

乳腺癌组织中 Ang-2 及 VEGF 的表达及意义

雷 杰¹, 费建东¹, 刘振显¹, 薄爱华², 张晓丽², 赵 英²

Expression and Significance of Ang-2 and VEGF in Breast Carcinoma

LEI Jie¹, FEI Jian-dong¹, LIU Zhen-xian¹, BO Ai-hua², ZHANG Xiao-li², ZHAO Ying²

1. Department of General Surgery, The First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China, 2. Department of Electron Microscope

Abstract :Objective To investigate the expression and clinical significance of Ang-2 and VEGF in human breast carcinoma. **Methods** The expression of Ang-2 and VEGF in 85 specimens of breast carcinoma and in 42 specimens of fibroadenoma of breast was examined by SABC immunohistochemical method, and the relationship between these two factors and the clinicopathological factors was evaluated. **Results** The positive rate of Ang-2 in breast carcinoma (68.24%, 58/85) was significantly higher than that in fibroadenoma of breast (7.14%, 3/42) ($P < 0.0001$), and the positive rate of VEGF in breast carcinoma (57.65%, 49/85) was significantly higher than that in fibroadenoma of breast (4.76%, 2/42) ($P < 0.0001$), too. The expression of Ang-2 and VEGF were not associated with patient age and tumor size ($P > 0.05$). The positive rate of VEGF in group of stage and lymph node-positive were significantly higher than that in group of stage and lymph node-negative respectively ($P < 0.0001$). The positive rate of Ang-2 in group of stage and was significantly higher than that in group of stage and ($P = 0.015$). The positive rate of Ang-2 in group of lymph node-positive was significantly higher than that in group of lymph node-negative ($P < 0.0001$). There was a significantly correlation between the expression of Ang-2 and VEGF. **Conclusion** There was an abnormal expression of Ang-2 and VEGF in breast carcinoma, these two factors were associated with the prognosis of patients.

Key words :Breast carcinoma; Ang-2; VEGF; Immunohistochemical method

摘 要:目的 研究乳腺癌组织中血管生成素(Ang-2)和血管内皮细胞生长因子(VEGF)的表达及临床意义。**方法** 采用免疫组织化学 SABC 法,检测 85 例乳腺癌及 42 例乳腺纤维腺瘤组织中 Ang-2 及 VEGF 的表达情况,并评价两指标与乳腺癌临床病理学因素之间的关系。**结果** 乳腺癌组织中 Ang-2 阳性率(68.24%, 58/85)明显高于乳腺纤维腺瘤(7.14%, 3/42) ($P < 0.0001$),乳腺癌组织中 VEGF 阳性率(57.65%, 49/85)也明显高于乳腺纤维腺瘤(4.76%, 2/42) ($P < 0.0001$)。Ang-2 和 VEGF 表达与患者年龄及肿瘤大小无明显关系($P > 0.05$)。、期乳腺癌和淋巴结转移阳性组的 VEGF 表达阳性率明显高于、期乳腺癌和淋巴结转移阴性组($P < 0.0001$)。、期乳腺癌组的 Ang-2 表达阳性率高于、期乳腺癌组($P = 0.015$)。淋巴结转移阳性组的 Ang-2 阳性率明显高于淋巴结转移阴性组($P < 0.0001$)。Ang-2 和 VEGF 两指标的表达具有相关性($P < 0.05$)。**结论** 乳腺癌组织中 Ang-2 及 VEGF 有异常表达,与乳腺癌的预后有关。

关键词:乳腺癌;血管生成素-2;血管内皮细胞生长因子;免疫组织化学方法

中图分类号:R737.9 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2008)04-0263-03

0 引言

血管生成素(angiotensin, Ang)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)为目前已知的两个作用于血管内皮细胞的血管生成促进因子,在肿瘤的血管生成及发展中起着重要的作用^[1]。我们应用免疫组化技术检测

Ang-2 和 VEGF 在乳腺癌组织中的表达,并评价两因子与临床病理学特征的关系。

1 资料和方法

1.1 临床资料

收集我院 2004 年 9 月~2006 年 12 月间手术治疗、资料完整的乳腺癌病例 85 例,全部病例术前均未行放疗和化疗。患者均为女性,年龄 32~74 岁,平均年龄 50.80 岁,中位年龄 51 岁。有腋窝淋巴结转移者 48 例,无淋巴结转移者 37 例;临床分期 I 期 18 例, II 期 51 例, III 期 15 例, IV 期 1 例。乳腺纤

收稿日期:2007-06-13;修回日期:2007-07-25

作者单位:1. 075000 河北张家口,河北北方学院附属第一医院普外科,2. 实验中心电镜室

作者简介:雷杰(1967-),男,硕士,副主任医师,主要从事乳腺癌的基础及临床研究

纤维瘤 42 例,均为同期手术治疗病例。

1.2 主要试剂

兔抗人 Ang-2 和 VEGF 多克隆抗体及 SABC 免疫组织化学试剂盒均购自武汉博士德生物有限公司,DAB 显色剂购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 方法

收集相应病例的存档蜡块,行 5 μm 厚连续切片,取 1 张行 HE 染色,其余行免疫组化 SABC 方法染色。操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。每次实验均以公司提供的阳性片作阳性对照,以 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.4 结果判断

以胞浆呈棕黄色为阳性细胞。在光镜下计数 10 个高倍视野(×400),平均阳性细胞数 ≥10 %判断为阳性病例,< 10 %为阴性病例。

1.5 统计学方法

应用 SAS 8.0 软件行统计学分析,采用 χ^2 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 Ang-2 和 VEGF 在乳腺癌组织及纤维腺瘤中的表达

乳腺纤维腺瘤和乳腺癌组织中 Ang-2 阳性率分别为 7.14 % (3/42) 和 68.24 % (58/85),两组比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 42.0313, P < 0.0001$)。乳腺纤维腺瘤和乳腺癌组织中 VEGF 阳性率分别为 4.76 % (2/42) 和 57.65 % (49/85),两组比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 32.7157, P < 0.0001$)。

2.2 Ang-2 和 VEGF 在乳腺癌组织中的表达与乳腺癌生物学特征的关系

见表 1。

2.3 Ang-2 和 VEGF 在乳腺癌组织中表达的相关性

Ang-2 和 VEGF 均表达阳性者 45 例,Ang-2 和 VEGF 均表达阴性者 23 例,Ang-2 表达阳性而 VEGF 表达阴性者 13 例,Ang-2 表达阴性而 VEGF 表达阳性者 4 例。经卡方检验差异有统计学意义 ($\chi^2 = 29.3883, P < 0.0001$)。

3 讨论

实体瘤的生长、侵袭和转移离不开新生血管,肿瘤新生血管的存在不但为肿瘤生长提供了营养物质,带走代谢产物,还为肿瘤细胞的浸润及转移提供了通道^[2]。肿瘤血管的形成受多种因素的调控,其中血管生成素(Ang)和血管内皮细胞生长因子(VEGF)与肿瘤血管的生成密切相关。

血管生成素是近年来发现的重要血管生成调控因子,其家族成员 Ang-1 和 Ang-2 的共同受体是 Tie-2(酪氨酸激酶受体-2)。Ang-1 促进血管内皮细胞出芽,促进血管重塑、成熟,维持血管的完整性,起稳定血管的作用。而 Ang-2 的功能主要是通过竞争性抑制 Ang-1 与受体 Tie-2 结合,使血管内皮细胞同周围的支持细胞发生解离,形成不稳定渗漏性的血管,从而促进肿瘤血管的重构与形成,为肿瘤细胞的浸润及转移提供了通道。与 Ang-1 相比,Ang-2 与肿瘤血管的生长、侵蚀能力关系更密切^[3]。

血管内皮细胞生长因子是另一个重要的促血管生成因子,它是一个高度特异的血管内皮细胞有丝分裂原,对血管内皮细胞有强烈的促分裂和趋化作用,能特异地刺激内皮细胞增殖,还具有促血管通透性作用,为血管内皮细胞的迁移和肿瘤细胞的转移

表 1 Ang-2 和 VEGF 在乳腺癌组织中的表达与乳腺癌生物学特征的关系

Tab 1 Relationship between biological feature of breast carcinoma and expression of Ang-2 and VEGF in breast carcinoma									
Biological feature	Total	Ang-2 (+)				VEGF (+)			
		n	%	χ^2	P	n	%	χ^2	P
Age									
< 51year	42	29	69.05			24	57.14		
≥51year	43	29	67.44	0.0253	0.8737	25	58.14	0.0086	0.9259
Tumor size									
< 5cm	66	43	65.15			35	53.03		
≥5cm	19	15	78.95	1.2955	0.2550	14	73.68	2.5776	0.1084
Lymph-node status									
+	48	45	93.75			40	88.89		
-	37	13	35.14	33.1196	<0.0001	9	24.32	29.7989	<0.0001
Stage									
+	69	43	62.32			33	47.83		
+	16	15	93.75	5.9199	0.015	16	100	14.4809	<0.0001

提供基质^[4]。

本研究发现,乳腺癌组织中 Ang-2 和 VEGF 的阳性率明显高于乳腺纤维腺瘤 ($P < 0.0001$)。Caine 等^[5]发现乳腺癌病人血浆中 Ang-2 和 VEGF 的表达水平显著升高,Obermair 等^[6]发现乳腺癌的 VEGF 表达明显高于正常乳腺组织及纤维腺瘤,高冬玲等^[7]报道乳腺癌组织中 Ang-2 的表达率显著高于正常乳腺间质组织和乳腺纤维瘤组织。说明良恶性乳腺病变组织的新生血管形成活性有显著差异,提示 Ang-2 和 VEGF 与乳腺病变的良恶性有关,可能成为临床上判断乳腺肿瘤生物学行为的指标之一。

Sfiligoi 等^[8]发现高水平 Ang-2 表达乳腺癌易发生腋淋巴结转移,并具有预后意义。Wang 等^[9]研究发现 Ang-2 表达与胃癌 TNM 分期、淋巴结转移及远处转移显著相关。Gasparini 等^[10]报道肿瘤组织中 VEGF 的异常表达与乳腺癌的预后密切相关。Tsutsui 等^[11]报道 Ang-2 和 VEGF 阳性表达的乳腺癌病人的无病生存时间明显缩短。我们的结果显示,Ⅰ期乳腺癌组的 Ang-2 和 VEGF 阳性表达率明显高于Ⅱ、Ⅲ期乳腺癌组,淋巴结转移阳性组的 Ang-2 和 VEGF 阳性率明显高于淋巴结转移阴性组,提示癌细胞通过产生 Ang-2 和 VEGF 促进微血管形成而使其容易完成淋巴结转移,有重要的预后意义。

我们的实验发现 Ang-2 和 VEGF 两指标的表达具有显著相关性 ($P < 0.05$),与 Tsutsui 等^[11]的结果一致。当 VEGF 存在时,Ang-2 可拮抗 Ang-1 促血管结构稳定的作用,消除血管基底膜和管周细胞对血管形成的限制,并增加内皮细胞对 VEGF 的敏感性,有利于血管出芽和生长。当 VEGF 缺乏时,Ang-2 抑制 Ang-1 则有利于血管的消退^[12,12]。

同时检测乳腺癌组织中 Ang-2 和 VEGF 的表达,选择多靶点拮抗肿瘤血管生成,对乳腺癌的治疗及预后有重要意义。目前,抗 VEGF 抗体 (bevacizumab) 在治疗结直肠转移癌中取得了非凡疗效,这是癌症抗血管新生治疗所取得的重要进步,该药已由美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准用于结直肠转移癌的治疗^[13]。Oliner 等^[14]以 Ang-2 抗体治疗荷瘤小鼠,发现肿瘤血管内皮细胞增生受到抑制,同时肿瘤亦明显缩小。由于 Ang-2 主要存在于肿瘤相

关的组织及成年女性的生殖系统,因此靶向性好,全身副作用小,有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, et al. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation[J]. Nature, 2000, 407 (6801): 242-248.
- [2] Peter CM, Chitra S, Pamel FJ, et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie-2 that disrupts in vivo angiogenesis[J]. Science, 1997, 277 (5322): 55-60.
- [3] 李国灏,杨为民. 血管生成素的作用、表达及其与肿瘤血管生长的关系[J]. 临床外科杂志, 2004, 12(5): 311-313.
- [4] Toi M, Matsumoto T, Bando H. Vascular endothelial growth factor: its prognostic, predictive, and therapeutic implications [J]. Lancet Oncol, 2001, 2(11): 667-673.
- [5] Caine GJ, Blann AD, Stonelake PS, et al. Plasma angiopoietin-1, angiopoietin-2 and Tie-2 in breast and prostate cancer: a comparison with VEGF and Flt-1 [J]. Eur J Clin Invest, 2003, 33(10): 883-890.
- [6] Obermair A, Kucera E, Mayerhofer K, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in human breast cancer: correlation with disease-free survival[J]. Int J Cancer, 1997, 74(4): 455-458.
- [7] 高冬玲,郭克民,张岚,等. 人乳癌组织中血管生成素-2 及其受体 Tie-2 的表达[J]. 郑州大学学报(医学版), 2006, 41(3): 517-519.
- [8] Sfiligoi C, de Luca A, Cascone I, et al. Angiopoietin-2 expression in breast cancer correlates with lymph node invasion and short survival[J]. Int J Cancer, 2003, 103(4): 466-474.
- [9] Wang J, Wu K, Zhang D, et al. Expressions and clinical significances of angiopoietin-1, -2 and Tie2 in human gastric cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 337(1): 386-393.
- [10] Gasparini G. Prognostic value of vascular endothelial growth factor in breast cancer[J]. Oncologist, 2000, 5 (Suppl 1): 37-44.
- [11] Tsutsui S, Inoue H, Yasuda K, et al. Angiopoietin 2 expression in invasive ductal carcinoma of the breast: its relationship to the VEGF expression and microvessel density [J]. Breast Cancer Res Treat, 2006, 98(3): 261-266.
- [12] Holash J, Maisonpierre PC, Compton D, et al. Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF[J]. Science, 1999, 284(5422): 1994-1998.
- [13] Yang JC, Haworth L, Sherry RM, et al. A randomized trial of bevacizumab, an antivascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer[J]. New Engl J Med, 2003, 349(5): 427-434.
- [14] Oliner J, Min H, Leal J, et al. Suppression of angiogenesis and tumor growth by selective inhibition of angiopoietin -2 [J]. Cancer Cell, 2004, 6(5): 507-516.

[编辑:贺文;校对:周永红]