维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2006)06-0848-03

VEGF-C 在人乳腺癌中的表达及意义

高砚春,吴诚义

(重庆医科大学附属第一医院普外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨血管内皮生长因子-C(VEGF-C)在人乳腺癌组织中的表达及其临床意义。方法:采用免疫组化方法(SP法)检测乳腺纤维腺瘤 12 例;乳腺囊性增生 35 例(其中Ⅰ级增生 7 例,Ⅱ级增生 16 例,Ⅲ级增生 12 例);乳腺癌 45 例中 VEGF-C 的表达情况。结果:VEGF-C 在乳腺纤维腺瘤中无表达,在乳腺囊性增生中的表达率为 20.0%(7/35),其中Ⅰ级为 0,Ⅱ级 12.5%(2/16),Ⅲ级 41.7%(5/12)。在乳腺癌中的表达率为 71.1%(32/45),与乳腺增生比较差异显著($P<0.05$)。VEGF-C 在Ⅲ+Ⅳ期乳腺癌中的表达率明显高于Ⅰ+Ⅱ期乳腺癌,其相应淋巴结的转移率也愈高($P<0.05$),但与患者年龄、肿瘤大小、雌激素、孕激素受体状况等无明显相关性。结论:VEGF-C 在乳腺癌发生恶变的过程中起着重要作用,其高表达预示患者易于发生淋巴结转移。

【关键词】乳腺肿瘤;VEGF-C;淋巴转移

【中国图书分类法分类号】R737.9 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-04-19

Expression of VEGF-C in human breast cancer and its implication

GAO Yanchun, et al

(*Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the relationship between the expression of vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) proteins and biological behavior of breast cancer. *Methods*: Immunohistochemical staining was used to detect the expression of VEGF-C proteins in 12 cases of mammary fibroma, 35 cases of mammary cystic hyperplasia, 45 cases of breast cancer. *Results*: VEGF-C protein was absent in mammary fibroma, the expression rate of VEGF-C protein in mammary cystic hyperplasia was 20.0% (7/35), The expression rate of VEGF-C in breast cancer was 71.1% (32/45), and it was significantly different compared with mammary cystic hyperplasia ($P<0.05$). The expression of VEGF-C in Ⅲ and Ⅳ phase of breast cancer were significantly higher than that in Ⅰ and Ⅱ phase, so was the axillary lymph node metastasis rate ($P<0.05$). However, it was not correlated with the age of patient, tumor size, the expression of ER and PR. *Conclusions*: VEGF-C may take part in occurrence and progression of breast cancer. Over-expression of VEGF-C is related to high possibility of lymphatic metastasis.

【Key words】Breast cancer; VEGF-C; Lymphatic metastasis

血管内皮生长因子 C(VEGF-C)是近年来发现的特异性促淋巴管生成因子,可通过与淋巴管内皮特异性受体 VEGFR-3 结合,促进微淋巴管生成及已存在的淋巴管功能成熟,导致肿瘤淋巴转移。本实验采用免疫组织化学方法检测 VEGF-C 在人不同乳腺组织中的表达情况,探讨其在乳腺癌发生发展中的作用及与乳腺癌淋巴转移的关系。

1 材料与方法

1.1 标本来源

收集川北医学院附属医院普外科 2003 年 10 月~2005 年 3 月手术切除病人标本石蜡块共 92 例,其中乳腺纤维腺瘤 12 例,乳腺囊性增生 35 例,乳腺癌 45 例,均经病理组织检查证实。其中 35 例乳腺囊性增生中,患者年龄 21~49 岁,平均 33.7 岁。根据 Page[1]的分级标准,按乳腺导管或腺泡上皮细胞增生程度将乳腺囊性增生分为三级:Ⅰ级 7 例,为一般性增生,导管或腺泡上皮细胞增生多于 2 层而少于 4 层,分化良好;Ⅱ级 16 例,为中度不典型增生,上皮细胞增生超过 4 层,突向管腔内,相互桥接或充满管腔,但极性存在,伴有轻度异型性;Ⅲ级 12 例,为重度不典型增生,导管扩张,细胞簇集成乳头状或完全充满管腔,排列紧密,有明显异型性。45 例乳腺癌,均为女性患者,术前未接受放疗或化疗,年龄 26~71 岁,平均 46.6 岁。肿瘤大小 T_1 4 例,T_2 17 例,T_3 21 例,T_4 3 例。病理类型:浸润性导管癌 35 例,单纯癌 4 例,粘液癌 3 例,髓样癌 2 例,浸润性小叶癌 1 例。有淋巴结转移 28 例,

作者介绍:高砚春(1976-),女,硕士研究生
主要研究方向:乳腺癌基础与临床。

维普资讯 http://www.cqvip.com

无淋巴结转移 17 例。

1.2 主要试剂及仪器

鼠抗人 VEGF-C 多克隆抗体购于北京中山生物技术有限公司，工作浓度 1:40；SP 试剂盒，DAB 显色剂均购于福建迈新公司。

1.3 方法

所有乳腺组织石蜡块均制成 4 μm 厚组织切片，分别进行 HE 染色和免疫组化研究。免疫组化染色采用 SP 法(链霉菌抗生物素蛋白－过氧化物酶亲和免疫组化法，具体步骤按试剂盒说明进行)，以 PBS 代替一抗作为阴性对照。阳性对照为迈新公司已证实的有 VEGF-C 阳性表达的结肠癌组织切片。

1.4 结果判断

VEGF-C 免疫组化以胞质内出现特异性染色深浅参考文献[9]评分：0 分无色，1 分为淡黄色，2 分为棕色，3 分为棕褐色；再将染色细胞所占百分比打分：无阳性细胞 =0 分，1%~10%=1 分，11%~50%=2 分，≥51%=3 分。两项乘积即为该例免疫组化得分。乘积 3 分定为阳性，其中 3~4 分(+)，5~9 分(++)。

1.5 统计学分析

结果采用 χ^2 检验，统计学处理采用 SPSS10.0 统计分析软件。以 $P<0.05$ 为具有统计学差异。

2 结 果

2.1 VEGF-C 在不同乳腺组织中的表达

VEGF-C 在乳腺纤维腺瘤中未见表达；乳腺囊性增生中阳性表达率为 20.0%(7/35)，其中Ⅰ级增生未见表达，不典型增生中Ⅱ级阳性率为 12.5%(2/16)，Ⅲ级阳性率为 41.7%(5/12)；而在乳腺癌中呈高表达。45 例乳腺癌组织中，32 例癌细胞 VEGF-C 阳性，阳性率 71.1%(32/45)，见表 1。VEGF-C 阳性颗粒主要位于乳腺癌及不典型增生细胞胞浆和胞膜上，部分间质中淋巴管内皮细胞也有表达。

表 1 不同乳腺组织中 VEGF-C 的表达

乳腺组织类型	n	VEGF-C蛋白 +/++	VEGF-C蛋白 −	P
1乳腺纤维腺瘤	12	0	12	
2乳腺囊性增生Ⅰ级	7	0	7	
Ⅱ级	16	2	14	
Ⅲ级	12	5	7	
3乳腺癌	45	32	13	<0.05*

注：* 与 1,2 比较

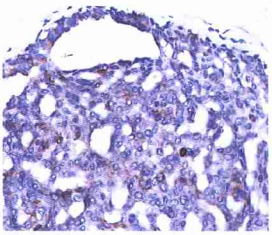


图 1 VEGF-C 在乳腺Ⅲ级不典型增生中的表达(SP×400)

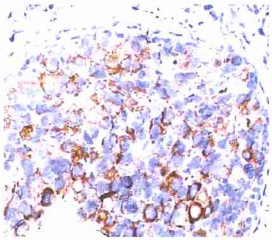


图 2 VEGF-C 在乳腺癌中的表达(SP×400)

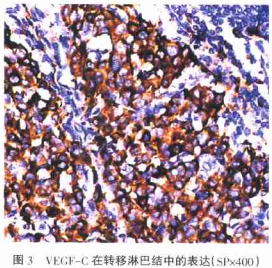


图 3 VEGF-C 在转移淋巴结中的表达(SP×400)

2.2 VEGF-C 表达与临床病理特征的关系

本实验中乳腺癌患者年龄、肿瘤大小、雌激素、孕激素受体状况与 VEGF-C 表达差异无统计学意义。肿瘤临床(TNM)分期与 VEGF-C 表达水平关系

维普资讯 http://www.cqvip.com

密切。临床分期越晚,VEGF-C 阳性率越高。Ⅰ+Ⅱ组 VEGF-C (-)8 例,VEGF-C (+)7 例; Ⅲ+Ⅳ组 VEGF-C(-)5 例,VEGF-C(+)25 例。VEGF-C 表达率Ⅲ+Ⅳ期乳腺癌明显高于Ⅰ+Ⅱ期乳腺癌 (83.3%:46.7%,$P<0.05$),见表 2。

2.3 VEGF-C 表达与乳腺癌腋窝淋巴结转移的关系

VEGF-C 表达情况与乳腺癌腋窝淋巴结状况关系密切。腋窝淋巴结阴性组 VEGF-C (-)8 例,VEGF-C (+)6 例,VEGF-C (++)11 例, 阳性率 52.9%; 腋窝淋巴结阳性组 VEGF-C (-)5 例,VEGF-C (+)9 例,VEGF-C (++)14 例, 阳性率 82.2%。VEGF-C 表达率腋窝淋巴结阳性组明显高于腋窝淋巴结阴性组,结果有统计学意义,见表 3。

表 2 VEGF-C 表达与乳腺癌患者临床病理特征的关系

临床指标		n	VEGF-C蛋白 + /++	-	P
Age(Year)	≤50	24	17	7	>0.05
	>50	21	15	6	
ER	+	16	7	9	>0.05
	-	29	25	4	
PR	+	19	11	8	>0.05
	-	26	21	5	
Tumor size	T_1+T_2	21	14	7	>0.05
	T_3+T_4	24	18	6	
Clinic phase	Ⅰ+Ⅱ	15	7	8	<0.05
	Ⅲ+Ⅳ	30	25	5	

表 3 VEGF-C 表达与乳腺癌腋窝淋巴结转移的关系

腋窝淋巴结	n	VEGF-C蛋白 -	+	++	P
-	17	8	6	3	
+	28	5	9	14	<0.05

3 讨 论

VEGF-C 属血管内皮生长因子/血小板源生长因子家族,在人类基因定位于染色体 4q34,分子量 21kD。VEGF-C 是 VEGFR-1、VEGFR-3 的配体。VEGF-C 与 VEGFR-1 结合,可增加血管的通透性,刺激内皮细胞的增殖和迁移; 但 VEGF-C 与 VEGFR-3 具有更高的亲和力,VEGFR-3 为成人组织中淋巴管内皮的特异性受体。VEGF-C 可通过 VEGFR-3 调节胚胎中淋巴管的发育, 诱导淋巴管内皮细胞增殖, 促进淋巴管的延伸和新淋巴窦的发育,在胚胎淋巴系统发育中起重要作用[3]。Jeltsch 等[4]首次报道 VEGF-C 转基因小鼠中,VEGF-C 过表达,能特异性的诱导淋巴内皮的增殖与淋巴管的新生。VEGF-C 促进肿瘤淋巴生成的机制可能是 VEGF-C 由癌组织产生后,通过自分泌或旁分泌的形式作用于 VEGFR-3,VEGF-C 与 VEGFR-3 结合后, 通过 MEK/ERK 和 PI3- 激酶 /Akt 途径促进淋巴管上皮增殖,引起淋巴管的管腔增大和数目增多,并可能改变原有和新生淋巴管内皮的通透性,改变肿瘤细胞和胞外基质的黏附性,从而有利于肿瘤细胞相邻淋巴管内的转移。

乳腺不典型增生在临床上常被视为乳腺癌的癌前病变,其发生恶变的机率较正常人高 4~10 倍。我们的实验结果显示:良性乳腺肿瘤细胞及一般乳腺增生细胞不能分泌促淋巴管生成因子 VEGF-C,无生成微淋巴管的作用; 但在Ⅱ级不典型增生中,VEGF-C 的阳性表达率为 12.5%(2/16), Ⅲ级重度不典型增生中的阳性表达率为 41.7%(5/12)。可见 VEGF-C 在乳腺增生中的阳性表达率随增生程度或分级水平增加呈逐渐提高的势态。VEGF-C 在乳腺癌组织中高表达,阳性率显著高于Ⅱ、Ⅲ级乳腺囊性增生,其差异有统计学意义,提示 VEGF-C 可能在肿瘤发生恶变的过程中起着临床早期预示的作用。

在食管癌、非小细胞肺癌、喉癌、宫颈癌等[5,6]多种实体肿瘤中证实,VEGF-C 表达情况与肿瘤淋巴道转移有关。肿瘤细胞可通过分泌大量 VEGF-C,以旁分泌的形式作用于相应受体 VEGFR-3, 诱导肿瘤组织中原始间叶细胞、原有的淋巴管或静脉内皮细胞分化为淋巴管内皮细胞并形成淋巴管。引流肿瘤间质内过多水分和代谢物质,缓解肿瘤内部高压状态,从而有利于肿瘤继续生长及远处转移[7]。本实验观察到, VEGF-C 在乳腺癌肿瘤细胞胞浆和胞膜中普遍表达,阳性率为 71.1%。其表达与临床分期早晚有显著性差异:VEGF-C 在Ⅲ+Ⅳ期乳腺癌中的表达明显高于Ⅰ+Ⅱ期乳腺癌 (83.3%:46.7%,$P<0.05$),在腋窝淋巴结阳性组明显高于腋窝淋巴结阴性组(82.2%:52.9%,$P<0.05$),且随表达强度的增加,发生腋窝淋巴结转移的机率亦增大($P<0.05$)。临床分期愈晚,组织中 VEGF-C 表达率愈高;VEGF-C 表达愈高,发生腋窝淋巴结转移的机率也愈高。符

(下转第 867 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

成骨细胞的分化。

牙周病是口腔的常见病与多发病，主要的病理改变是牙周袋形成和牙槽骨吸收，导致牙松动甚至脱落。牙周炎所致的牙槽骨吸收是非可逆的，牙周附着也难以完全恢复至生理状态，因而目前临床上仅能控制、但不能根治牙周炎。缺乏疗效确切的阻断牙槽骨吸收、促进牙槽骨再生的药物，是根治牙周炎困难的主要原因[3]。筛选抑制骨吸收、促进骨再生的有效中药，是发现治疗牙周炎新药的途径之一。本实验在细胞水平观察了丹参对成骨细胞的直接作用，结果表明丹参在促进成骨细胞的增殖和分化方面有比较明显的作用，为中药丹参进一步应用于牙周病的治疗奠定了基础。

参 考 文 献

[1] 全国牙病防治指导组. 第二次全国口腔健康流行病学抽样调查[M]. 北京:人民卫生出版社，1999.

[2] Mombelli A，Gmurn R，Lang N P，et al.Actinobacillus actinomvcetem-comitans in chinese adults. serotype distrihution and analysis of the leukotoxin gene promoter locus[J]. J Clin Periordontol，1999；26(8)：505.

[3] Ramamurthv N S，Rifkin B R，Greenwald R A，et al.Inhibition of matrix metalloproteinase-mediated periodontal bone loss in rats:a comparison of 6 chemicallv modified tetracvclines[J]. J Periodontol，2002；73(7)：726.

[4] 王俊国，曹 斌.丹参促进骨折愈合的研究进展[J]. 中国骨伤，2003；16(10)：637-638.

[5] 史炜镔，符诗聪，杜 宁，等.丹参有效部位对骨折愈合过程中胶原基因表达的影响[J].中国中西医结合杂志，2000；20(4)：269-271.

[6] 林润台，王 忠、刘立波，等.丹参促进下颌骨骨折愈合的超微结构研究[J].中华口腔医学杂志，1992；27(4)：215-216.

[7] Aronow M A，Gerstenfeld L C，Owen T A，et al. Factors that promote progressive development of the osteoblast phenotype in cultured fetal rat calvaria cell[J].J Cell Physiol，1990；143(2)：213-221.

[8] 曾 敬，徐栋梁.成骨细胞移植促进骨质疏松性骨折愈合过程中相关因子的动态表达[J].中国临床康复，2003；7(3)：448-449,463.

[9] Aubin JE.Advances in the osteoblast linage [J].Biochem Cell Boil，1998；76(6)：899-910.

(上接第 850 页)

合肿瘤越到晚期，越容易发生淋巴转移及远处转移的特性。

以上结果证实，VEGF-C 在乳腺癌的生长及转移过程中发挥重要作用，乳腺癌组织 VEGF-C 高表达可促进肿瘤淋巴管转移，影响患者预后。VEGF-C 不但可作为预示乳腺肿瘤发生恶变的早期肿瘤标志物，还可作为判断患者预后的生物学指标。

(通讯作者：吴诚义，教授，博士生导师 023-89011192)

参 考 文 献

[1] Page DL.Cancer risk assessment in benign breast biopsies [J].Hum Pathol，1986；17(9)：871.

[2] 许良中.乳腺病理学[M].第 1 版，上海：上海医科大学出版社，1999.395.

[3] Joukov V，Pajusola K，Kaipainen A，et a1. A novel vascular endothelial growth factor，VEGF-C，is a ligand for the Flt4 and KDR receptor tyrosine kinases[J].EMBO J，1996；15(2)：290-298.

[4] Jeltsch M，Kaipainen A，Joukov V，et al.Hyperplasia of lymphatic vessels in VEGF-C transgenic mice[J].Science，1997；276(5317)：1423-1425.

[5] Yonemura Y，Fushida S，Bando E，et a1.Lmphangiogenesis and the vascular endothelial growth factor receptor-3 in gastric cancer[J].Eur J cancer，2001；37(7)：918-923.

[6] Arinaga M，Noguchi F，Takeno S，et a1.Clinical significance of vascular endothelial growth factor C and vascular endothelial growth factor receptor 3 in patients with nonsmall cell lung carcinoma[J].Cancer，2003；97(2)：457- 464.

[7] Akagi K，Ikeda Y，Miyazaki M，et al.Vascular endothelial growth fac tor C(VEGF-C)expression in hunman colorectal cancer tissues[J].Br J Cancer，2000；83(7)：887-889.