

文章编号:1005-6947(2005)04-0297-03

· 简要论著 ·

乳腺癌 c-erbB-2 的表达及其与肿瘤血管生成的关系

易晓雷¹, 易文君², 冉承茂¹, 唐中华²

(1. 湖南省临澧县人民医院 外科, 湖南 临澧 415200; 2. 中南大学湘雅二医院 普通外科, 湖南 长沙 410011)

摘要:为探讨乳腺癌 c-erbB-2 与腋窝淋巴结转移和肿瘤血管生成的关系,笔者应用 SABC 免疫组化法检测 70 例乳腺癌组织中 c-erbB-2 基因表达和 VEGF, FLK-1, bFGF, FLG 阳性系数值及 MVC 值。结果显示腋窝淋巴结转移组 c-erbB-2 阳性率明显高于腋窝淋巴结未转移组 ($P < 0.01$)。VEGF, FLK-1, bFGF, FLG 和 MVC 值在 c-erbB-2 阳性和阴性组间有差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。提示乳腺癌 c-erbB-2 表达与腋窝淋巴结转移和肿瘤血管生成有关。

关键词:乳腺肿瘤/病理学; 癌基因表达; 癌基因, c-erbB-2; 肿瘤血管生成

中图分类号: R737.9; 730.23

文献标识码: B

c-erbB-2 (HER2/Neu) 在多种上皮肿瘤,尤其是乳腺癌、卵巢癌和肺癌中过度表达, c-erbB-2 过度表达与肿瘤增殖淋巴转移以及治疗和预后密切相关^[1-3]。实体肿瘤的生长与转移依赖于血管生成,而血管生成依赖于多种相关因子的诱导和调节。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 是目前鉴定出来的最重要的血管生成相关因子,肿瘤血管生成及其相关因子与乳腺癌增殖和淋巴转移有关^[4-6]。VEGF 基因受多种癌基因和抑瘤基因调控,如: v-raf, v-ras, h-ras, v-src 和 k-ras 等癌基因和 p53, bcl-2^[5] 等抑瘤基因。本文探讨了乳腺癌 c-erbB-2 的表达及其与 VEGF 和其受体 (FLK-1)、碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 及其受体 (FLG) 以及与微血管计数 (microvessel counts, MVC) 的关系, 报告如下。

1 资料和方法

1.1 临床资料及标本处理

收集 1999 年 1 月 ~ 2002 年 12 月临澧县人民医院和中南大学湘雅二医院手术治疗经临床病理证实的女性乳腺癌患者 70 例。年龄 28 ~ 72 (43.9 ± 14.2) 岁,左侧乳腺癌 37 例,右侧 33 例。所有

病例均行根治性手术,术前未经抗癌治疗。

1.2 免疫组化染色

肿瘤标本常规石蜡包埋,厚 5 μm 连续切片,行 HE 染色及免疫组化 SABC 法染色。以已知阳性大肠癌切片作为阳性对照,以 PBS 替代一抗作为阴性对照。抗 c-erbB-2 蛋白 (1:200)、VEGF 单抗 (1:200)、bBGF 单抗 (1:500)、FLK-1/KDR 多抗 (1:400)、FLG 多抗 (1:400)、FVIIIRAg 单抗 (1:400) 和 SABC 试剂盒均购自武汉博士得公司。主要染色步骤参照文献^[6]进行。

1.3 结果判断

c-erbB-2 阳性系指计数 1 000 个细胞中,阳性细胞比例 > 10%。FVIIIRAg 的表达参照 Weidner 方法,先在低倍视野 (×100 倍) 光镜下全面观察切片,以确定肿瘤内新生血管密度。密度最高处即新生血管形成的活跃区,再在高倍视野 (×200 倍) 下,每张切片随机观察血管形成活跃区中 5 个视野肿瘤血管,取其平均值作为该例肿瘤 MVC 值。按染色强弱及阳性细胞数两个方面计算 VEGF 和 bFGF 评分^[6]。(1) 染色强度 (0 = 无, 1 = 弱, 2 = 中, 3 = 强); (2) 阳性细胞数 (0 = 无阳性细胞数, 1 = 阳性细胞数 < 25%, 2 = 阳性细胞数 25% ~ 50%, 3 = 阳性细胞数 > 50%)。用阳性系数大小来表示其表达高低: (1) + (2) 得分为 0 ~ 1 的阳性系数为 0, 得分为 2 阳性系数为 1, 得分为 3 阳性系数为 2,

收稿日期:2004-10-21; 修订日期:2004-12-27。

作者简介:易晓雷 (1968-), 男, 湖南临澧人, 湖南省临澧县人民医院主治医师, 主要从事普通外科临床与基础方面的研究。

通讯作者:易晓雷 电话:0736-5805420。

得分为 4 ~ 5 阳性系数为 3, 得分为 6 阳性系数为 4。按 FLK-1 和 FLG 染色强弱, 用阳性系数表示为: 0 = 阴性; 1 = 可疑阳性; 2 = 弱阳性; 3 = 中度阳性;

4 = 强阳性。VEGF 阳性见图 1, bFGF 阳性见图 2, FLK-1 阳性见图 3, FLG 阳性见图 4。

图 1 VEGF 染色阳性 (SABC × 200)

图 2 bFGF 染色阳性 (SABC × 200)

图 3 FLK-1 染色阳性 (SABC × 200)

图 4 FLG 染色阳性 (SABC × 200)

1.4 统计学方法

采用 SPSS 10.0 软件进行统计学分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 单因素分析用 t 检验; 率的比较采用 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 c-erbB-2 表达与肿瘤分期和腋窝淋巴结的关系

c-erbB-2 阳性表达 31 例 (44.29%)。阳性和阴性组间腋窝淋巴结 (axillary lymph node, ALN) 转移率差异有统计学意义 ($P < 0.01$) (表 1)。

表 1 c-erbB-2 阴性和阳性组间 ALN 阳性率比较

c-erbB-2	例数	ALN		χ^2	P
		阳性例数 [†]	率 (%)		
阴性	39	16	41.03	9.34	0.002
阳性	31	24	77.42		
共计	70	40	57.14		

注: [†] ALN 转移 ≥ 1 个即为 ALN 阳性

2.2 c-erbB-2 与肿瘤血管生成的关系

VEGF, FLK-1, bFGF, MVC 值在 c-erbB-2 阴性和阳性组间有差异 ($P < 0.01$), FLG 值在两组间有差异 ($P < 0.05$); 阳性组各指标值高于阴性组 (表 2)。

表 2 c-erbB-2 阳性和阳性组间 VEGF, FLK-1, bFGF, FLG, MVC 值比较

c-erbB-2	例数	VEGF	FLK-1	bFGF	FLG	MVC
阴性	39	1.51 ± 1.17	1.59 ± 1.02	1.46 ± 0.88	1.69 ± 1.10	50.01 ± 12.76
阳性	31	3.00 ± 1.13	2.25 ± 0.89	2.87 ± 1.02	2.29 ± 1.24	71.54 ± 2.15
<i>t</i>		5.380	4.135	6.175	2.129	7.211
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.037	0.000

3 讨 论

c-erbB-2 参与调控细胞生长、增殖及分化。研究表明,约有 30% 乳腺癌有 c-erbB-2 过度表达, c-erbB-2 过度表达常常提示肿瘤侵袭性强,化疗不敏感,预后差^[1,3]。本研究表明, c-erbB-2 表达与乳腺癌腋窝淋巴结转移有关, c-erbB-2 阳性腋窝淋巴结转移率高,这与文献报道一致^[1,3]。

血管生成与肿瘤的生长与转移密切相关。肿瘤细胞分泌多种血管生长因子促进血管生成,而新生血管不仅为肿瘤细胞的物质交换提供基础,亦可分泌一些细胞因子促进肿瘤细胞增殖。肿瘤的血管生成有赖于多种相关因子的诱导和调节;在众多与其有关的因子中,VEGF 是迄今鉴定出来的最重要的血管生成因子,可作为肿瘤代谢及转移的标志^[4]。VEGF 具有促进血管内皮细胞增殖、增进血管通透性及改变细胞外基质的作用。在血管形成的调控中,bFGF 起着关键作用。bFGF 能促进表皮、内皮细胞再生,促进血管内皮细胞分裂,诱导其从基膜中分离出来,以刺激内皮细胞向肿瘤组织趋化运动,并形成管状结构,还提高组织中血纤维蛋白溶解酶原激活因子类(PAs),即诱导内皮细胞产生其他蛋白酶。bFGF 是血管形成较为直接的诱导物。

VEGF 不仅通过旁分泌途径促进血管生成,从而促进肿瘤的发生发展,而且作为一种自分泌生长调节因子直接刺激肿瘤细胞的增殖或迁移。bFGF 亦能通过自分泌和旁分泌形式促进肿瘤的生长与转移。VEGF 受体有 VEGFR-1 (FLT-1), VEGFR-2 (FLK-1/KDR) 和 VEGFR-3 (FLT-4),均为酪氨酸激酶受体。FLK-1 是血管形成的主要调控因子,具有明显的化学趋化和促分裂活性作用。VEGF, bFGF 及其受体与 MVC 相关,同时前两者还可上调其受体 FLK-1, FLG 的表达^[4]。

本研究发现, VEGF, bFGF, FLK-1, FLG, MVC 值在 c-erbB-2 阴性和阳性组间差异有统计学意义,

说明 c-erbB-2 可以通过上调血管生成相关因子的表达而促进肿瘤的血管生成。有研究表明, c-erbB-2 可以上调黏附分子 E-cadheris 和整合素 α 的表达^[7],而 E-cadheris 和整合素 α 可以上调 VEGF, bFGF, FLK-1, FLG, MVC 的表达^[7,8]。这可能是 c-erbB-2 促进肿瘤血管生成的部分原因。

乳腺癌组织 c-erbB-2 可以促进肿瘤血管生成, Charoenrat 等在头颈部鳞癌中亦有类似发现^[9],这为进一步探讨 c-erbB-2 的作用机制及采取相应的治疗措施提供了理论与试验基础。

参考文献:

[1] 吴唯,唐中华,易文君.等. c-erbB-2 基因在青老年乳腺癌中的表达及其意义[J]. 中国普通外科杂志. 2003, 12(5): 377-379.

[2] Shou Y, Hiyano T, Gong Y, *et al.* Influence of angiogenetic factors and matrix megalloproteinases upon tumour progression in non-small-cell lung cancer [J]. Br J Cancer, 2001, 85(11): 1706-1712.

[3] 高鹏,周庚寅,魏军民,等. 乳腺癌 c-erbB-2 过表达与生存率、内分泌治疗效果和预后的关系[J]. 中国普通外科杂志, 2003, 12(10): 735-738.

[4] 易文君,唐中华,陈干农,等. 乳腺癌 VEGF, bFGF 及其受体的表达和与微血管计数的关系[J]. 中国现代医学杂志, 2003, 12(20): 39-42.

[5] Johannes S, de Jong, Paul J, *et al.* Expression of growth factors, growth factor receptors and apoptosis related proteins in invasive breast cancer; relation to apoptotic rat [J]. Breast Cancer Res Treat, 2001, 66(1): 201-208.

[6] 易文君,唐中华,杨竹林,等. 青年和绝经女性乳腺癌 VEGF, bFGF 及其受体表达的差异[J]. 中华肿瘤杂志, 2003, 25(2): 141-144.

[7] Laughner E, Taghavi P, Chiles K, *et al.* HER2 (neu) signaling increases the rate of hypoxia-inducible factor lalpa (HIF-lalpa) synthesis; novel mechanism for HIF-1-mediated vascular endothelial growth factor expression [J]. Mol Cell Biol, 2001, 21(12): 3995-4004.

[8] Giatromanolaki A, Koukourakis MI, Sivridis E, *et al.* Relation of hypoxia inducible factor 1 α and 2 α in operable non = small cell lung cancer to angiogenic/molecular profile of tumors and survival [J]. Br J Cancer, 2001, 85(6): 881-890.

[9] Ocharoenrat P, Rhys Evans PH, Archer DJ, *et al.* C-erbB2 receptors in squamous cell carcinomas of the head and neck; clinical significance and correlation with matrix metalloproteinases and vascular enothelial growth factors [J]. Oral Oncol, 2002, 38(1): 73-80.