

• 论 著 •

# 三阴性乳腺癌中 COX-2、NF-κB 及 VEGF 表达的临床研究\*

马玲娣,董燕芬,刘 乾,范 静,蒋丽佳,陈亚红

(南京医科大学附属常州市第二人民医院检验科,江苏常州 213000)

**摘 要:**目的 研究环氧化酶(COX-2)、核因子-κB(NF-κB)及血管内皮生长因子(VEGF)在三阴性乳腺癌中的表达及临床意义。方法 选取 2010 年 1 月至 2014 年 12 月于该院进行乳腺癌治疗的 100 例患者为研究对象,其中三阴性乳腺癌 50 例,非三阴性乳腺癌 50 例,采用免疫组织化学法检测 100 例患者乳腺癌组织中 COX-2、NF-κB 及 VEGF 的表达,并应用 D2-40 标记检测淋巴管浸润和淋巴管密度,对相关的临床病理资料进行统计分析。结果 COX-2 在三阴性与非三阴性乳腺癌中的表达分别为 76%、70%,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),VEGF 在三阴性乳腺癌病变和非三阴性乳腺癌病变中阳性表达率分别为 60%和 36%,差异有统计意义( $P<0.05$ )。NF-κB 在三阴性乳腺癌病变和非三阴性乳腺癌病变中阳性表达率分别为 66%和 32%,差异有统计意义( $P<0.05$ )。三阴性乳腺癌组织中乳腺癌中 NF-κB 与 VEGF,COX-2 与 VEGF 表达呈正相关。结论 放化疗是三阴性乳腺癌术后治疗的主要手段,而抑制 NF-κB、VEGF 和 COX-2 的表达有望成为治疗三阴性乳腺癌的新靶点,值得研究探索。

**关键词:**三阴性乳腺癌; 环氧化酶; 血管内皮生长因子  
**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2016.04.002 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)04-0436-03

## Clinical research on COX-2, NF-κB and VEGF expression in triple negative breast cancer\*

Ma Lingdi, Dong Yanfen, Liu Qian, Fan Jing, Jiang Lijia, Chen Yahong

(Department of Clinical Laboratory, Changzhou Second People's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Changzhou, Jiangsu 213000, China)

**Abstract:** Objective To study the cyclooxygenase (COX-2), nuclear factor-κB (NF-κB) and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and clinical significance in triple negative breast cancer. **Methods** From January 2010 to December 2014, breast cancer treatment in our hospital 100 patients for the study, 50 patients with triple negative breast cancer, 50 cases of non-triple negative breast cancer was detected by immunohistochemistry, 100 cases of breast cancer were detected by immunohistochemistry in organizations COX-2, NF-κB and VEGF expression of lymphatic vessel invasion and lymph vessel density and D2-40 mark detection, statistical analysis of relevant clinical and pathological information. **Results** COX-2 in triple negative and non-triple negative breast cancer were 76%, 70%, the difference was not statistically significant ( $P>0.05$ ), VEGF triple negative breast cancer and non-triple negative breast lesions in cancerous lesions positive expression rates of 60% and 36%, respectively, which had significant difference ( $P<0.05$ ). NF-κB in triple negative breast cancer lesions and non-triple negative breast lesions positive expression rate was 66% and 32%, respectively, which had significant difference ( $P<0.05$ ). Triple negative breast cancer NF-κB and VEGF, COX-2 and VEGF expression was significantly positively related to breast cancer. **Conclusion** Radiation and chemotherapy is a major means of triple negative breast cancer postoperative treatment, while inhibiting the NF-κB, the expression of VEGF and COX-2 is expected to become the new target for treatment of triple negative breast cancer, is worth exploring.

**Key words:** triple negative breast cancer; cyclooxygenase; vascular endothelial growth factor

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,成为威胁女性健康的主要病因<sup>[1]</sup>。三阴性乳腺癌是指雌激素受体、孕激素受体和人表皮生长因子受体均呈现阴性的一种特殊类型的乳腺癌<sup>[2]</sup>,多发生于绝经前年轻女性,约占所有乳腺癌的 15%,具有较强的肿瘤侵袭能力,易于远处转移,内脏转移和脑转移发生率较高,3 年之内为转移高峰。预后较其他类型乳腺癌差,有较高的死亡风险<sup>[3]</sup>。三阴性乳腺癌和基底细胞样型乳腺癌之间存在某些基因表达谱和免疫表型上的差异,对此,本文选取 2010 年 1 月至 2014 年 12 月于本院进行乳腺癌治疗的 100 例患者为研究对象,采用免疫组织化学法检测 100 例乳腺癌组织中环氧化酶(COX-2)、核因子-κB(NF-κB)及血管内皮生长因子(VEGF)的表达,并应用 D2-40 标记检测淋巴管浸润和淋巴管密度,对相关的临床病理资料进行统计分析,取得十分满意的

疗效,现将结果报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2010 年 1 月至 2014 年 12 月于本院进行乳腺癌治疗的 100 例患者为研究对象,患者均为女性,其中三阴性乳腺癌 50 例,年龄为 18~64 岁;非三阴性乳腺癌 50 例,患者均为女性,年龄 18~65 岁,术前均未行放、化疗及免疫治疗,术后均经病理组织学证实为乳腺癌。ER、PR、HER-2 均为阴性的患者诊断为三阴性乳腺癌。纳入标准:明确诊断为乳腺癌,符合三阴性乳腺癌证候标准,试验前 1 个月未接受其他肿瘤药物治疗,预计生存期在 6 个月以上,患者精神、体力尚好,年龄 18~65 岁。

**1.2 试验方法** 检测 NF-κBp65 来表示 NF-κB,因为 NF-κBp65 是 NF-κB 的主要组成因子,兔抗人 NF-κBp65 抗体、

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81101647)。 作者简介:马玲娣,女,副主任技师,主要从事肿瘤免疫及中药抗肿瘤研究。

SABC 试剂盒均购自武汉博士德公司。鼠抗人 VEGF 单克隆抗体、鼠抗人 COX-2 单克隆抗体均购自 Santa Cruz 公司,采用 SABC 法,操作按试剂盒说明书进行。主要包括山羊血清封闭,分别依次滴加抗 NF-κBp65、COX-2、VEGF 抗体过夜(工作浓度 1:2 000),生物素化二抗及 ABC 复合物,DAB 显色,苏木精复染后封片。用 PBS 代替一抗作阴性对照,用已知乳腺癌阳性片做阳性对照。全部新鲜标本 24 h 内经 4%甲醛固定,常规石蜡包埋,厚 4 μm 连续切片,均作 HE 和免疫组织化学染色。

**1.3 疗效评价** 每张切片分别随机取共 5 个区域的细胞计数,每个区计数 200 个肿瘤细胞,共计数 1 000 个细胞,计算染色细胞所占比例,NF-κB 阳性染色呈浅棕色或深棕色,定位于细胞核。阳性染色细胞数小于 10%为表达阴性(-);≥10%为表达阳性(+)。COX-2 和 VEGF 阳性染色阳性细胞呈棕黄或棕褐色颗粒,主要定位于细胞浆。

**1.4 统计学处理** 采用统计学软件 SPSS15.0,计量资料采用 *t* 检验,计数资料采用  $\chi^2$  检验,检验水准为  $\alpha=0.05, P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

**2.1 三阴性乳腺癌与非三阴性乳腺癌 COX-2、NF-κB 和 VEGF 表达率比较** COX-2 和 VEGF 阳性染色阳性细胞呈棕黄或棕褐色颗粒,主要定位于细胞浆。COX-2 在三阴性乳腺癌的阳性表达率为 76%,高于非三阴性乳腺癌的 70%,但差异无统计学意义( $P>0.05$ )。然而,VEGF 在三阴性乳腺癌病变和非三阴性乳腺癌病变中阳性表达率分别为 60%和 36%,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。NF-κB 在三阴性乳腺癌病变和非三阴性乳腺癌病变中阳性表达率分别为 66%和 32%,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结果见表 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

**2.2 三阴性乳腺癌组织中 NF-κB 与 VEGF 表达的关系** 在 33 例 NF-κB 阳性标本中,有 28 例同时存在 VEGF 阳性表达;而在 20 例 VEGF 阴性标本中,有 15 例伴 NF-κB 表达缺失,相关分析证实,三阴性乳腺癌组织中 NF-κB 与 VEGF 表达呈显著正相关( $P<0.05$ ),结果见表 2。

表 2 三阴性乳腺癌组织中 NF-κB 与 VEGF 表达的关系(n)

| NF-κB 表达 | VEGF 表达 |    | 合计 |
|----------|---------|----|----|
|          | +       | -  |    |
| +        | 28      | 5  | 33 |
| -        | 2       | 15 | 17 |
| 合计       | 30      | 20 | 50 |

表 3 三阴性乳腺癌组织中 COX-2 与 VEGF 表达的关系(n)

| COX-2 表达 | VEGF 表达 |    | 合计 |
|----------|---------|----|----|
|          | +       | -  |    |
| +        | 29      | 9  | 38 |
| -        | 1       | 11 | 12 |
| 合计       | 30      | 20 | 50 |

**2.3 三阴性乳腺癌组织中 COX-2 与 VEGF 表达的关系** 在 38 例 COX-2 阳性标本中,有 29 例同时存在 VEGF 阳性表达;而在 20 例 VEGF 阴性标本中,有 11 例伴 COX-2 表达缺失,相关分析证实,三阴性乳腺癌组织中 COX-2 与 VEGF 表达显著正相关( $P<0.05$ )。结果见表 3。

3 讨 论

NF-κB 是一类重要的核转录因子,一般情况下,NF-κB 以非活性形式存在于胞质,当 NF-κB 被激活后,NF-κB 从胞质转位于细胞核,调节多种细胞激酶、趋化因子、生长因子、细胞黏附因子及早期反应的蛋白质分子基因的转录<sup>[4]</sup>。然而其异常激活将导致细胞不能正常转导信号,促进细胞癌变。参与细胞增殖、细胞凋亡、炎症反应和免疫反应<sup>[5-6]</sup>,近年来研究表明 NF-κB 异常活化与许多人类疾病,例如乳腺肿瘤、卵巢肿瘤、结肠癌、胰腺癌、前列腺癌以及黑色素瘤等多种实体肿瘤发生、发展和转移密切相关<sup>[7-9]</sup>。在本研究中,三阴性乳腺癌病变中 NF-κB 阳性表达率为 66%,非三阴性乳腺癌病变中 NF-κB 阳性表达率为 32%,显示在三阴性乳腺癌组织中 NF-κB 表达显著高于非三阴性乳腺癌组织。

COX-2 是一种膜结合蛋白酶,参与新生血管生成、肿瘤细胞增殖,并且抑制凋亡,从而有利于肿瘤的发生、发展。在通常情况下,在乳腺癌患者中具有较高的表达,且与预后密切相关<sup>[10]</sup>。因此,COX-2 在肿瘤转移中发挥着重要作用<sup>[11]</sup>。然而,大多数乳房恶性肿瘤的高病死率与肿瘤转移密切相关<sup>[12]</sup>。本研究表明 COX-2 在三阴性乳腺癌和非三阴性乳腺癌中分别为 76%和 70%,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),其主要原因可能在于 COX-2 是大多数肿瘤比较普遍的基因表达产物,并且参与乳腺癌发生、发展的多个方面。

VEGF 是一种能够特异性促使血管内皮细胞增殖,参与内皮细胞活化、迁移、入侵和生存的蛋白,在多种实体恶性肿瘤中具有较高的表达<sup>[13]</sup>。研究表明,乳腺肿瘤的生长和转移依赖血管的生成,即从现有的血管形成新的血管网络。然而,这一过程的主要调节者是 VEGF<sup>[14]</sup>。在本研究中,三阴性乳腺癌病变中 VEGF 阳性表达率为 60%,非三阴性乳腺癌病变中 VEGF 阳性表达率为 36%,可见在三阴性乳腺癌组织中 VEGF 表达显著高于非三阴性乳腺癌组织。综上所述,三阴性乳腺癌病变中,COX-2、NF-κB 及 VEGF 均呈现高表达,与非三阴性乳腺癌病变组织相比,NF-κB 及 VEGF 表达差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

除此之外,本研究发现 NF-κB 与 VEGF、COX-2 与 VEGF 表达存在明显正相关。放化疗是三阴性乳腺癌术后治疗的主要手段,近年来,分子靶向治疗成为了研究的焦点,但目前尚无标准的治疗方法<sup>[15]</sup>。COX-2、NF-κB 和 VEGF 在三阴性乳腺癌中高表达,且 NF-κB 与 VEGF、COX-2 与 VEGF 表达存在明显正相关。因此,抑制 NF-κB、VEGF 和 COX-2 的表达有望成为治疗三阴性乳腺癌的新靶点。

参考文献

[1] Desantis C, Siegel R, Bandi P, et al. Breast Cancer statistics, 2011 [J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(6): 409-418.

[2] O'shaughnessy J, Osborne C, Pippen JE, et al. Iniparib plus chemotherapy in metastatic triple-negative breast Cancer[J]. N Engl J Med, 2011, 364(3): 205-214.

[3] Thummuri D, Jeengar MK, Shrivastava S, et al. (下转第 440 页)

肠癌患者肠道菌群的变化趋势,同时为维吾尔医学体液质理论以及维吾尔医学疾病诊断提供了一些线索。在 PCR-DGGE 图谱上能够直观地表现出个体差异,同时肠道总菌群 UPGMA 相似性聚类分析显示出肠道总菌群的同源性存在差异,研究中获得维吾尔医学异常黑胆质结肠癌患者肠道细菌分布情况及肠道细菌指纹图谱,此图谱显示异常黑胆质结肠癌患者肠道菌群多样化,并且个体之间具有相似性,肠道中存在不同种类的细菌,再从图谱中把每一种条带切下来纯化克隆检测基因序列的相似性对比,并用相似性大于 95% 以上的基因序列做树状图分析及鉴定异常黑胆质结肠癌患者中具有丰富的拟杆菌属和梭杆菌属。试验还发现很多不可培养的细菌属,并对其种属亲缘程度进行了分析,这些不可培养的肠道细菌与优势细菌亲缘性比较近,也有个别的细菌亲缘性比较远,将加大样本量进一步研究异常黑胆质结肠癌患者肠道菌群中的其他优势菌并与这些优势菌的分布与体液质的关系,是细菌引起了这些体液的分布还是体液决定了这些优势菌的分布,这些因果关系还有待进一步鉴定。

## 参考文献

- [1] 易沙克江. 中国医学百科全书: 维吾尔医分卷(维文)[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1995: 17-33.
- [2] 买买提明·沙比尔. 维吾尔医学诊断学[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1993: 135-148.
- [3] 哈木拉提·吾甫尔. 维吾尔医学气质体液论及其现代研究[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 2003: 44-52.
- [4] 阿不都热依木·玉苏甫, 李林, 哈木拉提·吾甫尔, 等. 维医异常体液分型及其与氧化-抗氧化系统关系的研究[J]. 中国基础医学杂志, 2004, 10(8): 61-63.
- [5] Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, et al. A core gut mi-

crobiome in obese and lean twins[J]. Nature, 2009, 457(7228): 480-484.

- [6] Maia MR, Chaudhary LC, Bestwick CS, et al. Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*[J]. BMC Microbiol, 2010, 18(1): 10-52.
- [7] Gill SR, Pop M, Deboy RT, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiom[J]. Science, 2006, 312(5778): 1355-1359.
- [8] Upur Halmurat. Theory of MIZAJ and HILIT in Uighur medicine and its modern study[M]. Urumqi: Xinjiang Science, Technology and Sanitation Press, 2003.
- [9] Backhed F, Sonnenburg JL, Peterson DA, et al. Host-bacteria mutualism in the human intestine[J]. Science, 2005, 307(5717): 1915-1920.
- [10] Fillon M, Novinscak A, Decoste NJ. Characterization of bacterial and fungal communities in composted biosolids over a year period using denaturing gradient gel electrophoresis[J]. Can J Microbiol, 2009, 387(1): 375-387.
- [11] 曾波, 钟荣珍, 谭志良, 等. 肠道微生物多样性与能量代谢调控及肥胖关系的研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2008, 20(8): 415-417.
- [12] 吴晓康, 徐纪茹, 张旭燕, 等. 2 型糖尿病患者肠道拟类菌属和双歧杆菌属多样性的 PCR-DGGE 指纹图谱分析[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2010, 31(4): 475-480.

(收稿日期: 2015-10-24)



(上接第 437 页)

- Boswellia ovalifoliolata abrogates ROS mediated NF- $\kappa$ B activation, causes apoptosis and chemosensitization in triple negative breast cancer cells[J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2014, 38(1): 58-70.
- [4] Jimenez X, Lu D, Brennan L, et al. A recombinant, fully human, bispecific antibody neutralizes the biological activities mediated by both vascular endothelial growth factor receptors 2 and 3[J]. Mol Cancer Ther, 2005, 4(3): 427-434.
  - [5] Ahn KS, Sethi G, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappa B: from clone to clinic[J]. Curr Mol Med, 2007, 7(7): 619-637.
  - [6] Kalaitzidis D, Gilmore TD. Transcription factor cross-talk: the estrogen receptor and NF-kappaB[J]. Trends Endocrinol Metab, 2005, 16(2): 46-52.
  - [7] Karin M, Greten FR. NF-kappaB: linking inflammation and immunity to Cancer development and progression[J]. Nat Rev Immunol, 2005, 5(10): 749-759.
  - [8] Biswas DK, Shi Q, Baily S, et al. NF-kappa B activation in human breast Cancer specimens and its role in cell proliferation and apoptosis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(27): 10137-10142.
  - [9] Pacifico F, Mauro C, Barone C, et al. Oncogenic and anti-apoptotic activity of NF-kappa B in human thyroid carcinomas[J]. J Biol Chem, 2004, 279(52): 54610-54619.
  - [10] Sun L, Yu DH, Sun SY, et al. Expressions of ER, PR, HER-2,

COX-2, and VEGF in primary and relapsed/metastatic breast cancers[J]. Cell Biochem Biophys, 2014, 68(3): 511-516.

- [11] Ho MY, Liang SM, Hung SW, et al. MIG-7 controls COX-2/PGE2-mediated lung Cancer metastasis[J]. Cancer Res, 2013, 73(1): 439-449.
- [12] Okuda H, Xing F, Pandey PR, et al. miR-7 suppresses brain metastasis of breast Cancer stem-like cells by modulating KLF4[J]. Cancer Res, 2013, 73(4): 1434-1444.
- [13] Valdehita A, Carmena MJ, Bajo AM, et al. RNA interference-directed silencing of VPAC1 receptor inhibits VIP effects on both EGFR and HER2 transactivation and VEGF secretion in human breast Cancer cells[J]. Mol Cell Endocrinol, 2012, 348(1): 241-246.
- [14] Vidaurreta M, Sánchez-Munoz R, Veganzones S, et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in patients with colorectal cancer[J]. Rev Esp Enferm Dig, 2010, 102(1): 20-31.
- [15] Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer[J]. N Engl J Med, 2010, 363(20): 1938-1948.

(收稿日期: 2015-11-28)

