

# 血管内皮生长因子在乳腺癌中的表达及与分子分型的关系

袁媛<sup>1</sup>, 范宏娟<sup>2</sup>, 于增荣<sup>1</sup>, 施慧<sup>1</sup>

**[摘要]** **目的:**检测血管内皮生长因子(VEGF)在乳腺癌中的表达情况,探讨其与乳腺癌临床病理参数及分子分型之间的关系。**方法:**采用免疫组织化学法检测乳腺癌标本中 VEGF、雌激素受体、孕激素受体、人表皮生长因子受体 2(Her-2)及增殖细胞核抗原 67 的表达情况。对 Her-2(2+)的组织进行荧光原位杂交检测。根据雌激素受体、孕激素受体、Her-2 及增殖细胞核抗原 67 的表达情况,将乳腺癌标本分为 4 个亚型,检测 VEGF 在各分子亚型中的表达情况。**结果:**VEGF 在乳腺癌组织中的阳性率显著高于良性病变组及癌旁组织( $P < 0.01$ )。VEGF 在淋巴结转移者中的阳性率高于无淋巴结转移者( $P < 0.05$ )。VEGF 的阳性率均随着组织学分级、临床分期的升高而升高( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ )。在不同乳腺癌分子亚型中,Basal-like 型乳腺癌组织中 VEGF 的阳性率高于 Luminal A 型( $P < 0.05$ )。**结论:**VEGF 参与乳腺癌的发生、发展及浸润转移过程,有可能成为指导临床治疗的重要靶向指标之一。将乳腺癌中 VEGF 的表达情况与乳腺癌分子分型相互结合,有助于肿瘤恶性程度及预后的判断,有可能成为指导分子分型的又一重要指标。

**[关键词]** 乳腺肿瘤;血管内皮生长因子;免疫组织化学;荧光原位杂交;分子分型

**[中国图书资料分类法分类号]** R 737.9 **[文献标志码]** A

## The expression of vasculoar endothelial growth factor and its relationship with molecular subtype in breast cancer

YUAN Yuan<sup>1</sup>, FAN Hong-juan<sup>2</sup>, YU Zeng-rong<sup>1</sup>, SHI Hui<sup>1</sup>

(1. Department of General Surgery, The Maternity and Child Care Hospital of Tangshan,

Tangshan Hebei 063000; 2. Department of Emergency, The People's Hospital of Jiexiu, Jiexiu Shanxi 032000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To detect the expression of vasculoar endothelial growth factor(VEGF) and investigate its relationship between clinicopathological features and molecular subtypes in breast cancer. **Methods:** The expressions of VEGF, estrogen receptor, progesterone receptor, human epidermal growth factor receptor 2 (Her-2) and nuclear associated antigen-67 in breast cancer were detected by immunohistochemical method. The Her-2 gene level was measured by fluorescence in situ hybridization. The breast cancers were divided into four molecular subtypes according to the expression levels of estrogen receptor, progesterone receptor, Her-2 and nuclear associated antigen-67, the expression of VEGF in different subtypes was measured. **Results:** The positive rate of VEGF expression in breast cancer tissue was significantly higher than that in benign lesion tissue and para-carcinoma tissue ( $P < 0.01$ ). The positive rate of VEGF expression in breast cancer tissue with lymph node metastasis was significantly higher than that in breast cancer tissue without lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). The positive rate of VEGF expression increased with the increasing of histological grade and clinical stage ( $P < 0.05$  to  $P < 0.01$ ). The positive rate of VEGF expression in type Basal-like was higher than that in type Luminal A ( $P < 0.05$ ). **Conclusions:** VEGF involves the process of occurrence, development and metastasis of breast cancer, which maybe an important index in guiding clinical treatment. Combining the expression of VEGF with molecular subtype of breast cancer can contribute to judge the malignant degree and prognosis of tumor, which maybe another important index in guiding molecular subtype.

**[Key words]** breast neoplasms; vasculoar endothelial growth factor; immunohistochemical; fluorescence in situ hybridization; molecular subtype

乳腺癌的发病率逐年上升,严重威胁着女性的生命健康。随着对乳腺癌研究的不断深入,根据乳腺癌分子标志物的不同,研究者<sup>[1]</sup>将乳腺癌分为 4 个分子亚型,不同分子亚型的生物学特性及预后不同,为乳腺癌预后的判断及个体化治疗提供了重要

依据。乳腺癌是血管依赖性疾病,早期即可发生转移,因此,与乳腺癌浸润转移的相关因子成为研究重点。血管内皮生长因子(VEGF)是一类亲肝素的蛋白多肽家族,是肿瘤血管生成的重要调节因素之一,能促进肿瘤新生血管的形成,向肿瘤提供丰富的营养,同时也向机体输送肿瘤细胞,导致全身扩散。本研究通过免疫组织化学(免疫组化)染色法检测 VEGF 在乳腺癌组织及不同分子分型中的表达情况,分析其在乳腺癌发生、发展、转移过程中的作用,

**[收稿日期]** 2013-08-05

**[作者单位]** 1. 河北省唐山市妇幼保健院 普外科,063000; 2. 山西省介休市人民医院 急诊科,032000

**[作者简介]** 袁媛(1979-),女,主治医师。

探讨 VEGF 表达对乳腺癌亚型的诊断及治疗价值。

## 1 材料与方法

1.1 组织标本来源 收集河北省唐山市妇幼保健院 2009 年 6 月至 2011 年 10 月 92 例乳腺浸润性导管癌(乳腺癌组织组)、35 例乳腺良性病变(乳腺良性病变组)及 22 例癌旁乳腺组织蜡块(癌旁组织组)。所有病例均具有完整的临床及病理资料。

1.2 主要试剂 实验所用兔抗人 VEGF 单克隆抗体购自北京中山金桥生有限公司。雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、人表皮生长因子受体 2(Her-2)及增殖细胞核抗原-67(Ki-67)单克隆抗体均购自福州迈新生物技术开发有限公司。GLP Her-2/CSP17 探针等荧光原位杂交(FISH)试剂购自北京金菩嘉医疗科技有限公司。

1.3 方法 石蜡标本连续切片,采用 Envision 免疫组化法进行染色,免疫组化步骤严格按照试剂说明书进行。以 PBS 代替一抗做阴性对照。

1.4 结果判定 (1)VEGF、ER、PR、Her-2 的判定:随机观察计数 10 个高倍视野的阳性肿瘤细胞数,平均每高倍视野的阳性细胞数  $\geq 15\%$  即判断为阳性。对于 Her-2(2+)的组织进行 FISH 检测(结果根据 Ratio 值即 30 个细胞核中 Her-2 基因杂交的红信号总数/30 个细胞核中 CSP17 绿信号总数的大小进行评判)。(2)Ki-67 的判定:细胞核染色百分比  $< 14\%$  为低表达。(3)分子分型采用 Park 等<sup>[1]</sup>分型法:Luminal A 型(ER+或 PR+、Her-2-、Ki-67  $< 14\%$ );Luminal B 型(ER+或 PR+、Her-2-、Ki-67  $\geq 14\%$ ,或者 ER+或 PR+、Her-2+、Ki-67 不限);Her-2 过表达型(ER-、PR-、Her-2+、Ki-67 不限);Basal-like 型(ER-、PR-、Her-2-、Ki-67 不限)。

1.5 统计学方法 采用  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

2.1 不同乳腺组织中 VEGF 表达比较 VEGF 表达于细胞质中,乳腺癌组织组阳性率均明显高于乳腺良性病变组及癌旁组织组( $P < 0.01$ ),而在后两者中的阳性率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(见表 1)。

2.2 乳腺癌临床病理参数与 VEGF 表达 在不同年龄及肿瘤大小的乳腺癌组织中,VEGF 的阳性率差异均无统计学意义( $P > 0.05$ );淋巴结转移阳性者 VEGF 的阳性率高于淋巴结转移阴性者( $P < 0.$

05);组织学分级中 III 级(低分化)患者和临床分期 III ~ IV 期患者 VEGF 阳性率均高于 I 级(高分化)、II 级(中分化)和临床分期 I ~ II 期患者( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ )(见表 2)。

表 1 3 组组织中 VEGF 表达情况

| 分组      | n   | VEGF 表达 |         | $\chi^2$ | P     |
|---------|-----|---------|---------|----------|-------|
|         |     | 阳性      | 阳性率/%   |          |       |
| 乳腺癌组织组  | 92  | 58      | 63.04   |          |       |
| 乳腺良性病变组 | 35  | 4       | 11.43** | 42.74    | <0.01 |
| 癌旁组织组   | 22  | 1       | 4.55**  |          |       |
| 合计      | 149 | 63      | 42.28   |          |       |

率的两两比较:与乳腺癌组织组比较 \*\* $P < 0.01$

表 2 乳腺癌临床病理参数与 VEGF 表达的关系(n)

| 临床病理学参数  | n  | VEGF 表达 |                      | $\chi^2$ | P     |
|----------|----|---------|----------------------|----------|-------|
|          |    | 阳性      | 阳性率/%                |          |       |
| 年龄/岁     |    |         |                      |          |       |
| ≤50      | 36 | 22      | 61.11                | 0.09     | >0.05 |
| >50      | 56 | 36      | 64.29                |          |       |
| 肿瘤大小/cm  |    |         |                      |          |       |
| ≤2       | 28 | 18      | 64.29                | 0.05     | >0.05 |
| 2~≤5     | 46 | 29      | 63.04                |          |       |
| >5       | 18 | 11      | 61.11                |          |       |
| 组织学分级    |    |         |                      |          |       |
| I 级      | 20 | 7       | 35.00                | 12.48    | <0.01 |
| II 级     | 53 | 34      | 64.15                |          |       |
| III 级    | 19 | 17      | 89.47** <sub>△</sub> |          |       |
| 淋巴结转移    |    |         |                      |          |       |
| 阳性       | 35 | 27      | 77.14                | 4.82     | <0.05 |
| 阴性       | 57 | 31      | 54.39                |          |       |
| TNM 临床分期 |    |         |                      |          |       |
| I ~ II   | 52 | 28      | 53.85                | 4.37     | <0.05 |
| III ~ IV | 40 | 30      | 75.00                |          |       |

率的两两比较:与 I 级比较 \*\* $P < 0.01$ ;与 II 级比较  $\Delta P < 0.05$

2.3 乳腺癌分子亚型与 VEGF 表达的关系 在乳腺癌不同分子亚型中 VEGF 的阳性率不同,在 Basal-like 型中 VEGF 的阳性率高于 Luminal A 型( $P < 0.05$ )(见表 3)。

表 3 不同乳腺癌分子亚型中 VEGF 的表达比较(n)

| 分子亚型         | n  | VEGF 表达 |        | $\chi^2$ | P     |
|--------------|----|---------|--------|----------|-------|
|              |    | 阳性      | 阳性率/%  |          |       |
| Luminal A 型  | 37 | 19      | 51.35  |          |       |
| Luminal B 型  | 23 | 12      | 52.17  |          |       |
| Her-2 过表达型   | 17 | 14      | 82.35  | 9.65     | <0.05 |
| Basal-like 型 | 15 | 13      | 86.67* |          |       |
| 合计           | 92 | 58      | 63.04  |          |       |

率的两两比较:与 Luminal A 型比较 \* $P < 0.05$

### 3 讨论

血管生成是肿瘤生长过程中的一个重要标志,在肿瘤存活、生长、浸润中具有重要作用。VEGF 在肿瘤生长的早期即出现表达并伴随肿瘤生长的全过程,是肿瘤血管生成中的主要调控因子<sup>[2]</sup>。Vidaurreta 等<sup>[3]</sup>研究发现,VEGF 能增加微小静脉的通透性,导致纤维蛋白原和血浆蛋白外渗,为肿瘤的浸润转移提供基础,有可能成为乳腺癌预后因子。VEGF 能够促进血管内皮细胞增殖,诱导内皮细胞降解细胞外基质,介导其迁移和浸润,与肿瘤的生长和转移密切相关<sup>[4]</sup>。VEGF 在甲状腺癌、胃癌、卵巢癌、结肠癌等恶性肿瘤中均有高表达,表达水平的高低也与转移程度和预后呈一定相关性。张帅等<sup>[5]</sup>对 71 例甲状腺癌组织进行研究,发现 VEGF 在甲状腺癌组织中呈高表达,且在淋巴结转移组中的阳性率高于未发生转移者。黄宗明等<sup>[6]</sup>研究发现,胃癌组织中 VEGF 的表达与胃癌细胞分化、浸润和转移有着密切关系,VEGF 过表达提示胃癌患者预后差。本研究结果显示,乳腺癌组织组中 VEGF 表达水平明显高于良性病变组,提示乳腺癌组织中血管活性强度增高,存在更多的 VEGF,这对于临床良恶性疾病的鉴别具有一定意义,并且结果显示淋巴结转移者乳腺癌 VEGF 的表达水平高于无淋巴结转移者 ( $P < 0.05$ ),与国内研究<sup>[7-8]</sup>结果一致。这说明 VEGF 表达增高有利于乳腺癌细胞发生淋巴结转移,可能促进肿瘤血管内皮细胞增殖,导致肿瘤血管数量增加,为乳腺癌细胞的转移提供通道,并可以作为临床预后的评估参数之一。根据肿瘤细胞 VEGF 的表达情况,以 VEGF 为靶点的治疗药物贝伐单抗已被美国食品药品监督管理局批准,用于治疗晚期乳腺癌,给一部分患者带来了生存获益<sup>[9]</sup>。

乳腺癌是一组异质性疾病,临床分期和病理类型都相同的乳腺癌患者,由于分子水平上的高度异质性,导致肿瘤对于治疗的反应及预后有很大差别<sup>[10]</sup>。Perou 等<sup>[11]</sup>于 2000 年通过基因表达谱的研究提出了乳腺癌的分子分型,后经研究者<sup>[12]</sup>进一步研究提出了以免疫组化为基础的分子分型,其结果与基因表达谱的分型大致相近。Goldhirsch 等<sup>[13]</sup>采用 Ki-67 相关分子分型法进行分型,即根据 ER、PR、Her-2、Ki-67 4 种标志物进行分型,包括 Luminal A 型、Luminal B 型、Her-2 过表达型及 Basal-like 型 4 个亚型。通过研究<sup>[14]</sup>显示 Luminal A 型、Luminal B 型乳腺癌患者预后较好,Her-2 过表达型和 Basal-

like 型者预后最差。新的分子分型法更强调 Ki-67 检测的质量,但由于各级医院检测者技术、检测试剂不同,临床上仅用单一指标作为判断依据受到一定限制。故我们将 VEGF 作为研究对象,希望对 Ki-67 相关分子分型法进行补充,采用免疫组化法将乳腺癌组织分为 4 个亚型,结果发现 VEGF 在乳腺癌不同分子亚型中的表达不同。在预后较差的 Basal-like 型乳腺癌组织中 VEGF 的阳性率高于 Luminal A 型 ( $P < 0.05$ )。本研究结果显示,将 VEGF 在乳腺癌组织中的表达情况与分子亚型相结合,有助于肿瘤恶性程度及预后的判断,VEGF 在各分子亚型中的不同表达提示其有可能成为指导分子分型的又一重要指标。Basal-like 型乳腺癌预后差,目前缺乏针对性治疗。本研究中 Basal-like 型的 VEGF 阳性率高达 86.67%,可能是部分三阴性乳腺癌的潜在治疗靶点。

### [ 参 考 文 献 ]

- [1] Park S, Koo JS, Kim MS, *et al.* Characteristics and outcomes according to molecular subtypes of breast cancer as classified by a panel of four biomarkers using immunohistochemistry [J]. *Breast*, 2012, 21 (1): 50 - 57.
- [2] Tonra JR, Hicklin DJ. Targeting the vascular endothelial growth factor pathway in the treatment of human malignancy [J]. *Immunol Invest*, 2007, 36 (1): 3 - 23.
- [3] Vidaurreta M, Sdnchez-Munoz R, Veganzones S, *et al.* Vascular endothelial Smwth factor gene polymorphisms in patients with colorectal cancer [J]. *Rev Esp Enferm Dig*, 2010, 102 (1): 20 - 31.
- [4] 潘晓莉,熊枝繁. 胃癌组织 Id-1 和 VEGF 表达及其临床意义的探讨 [J]. *中华肿瘤防治*, 2011, 18 (5): 345 - 347.
- [5] 张帅,沈梁,谷维立,等. VEGF、COX-2 在甲状腺癌中的表达及临床意义 [J]. *医学研究杂志*, 2012, 41 (2): 147 - 150.
- [6] 黄宗明,余英豪,于媛媛,等. 胃癌组织 CD44v6、VEGF、PTNE 的表达与临床意义 [J]. *临床误诊误治*, 2012, 25 (3): 39 - 42.
- [7] 罗彬,秦秦,王旭东. 肺癌 MMP-9 和 VEGF 表达与微血管密度的关系及意义 [J]. *现代预防医学*, 2011, 38 (6): 1338 - 1345.
- [8] 黄柏强,贺勇,郝秀静,等. 乳腺癌及癌旁组织中 VEGF 及 survivin-2BmRNA 的表达意义 [J]. *第四军医大学学报*, 2008, 29 (16): 1479-1481.
- [9] Bossung V, Harbeck N. Angiogenesis inhibitors in the management of breast cancer [J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2010, 22 (1): 79 - 86.
- [10] 朱美琴,滕小玉,姜文奇. 乳腺癌病人血清 Her-2 检测及其临床意义 [J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2007, 28 (6): 678 - 682.
- [11] Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, *et al.* Molecular portraits of human-breast tumours [J]. *Nature*, 2000, 406 (6797): 747 - 775.

# Narcotrend 用于全麻手术期间麻醉深度监测的临床评价

徐忠厚, 郑立东, 李家宽

**[摘要]** **目的:** 评价 Narcotrend 麻醉深度监测仪 (NT) 用于气管内静吸复合麻醉准确性及实用性。 **方法:** ASA 分级 I 或 II 级患者 40 例, 随机均分为 2 组。观察组, 以 NT 监测数据判断麻醉深度并调整用药; 对照组, 麻醉医师根据临床经验判断麻醉深度并调整用药。常规监测平均动脉压 (MAP)、心电图 (ECG)、心率 (HR) 等, 计算用药总量, 记录苏醒时间。 **结果:** 观察组在切皮 ( $T_4$ )、术中 ( $T_5$ )、术毕 ( $T_6$ )、出室 ( $T_7$ ) 的 MAP 和 HR 与对照组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ), 观察组在  $T_4$ 、 $T_6$ 、 $T_7$  的 NT 指数与对照组差异均有统计学意义 ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ), 对照组在  $T_6$ 、 $T_7$  的 NT 指数与基础值 ( $T_1$ ) 差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$  和  $P < 0.05$ ); 2 组患者丙泊酚、舒芬太尼和七氟烷用量差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 咪达唑仑用量差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 观察组的苏醒时间和拔管时间均短于对照组 ( $P < 0.05$ ); 观察组无一例发生术中知晓, 对照组有 1 例发生术中知晓。 **结论:** NT 能较好地反映全麻手术患者镇静深度变化, 有助于判断全麻深度, 指导个体化麻醉用药, 提高麻醉质量。

**[关键词]** 麻醉, 全身; 麻醉深度; Narcotrend 监测仪

**[中国图书资料分类法分类号]** R 614.2 **[文献标志码]** A

## The application of Narcotrend in the monitoring of general anesthesia

XU Zhong-hou, ZHEN Li-dong, LI Jia-kuan

(Department of Anesthesiology, The People's Hospital of Lu'an, Lu'an Anhui 237005, China)

**[Abstract]** **Objective:** To evaluate the accuracy and practicability of Narcotrend (NT) in the monitoring of general anesthesia. **Methods:** Forty patients with grade I - II ASA were randomly divided into the observation group and control group (20 cases each group). The drug in observation group was adjusted according to the anesthetic depth detected by NT, the drug in control group was adjusted according to the clinical experience. The levels of MAP, ECG and HR were observed, the drug use and awakening time were recorded. **Results:** The differences of MAP and HR on the time-point of skin incision ( $T_4$ ), operating ( $T_5$ ), end of surgery ( $T_6$ ) and going out the operation room ( $T_7$ ) between observation group and control group were statistically significant ( $P < 0.05$  to  $P < 0.01$ ). The differences of NT index on the time-point of  $T_4$ ,  $T_6$  and  $T_7$  between observation group and control group were statistically significant ( $P < 0.05$  to  $P < 0.01$ ), the differences of NT index between  $T_6$  &  $T_7$  time-point and  $T_1$  in control group were statistically significant ( $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ ). The differences of the dosage of propofol, sufentanil and sevoflurane between two groups were statistically significant ( $P < 0.01$ ), for the dosage of midazolam, it was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). The awakening and extubation time in observation group were shorter than those in control group ( $P < 0.05$ ). No awareness case in observation group and 1 awareness case with in control group during operation were observed. **Conclusions:** NT can well reflect the sedation depth of general anesthesia, which can help to judge the depth of anesthesia, guide anesthesia drug use and improve the quality of anesthesia.

**[Key words]** anesthesia; anesthetic depth; Narcotrend monitor

现代麻醉技术的发展不仅要满足手术的需要和

保证生命安全, 还要使患者舒适和对伤害性刺激无反应和回忆, 即达到合适深度的麻醉。目前, 大多数全身麻醉深度的判断主要是通过麻醉医生对患者在外科手术刺激时的反应变化来进行主观评估, 难以准确估计患者麻醉状态, 常导致麻醉药用量的不准

[收稿日期] 2013-08-15

[作者单位] 安徽省六安市人民医院 麻醉科, 237005

[作者简介] 徐忠厚(1972 -), 男, 副主任医师。

[12] Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10 (16): 5367 - 5374.

[13] Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, et al. Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the st gallen international expert consensus on the primary therapy of

early breast cancer 2011 [J]. Ann Oncol, 2011, 22 (8): 1736 - 1747.

[14] 王群, 余明华, 王耕, 等. DLL4 和 S100A4 在不同分子亚型乳腺癌组织中的表达及意义 [J]. 中国普外基础与临床杂志, 2012, 19(9): 957 - 961.

(本文编辑 马启)