

· 实验研究 ·

## 血管内皮标记物在乳腺癌演变中的表达及意义

张江宇 王颀 朱彩霞 李文萍 张佳立 陈中扬 陈文静

**【摘要】 目的** 探讨乳腺癌演变中新生血管表达状况,旨在选择乳腺癌发生发展中新生血管的特异性标记物。**方法** 采用免疫组化(SP)法,分别以CD105、FⅧ、CD31、CD34为标记,对100例乳腺不同病变组织,包括乳腺导管上皮不典型增生(ADH)、导管内癌(DCIS)、微浸润导管癌(MDC)各20例,40例非特殊类型浸润型导管癌(IDC,NOS),计算微血管密度(MVD)。**结果** ADH、DCIS、MDC和IDC(NOS)中,CD105标记的MVD分别为 $8.25 \pm 5.78$ 、 $10.05 \pm 4.23$ 、 $25.35 \pm 7.62$ 和 $37.33 \pm 5.86$ ,FⅧ标记的MVD分别为 $10.60 \pm 8.99$ 、 $16.60 \pm 3.47$ 、 $16.90 \pm 5.62$ 和 $17.90 \pm 5.62$ ,CD31标记的MVD分别为 $16.80 \pm 3.90$ 、 $19.40 \pm 4.58$ 、 $20.74 \pm 6.67$ 和 $22.74 \pm 6.67$ ,CD34标记的MVD分别为 $14.40 \pm 12.82$ 、 $25.20 \pm 5.39$ 、 $26.32 \pm 4.89$ 和 $40.32 \pm 4.89$ ,仅CD105标记的MVD各组间两两比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** CD105标记MVD用来评估乳腺癌发生发展中的新生血管表达,可能更具价值,这将为今后抗血管生成的治疗提供理论依据。

**【关键词】** 乳腺癌; CD105; 微血管密度; FⅧ; CD31; CD34

**【中图法分类号】** R737.9 **【文献标识码】** A

### Expression of CD105, FⅧ, CD31 and CD34 in evolution of breast carcinoma

ZHANG Jiang-yu, WANG Qi, ZHU Cai-xia, LI Wen-ping, ZHANG Jia-li, CHEN Zhong-yang, CHEN Wen-jing. Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou Medical College, Guangzhou 510010, China

**【Abstract】 Objective** To detect the changes of new vessels in the evolution of breast carcinoma so as to select a better new vessel endothelial cells marker.

**Methods** By using immunohistochemistry the breast tissues of 100 patients including

---

基金项目: 广东省医学科研基金课题(A2005093)

作者单位: 510010 广州,广东省妇幼保健院暨广州医学院附属广东省妇儿医院病理科(张江宇、张佳立、陈文静),乳腺中心(王颀、朱彩霞、李文萍、陈中扬)

20 cases of atypical ductal hyperplasia (ADH), 20 cases of ductal carcinoma in situ (DCIS), 20 cases of microductal carcinoma (MDC) and 40 cases of infiltrating ductal carcinoma (IDC, NOS) were stained with anti-CD105, FⅧ, CD31 and CD34 antibodies, then the microvessel density (MVD) was calculated. **Results** The MVD of CD105 was  $8.25 \pm 5.78$ ,  $10.05 \pm 4.23$ ,  $25.35 \pm 7.62$  and  $37.33 \pm 5.86$  in ADH, DCIS, MDC and IDC (NOS), respectively ( $P < 0.05$ ), while that of FⅧ was  $10.60 \pm 8.99$ ,  $16.60 \pm 3.47$ ,  $16.90 \pm 5.62$  and  $17.90 \pm 5.62$ , that of CD31 was  $6.80 \pm 3.90$ ,  $19.40 \pm 4.58$ ,  $20.74 \pm 6.67$  and  $22.74 \pm 6.67$ , and that of CD34 was  $14.40 \pm 12.82$ ,  $25.20 \pm 5.39$ ,  $26.32 \pm 4.89$  and  $40.32 \pm 4.89$ . **Conclusions** To assess the expression of new vessels in the progression of breast carcinoma, MVD detected by CD105 maybe more valuable, it will provide theoretical evidence for the clinical application of anti-vessel inhibitor.

**【Key words】** Breast neoplasms; CD105; MVD; FⅧ; Antigens, CD31; Antigens, CD34

乳腺癌发病率占女性恶性肿瘤第一位,并逐年升高<sup>[1]</sup>。乳腺癌发展过程中,如何标记新生血管,继而阻断新生血管生成,已成为乳腺癌治疗的研究热点。为此,本文选用四种血管内皮标记物 CD105、FⅧ、CD31 和 CD34 标记这一过程中血管状况,计算微血管密度(microvessel Density, MVD),旨在选择一种能判断乳腺癌演变过程中新生血管的标记,为日后乳腺癌治疗提供一定实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 标本来源及临床资料

本研究收集了自 2000 年 9 月至 2005 年 11 月我院乳腺中心手术切除标本,所有病例均为女性原发病变,年龄 32 ~ 70 岁(平均 52 岁),术前均未经放疗或化疗。病例包括 40 例非特殊类型浸润性导管癌、导管上皮不典型增生、导管内癌、浸润性癌各 20 例。所有标本均经病理诊断证实。取材部分的组织经 10% 福尔马林固定,石蜡包埋,轮转式切片机上做 4  $\mu\text{m}$  厚切片,经 HE 染色。由 2 名主治医师以上病理医师作出病理诊断。诊断标准参照《世界卫生组织肿瘤分册·乳腺和女性生殖器官肿瘤的病理学与遗传学分类》<sup>[2]</sup>进行。

## 1.2 试剂来源与检测方法

CD105 免疫组化采用 Elivision 免疫组化试剂盒。CD31、CD34 及 FⅧ因子免疫组化采用 UltraSensitive 免疫组化试剂盒。将制好的组织切片,经二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱水后采用高温及微波抗原修复,后序步骤按试剂盒说明书进行操作。以组织内成熟血管为自身阳性对照,PBS 代替一抗作为阴性对照。CD105 抗体(克隆号 4G11)为即用型鼠抗人单克隆抗体。FⅧ为兔鼠抗人多克隆抗体,CD31(克隆号 1A10)及 CD34(克隆号 QBEnd/10)均为鼠抗人单克隆抗体,一抗和免疫组化试剂盒均购于北京中杉生物技术公司。

## 1.3 结果分析

MVD 计数,按照 Weidner 等<sup>[3]</sup>报道方法并加以改进:先在低倍视野下( $\times 100$ )找到肿瘤组织内微血管密度最高的区域即“热点”3 处,然后在高倍视野下( $\times 200$ )计数微血管的数目。分辨不清或染色模糊的细胞不计入计数结果。由 2 名病理医生分别对同一切片计数,取两者计数中较高的数据作为该切片的 MVD。结果以  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 1.4 统计学分析

应用 SPSS 11.0 医用统计软件进行处理。统计学处理 CD105、CD31、CD34 及 FⅧ标记的 MVD 在各组间的比较用  $t$  检验。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

# 2 结果

## 2.1 乳腺病变组织中 4 种血管内皮标记物染色结果比较

CD105、FⅧ、CD31 和 CD34 主要表达在内皮细胞的细胞膜和细胞质,着色为均匀的黄色。CD105 标记的区域大部分为单个的细胞或簇状的细胞团,未见明显血管管腔,可能是原始的血管,部分区域可见明显的管腔血管内皮,但管腔较小,薄壁,未见血管平滑肌组织(图 1)。FⅧ和 CD31 标记的区域大部分为有明显血管管腔血管内皮,血管管腔较大,壁厚,血管平滑肌组织明显可见。很少标记区域为薄壁小血管或单个细胞。CD34 标记的区域大部分为具有明显管腔的血管内皮,血管管腔较大,部分为单个的细胞或簇状大细胞团(图 2)。

## 2.2 4 组乳腺病变中各种血管标记因子标记 MVD 之间的关系

在 ADH、DCIS、MDC 和 IDC(NOS)4 组病变中,CD105、FⅧ、CD31 及 CD34 标记的 MVD 数目详见表 1。

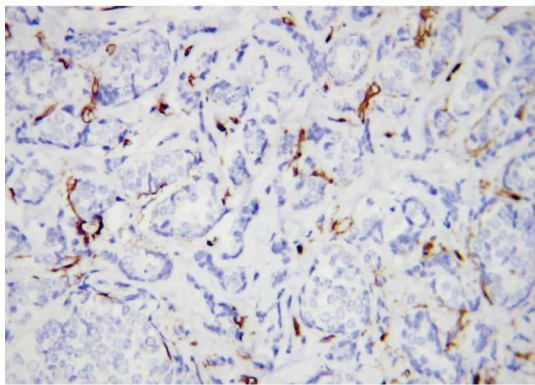


图 1 CD105 标记的区域大部分为单个的细胞或簇状的细胞团,未见明显血管管腔,部分区域为可见明显的管腔血管内皮,但管腔较小,薄壁,未见血管平滑肌组织 (SP 法  $\times 200$ )

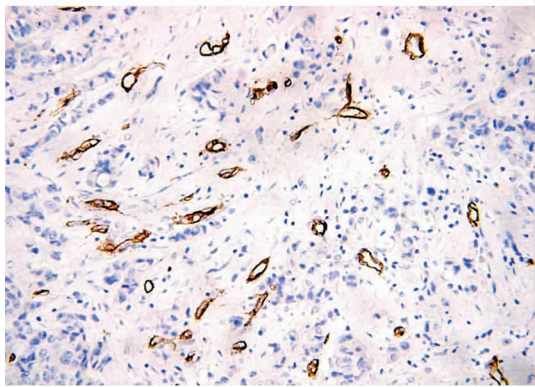


图 2 CD34 标记的区域大部分为具有明显管腔的血管内皮,血管管腔较大,部分为单个的细胞或簇状大细胞团 (SP 法  $\times 200$ )

表 1 4 组乳腺病变中各种血管标记因子标记 MVD 之间的关系

分组	n	MVD			
		CD105 <sup>a</sup>	FⅧ <sup>b</sup>	CD31 <sup>b</sup>	CD34 <sup>c</sup>
ADH	20	8.25 ± 5.78	10.60 ± 8.99	16.80 ± 3.90	14.40 ± 12.82
DCIS	20	10.05 ± 4.23	16.60 ± 3.47	19.40 ± 4.58	25.20 ± 5.39
MDC	20	25.35 ± 7.62	16.90 ± 5.62	20.74 ± 6.67	26.32 ± 4.89
IDC(NOS)	40	37.33 ± 5.86	17.90 ± 5.62	22.74 ± 6.67	40.32 ± 4.89

a: 各组间两两比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); b: 各组间两两比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); c: ADH 和 DCIS、MDC 和 IDC(NOS) 两两比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )

### 3 讨论

目前认为, ADH、DCIS、MDC 和 IDC(NOS) 是乳腺癌发展过程中关键环节。肿瘤生长依赖于血管生长的观点已得到大量研究结果的证实。实体肿瘤生长到一定程度其进一步的发展必须依赖于血管生成<sup>[4]</sup>。这些新生的血管网络系统为

肿瘤的生长提供充分的养分,保证了肿瘤细胞的快速增殖能力。

CD105 是血管内皮标记物的新成员,自然也成为了研究的热点<sup>[5]</sup>。CD105 是调节 TGF- $\beta$  受体复合物的成分之一。TGF- $\beta$  是调节细胞增殖和分化的多功能细胞因子,通过促进血管内皮生长因子(VEGF)的表达发挥促血管生成作用<sup>[6]</sup>。

本研究应用 4 种标记物检测乳腺癌发生发展中血管生成的状况,发现在乳腺癌发生发展过程中,4 种内皮标记因子标记 ADH、DCIS、MDC 和 IDC(NOS)4 个阶段,仅 CD105 标记的 MVD 在 4 个阶段均显示显著性差异,Pang 等<sup>[7]</sup>使用 RT-PCR 方法对 40 例乳腺癌患者进行肿瘤中心区域、边缘区域、正常区域乳腺组织 CD105mRNA 检测,也发现三者间有统计学上的差异。而 FVIII、CD31 标记的 MVD 在这 4 个阶段均未见显著性差异,CD34 标记的 MVD 虽然在 ADH 和 DCIS、MDC 和 IDC(NOS)间差异有统计学意义,但 DCIS 和 MDC 间差异无统计学意义。上述结果提示,在乳腺癌发生发展中,CD105 标记的 MVD 在病变发展不同阶段中,随着病变的发生发展,不断增加,特别是在 MDC 阶段,MVD 较 DCIS 有显著性增加,提示癌细胞一旦突破基底膜发生浸润,肿瘤周围新生血管就会增加明显,提供营养,以促进肿瘤向周围浸润。

同时,本研究发现,在 4 种血管内皮标记物中,CD105 与传统血管内皮细胞标记物 FVIII、CD31 和 CD34 比较,在血管内皮细胞的表达有所不同,CD105 在新生血管表达强,而在成熟血管的内皮细胞表达弱。在乳腺癌发生发展的不同病变中,CD105 表达于肿瘤实质中新生血管内皮细胞,多为单个细胞,可能为原始血管细胞,也可见窦隙状的管腔,管壁平滑肌较薄,部分无平滑肌成份,提示 CD105 标记血管为新生血管。FVIII、CD31 表达于具有明显管腔、管壁见较多平滑肌组织的厚壁血管,提示 FVIII、CD31 标记的血管为成熟血管。CD34 标记大部分为厚壁血管,少部分为薄壁血管。提示 CD34 为标记成熟血管为主的血管标记因子。这也进一步说明,在乳腺癌发生发展过程中,新生血管增加,标记新生血管的 CD105 所得到的 MVD 较标记成熟血管的 FVIII 和 CD31 数目多,而标记成熟血管为主的血管标记因子 CD34 在 DCIS 发展到 MDC 阶段 MVD 未见显著性差异。提示标记新生血管的 CD105 用来评估乳腺癌发生发展中的新生血管,可能更具价值。

“肿瘤生长依赖新生血管”这一假说,正为越来越多的试验所支持。阻止血管生成或选择性破坏肿瘤血管,是一种理想的肿瘤治疗和预防方法。我们通过研究发现,CD105 检测方法更能说明乳腺癌发展中每个阶段血管数目的变化,是研究乳腺癌演变中新生血管变化的较为准确方法。这将为抗血管生成治疗乳腺癌提供相关理论依据。

## 参考文献

- [1] Bieche I, tozlu S, Giralt I, *et al* . Identification of a three-gene expression signature of poor-prognosis breast carcinoma. Mol Cancer,2004,3;37.
- [2] Tavassoli F A, Devilee P. WHO classification of to tumours. Pathology & genetics, tumours of the breast and female genital organs. Lyon: IARC Press,2003:63 – 68.
- [3] Weidner N, Folkman J, Pozza F, *et al* . Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma. J Natl Cancer Inst,1992,84:1875 – 1887.
- [4] Folkman J. Angiogenesis. Annu Rev Med,2006,57:1 – 18.
- [5] Seon B K. Expression of endoglin ( CD105 ) in tumor blood vessels. Int J Cancer,2002,99:310 – 311.
- [6] Fonsatti E, Sigalotti L, Arslan P, *et al* . Emerging role of endoglin ( CD105 ) as a marker of angiogenesis with clinical potential in human malignancies. Curr Cancer Drug Targets,2003,3:427 – 432.
- [7] 庞达,刘锋,薛英威,等. 乳腺癌组织中 CD105 mRNA 的表达及其临床意义. 中华肿瘤杂志,2005,27:38 – 40.

( 收稿日期:2007-01-19 )

( 本文编辑:谢竞 )