

• 临床研究 •

## 三阴性乳腺癌中血管内皮生长因子 C 的表达及其意义

韩晓蓉 郜红艺 吴坤河 张江宇 何秋苑

**【摘要】 目的** 研究三阴性乳腺癌中血管内皮生长因子 C(VEGF-C)的表达及其意义。**方法** 采用 supervision 法对三阴性乳腺癌标本进行 VEGF-C 的免疫组织化学染色,观察三阴性乳腺癌中 VEGF-C 表达与临床病理特点之间的关系。计数资料间的比较采用秩和检验。**结果** 三阴性乳腺癌中 VEGF-C 的表达与患者的年龄、月经状态无关( $P>0.05$ ),而与肿瘤大小、分期、淋巴结状态及组织学分级有关( $P<0.05$ )。肿瘤大、分期晚的患者,VEGF-C 表达较肿瘤小、分期早的患者强,组织学高分级者 VEGF-C 表达较低分级者强,淋巴结阳性患者 VEGF-C 表达较阴性患者强。**结论** 三阴性乳腺癌中 VEGF-C 的表达可能在促进肿瘤生长、浸润及转移中起作用。

**【关键词】** 三阴性乳腺癌;血管内皮生长因子;转移

**【中图法分类号】** R737.9

**【文献标识码】** A

**Vascular endothelial growth factor-C expression in triple-negative breast cancer and its significance**

HAN Xiao-rong, GAO Hong-yi, WU Kun-he, ZHANG Jiang-yu, HE Qiu-yuan. Breast Center, Guangdong Maternal and Children Hospital, 510010 Guangzhou, China

**【Abstract】 Objective** To detect the expression of vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) in triple-negative breast cancer and its significance. **Methods** The expression of VEGF-C in triple negative breast cancer was detected using immunohistochemistry. The correlation between the VEGF-C expression and the clinical pathological characteristics of triple negative breast cancer was observed. Rank sum test was used for comparison between numeration data. **Results** The expression of VEGF-C was correlated with tumor size, stage, lymph node status and histological grade ( $P<0.05$ ), but not correlated with the patients' age and the state of menopause( $P>0.05$ ). The expression of VEGF-C in patients with large tumor, late stage and high histological grade was stronger than in patients with small tumor, early stage and low histological grade; and stronger in patients with positive lymph node than in patients with negative lymph node. **Conclusions** VEGF-C may play a role in tumor growth, progression and metastasis in triple negative breast cancer.

**【Key words】** Triple negative breast cancer; Vascular endothelial growth factors; Metastasis

乳腺癌根据基因微阵列分析,可分为 luminalA 型、luminalB 型、HER-2 过表达型、基底型及正常乳腺型五类,其中基底型绝大多数雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)及人表皮生长因子受体(HER-2)表达为阴性,即三阴性乳腺癌,而三阴性乳腺癌中又有超过 80% 的为基底型乳腺癌,因此临床上常用三

基金项目:广东省医学科研基金课题(A2008096)

作者单位:510010 广州,广东省妇幼保健院乳腺病中心(韩晓蓉),病理科(郜红艺、吴坤河、张江宇),病案科(何秋苑)

通信作者:王颀, E-mail: wangqigz@21cn.com

阴性乳腺癌来代表基底型乳腺癌。三阴性乳腺癌由于缺乏治疗靶点,预后较差。淋巴结转移是乳腺癌转移的重要途径,研究表明,血管内皮生长因子 C (VEGF-C)在肿瘤的淋巴转移中起重要作用<sup>[1]</sup>。文献报道三阴性乳腺癌血行转移更常见,而淋巴结转移相比非三阴性乳腺癌要少见<sup>[2]</sup>。因而有必要研究 VEGF-C 在三阴性乳腺癌中的表达及其作用,这方面较少见国内文献报道。本研究拟通过检测 VEGF-C 在三阴性乳腺癌中的表达,探讨其与三阴性乳腺癌生物学特性的关系。

## 1 临床资料

### 1.1 一般资料

所有病例均为本院 2000 年 1 月至 2009 年 6 月收治的女性乳腺癌患者,共 70 例,年龄 29.0~73.0 岁,中位年龄 44.5 岁。所有标本经免疫组织化学检测,其 ER、PR 及 HER-2 均为阴性。其中:绝经前 50 例,绝经后 20 例;有淋巴结转移者 27 例,无淋巴结转移者 43 例;临床分期 I 期者 26 例,II 期 32 例,III 期 12 例;肿瘤直径 $\leq 2$  cm 者 36 例, $> 2$  cm 者 34 例;组织学分级 1 级 24 例,2 级 24 例,3 级 22 例。

### 1.2 试剂

VEGF-C 兔抗多克隆抗体购自 invitrogen 公司,免疫组织化学试剂盒购自 Maxiam 公司。

### 1.3 免疫组织化学染色

将 70 例患者的乳腺癌标本制成石蜡切片,一抗为兔抗人 VEGF-C 多克隆抗体,应用 supervision 法染色,DAB 封片,苏木素复染封片,抗体的稀释度为 1:100。免疫组织化学染色过程参照说明书进行。VEGF-C 阳性结果判断采用半定量计分法:阳性染色为细胞质的棕黄色染色;按染色细胞比例及染色强度计分,染色细胞比例 $< 10\%$ 为 0 分, $10\% \sim 25\%$ 为 1 分, $26\% \sim 50\%$ 为 2 分, $> 50\%$ 为 3 分;无阳性染色细胞计 0 分,细胞轻度着色计 1 分,中度着色计 2 分,重度着色计 3 分。两分值相加为最后的 VEGF-C 表达总分值,总分值 $\leq 2$ 分为表达阴性, $> 3$ 分为表达阳性<sup>[3]</sup>。

### 1.4 统计学分析

采用 SPSS13.0 统计学软件包对数据进行统计学分析。VEGF-C 表达与三阴性乳腺癌各生物学特性之间关系的单因素分析采用秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

三阴性乳腺癌中 VEGF-C 表达与患者的年龄、月经状态无关( $P > 0.05$ ),

而与肿瘤大小、分期、淋巴结状态及组织学分级有关( $P < 0.05$ )。肿瘤大、分期晚的患者, VEGF-C 表达较肿瘤小、分期早的患者强, 组织学高分级者 VEGF-C 表达较低分级者强, 淋巴结阳性患者 VEGF-C 表达较阴性患者强(表 1)。

表 1 VEGF-C 表达与三阴性乳腺癌生物学特性的关系

临床特征	总例数	VEGF-C 表达		统计量	P 值
		阴性例数	阳性例数		
年龄				-0.86	0.39
>35 岁	57	15	42		
≤35 岁	13	5	8		
月经状态				-0.42	0.68
绝经前	50	15	35		
绝经后	20	5	15		
肿瘤直径				-3.00	0.00
≤2 cm	36	16	20		
>2 cm	34	4	30		
组织学分级				7.49	0.02
1	24	11	13		
2	24	7	17		
3	22	2	20		
临床分期				7.10	0.03
I	26	11	15		
II	32	9	23		
III	12	0	12		
淋巴结状态				-2.00	0.04
阳性	27	4	23		
阴性	43	16	27		

### 3 讨论

VEGF-C 是血管内皮生长因子家族中的一员, 是一种主要的淋巴管生成因子, 在多种肿瘤组织包括乳腺癌组织中表达。乳腺癌 VEGF-C 过表达与淋巴结转移及预后差相关<sup>[4-5]</sup>。肿瘤来源的 VEGF-C 被认为可通过介导淋巴管生成进一步导致淋巴结转移而促进肿瘤的进展<sup>[6]</sup>。

三阴性乳腺癌是 ER、PR 表达阴性且无 HER-2 过表达的一类乳腺癌, 其生物学特性与其他类型乳腺癌有所不同, 预后也较差。Linderholm 等<sup>[7]</sup>的研究表明, 三阴性乳腺癌中 VEGF 高表达者生存时间较短。本研究发现, 三阴性乳腺癌中 VEGF-C 的表达与患者年龄、月经状态无关, 而与肿瘤大小、分期、淋巴结转移及组织学分级有关。有研究显示, 在乳腺癌细胞株 MCF27 中, VEGF-C 过表达显著促进了肿瘤的生成<sup>[8]</sup>。本研究中, 肿瘤 >2 cm 者 VEGF-C 的表达明显强于肿瘤 ≤2 cm 者( $P < 0.05$ ), 也提示三阴性乳腺癌中

VEGF-C 可能与肿瘤细胞的生长有关。

Mandriota 等<sup>[9]</sup>发现 VEGF-C 介导的淋巴管生成能促进肿瘤细胞播散和向区域淋巴结转移。本研究发现,三阴性乳腺癌中,有淋巴结转移者 VEGF-C 表达强于无淋巴结转移者( $P < 0.05$ )。这一结果提示,虽然三阴性乳腺癌淋巴结转移的发生率低于非三阴性乳腺癌<sup>[1]</sup>,VEGF-C 仍在促进其淋巴道转移中起着重要作用。

VEGF-C 除了与酪氨酸激酶受体 VEGFR-3 结合促进淋巴管生成外,还能与其他多种上皮细胞受体结合,如 neuropilin-1、neuropilin-2<sup>[10]</sup>、tenascin-C 等,而这些受体也表达于多种肿瘤细胞,提示 VEGF-C 可能作为一个自分泌分子直接影响表达这些受体的肿瘤细胞的功能。而 VEGF-C 与其受体 VEGFR-3 结合形成的复合物在多种实体瘤中显示出增强肿瘤细胞移行和浸润能力,能促进肿瘤细胞的转移<sup>[11]</sup>。本研究中,组织学分级高者其 VEGF-C 表达较强( $P < 0.05$ ),提示分化差的癌细胞受 VEGF-C 的影响较大,其转移能力也较强。

此外,本研究还发现,三阴性乳腺癌分期晚者 VEGF-C 的表达强于分期早者( $P < 0.05$ )。VEGF-C 与 VEGFR-3 结合后不仅促进肿瘤血管内皮细胞的增生,还可诱导新生血管形成,有利于肿瘤细胞向血液循环系统扩散<sup>[12]</sup>。已有的文献提示,三阴性乳腺癌的血行转移较非三阴性乳腺癌常见<sup>[1]</sup>,而 VEGF-C 不仅能通过介导淋巴管形成促进肿瘤的淋巴道转移,还能促进肿瘤血管的生成,促进其血道转移。Timoshenko 等<sup>[13]</sup>的研究则发现 VEGF-C 通过与其受体结合,可促进乳腺癌细胞的转移能力。因此,三阴性乳腺癌的血行转移与 VEGF-C 的作用密切相关,VEGF-C 可能同时促进淋巴管及微血管的生成,并增加乳腺癌细胞的移行能力,从而促进了三阴性乳腺癌的转移,是三阴性乳腺癌预后差的可能原因之一。

本研究结果提示 VEGF-C 可能在促进三阴性乳腺癌的生长、浸润和转移中起作用,但其具体的作用及机制仍有待于进一步的研究。三阴性乳腺癌中 VEGF-C 表达的临床意义尚不清楚。目前,有关贝伐单抗(特异性阻断 VEGF 的抗体)在内的 VEGF 抑制剂治疗三阴性乳腺癌的临床试验研究虽尚未得出结论<sup>[14]</sup>,但可以预见,VEGF-C 将可能成为三阴性乳腺癌的一个新的治疗靶点。

#### 参考文献

- [1] 刘志勇,欧阳忠. VEGF-D 及 Ki-67 在乳腺癌淋巴结转移中的作用. 四川医学, 2010, 31: 714-716.
- [2] 韩晓蓉, 郇红艺, 王颀, 等. 三阴性乳腺癌的临床病理特点(附 35 例报告). 中华乳腺病杂志: 电子版, 2009, 3: 16-21.
- [3] Da MX, Wu XT, Wang J, et al. Expression of cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor-C correlates with lymphangiogenesis and lymphatic invasion in human gastric cancer. Arch Med Res, 2008, 39: 92-99.

- [4] Nakamura Y, Yasuoka H, Tsujimoto, et al. lymph vessel density correlates with nodal status, VEGF-C expression, and prognosis in breast cancer. *Breast cancer Res Treat* 2005,91:125-132.
- [5] Mylona E, Alexandrou P, Mpakali A, et al. Clinicopathological and prognostic significance of vascular endothelial growth factors(VEGF)-C and -D and VEGF receptor 3 in invasive breast carcinoma. *Eur J Surg Oncol*,2007,33: 294-300.
- [6] Timoshenko AV, Chakraborty C, Wagner GF, et al. COX-2-mediated stimulation of the lymphangiogenic factor VEGF-C in human breast cancer. *Br J Cancer*, 2006,94: 2254-1163.
- [7] Linderholm BK, Hellborg H, Johansson U, et al. Significantly higher levels of vascular endothelial factor(VEGF) and shorter survival times for patients with primary operable triple-negative breast cancer. *Ann Oncol*,2009,20: 1639-1646.
- [8] 单明,张建国,郭宝良. VEGF-C 基因转染对人乳腺癌 MCF-7 细胞 VEGF-C 表达的影响. *中国普外基础与临床杂志*,2008,15:739-742.
- [9] Mandriota SJ, Jussila L, Jeltsch M, et al. Vascular endothelial growth factor-C mediated lymphangiogenesis promotes tumour metastasis. *EMBO J*,2001,20:672-682.
- [10] Kärpänen T, Heckman CA, Keskitalo S, et al. functional interaction of VEGF-C and VEGF-D with neuropilin receptors. *FASEB J*, 2006,20:1462-1472.
- [11] Su JL, Yen CJ, Chen PS, et al. The role of the VEGF-C/VEGFR-3 axis in cancer progression. *Br J Cancer*, 2007, 96:541-545.
- [12] Kaparnen T, Aliatlo K. Lymphatic vessels as targets of tumor therapy? *J Exp Med*,2001,194:F37-F42.
- [13] Timoshenko AV, Rastogi S, Lala PK. Migration-promoting role of VEGF-C and VEGF-C binding receptors in human breast cancer cells. *Br J Cancer*,2007,97:1090-1098.
- [14] Dent SF. The role of VEGF in triple-negative breast cancer; where do we go from here? *Ann Oncol*,2009,20:1615-1617.

(收稿日期:2010-08-16)

(本文编辑:罗承丽)

韩晓蓉,郜红艺,吴坤河,等. 三阴性乳腺癌中血管内皮生长因子 C 的表达及其意义[J/CD]. *中华乳腺病杂志:电子版*,2010,4(6):671-675.