

文章编号:1005-6947(2005)04-0277-04

· 实验研究 ·

# 乳腺增生病与血管生成因子表达关系的临床研究

宋爱莉<sup>1</sup>, 李静蔚<sup>2</sup>, 刘晓菲<sup>2</sup>, 孙贻安<sup>1</sup>, 张维东<sup>3</sup>

(1. 山东中医药大学附属医院 乳腺外科, 山东 济南 250011; 2. 山东中医药大学, 山东 济南 250014; 3. 山东医学科学院 病理科, 山东 济南 250062)

**摘要:**目的 探讨乳腺增生病与血管生成及其相关因子 VEGF, bFGF 表达的相关性。方法 对 140 例乳腺增生病患者进行乳房肿块活检, 观察病变组织的病理分型类型、分级及 VEGF, bFGF 的表达情况。结果 组织病理学检查显示, 140 例乳腺增生病患者中, 一般增生 92 例, 占 65.7%, 非典型增生 48 例, 占 34.3%。免疫组化显示, 不同病理分级的 VEGF, bFGF 表达存在差异, 从一般增生到非典型增生, VEGF, bFGF 的表达逐渐增强 ( $P < 0.05$ )。结果 随乳腺增生程度的增加, 组织血管生成因子的表达增强, 两者存在相关性。

**关键词:** 乳腺疾病; 血管内皮生成因子 A; 成纤维生长因子 2

中图分类号: R655.8 文献标识码: A

## Study on the relation between mammary hyperplasia and angiogenesis

SONG Ai-li<sup>1</sup>, LI Jing-wei<sup>2</sup>, LIU Xiao-fei<sup>2</sup>, SUN Yi-an<sup>1</sup>, ZHANG Wei-dong<sup>3</sup>

(1. Department of Breast Surgery, The Affiliated Hospital, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, 250011, China; 2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Shandong, Jinan, 250014, China; 3. Department of Pathology, Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan, 250062, China)

**Abstract:** **Objective** To study the relation between mammary hyperplasia and expression of VEGF, bFGF. **Methods** After the breast mass undergoing core needle biopsy, the pathological type and expression of VEGF and bFGF were observed in 140 cases of breast mass. **Results** Of the 140 cases, general hyperplasia was found in 92 cases (65.7%), atypical hyperplasia in 48 cases (34.3%). The expression of VEGF and bFGF were increased with the increase of pathological degree of breast hyperplasia ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Angiogenesis is increased with increase of mammary hyperplasia, the more degree of hyperplasia, the more expression of VEGF, bFGF.

**Key words:** BREAST DISEASES; VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR A; FIBROBLAST GROWTH FACTOR 2

**CLC number:** R655.8 **Document code:** A

乳腺增生病是育龄期妇女最常见的乳房疾病, 其中非典型增生与乳腺癌关系密切, 属于癌前病变范畴, 是乳腺癌二级预防的重点。血管生成与肿瘤

的发生、发展、转移、预后密切相关, 并且与良性疾病恶变有关。因此, 临床筛选重度乳腺增生患者, 观察其血管生成情况及相关因子表达情况, 对探讨乳腺增生病的实质、探索有效治疗方法具有重要意义。本研究收集临床确诊为乳腺增生病同时可触及明显肿块的病人 140 例, 肿块穿刺活检后, 采用 HE 染色、免疫组化 ABC 法, 检测其病理类型、分级及 VEGF, bFGF, 探讨各项检测指标与乳腺增生病的关系。

**基金项目:** 山东省自然科学基金资助项目(y98c02031)。

**收稿日期:** 2004-12-31; **修订日期:** 2005-03-28。

**作者简介:** 宋爱莉(1952-), 女, 山东威海人, 山东中医药大学附属医院主任医师, 主要从事乳腺疾病方面的研究。

**通讯作者:** 宋爱莉 电话: 0531-2980414-6453(O), 13793188095(手机); E-mail: songaili218@126.com。

## 1 材料与方 法

### 1.1 临床资料

病例来源于2001年3月~2003年3月山东中医药大学附属医院乳腺科门诊的乳腺增生病患者,临床均可触及明显肿块,随机抽取140例。(乳腺增生病诊断标准参2002年中华中医外科学会乳腺病专业委员会第八次会议标准<sup>[1]</sup>)。

### 1.2 实验材料

1.2.1 实验取材 距离肿块边缘约1cm处,局麻后取长约0.3cm切口,在X线立体定位下空芯针穿刺活检;或腋前线位置局麻后取长约0.5cm切口,在B超引导下用mammotome微创旋切活检,沿不同方向取病变组织 $\geq 3$ 条,福尔马林固定。

1.2.2 试验试剂 兔抗人VEGF, bFGF多克隆抗体、即用型SABC试剂盒、DAB显色试剂盒均由武汉博士德生物工程有限公司提供,兔抗人VIII-R Ag多克隆抗体由北京中山生物技术公司提供。

### 1.3 实验方法

标本石蜡包埋,常规HE染色。免疫组化切片厚4 $\mu\text{m}$ ,常规脱蜡、消化、封闭。严格按SABC试剂盒操作说明,分别用兔抗人VEGF, bFGF、VIII-RAg多克隆抗体(工作浓度1:100)进行染色。用PBS液代替一抗作阴性对照。

### 1.4 实验结果评定标准

1.4.1 乳腺增生病病理诊断 诊断标准参阚秀《乳腺癌临床病理学》<sup>[2]</sup>:将乳腺增生分为两大类,即一般增生(包括小叶增生、囊性增生、腺病、纤维硬化病)和非典型增生(分为I, II, III 3个等级)。

1.4.2 VEGF, bFGF免疫组化评价标准 阳性效应产物为棕黄色颗粒,分布于胞浆,以细胞浆着色程度(浅、中、深)及计数100个细胞中的阳性细胞数来判定。阴性(-):细胞无着色;弱阳性(+):细胞轻度着色染成淡黄色,阳性细胞数 $< 20\%$ ;阳

性(++):细胞着色成黄色,阳性细胞数 $20\% \sim 50\%$ ;强阳性(+++):细胞明显着色,呈棕黄色,阳性细胞数 $> 50\%$ 。

### 1.5 统计方法

等级资料采用SAS8.0版统计软件进行CMH卡方检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结 果

### 2.1 乳腺增生病大体病理分布情况

大体病理结果显示:一般增生的构成比高于非典型增生;而在一般增生内,以小叶增生和腺病最常见;在非典型增生内,以I级非典型增生最常见,II、III级逐渐减少。说明临床可触及肿块的乳腺增生病患者以一般增生为主,II、III级(重度)非典型增生的发生率尚低( $< 18\%$ )(表1)。

表1 乳腺增生病肿块大体病理情况( $n = 140$ )

大体病理	n	百分比%
一般性增生	92	65.7
小叶增生	28	20.0
囊性增生	22	15.7
腺病	29	20.7
纤维硬化病	13	9.3
非典型增生	48	34.3
I级非典型增生	24	17.1
II级非典型增生	15	10.7
III级非典型增生	9	6.5

注:检测对象均为临床可触及肿块的乳腺增生病患者。

### 2.2 乳腺增生病 VEGF, bFGF 表达与病理参数间的关系

VEGF, bFGF在乳腺增生病不同病理分级的表达强度存在相关( $P < 0.01$ ),即从一般增生 $\rightarrow$ I级非典型增生 $\rightarrow$ II级非典型增生 $\rightarrow$ III级非典型增生,随着增生程度的逐渐加重,VEGF, bFGF的表达强度逐渐升高,其表达强度随增生程度的增高呈增强趋势(表2)(图1~8)。

表2 乳腺增生病 VEGF, bFGF 表达与病理分级间的关系( $n = 140$ )

病理分级	VEGF <sup>1)</sup>				bFGF <sup>2)</sup>			
	(-)	(+)	(++)	(+++)	(-)	(+)	(++)	(+++)
一般增生	92	0	0	0	92	0	0	0
I级非典型增生	16	8	0	0	14	10	0	0
II级非典型增生	0	2	13	0	0	3	12	0
III级非典型增生	0	0	3	6	0	0	5	4

注:采用CMH卡方检验。1)为不同增生与VEGF表达的相关性分析, $\chi^2 = 118.0090, P < 0.0001$ ; 2)为不同增生与bFGF表达的相关性分析, $\chi^2 = 117.3598, P < 0.0001$ 。

图1 一般增生 VEGF 表达(×400)

图2 I级非典型增生 VEGF 表达(×400)

图3 II级非典型增生 VEGF 表达(×400)

图4 III级非典型增生 VEGF 表达(×400)

图5 一般增生 bFGF 表达(×400)

图6 I级非典型增生 bFGF 表达(×400)

图7 II级非典型增生 bFGF 表达(×400)

图8 III级非典型增生 bFGF 表达(×400)

### 3 讨论

血管生成是指源于已经存在的有毛细血管和毛细血管后微静脉的新生毛细血管形成,其形成过程是一个多步的级联式反应过程。在正常的生理条件下,血管生长与抑制相对平衡,血管生成受到严格调控。

肿瘤的发生、发展对血管生成有强烈的依赖性<sup>[3]</sup>。刘胜春等<sup>[4]</sup>研究血管生成在乳腺非典型增生变过程中的作用,认为乳腺非典型增生过程中已有血管生成,并随非典型增生程度的增加而增多;乳腺增生→非典型增生→乳腺癌的发生发展过程对血管生成具有强烈的依赖关系。目前已有多种血管生成因子被分离纯化,其中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)是促进内皮细胞生长作用较强、特异性较高的2种因子,是诱导血管生成的主要调节因素。VEGF与bFGF在促血管新生过程中有着良好的协同作用<sup>[5]</sup>,共同发挥多种生物效应:对血管内皮细胞具有显著的促增殖作用,诱导内皮细胞形成血管;参与肿瘤的生长和发展。促进肿瘤血管新生,因而增加血液供应、向肿瘤细胞提供氧、营养物质并输出废料;使肿瘤组织各种蛋白酶及胶原酶分泌增加,不仅满足血管新生对基质降解的要求,而且也有助于瘤细胞组织的脱落,从而加速肿瘤细胞转移过程。

本研究结果表明,乳腺增生病患者乳房肿块不同病理分级VEGF,bFGF的表达之间存在显著性差异( $P < 0.01$ ),VEGF,bFGF在一般增生均无表

达,而在非典型增生其表达强度随增生程度的增加而增强,即乳腺增生组织生血管活性由一般增生→I级非典型增生→II级非典型增生→III级非典型增生逐渐增高。因此,临床对于VEGF,bFGF高表达的患者,应予以重视并加强观测治疗,预防其癌变;可采用VEGF,bFGF结合病理分级作为筛选癌前病变的重要检测指标,以及治疗效果、病情进展的研究观测指标。

本研究结果提示:在乳腺发生非典型增生后,病变组织即具有生血管活性,且随增生程度的增加作用越明显,对于病变恶化、发展为癌有一定的促进作用。因此如果能在此阶段采用不同的治疗方法,尤其中医药治疗方法,抑制生血管活性,逆转新血管形成,对预防乳腺癌具有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] 林毅,唐汉钧.现代中医乳房病学[M].北京:人民卫生出版社,2003.101-108.
- [2] 阚秀.乳腺癌临床病理学[M].北京:北医大协和医大联合出版社,1993,1:166-175.
- [3] Folkman J. What is the evidence that tumor are angiogenesis dependent? [J]. J Natl Cancer Inst, 1990, 82(1):4.
- [4] 刘胜春,吴凯南,历红元.血管生成在乳腺非典型增生变过程中的作用[J].中国肿瘤临床,1998,23(6):421-424.
- [5] West AF, Donnell M, Charlton RG, et al. Correlation of vascular endothelial growth factor expression with fibroblast growth factor 8 expression and clinical-pathologic parameters in human prostate cancer [J]. Br J Cancer, 2001, 85(4):576-583.