

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2015.04.010

生存素与血管内皮生长因子在乳腺浸润性导管癌及导管内增生性病变中的表达及意义*

王刚平¹ 梁云爱¹ 张作峰¹ 张 红¹ 潘广晔²

(1 济宁医学院附属日照市人民医院, 山东 日照 276826; 2 潍坊医学院, 山东 潍坊 261042)

摘 要 **目的** 探讨生存素(Survivin)与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在乳腺浸润性导管癌及导管内增生性病变中的表达及意义。**方法** 检测 60 例乳腺普通型导管增生、57 例非典型导管增生、89 例导管原位癌和 128 例乳腺浸润性导管癌中 Survivin 和 VEGF 的表达, 及其与临床病理因素的关系。**结果** 1) Survivin 和 VEGF 的表达, 非典型导管增生、导管原位癌和浸润性导管癌组与普通型导管增生组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$); 2) 浸润性导管癌与非典型导管增生、导管原位癌比较 $P >$, VEGF 表达差异有统计学意义($P < 0.05$), Survivin 无统计学意义($P > 0.05$); 3) 导管原位癌与非典型导管增生组比较, Survivin 和 VEGF 表达差异均无统计学意义($P > 0.05$); 4) Survivin 和 VEGF 高表达与乳腺癌分级、分期和转移有关($P < 0.05$), 且二者表达正相关($P < 0.05$), 但一致性较差($r = 0.211$)。**结论** Survivin 和 VEGF 高表达是乳腺癌发生、侵袭转移及预后的潜在评估指标。

关键词 乳腺癌; 生存素; 血管内皮生长因子; 免疫组织化学; 诊断, 鉴别

中图分类号: R737.9 **文献标识码**: B **文章编号**: 1000-9760(2015)08-264-03

目前我国乳腺癌发病速度高出发达国家, 在一些城市已成为女性首位恶性肿瘤^[1]。近来免疫表型分子学研究推动了对乳腺癌认识的深入和诊断的准确性^[2-4], 早期诊断、早期干预对乳腺癌预后具有重要意义, 临床和病理学迫切需要与判断预后相关的简便易行的早期检测方法或指标^[5-6]。本组对 334 例乳腺癌病例进行了研究, 探讨免疫组织化学在其鉴别诊断及早期评估预后中的作用。

1 材料与方法

1.1 一般资料

收集 2004 年 6 月至 2013 年 6 月住院有完整临床和随访资料并经手术病理证实的乳腺癌及导管内增生性病变 334 例, 包括 60 例普通型导管增生、57 例非典型导管增生、89 例导管原位癌和 128 例乳腺浸润性导管癌, 应用免疫组织化学方法研究生存素(Survivin)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达与肿瘤大小、分级、淋巴结及远处转移、分期等因素的关系, 探讨其早期评估潜在预后的价值。上述病例均按现行 WHO(2012)诊断标准^[2]由两位主治医师

病理医师重新核实诊断。全部病例术前均未接受放、化疗和其他内分泌治疗。乳腺浸润性导管癌患者年龄 22~77 岁, 中位 51.24 岁; 46 例肿瘤最大径小于 2.0cm, 63 例 2.0~5.0cm、19 例大于 5.0cm; 组织学 I 级 22 例, II 级 74 例, III 级 32 例; 45 例无腋窝淋巴结转移, 51 例 1~3 个淋巴结转移, 32 例超过 3 个淋巴结转移; 37 例远处脏器转移。按照国际抗癌联盟 TNM 的分期标准, I 期 23 例, II 期 44 例, III 期 22 例, IV 期 39 例。

1.2 免疫组织化学方法及结果判读

本组所用 Survivin 和 VEGF 试剂均购自福州迈新生物技术开发有限公司, 采用 Ultra Sensitive TM S-P 法, DAB 显色。以组织自身阳性作内对照, 用 PBS 代替一抗作阴性对照。VEGF 定位于细胞质, Survivin 在不同组织中细胞质和/或细胞核异质性表达。

1.3 统计学方法

采用 SPSS17.0 软件包进行数据处理。

2 结果

2.1 不同乳腺病变 Survivin 和 VEGF 的表达

Survivin 在普通型导管增生中在细胞质表达, 在浸润性导管癌、导管原位癌和非典型导管增生组织中在细胞质和细胞核中均有表达, 在浸润性导管

* [基金项目] 济宁医学院科研计划重点项目(编号: JY2013 KJ 051)、山东省医药卫生科技发展计划项目(编号: 2014WS0282, 2014WSA11003)、日照市应用技术研究开发与开发计划项目(编号: 2014SZSH002)

癌组在细胞核中表达增多。不同组织中 Survivin 和 VEGF 的表达率见表 1。Survivin 和 VEGF 的表达,非典型导管增生、导管原位癌和浸润性导管癌组与普通型导管增生组比较差异均有统计学意义($P<0.05$);浸润性导管癌与非典型导管增生、导管原位癌比较,VEGF 表达差异有统计学意义($P<0.05$),Survivin 无统计学意义($P>0.05$);导管原位癌与非典型导管增生组比较,Survivin 和 VEGF 表达差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 Survivin 与 VEGF 在不同乳腺癌组织中的表达率[n,(%)]

病变组织学类型	n	Survivin		VEGF	
		—	+	—	+
浸润性导管癌	128	42(32.8)	86(67.2)*□△	40(31.2)	88(68.8)*□△
导管原位癌	89	36(40.4)	53(59.6)*△#	49(55.1)	40(44.9)*△#
非典型导管增生	57	24(42.1)	33(57.9)*□#	36(63.2)	21(36.8)*□#
普通型导管增生	60	59(98.3)	1(1.7)*	48(80.0)	12(20.0)*

注: * 与普通型导管增生组比较, $P<0.05$; Survivin 在乳腺浸润性导管癌组($\chi^2=70.540, P=0.000$)、乳腺导管原位癌组($\chi^2=51.967, P=0.000$)和乳腺非典型导管增生组($\chi^2=42.829, P=0.000$)中的表达差异均有统计学意义; VEGF 的表达乳腺浸润性导管癌($\chi^2=38.993, P=0.000$)、乳腺导管原位癌($\chi^2=9.815, P=0.002$)和乳腺非典型导管增生($\chi^2=4.095, P=0.043$)中的表达差异均有统计学意义。

□ 浸润性导管癌组与非典型导管增生组比较, Survivin 的表达差异($\chi^2=1.484, P=0.223$)无统计学意义($P>0.05$), 而 VEGF 表达差异($\chi^2=16.589, P=0.000$)有统计学意义。

△ 浸润性导管癌组与导管原位癌组比较, Survivin 的表达差异($\chi^2=1.330, P=0.249$)无统计学意义($P>0.05$); VEGF 表达差异($\chi^2=12.298, P=0.001$)有统计学意义。

导管原位癌组与非典型导管增生组比较, Survivin($\chi^2=0.039, P=0.0843$)和 VEGF($\chi^2=0.938, P=0.333$)的表达差异均无统计学意义。

2.2 乳腺癌 Survivin 和 VEGF 的表达及与临床病理因素的关系

Survivin 和 VEGF 在乳腺癌不同组织学分级(I+ II 级与 III 级)、有与无淋巴结转移、有与无远处转移及不同分期(I+ II 期与 III+ IV 期)组间比较, 差异有统计学意义($P<0.05$); 而在不同年龄(≤ 50 岁与 >50)、肿瘤大小($\leq 5\text{cm}$ 与 $>5\text{cm}$)组间比较无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.3 乳腺癌 Survivin 和 VEGF 表达的相关性

Survivin 和 VEGF 表达在乳腺癌组中表达率的差异无统计学意义($P=0.880$), Survivin 和 VEGF 在乳腺癌中的表达呈正相关($r=0.211$), 一致性检验有统计学意义($P=0.017$), 但一致性较

差(Kappa 值为 $0.211<0.4$)。见表 3。

表 2 Survivin 和 VEGF 的表达与乳腺癌临床病理因素的关系(n, %)

临床病理因素	n	Survivin				VEGF			
		+	阳性率	χ^2	P	+	阳性率	χ^2	P
年龄(岁)									
≤50	60	40	58.8	0.014	0.906	42	70.0	0.082	0.774
>50	68	46				46	67.6		
肿瘤大小(cm)									
≤5	109	70	64.2	2.933	0.087	73	67.0	1.080	0.299
>5	19	16	84.2			15	78.9		
组织学分级									
I+ II	96	57	59.4	10.631	0.001	58	60.4	12.412	0.001
III	32	29	90.6			30	93.8		
淋巴转移									
有	83	63	75.9	8.135	0.004	64	77.1	7.677	0.006
无	45	23	51.1			24	53.3		
远处转移									
有	37	35	94.6	17.732	0.000	32	86.5	7.621	0.006
无	91	51	56.0			56	61.5		
分期									
I+ II	67	38	56.7	6.992	0.008	34	50.7	21.211	0.000
III+ IV	61	48	78.7			54	88.5		

表 3 乳腺浸润性导管癌中 Survivin 和 VEGF 表达的相关性

VEGF	n	Survivin		r	P
		—	+		
—	40	19	21	0.211	0.017
+	88	23	65		

3 讨论

乳腺导管内增生性病变发展为浸润癌的风险各不相同, 普通型导管增生是正常人的 1.5 倍, 非典型导管增生为 3~5 倍, 导管原位癌为 8~10 倍^[2]; 普通型导管增生是乳腺癌危险因素, 而非典型导管增生和导管原位癌则是真正的癌前驱病变^[2]。乳腺癌及癌前病变早期症状隐匿, 近年来免疫表型和分子遗传学推动了乳腺肿瘤性导管内增生性病变研究的深入和预后判断的准确性^[2]。

Survivin 是凋亡抑制因子, 具有抑制凋亡、调节细胞分裂的双重功能, 在人原始胚胎、胎儿和胃癌等肿瘤组织中高表达, 而在分化成熟的组织中

不表达或低表达^[7-8]。本组实验表明,乳腺浸润性导管癌、导管原位癌、非典型导管增生中 Survivin 高表达,明显高于普通型导管增生($P < 0.05$),浸润性导管癌、导管原位癌及非典型导管增生组间两两比较, Survivin 的表达无明显差异($P > 0.05$),说明 Survivin 在肿瘤性增生的早期就发生了改变,参与了乳腺癌变。Survivin 在浸润性导管癌高表达,与组织学分级、淋巴结及远处脏器转移、肿瘤分期呈正相关($P < 0.05$),提示 Survivin 的高表达与乳腺癌的发展、不良生物学行为正相关。本组 Survivin 在浸润性导管癌大部分为细胞质表达,少部分呈细胞质和细胞核表达,文献见类似报道^[7-8],正常乳腺组织中仅有微量的 Survivin 蛋白表达,而在大部分乳腺癌组织中均能检测到 Survivin 表达, Survivin 在良性病变中主要在细胞质中表达,乳腺癌则在细胞质和细胞核也有表达, Survivin 细胞核表达情况有望成为评价乳腺肿瘤恶性程度的生物学指标^[7-8]。Jha 等报道乳腺癌免疫组织化学 Survivin 表达率约 65.3%,而 RT-PCR 中 Survivin 高达 93.6%有 mRNA 高表达, RT-PCR 法 Survivin 检测有望成为乳腺癌早期诊断的潜在指标,甚至是转移的早期诊断指标^[7-8]。Survivin 高表达抑制乳腺正常细胞凋亡,从而导致细胞的异常增生和恶性转化, Survivin 在肿瘤细胞中表达越强,其对癌细胞凋亡的抑制能力越强,癌细胞的生存能力和肿瘤的恶性程度也随之增高,癌细胞更容易侵袭周围组织而发生转移,表明 Survivin 高表达是乳腺癌预后不良的标志。

肿瘤新生血管生成促进了肿瘤的生长、侵袭和转移^[9]。VEGF 与 PDGF 同源,促进细胞有丝分裂,诱导毛细血管芽新生,增加微血管通透性,参与肿瘤细胞浸润、迁移,促进细胞移行和抑制凋亡。本组 VEGF 在浸润性导管癌中的阳性表达高于导管原位癌、非典型导管增生和普通型导管增生;浸润性导管癌与导管原位癌、非典型导管增生比较,差异均有统计学意义,而导管原位癌和非典型导管增生比较, VEGF 的表达差异无统计学意义。Survivin 和 VEGF 的表达与组织学分级、淋巴结及远处转移、肿瘤分期呈正相关,提示 VEGF 高表达可能与乳腺癌的发生、侵袭转移不良生物学行为有

关,高表达可作为判断乳腺癌肿瘤血管形成、侵袭转移及预后的一项指标。

恶性肿瘤发生、发展和转移的各阶段,至少有 2 个或 2 个以上功能不同异常激活的基因各自作用,促进细胞癌变,共同增强肿瘤侵袭和转移能力。在乳腺癌中表达一致性检验有统计学意义($P = 0.017 < 0.05$),二者表达正相关,说明两者间可能是通过协同作用来促进肿瘤的发生、发展,共同参与乳腺癌的发生、发展和淋巴结及远处转移,但 Survivin 和 VEGF 在乳腺癌中表达一致性检验 Kappa 值仅为 0.211, $Kappa < 0.4$,表明 Survivin 和 VEGF 两者在乳腺癌中表达一致性较差。Survivin 和 VEGF 可作为乳腺癌判断生物学行为和预后的指标。

参考文献:

- [1] Wang G, Qin Y, Zhang J, et al. Nipple Discharge of CA15-3, CA125, CEA and TSGF as a New Biomarker Panel for Breast Cancer[J]. Int. J. Mol. Sci, 2014, 15(6): 9546-9565.
- [2] Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, et al. WHO classification of tumours of the breast[M]. Lyon, France: IARC Press, 2012: 1-73.
- [3] Wang G, Zhang H, Zhang Z, et al. Clinical and pathological characteristics of intraductal proliferative lesions and coexist with invasive ductal carcinomas[J]. Chinese-German J Clin Oncol, 2013, 12(12): 574-580.
- [4] 孔灵玲, 崔文, 王旭, 等. 家族性乳腺癌患者 BRCA1 基因序列突变分析[J]. 济宁医学院学报, 2011, 34(2): 96-98.
- [5] Aggarwal A, Al-Rohil RN, Batra A, et al. Expression of integrin $\alpha 3 \beta 1$ and cyclooxygenase-2 (COX2) are positively correlated in human breast cancer[J]. BMC Cancer, 2014, 14: 459-460.
- [6] 李鹏, 乔森. 乳腺癌组织 CK5/6 HIF-1 α 的表达及临床意义[J]. 济宁医学院学报, 2013, 36(3): 188-191.
- [7] Jha K, Shukla M, Pandey M. Survivin expression and targeting in breast cancer[J]. Surg Oncol, 2012, 21(2): 125-131.
- [8] Adamkov M, Halasova E, Kajo K, et al. Survivin: a promising biomarker in breast carcinoma[J]. Neoplasma, 2010, 57(6): 572-577.
- [9] Wang GP, Qin MH, Liang YA, et al. The significance of biomarkers in nipple discharge and serum in diagnosis of breast cancer. In: Xie L, Huang DJ, eds. Advanced Engineering and Technology 2014; CRC Press: 665-671.

(收稿日期 2015-06-15)