

文章编号:1005-6947(2005)09-0672-04

· 乳腺外科专题研究 ·

肿瘤切除和术后复发对乳腺癌患者血管生成平衡的影响

唐金海¹, 赵建华², 徐甫保³, 秦建伟¹, 龚建平¹

(1. 江苏省肿瘤医院 普通外科, 江苏 南京 210009; 2. 江苏省临床检验中心, 江苏 南京 210009; 3. 江苏省高淳县人民医院, 江苏 南京 211300)

摘要:目的 观察乳腺癌患者血清血管内皮生长因子(VEGF)和内皮细胞抑制素(ES)浓度比值在手术前、后及复发时的变化,探讨肿瘤切除和术后复发对体内血管生成平衡的可能影响。方法 分别采用竞争性酶联免疫试验和ELISA法测定59例乳腺癌患者手术前、后和复发时血清VEGF及ES水平,计算VEGF/ES比值,并与30例乳腺良性肿瘤和59例正常对照组比较。结果 (1)手术前乳腺癌患者血清VEGF和ES水平与两对照组相比均显著增高($P < 0.005$),VEGF/ES比值为9.1;手术后3周时,血清VEGF水平明显下降,而ES仍保持在较高状态,VEGF/ES比值下降至3.3。(2)复发患者术后VEGF/ES比值与术前相比也有所下降(10.3 vs 7.4),但一旦疾病复发时VEGF水平又急剧上升,VEGF/ES比值升至14.2。多因素分析显示,术后VEGF/ES比值是影响乳腺癌患者复发转移率的一个独立因素。结论 乳腺癌肿瘤切除可影响患者体内血清VEGF-ES间平衡,监测VEGF/ES比值对患者预后评估有一定的辅助意义。

关键词: 乳腺肿瘤/血液; 血管内皮生长因子/血液; 内皮细胞抑制素/血液

中图分类号:R737.9; Q58

文献标识码:A

Effect of tumor surgery and postoperative relapse on angiogenesis balance in breast cancer

TANG Jin-hai¹, ZHAO Jian-hua², XU Fu-bao³, QIN Jian-wei¹, GONG Jian-ping¹

(1. Department of General Surgery, Jiangsu Tumor Hospital, Nanjing 210009, China; 2. Center of Clinical Laboratory of Jiangsu Province, Nanjing 210009, China; 3. The People's Hospital of Gaochun County, Nanjing 210009, China)

Abstract: **Objective** To observe the serum VEGF/ES ratios before and after operation and at clinical relapse in patients with breast cancer, and to discuss the potential effect of tumor surgery and postoperative relapse on the angiogenesis balance. **Methods** The serum VEGF and ES levels of 59 cases of breast cancer before and after operation and at clinical relapse were determined using competitive enzyme immunoassays and ELISA, respectively, and compared with the results of 30 cases of benign breast tumors and 59 cases of normal controls. **Results** (1) Preoperatively, the serum ES and VEGF levels of breast cancer patients were significantly elevated, as compared to the other 2 groups, and the VEGF/ES ratio was 9.1. Postoperatively, at 3 weeks, VEGF level decreased significantly and ES remained at a high level. The VEGF/ES ratio was 3.3. (2) At the time of clinical relapse, serum VEGF level was followed by marked elevation, and the VEGF/ES ratio increased up to 14.2. Multivariate analyses showed that the postoperative VEGF/ES ratio was an independent factor related to the postoperative recurrence of breast cancer. **Conclusions** Breast cancer surgery may affect the balance between serum VEGF and ES, and the determination of VEGF/ES ratio can have auxiliary value in the assessment of prognosis of breast cancer patients.

Key words: Breast Neoplasms/blood; VEGF/blood; ES/blood

CLC number: R737.9; Q58

Document code: A

收稿日期:2004-12-31; 修订日期:2005-06-20。

作者简介:唐金海(1962-),男,江苏南京人,江苏省肿瘤医院主任医师,主要从事乳房外科临床及实验方面的研究。

通讯作者:赵建华 电话:025-83283334(O); E-mail: jhzhao2838@sina.com。

血管生成是实体瘤生长和转移的基础,其形成过程依赖于血管生成因子和抑制因子之间的平衡^[1]。血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)和肝细胞生长因子(HGF)等多种细胞因子能促进乳腺癌血管形成和肿瘤生长,但一般认为 VEGF 是促进乳腺癌血管生成的主要因子^[2,3]。与此同时,肿瘤组织或机体中还存在有血管生成抑制因子,如内皮细胞抑制素(ES)、血管抑制素等,其中 ES 被公认是最强效和特异的^[4,5]。研究^[6,7]证实,乳腺癌生长和发展与其血管生成密切相关,且乳腺癌切除手术可影响血管调节因子的表达水平。因此,笔者推测,乳腺癌切除手术可能会影响乳腺癌血管生成平衡,进而影响预后。本研究以 VEGF 和 ES 为评价血管生成平衡的代表因子,分析了乳腺癌患者血清 VEGF 和 ES 在手术前、后及复发时的平衡关系,以期籍此为临床治疗和预后判断提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

1.1.1 乳癌组 选取 1998 年 1 月~1999 年 5 月在本院行乳腺癌根治术或改良根治术、术前未曾接受化、放疗或输血治疗的浸润性乳腺癌患者 59 例,全部病例均有完整随访资料。患者均为女性,中位年龄 48(范围 30~73)岁。乳腺癌临床分期按国际抗癌联盟 1997 年标准,Ⅰ期 14 例,Ⅱ期 29 例,Ⅲ期 16 例;肿瘤 ≤ 2 cm 者 18 例,肿瘤 > 2 cm 者 41 例;ER(+)28 例,PR(+)24 例;病理检查腋淋巴结阳性 19 例,阴性 40 例,均无远处转移。59 例乳腺癌患者中 57 例在术后 3 周时开始接受辅助性治疗(化疗或激素治疗,或化疗+激素治疗,或放疗)。

59 例乳腺癌患者在术后 60 个月的随访期内,10 例出现转移性复发,其中 3 例胸部 X 片示肺转移;3 例 ECT 示骨转移;2 例胸水细胞学检测见癌细胞示胸膜转移,其中 1 例伴同侧腋淋巴结复发;2 例 B 超或腹部 CT 示肝转移。

1.1.2 乳腺良性肿瘤对照组 选取同期在本院手术治疗的乳腺良性肿瘤患者 30 例(5 例导管内乳头状瘤、7 例小叶增生或伴纤维化、13 例纤维腺瘤、3 例纤维硬化病和 2 例纤维囊性病)。中位年龄 37(28~51)岁。

1.1.3 正常对照组 选取在江苏省省级机关医院健康体检、年龄匹配的女性 59 例。

1.2 实验方法

1.2.1 标本抽取 乳腺癌患者于入院时、手术后 3 周时以及复发时抽取空腹外周静脉血 3 mL,立即分

离获取血清,分装后 -20°C 保存待用;良性患者和正常对照血清标本于受试者术前就诊或体检时获得。

1.2.2 检测项目及方法 ES 和 VEGF 定量检测试剂盒分别购自美国 Chemicon International 公司和深圳晶美生物工程公司。血清 VEGF 和 ES 检测分别采用竞争性酶联免疫试验和 ELISA 法,严格按试剂盒说明书进行。

1.3 统计学方法

VEGF 及 ES 水平以中位数(范围)表示,组间差异性比较采用秩和检验;相关性采用等级相关 Spearman 氏法分析;利用 Stata 6.0 统计软件,对乳腺癌复发转移率进行 COX 比例风险模型分析。以 $P < 0.05$ 为显著性判断标准(双侧)。

2 结果

2.1 59 例乳腺癌患者手术前、后血清 VEGF/ES 比值

术前,乳腺癌组血清 VEGF 水平为 365.2 ng/mL(49.6~1420.0 ng/mL),明显高于良性肿瘤对照组(95.5 ng/mL,43.1~718.3 ng/mL)和正常对照组 88.5 ng/mL(34.1~453.0 ng/mL)(P 均 < 0.005)。血清 ES 水平乳腺癌组为 40.0 ng/mL(12.4~110.6 ng/mL),明显高于良性肿瘤对照组 22.6 ng/mL(5.1~92.3 ng/mL)($P < 0.01$)和正常对照组的 15.3 ng/mL(3.9~68.0 ng/mL)($P < 0.005$)。VEGF 与 ES 的浓度比值(VEGF/ES)在乳腺癌组、良性肿瘤对照组和正常对照组分别为 9.1,4.2,5.8。

手术后 3 周,59 例乳腺癌患者血清 VEGF 水平为(158.7 pg/mL(54.3~823.5))明显低于术前($P < 0.01$),而 ES 仍保持在较高水平 48.6 ng/mL(14.5~91.8 ng/mL),与术前比较,差异无显著性($P > 0.05$)。如以正常对照组 P_{95} 百分位数值为分界点(大于此值为增高,小于此值为正常),25 例 VEGF 增高者中有 19 例其 VEGF 水平急剧下降至正常,27 例 ES 增高者其 ES 水平(除 1 例从 110.6 降至 80 ng/mL 外)基本无明显改变。术后乳腺癌患者 VEGF/ES 为 3.3,明显低于术前($P < 0.05$)。

2.2 复发患者血清 VEGF/ES 比值

10 例复发患者手术后 VEGF/ES 的比值与术前相比虽有所下降,但仍处于较高状态(7.4:10.3),且疾病复发时 VEGF 水平又急剧上升,VEGF/ES 比值达到 14.2(表 1,图 1)。

表1 10例复发乳腺癌患者血清 VEGF 和 ES 水平

项目	正常对照组	复发乳腺癌患者		
		术前	术后	复发时
血清 VEGF (pg/mL)				
中位数(范围)	88.5(34.1~453.0)	475.6(125.4~1420) ¹⁾	306.8(94.4~823.5) ^{2),4)}	717.1(345.7~1589.6) ^{3),5)}
血清 ES (ng/mL)				
中位数(范围)	15.3(3.9~68.0)	46.1(26.9~98.6) ²⁾	41.4(28.8~91.0) ²⁾	50.5(23.4~110.2) ²⁾
VEGF/ES 比值	5.8	10.3	7.4	14.2

注:与健康对照组比 1) $P < 0.001$; 2) $P < 0.005$; 3) $P < 0.0005$; 与术前比 4) $P < 0.05$; 5) $P < 0.01$

2.3 VEGF/ES 比值与乳腺癌术后复发转移率的关系

采用 COX 比例风险模型分析年龄、肿瘤大小、肿瘤分期、腋淋巴结转移、术前和术后 VEGF、ES 水平以及 VEGF/ES 比值等多种因素与复发转移率之间的关系。单变量分析显示:肿瘤大小,术前、术后血清 VEGF 水平以及 VEGF/ES 比值与乳腺癌复发转移显著相关。将单变量分析中所有风险比例(HR) > 1 的因素纳入多变量分析,结果表明:术后 VEGF/ES 比值是影响乳腺癌患者复发转移率的一个独立因素(表 2)。

图1 59例乳腺癌患者手术前后和10例复发患者手术前后及复发时 VEGF/ES 比值变化

表2 59例乳腺癌患者复发转移的 COX 比例风险分析

变量	单变量		多变量	
	P	HR(95% CI)	P	HR(95% CI)
年龄	0.144	0.97(0.94~1.01)	-	-
肿瘤大小(≤ 2.0 : 2.1~5.0: ≥ 5.1)	0.043	1.95(1.05~3.84)	0.127	1.60(0.77~3.31)
TNM 分期(I: II: III)	0.186	1.30(0.88~1.93)	0.208	0.93(0.41~2.04)
腋淋巴结转移(-: +)	0.413	1.33(0.67~2.64)	0.506	0.97(0.93~1.11)
术前血清 ES 水平(增高组: 正常组 [†])	0.088	1.52(0.91~3.14)	0.232	0.99(0.33~2.96)
术前血清 VEGF 水平(增高组: 正常组 [†])	0.021	2.13(1.12~4.04)	0.059	1.75(0.61~5.01)
术后血清 VEGF 水平(增高组: 正常组 [†])	0.039	2.15(1.08~4.25)	0.070	1.89(0.93~3.76)
术前血清 VEGF/ES 比值	0.027	2.06(1.12~3.05)	0.063	1.74(0.81~3.56)
术后血清 VEGF/ES 比值	0.014	2.41(0.93~3.71)	0.035	2.23(1.36~4.04)

注:† 以正常对照组 P₉₅百分位数值为 Cut-off, 大于此值为“增高组”、小于此值为“正常组”; HR: 风险比例; CI: 可信区间

3 讨论

血行转移是影响乳腺癌预后最重要的因素,肿瘤内血管生成对这一转移潜能起重要作用^[8]。血管生成有赖于诱导和抑制血管生成因子的相对平衡,一旦平衡转向刺激血管生成状态,就会导致肿

瘤新血管生成^[1,9]。

本实验结果证实:虽然手术前乳腺癌患者血清 VEGF 和 ES 水平均显著增高,但 VEGF 增高程度明显大于 ES, VEGF/ES 的比值为 9.1, 高于正常对照(5.8)和良性肿瘤对照(4.2); 该 VEGF-ES 平衡状态可促进肿瘤的血管生成(图 2)。

图2 血管生成刺激和抑制因子相对平衡调节的模拟图

随着肿瘤的手术切除,血清 VEGF 浓度显著下降,而 ES 仍处于较高状态,VEGF 与 ES 比例发生明显变化,由术前的 9.1 降至术后的 3.3,甚至还低于对照组;由此形成的 VEGF-ES 平衡状态对抑制肿瘤转移灶形成是有利的。但是,一旦肿瘤转移复发,VEGF 水平又急剧上升,明显高于术前和术后 3 周时水平,而血清 ES 浓度变化基本与手术前相似;VEGF/ES 比值达到 14.2,较术前 VEGF/ES 比值显著增高,这可能与远处转移癌由更多的血管生成性癌细胞克隆组成有关^[10]。因此,了解乳腺癌手术前、后和疾病复发时 VEGF-ES 平衡状态对临床认识和治疗肿瘤是有价值的。本研究显示:乳腺癌根治性手术后所形成的新的 VEGF-ES 平衡对患者是有利的,如选择在此期内进行辅助性治疗对减少患者术后转移复发具有一定益处,本组 59 例乳腺癌患者中 57 例在术后 3 周时进行了辅助性治疗,5 年复发率仅 16.9%,低于我院常规报道(25.5%),值得进一步扩大病例研究。

在本组标本中,COX 比例风险模型单因素分析发现术前、术后血清 VEGF 水平以及术前、术后 VEGF/ES 比值均可影响乳腺癌患者的无复发生存情

况,但多因素分析表明 4 者中只有术后 VEGF/ES 比值是影响复发转移率的独立因素。提示,监测患者血清 VEGF/ES 比值有助于判断术后复发转移的风险和预后。

参考文献:

- [1] Kuroi, Toi M. Circulating angiogenesis regulator in cancer patients [J]. *Int J Biol Markers*, 2001, 16(1): 5-26.
- [2] 吴唯,吕新生,唐中华,等. 乳腺癌组织中 VEGF mRNA 的表达及其临床意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13(11): 813-816.
- [3] Poon RT, Fan ST, Wong J. Clinical implication of circulating angiogenic factors in cancer patients [J]. *J Clin Oncol*, 2001, 19(4): 1207-1225.
- [4] O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, *et al.* Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth [J]. *Cell*, 1997, 88(2): 277-285.
- [5] O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, *et al.* Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma [J]. *Cell*, 1994, 79(2): 315-328.
- [6] Jianhua Z, Feng Y, Huangxian J, *et al.* Correlation between serum vascular endothelial growth factor and endostatin levels in patients with breast cancer [J]. *Cancer Lett*, 2004, 204(1): 87-95.
- [7] Kuroi K, Tanaka C, Toi M, *et al.* Circulating levels of endostatin in cancer patients [J]. *Oncol Reports*, 2001, 8(2): 405-409.
- [8] 厉红元,吴凯南,刘胜春,等. 血管生成对乳腺癌的预后价值及与 P53 表达的关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2003, 12(5): 341-343.
- [9] Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the antigenic switch during tumorigenesis [J]. *Cell*, 1996, 86(2): 353-364.
- [10] 易文君,唐中华,吴唯,等. 青年乳腺癌微血管密度与其侵袭性关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2003, 12(5): 338-340.

《生物骨科材料与临床研究》杂志征订启事

《生物骨科材料与临床研究》杂志是经国家科技部审核、国家新闻出版署批准,由湖北省食品药品监督管理局主管、湖北医疗器械协会主办、湖北天辉科技开发有限公司承办的国家级科技期刊,是以突出生物骨科材料与临床研究相结合,体现骨科临床技术趋势与应用面的拓展,体现理工医相结合的专业期刊。杂志立足于普及与提高相结合,论文图文并茂,注重科学性和实用性。杂志发行面覆盖全国县级以上医院、科研院所、大专院校、医疗器械生产家。

本刊为双月刊,页数为 56 页,A4 开本,每册单价 9.8 元,全年价 58.8 元。由全国邮局发行,邮发代号:38-114,同时也热忱欢迎您直接向编辑部邮购。编辑部地址:武汉市洪山区书城路 28 号北港工业园。邮编:430070。电话:027-87678738 传真:027-87385949。Email: magazine@dragonbio.com