma by immunohistochemical staining SP methods. The lymphatic vessels density (LVD) in tumor was counted through the special marker D2-40. **Results** The positive rate of COX-2 and of VEGF-C was 73.91% (34/46) and 71.74% (33/46) respectively in breast carcinoma tissues. The positive rate of COX-2 and VEGF-C was 86.48% (32/37) and 81.08% (30/37), and LVD was (13.350±3.097)/×200 in the lymph node metastasis group, while that in non-lymph-node metastasis group was 22.22% (2/9), 33.33% (3/9) and (9.560±2.031)/×200 respectively, with significant difference between the two groups ($P<0.01$). VEGF-C expression was positively correlated with COX-2 expression ($r=0.757$, $P<0.01$). The expressions of COX-2 and VEGF-C were positively correlated with LVD ($P<0.01$). **Conclusion** The expressions of COX-2 and VEGF-C were high in breast carcinoma, which were closely related with tumor LVD and lymph node metastasis. A positive correlation was found between the expressions of VEGF-C and COX-2 in breast carcinoma. COX-2 may promote tumor lymphangiogenesis and metastasis of tumor lymph node by inducing VEGF-C expression.

Key words: breast neoplasma; vascular endothelial growth factor-C; cyclooxygenase-2; lymphoangiogenesis

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤之一,癌细胞的淋巴道转移是其重要恶性行为之一,也是决定肿瘤临床分期、治疗及预后评判的关键因素。血管内皮生长因子-C(vascular endothelial growth factor-C, VEGF-C)及其受体 VEGFR-3 是目前较为肯定的淋巴管生成调节因子,与淋巴管的生成及淋巴结的转移密切相关[1]。

基金项目:重庆市自然科学基金(CSTC2005AC0076)
Supported by the Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC-2005AC0076)

作者简介:李昌秀(1979-),女,四川省安岳县人,硕士研究生,主要从事抑制肿瘤淋巴管生成方面的研究。电话:13594016030
通讯作者:曹友德,电话:13271980067,E-mail: cydcyj@163.com

收稿日期:2007-01-25;修回日期:2007-04-26

近来有研究报道，环氧化酶-2（cyclooxygenase-2，COX-2）能上调 VEGF-C 的表达，并参与肿瘤淋巴管生成及转移[2]。我们对乳腺癌 COX-2、VEGF-C 及肿瘤间质淋巴管密度（lymphatic vessels density，LVD）进行检测以探讨 COX-2、VEGF-C 的表达及其与 LVD 和淋巴结转移之间的相关性。

1　材料与方法

1.1　材料

46 例乳腺浸润性导管癌来自重庆医科大学附属第一医院 2003 年 1 月至 2005 年 5 月手术切除标本。年龄 21～69 岁，中位年龄为 44 岁。按照 Bloom-Richardson 系统 Nottingham 改良方案分级：Ⅰ级为高分化，13 例；Ⅱ、Ⅲ级为中低分化，33 例。46 例乳腺浸润性导管癌中有淋巴结转移者 37 例，无淋巴结转移者 9 例。另取 15 例纤维腺瘤病例作为对照组。

1.2　主要试剂

COX-2 单克隆抗体（工作液）、VEGF-C 多克隆抗体（工作液）、D2-40 单克隆抗体（浓缩液）、S-P 检测试剂盒及 DAB 显色液均购自北京中山生物技术有限公司。

1.3　方法

组织经 10% 甲醛固定，5 μm 连续石蜡切片。采用 S-P 免疫组化染色法，按照 S-P 检测试剂盒说明书的步骤操作。抗 VEGF-C 及抗 COX-2 工作液均经微波修复预处理，抗原修复液为柠檬酸缓冲液（pH 6.0）。D2-40 单克隆抗体工作浓度为 1∶100。阴性对照用 PBS 代替一抗。

1.4　结果的判定

COX-2、VEGF-C 免疫组化的观察，先在低倍镜下选取最强着色区，然后选 10 个高倍镜视野（×400），分别记数 100 个细胞，其颜色深浅参考文献[3]评分：细胞质或细胞膜上无棕黄色颗粒为 0 分、淡黄色为 1 分、棕黄色为 2 分、棕褐色为 3 分。染色细胞所占百分比打分：无阳性细胞为 0 分、1%～10% 为 1 分、11%～50% 为 2 分、≥51% 为 3 分。两项乘积得分≥3 分定为阳性，其中 3－4 分（+），5－7（++），8－9 分（+++）。

D2-40 免疫组化结果判定，首先在低倍镜下确定脉管最密集区（热区），然后在×200 倍显微镜下记数 10 个视野的阳性淋巴管数，取均值作为最后 LVD。肿瘤区内单个或成丛的内皮细胞，不管成腔与否均纳入淋巴管计数。

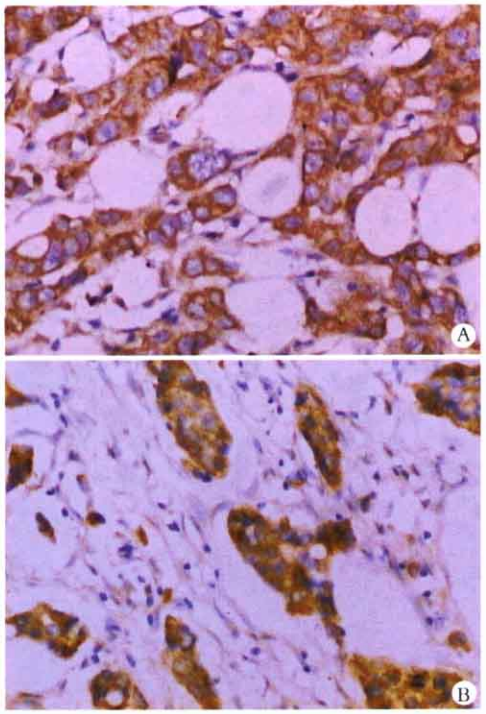
1.5　统计学处理

采用 SPSS 12.0 软件进行计数资料 χ^2 检验；两个变量相关性分析采用双变量相关分析。

2　结果

2.1　VEGF-C 和 COX-2 在乳腺癌中表达

蛋白阳性产物均为棕黄色颗粒，位于乳腺癌细胞细胞质内（图 1）。46 例乳腺癌组织中 COX-2 的阳性率为 73.91%（34/46），显著高于纤维腺瘤组织中 COX-2 阳性表达率 13.33%（2/15）（$P<0.001$）；乳腺癌组织中 VEGF-C 的阳性率为 71.74%（33/46），显著高于纤维腺瘤组织中 VEGF-C 的阳性率 6.67%（1/15）（$P<0.01$）。见表 1。



A：COX-2 在乳腺癌组织中的表达；B：VEGF-C 在乳腺癌组织中的表达

图 1　COX-2 与 VEGF-C 在乳腺癌组织中的表达　（S-P×200）

表 1　乳腺癌 COX-2 表达与 VEGF-C 和肿瘤 LVD 的关系

项目	n	LVD（$\bar{x}\pm s$）	r	P	COX-2 表达		r	P
					阴性	阳性		
VEGF-C								
阳性	33	13.606±2.771	0.703	<0.01	32	1	0.757	<0.01
阴性	13	9.714±1.863			2	11		
COX-2								
阳性	34	13.470±2.904	0.655	<0.01				
阴性	12	10.001±1.809						

2.2　乳腺癌组织中淋巴管密度（LVD）

D2-40 阳性产物为棕黄色颗粒，主要位于淋巴管内皮细胞细胞质内，管腔中见瘤栓（图 2）。通过检测淋巴管内皮细胞 D2-40 阳性表达记数淋巴管密度，结果显示乳腺癌组间质中 LVD 为（12.63±3.001）/×200，纤维腺瘤中 LVD 为（6.533±1.995）/×200，有显著性差异（$P<0.01$）。

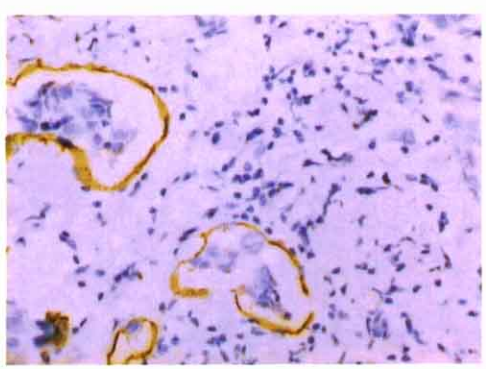


图 2　乳腺癌组织中 D2-40 阳性的淋巴管　（S-P×200）

2.3 乳腺癌 COX-2、VEGF-C 表达与肿瘤新生淋巴管形成及临床病理间的关系

在 VEGF-C 阳性的 33 例乳腺癌患者中,32 例 COX-2 阳性,而在 VEGF-C 阴性的 13 例中有 2 例 COX-2 表达阳性,二者有明显相关性($r=0.757$,$P<0.01$)。LVD 与 VEGF-C($r=0.703$,$P<0.01$)、COX-2($r=0.655$,$P<0.01$)的表达呈明显正相关,见表 1。

COX-2、VEGF-C、LVD 与临床病理特点的关系表 2,其中乳腺癌病例中高分化组中 VEGF-C(46.15%)和 COX-2(38.46%)表达明显低于中低分化组中 VEGF-C(81.81%)和 COX-2(87.87%)的表达($P<0.05$)。有淋巴结转移组 COX-2 为 86.48%,VEGF-C 为 81.08%,明显高于无淋巴结转移组 COX-2 的 22.22% 和 VEGF-C 的 33.33%($P<0.01$)。中低分化组 LVD 为(13.51±3.107)/×200,显著高于高分化组 LVD(10.38±2.235)/×200($P<0.01$)。有淋巴结转移 LVD 为(13.35±3.097)/×200,显著高于无淋巴结转移组 LVD(9.56±2.031)/×200($P<0.01$)。

表 2 VEGF-C 和 COX-2 表达与临床病理参数的关系

项目	n	VEGF-C 阳性率[%(例数)]	χ^2	P	COX-2 阳性率[%(例数)]	χ^2	P	LVD($\bar{x}\pm s$)	P
乳腺癌	46	71.74(33/46)	16.90	0.000	73.91(34/46)	15.10	0.000	12.630±3.001	0.000
纤维腺瘤	15	6.67(1/15)			13.33(2/15)			6.533±1.995	
分化程度									
中低分化	33	81.81(27/33)	4.22	0.042	87.87(29/33)	5.37	0.021	13.51±3.107	0.001
高分化	13	46.15(6/13)			38.46(5/13)			10.38±2.235	
淋巴结转移									
有转移	37	81.08(30/37)	5.95	0.015	86.48(32/37)	12.3	0.000	13.35±3.097	0.001
无转移	9	33.33(3/9)			22.22(2/9)			9.56±2.031	

3 讨论

乳腺癌早期以淋巴道转移为主,且淋巴结转移已成为评估预后和制定治疗策略的重要生物学指标。淋巴管的识别是对肿瘤淋巴管生成进行研究的前提。文献报道,D2-40 是一种针对唾液糖蛋白的单克隆抗体,主要表达于淋巴管内皮细胞细胞质[4],它能有效地发现许多原发性肿瘤的早期淋巴道转移[5]。本研究表明 D2-40 在血管内皮细胞中无阳性表达,而标记阳性的毛细淋巴管表现为管腔大、管壁薄,仅由单层内皮细胞和极薄的结缔组织组成。由此推测,肿瘤组织有新生淋巴管形成时,肿瘤细胞发生淋巴结转移的几率可能增加。另外发现,有淋巴结转移者 LVD 显著高于无淋巴结转移组($P<0.01$),进一步说明,肿瘤淋巴管生成为肿瘤细胞提供转移通道。

目前认为 VEGF-C、VEGF-D 及其受体 VEGFR-3 是调节肿瘤淋巴管生成的主要因子。VEGF-C 在多种实体瘤中高表达,且其表达强弱与 LVD 及癌细胞转移呈正相关[6,7]。VEGF-C 由肿瘤细胞分泌,以旁分泌形式与其受体 VEGFR-3 结合后经 MAPK(细胞分裂素活化蛋白激酶)和 PI3-K(磷酸肌醇 3-激酶)途径调控淋巴管内皮细胞增生,促进淋巴管生成[8]。我们的实验也显示,VEGF-C 主要由乳腺癌细胞分泌,乳腺癌中 VEGF-C 的表达阳性率为 71.14%,而纤维腺瘤组阳性率为 6.67%。进一步发现有淋巴结转移组 VEGF-C 表达率明显高于无淋巴管转移组,而且 VEGF-C 表达与 LVD 呈正相关($r=0.703$,$P<0.01$)。这表明 VEGF-C 在肿瘤淋巴管生成及淋巴结转移过程中起着非常重要的作用。

COX-2 可参与体内炎症反应、肿瘤发生、血管生成等多个病理生理过程。近来研究表明 COX-2 在多种肿瘤中表达上调,并且与肿瘤的侵袭转移有关[9]。Su 等[10]用 cDNA 微阵列技术发现 VEGF-C 是 COX-2 的一个主要的下游基因。COX-2 通过 EP1(前列腺素 E_2 受体)受体依赖途径激活 HER-2(人上皮细胞生长因子受体-2)/Neu 酪氨酸激酶受体使其下游效应基因 VEGF-C 激活而促进肿瘤淋巴管生成。本研究结果显示,乳腺癌中 COX-2 呈高表达,与纤维腺瘤组间差别有显著性($P<0.01$),且中低分化组 COX-2 阳性表达高于高分化组,这说明 COX-2 参与了肿瘤的发生发展过程。同时发现,COX-2 表达与 VEGF-C 表达、淋巴管密度及淋巴结转移明显相关。我们推测 COX-2 有可能刺激了肿瘤 VEGF-C 的产生并促进淋巴管的生成与淋巴结转移。这与 Kyzas 等[11]的研究结果一致,他们发现 VEGF-C 与 COX-2 的共同表达是淋巴结转移唯一的预测因子。

本研究结果表明乳腺癌组织中 COX-2 及 VEGF-C 呈高表达,且 COX-2 有可能诱导 VEGF-C 的表达而促进癌组织中微淋巴管的生成和淋巴结转移。这为肿瘤的淋巴管转移的机制及治疗找到了新的切入点。

参考文献:

[1] Kaipainen A, Korhonen J, Mustonen T, *et al*. Expression of the fms-like tyrosine kinase 4 gene becomes restricted to lymphatic endothelium during development[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995, 92(8): 3566-3570.

[2] Liu J, Yu H G, Yu J P, *et al*. Overexpression of cyclooxygenase-2 in gastric cancer correlates with the high abundance of vascular endothelial growth factor-C and lymphatic metastasis[J]. Med Oncol, 2005, 22(4): 389-397.

[3] 许良中. 乳腺病理学[M]. 上海: 上海医科大学出版社, 1999:

359.
[4] Kahn H J, Marks A. A new monoclonal antibody, D2-40, for detection of lymphatic invasion in primary tumors[J]. Lab Invest, 2002, 82(9): 1255-1257.
[5] Niakosari F, Kahn H J, Marks A, *et al*. Detection of lymphatic invasion in primary melanoma with monoclonal antibody D2-40: a new selective immunohistochemical marker of lymphatic endothelium[J]. Arch Dermatol, 2005, 141(4): 440-444.
[6] Zu X, Tang Z, Li Y, *et al*. Vascular endothelial growth factor-C expression in bladder transitional cell cancer and its relationship to lymph node metastasis[J]. BJU Int, 2006, 98(5): 1090-1093.
[7] Matsumoto M, Natsugoe S, Okumura H, *et al*. Overexpression of vascular endothelial growth factor-C correlates with lymph node micrometastasis in submucosal esophageal cancer[J]. J Gastrointest Surg, 2006, 10(7): 1016-1022.
[8] Cross M J, Dixelius J, Matsumoto T, *et al*. VEGF-receptor signal transduction[J]. Trends Biochem Sci, 2003, 28(9): 488-494.
[9] Nozoe T, Ezaki T, Kabashima A, *et al*. Significance of immunohistochemical expression of cyclooxygenase-2 in squamous cell carcinoma of the esophagus[J]. Am J Surg, 2005, 189(1): 110-115.
[10] Su J L, Shih J Y, Yen M L, *et al*. Cyclooxygenase-2 induces EP1- and HER-2/Neu-dependent vascular endothelial growth factor-C up-regulation: a novel mechanism of lymphangiogenesis in lung adenocarcinoma[J]. Cancer Res, 2004, 64(2): 554-564.
[11] Kyzas P A, Stefanou D, Agnantis N J. COX-2 expression correlates with VEGF-C and lymph node metastases in patients with head and neck squamous cell carcinoma[J]. Mod Pathol, 2005, 18(1): 153-160.

（编辑 薛国文）

文章编号:1000-5404(2007)20-1967-01

个案与短篇

乳腺癌病友联谊会对提高乳腺癌患者生活质量的作用

陈显春,杨 英,宋 爽,王泽惠,颜贤惠,王寅欢 （第三军医大学西南医院乳腺疾病中心,重庆 400038）

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤,占恶性肿瘤的7%~10%,居女性恶性肿瘤发病率的首位,成为严重威胁女性健康和生命的重大疾病[1]。乳腺癌患者有可能面临乳房的缺如而影响其形体美以及家庭生活、社会活动。因此,患乳腺癌的女性不仅要面对死亡的威胁,还要承受身体缺陷的心理摧残,使患者处于极度痛苦中。乳腺癌患者及家庭存在较多心理问题,严重影响患者术后康复,使得生命质量下降。举办乳腺癌病友联谊会对促进乳腺癌患者身心健康,提高生活质量发挥着重要作用。

1 资料与方法

我科自2003年成立乳腺疾病中心以来,每年举办乳腺癌病友联谊会一次,参加人数越来越多,会议内容也越来越丰富,效果越来越明显,得到了患者、家属及同行的赞誉。以2005年10月为例,我科举办了第三届乳腺癌病友联谊会,到会患者113例,全部为女性,年龄31~71(50±8)岁。术后时间2~168(29±3)个月。

会议主题为"您的健康我们牵挂"。

会议内容:发放与疾病相关知识手册、问题咨询、专题讲座、才艺表演、术后5年以上患者现身说法等。

会议形式:主持人、患者及家属、医护人员三方互动。

发放调查表:涉及出院后性生活状况、影响康复因素、最担忧的事以及从联谊会中得到的收获共四方面内容。发放调查表113份,回收有效问卷104份,占92%。

作者简介:陈显春(1964-),女,四川省邛崃县人,副主任护师,主要从事乳腺疾病临床护理方面的研究。电话:(023)68754163

收稿日期:2007-03-13;修回日期:2007-03-23

2 结果

2.1 出院后病人性生活状况

本组患者出院后有性生活改变者51例,占59.30%,无性生活改变者35例,占40.70%;其中因本人原因改变者38例,占47.50%,丈夫原因改变者42例,占52.50%。

2.2 出院后患者最担心的事

本组患者担心复发者34例,占回收问卷患者的32.70%。术后2年内是乳腺癌复发的高峰时段,局部复发率为10%~30%。

2.3 出院后影响患者继续康复的相关因素(表1)

表1 影响继续康复因素($n=104$)

原因	例数	百分率(%)
经济	45	43.27
心态	39	37.50
工作	23	22.12
情感	20	19.23

2.4 患者从联谊会中受益情况(表2)

表2 患者从联谊会中受益情况($n=104$)

内容	例数	百分率(%)
信心	75	72.12
知识	75	72.12
信息	63	60.58
娱乐	50	48.08

（下转1971页）