

• 论 著 •

乳腺癌组织中 VEGF、EGFR 和 Smad4 的表达及其与淋巴结转移的关系分析

王晓英, 张卫卫, 施先君, 兰德涛

(洪湖市人民医院病理科, 湖北洪湖 43320)

摘要:目的 探讨乳腺癌组织中血管内皮生长因子(VEGF)、上皮生长因子 R(EGFR)和 Smad4 蛋白的表达及其与淋巴结转移的关系。方法 选取 2014 年 6 月至 2016 年 6 月该院收治的 84 例乳腺癌患者作为研究对象,采用免疫组化法检测乳腺癌组织和癌旁组织中 VEGF、EGFR 和 Smad4 的表达情况,并分析其与淋巴结转移的关系。结果 乳腺癌组织中 VEGF 和 EGFR 的阳性表达率分别为 63.09% 和 59.52%,明显高于癌旁组织的 22.62% 和 26.19%,差异有统计意义($P<0.05$);乳腺癌组织中 Smad4 的阳性表达率为 35.71%,明显低于癌旁组织中的 77.38%,差异有统计学意义($P<0.05$);肿瘤 TNM 分期为 III+IV 期的 EGFR 和 VEGF 阳性表达率分别为 72.92% 和 70.83%,高于 I+II 期的 50.00% 和 44.44%,差异有统计学意义($P<0.05$),而肿瘤 TNM 分期为 III+IV 期的 Smad4 阳性表达率为 25.00%,显著低于对照组的 50.00%,差异有统计学意义($P<0.05$);伴有淋巴结转移的 EGFR 和 VEGF 阳性表达率分别为 77.27% 和 75.00%,显著高于无淋巴结转移的 47.50% 和 42.50%,差异有统计学意义($P<0.05$),而伴有淋巴结转移的 Smad2 阳性表达率为 22.73%,显著低于无淋巴结转移的 50.00%,差异有统计学意义($P<0.05$);Pearson 分析结果显示,EGFR 和 VEGF 阳性表达与淋巴结转移呈正相关($r=0.382, 0.425, P<0.05$);Smad4 阳性表达与淋巴结转移呈负相关($r=-0.468, P<0.05$)。结论 VEGF、EGFR 和 Smad4 在乳腺癌的发生、发展中发挥着重要的作用。EGFR 和 VEGF 阳性表达与淋巴结转移呈正相关,而 Smad4 阳性表达与淋巴结转移呈负相关,其对评估乳腺癌患者的预后具有一定的指导意义。

关键词:乳腺癌; VEGF; EGFR; Smad4; 淋巴结转移

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.23.029

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)23-3300-03

Expressions of VEGF, EGFR and Smad4 in breast cancer tissue and their relationship with lymphatic metastasis

WANG Xiaoying, ZHANG Weiwei, SHI Xianjun, LAN Detao

(Department of Pathology, Honghu people's Hospital, Honghu, Hubei 43320, China)

Abstract: Objective To discuss the expressions of VEGF, EGFR and Smad4 in breast cancer tissue and their relationship with lymphatic metastasis. **Methods** 84 patients with breast cancer from June 2014 to June 2016 in our hospital were selected, immunohistochemical method was used to detect the expressions of VEGF, EGFR and Smad4, and their relationship with lymphatic metastasis was analyzed. **Results** The positive expression rates of VEGF and EGFR were 22.62% and 26.19% respectively in breast cancer tissue, which were notably higher than those in para-carcinoma tissue (22.62% and 26.19% respectively), and differences were statistically significant ($P<0.05$). Positive expression rate of Smad4 was 35.71% in breast cancer tissue, which was higher than that in para-carcinoma tissue (77.38%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The positive expression rates of EGFR and VEGF were 72.92% and 70.83% in III+IV phase, which were higher than those in I+II phase (50.00% and 44.44%, respectively), differences were statistically significant ($P<0.05$). The positive expression of Smad2 was 25.00% in III+IV phase, which was lower than that in control group (50.00%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The positive expression rates of EGFR and VEGF were 77.27% and 75.00% in patients with lymphatic metastasis, which were higher than those in patients without lymphatic metastasis (47.50% and 42.50%), and differences were statistically significant ($P<0.05$). The positive expression of Smad4 was 22.73% in patients with lymphatic metastasis, which was lower than that in patients without lymphatic metastasis (50.00%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Pearson analysis showed that the positive expression rates of EGFR and VEGF were positively associated with lymphatic metastasis ($r^1=0.382, r^2=0.425, P<0.05$), and the positive expression rate of Smad2 was negatively associated with lymphatic metastasis ($r^3=-0.468, P<0.05$). **Conclusion**

VEGF, EGFR and Smad4 play an important role in the occurrence and development of breast cancer. The positive expression rates of EGFR and VEGF were positively associated with lymphatic metastasis, and the positive expression rate of Smad2 was negatively associated with lymphatic metastasis, which could have a guiding significance for prognosis of breast cancer.

Key words: breast cancer; VEGF; EGFR; Smad4; lymphatic metastasis

乳腺癌是妇科常见的恶性肿瘤之一,近年来研究发现^[1],乳腺癌的发生发展与多种基因的异常表达有关。上皮生长因子 R(EGFR)具有促进肿瘤内血管增生和抑制凋亡的作用,在绝大多数恶性肿瘤中均呈高表达状态,与肿瘤的淋巴结转移有着密切的关系;而血管内皮生长因子(VEGF)亦具有促进内皮细胞增殖和诱导血管新生的作用^[2]。近年来,Smad4 蛋白作为

一种细胞信号转导分子,亦被普遍认为与乳腺癌的淋巴结转移有关^[3]。本研究检测乳腺癌组织中 VEGF、EGFR 和 Smad4 的表达水平,旨在探讨其与淋巴结转移的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 6 月至 2016 年 6 月本院收治的 84 例女性乳腺癌患者作为研究对象,年龄为 24~78 岁,平均

年龄(51.76±2.48)岁,肿瘤直径为0.5~6 cm,平均直径(2.24±0.64)cm。所有患者均经病理检查确诊乳腺癌,且其病理学分型均为浸润性导管癌。依据肿瘤 TNM 分期,其中Ⅰ期 12 例、Ⅱ期 24 例、Ⅲ期 29 例和Ⅳ期 19 例,其中伴淋巴结转移 44 例,无淋巴结转移 40 例。

1.2 试剂与方法 鼠抗人 EGFR 抗体和 VEGF 单克隆抗体、兔抗人 Smad4 单克隆抗体、通用型 SP 检验试剂盒及 DAB 试剂盒均购自于武汉博士德生物技术有限公司。取组织切片,严格按照说明书中固定、血清封闭、孵育、洗涤、DAB 显色等步骤进行操作,分别以鼠抗人 EGFR、VEGF 和兔抗人 Smad4 单克隆抗体作为一抗,生物素标记的羊抗鼠 IgG 试剂和羊抗兔 IgG 试剂作为二抗,并采取 SP 法进行免疫组化检测。同时用 PBS 代替一抗,作为阴性对照。

1.3 判读标准 EGFR、VEGF 和 Smad4 以胞浆和(或)胞核内出现明显棕黄色颗粒为阳性细胞。其中阳性细胞数<10%或未出现阳性细胞为(-);阳性细胞数 10%~50%为(+);阳性细胞数 50%~75%为(++);阳性细胞数>75%为(+++)。其中当阳性细胞数≥10%,为阳性表达。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计学软件分析数据,两组间计数资料计数资料以百分率表示,组间比较采用采用 χ^2 检验,乳腺癌组织中 EGFR、VEGF 和 Smad2 的阳性表达与淋巴结转移的相关性分析采用 Pearson 分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 VEGF、EGFR 和 Smad4 在乳腺癌组织与癌旁组织中表达情况比较 乳腺癌组织中 VEGF 和 EGFR 的阳性表达率分别为 63.09%(53 例)和 59.52%(50 例),均明显高于癌旁组织的 22.62%(19 例)和 26.19%(22 例),差异有统计意义($P<0.05$);乳腺癌组织中 Smad4 的阳性表达率为 35.71%(30 例),明显低于癌旁组织中的 77.38%(65 例),差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 乳腺癌组织中 EGFR、VEGF 和 Smad4 阳性表达与临床病理特征的关系 肿瘤 TNM 分期为Ⅲ+Ⅳ期的 EGFR 和 VEGF 阳性表达率高于Ⅰ+Ⅱ期的,而肿瘤 TNM 分期为Ⅲ+Ⅳ期的 Smad4 阳性表达率则显著低于Ⅰ+Ⅱ期的,差异有统计意义($P<0.05$);伴有淋巴结转移的 EGFR 和 VEGF 阳性表达率显著高于无淋巴结转移的,而伴有淋巴结转移的 Smad4 阳性表达率则显著低于无淋巴结转移的,差异有统计意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 乳腺癌组织中 EGFR、VEGF 和 Smad4 阳性表达与临床病理特征的关系[n(%)]				
临床病理特征	<i>n</i>	EGFR 阳性	VEGF 阳性	Smad4 阳性
年龄				
≤50 岁	34	20(58.82)	18(52.94)	13(38.23)
>50 岁	50	33(66.00)	32(64.00)	17(34.00)
χ^2		0.4476	1.0273	0.1581
<i>P</i>		>0.05	>0.05	>0.05
肿瘤大小				
≤2 cm	39	24(61.54)	22(56.41)	15(38.46)
>2 cm	45	29(58.00)	28(62.22)	15(33.33)
χ^2		0.0758	0.2929	0.2393
<i>P</i>		>0.05	>0.05	>0.05
肿瘤 TNM 分期				

续表 1 乳腺癌组织中 EGFR、VEGF 和 Smad4 阳性表达与临床病理特征的关系[n(%)]				
临床病理特征	<i>n</i>	EGFR 阳性	VEGF 阳性	Smad4 阳性
Ⅰ+Ⅱ期	36	18(50.00)	16(44.44)	18(50.00)
Ⅲ+Ⅳ期	48	35(72.92)	34(70.83)	12(25.00)
χ^2		4.6397	5.9459	5.6000
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05
有无淋巴结转移				
有	44	34(77.27)	33(75.00)	10(22.73)
无	40	19(47.50)	17(42.50)	20(50.00)
χ^2		7.9761	9.1856	6.7879
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

2.3 乳腺癌组织中 EGFR、VEGF 和 Smad4 阳性表达与淋巴结转移的相关性分析 Pearson 分析结果显示,EGFR 和 VEGF 阳性表达与淋巴结转移呈正相关($r=0.382,0.425,P<0.05$);Smad4 阳性表达与淋巴结转移呈负相关($r=-0.468,P<0.05$)。

3 讨 论

乳腺癌是常见的危害人类生命健康的恶性肿瘤之一,主要发病于女性,近年来其发病率呈逐年上升的趋势。乳腺癌具有侵蚀性强、进展迅速、易转移、预后差等特点,严重威胁女性的生命健康,已引起人们的普遍关注^[4]。淋巴结转移是乳腺癌的主要转移方式,是否有淋巴结转移是影响患者生存预后的关键因素,控制淋巴结转移对乳腺癌的治疗具有积极的作用^[5]。目前,乳腺癌的发病机制尚不明确,因此深入研究乳腺癌的发生发展机制对乳腺癌的预防和治疗有着重要的意义。近年来研究发现^[6],乳腺癌的发生发展与多种基因的异常表达有关,包括癌基因、抑癌基因、肿瘤易感基因等。

EGFR 广泛存在于哺乳动物上皮细胞膜上,是正常细胞增殖、分化、生长等的重要调节因子^[7]。有研究亦显示,EGFR 信号传导通道是 G-蛋白等多种信号通道的交汇处,EGFR 地活化可促进细胞的增殖、分化等,对机体的生长发育有着重要的作用^[8]。EGFR 的异常表达与肿瘤的发生发展密切相关,研究显示,30%左右的肿瘤患者体内存在 EGFR 异常表达^[9]。国内外研究显示,EGFR 的过度表达可促进肿瘤细胞的生长、增殖、分化、血管新生和转移,并抑制其凋亡,从而促进肿瘤的进展^[10-11]。肿瘤的生长和转移有赖于肿瘤内新生血管的形成,而 VEGF 作为最强的直接作用于血管内皮细胞的生长因子,其对肿瘤内新生血管的形成起到关键的作用。研究显示,VEGF 可通过增强组织血管的通透性,血管内血浆蛋白外渗,从而为肿瘤细胞的生长及血管的新生提供了微环境^[12]。此外,VEGF 信号传导通路导致的淋巴管数目增加和淋巴管扩张,亦为肿瘤的淋巴道转移提供了形态学基础^[13]。研究显示,肿瘤坏死因子(TGF-)/Smads 信号通路具有负性调控的作用,可抑制肿瘤的生长,而该信号通路任一环节出现错误,均会导致其生物学效应的丧失,从而失去对肿瘤的抑制作用^[14]。Smad4 基因是肿瘤抑制基因,在 TGF- 信号通路中起到关键的作用,大部分恶性肿瘤均存在 Smad4 基因变异^[15]。有研究亦显示,Smad4 蛋白的缺失与肿瘤的生长和转移密切相关^[16]。

本研究结果显示,乳腺癌组织中 VEGF 和 EGFR 的阳性表达率明显高于癌旁组织,而乳腺癌组织中 Smad4 的阳性表达率则明显低于癌旁组织。肿瘤 TNM 分期为Ⅲ+Ⅳ期的患者体内 EGFR 和 VEGF 的阳性表达率高于Ⅰ+Ⅱ期,而肿瘤

TNM 分期为Ⅲ+Ⅳ期的患者体内 Smad4 阳性表达率则显著低于Ⅰ+Ⅱ期;伴有淋巴结转移的患者体内 EGFR 和 VEGF 阳性表达率显著高于无淋巴转移的患者,而伴有淋巴转移的患者体内 Smad4 阳性表达率则显著低于无淋巴结转移。Pearson 分析结果显示,EGFR 和 VEGF 阳性表达率与淋巴结转移呈正相关,Smad4 阳性表达率与淋巴结转移呈负相关。本研究认为 EGFR、VEGF 和 Smad4 参与了乳腺癌的发生、发展,其中 EGFR 和 VEGF 阳性表达率与淋巴结转移呈正相关,而 TGF-β/Smads 信号通路活性与淋巴结转移呈负相关。EGFR 和 VEGF 的高表达可促进肿瘤细胞的生长、增殖、分化、血管新生和转移,抑制肿瘤的凋亡,促进肿瘤的进展;而 Smad4 的高表达则对肿瘤的进展具有抑制作用。关于 VEGF、EGFR 和 Smad4 在淋巴结转移中具体的作用机制和信号途径则有待进一步研究。

综上所述,VEGF、EGFR 和 Smad4 在乳腺癌的发生、发展中发挥着重要的作用。EGFR 和 VEGF 阳性表达率与淋巴结转移呈正相关,而 Smad4 阳性表达率与淋巴结转移呈负相关,其对评估乳腺癌患者的预后具有一定的指导意义。

参考文献

[1] 王超群,黄必飞,胡桂女,等.表皮生长因子受体 1 蛋白在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志,2015,32(11):2822-2822.

[2] 熊立新. VEGF 和 EGFR 在青年乳腺癌的表达及其与淋巴结转移的关系[J]. 中国普通外科杂志,2012,21(5):614-616.

[3] 刘楠楠,李玉林,孙立伟,等. Smad2 和 Smad4 蛋白在乳腺癌组织中的表达及其意义[J]. 吉林大学学报(医学版),2016,0(4):763-767.

[4] 李嗣杰,贾泓瑶,韩冰,等. 信号转导及转录活化因子 3 蛋白在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 吉林大学学报:医学版,2011,37(1):72-75.

[5] 孙红艳,伍治平,邹天宇,等. 乳腺癌组织 COX-2 和 VEGF-C 表达与淋巴转移的相关性研究[J]. 中华肿瘤防治杂志,2009,16(1):51-54.

[6] 程甜甜,杨贤子,骆志国. MCM2 基因和蛋白在乳腺癌组织中的表达及其临床意义. 实用癌症杂志,2014,0(9):1067-1069.

[7] 孟垂叶,王霞,韩金霞. SOX2、EGFR 在乳腺癌组织中的表达及临床意义[J]. 滨州医学院学报,2015,38(6):423-425.

[8] 高亚丽,任铁军,薛琪,等. TIP30、EGFR 在 HER-2 阳性乳腺癌诊疗中的价值探讨[J]. 中国妇幼保健,2015,30(10):1525-1527.

[9] 汤永峰,谢莉莉. PTEN、p53 和 EGFR 在乳腺癌中的表达与临床意义[J]. 现代肿瘤医学,2014,22(2):345-349.

[10] 张景华,王保信. 乳腺癌组织中 HSG 和 EGFR 的表达及其与临床病理特征的关系[J]. 实用癌症杂志,2013,28(1):24-27.

[11] Nicholson RI, Gee JM, Harper ME. EGFR and cancer prognosis[J]. European Journal of Cancer, 2001, (Suppl 4):S9.

[12] 谭林深,秦海明,朴瑛等. 异黏蛋白和血管内皮生长因子蛋白在三阴性乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中华肿瘤杂志,2015,37(11):827-832.

[13] 李海峰,刘芳,温立梅等. 表皮生长因子受体、血管内皮生长因子和孕激素受体在乳腺癌患者乳腺组织的表达[J]. 中国老年学杂志,2010,30(20):2911-2912.

[14] 陈国平,范平明,夏立平等. Smad4、TGF-β1、TGF-βR1 表达与乳腺癌细胞恶性程度的相关性[J]. 中国老年学杂志,2015,35(24):7009-7010.

[15] 夏立平,张进芳,张嵩. TGF-β1/Smad4 在乳腺癌细胞中的表达及意义[J]. 实用医学杂志,2011,27(16):2953-2955.

[16] 吕晓红,杨树才,李鑫磊等. Smad4 和 VEGF-C 的表达与乳腺癌淋巴管生成之间的关系[J]. 解剖科学进展,2013,19(4):316-319.

(收稿日期:2017-06-12 修回日期:2017-08-25)

(上接第 3299 页)

[4] 姚家奎,丁德坤,孙蓉,等. 应用多种方法检测老年患者梅毒抗体的探讨与分析[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(19):2376-2378.

[5] 陈述文,梁连辉,蔡常辉,等. 四种方法检测早期梅毒螺旋体感染的临床应用评价[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(21):2633-2634.

[6] Shin J, Kho SA, Choi YS, et al. Antibody and T cell responses to fusobacterium nucleatum and treponema denticola in health and chronic periodontitis[J]. PLoS One, 2013,8(1):e53703.

[7] Loeffelholz MJ, Binnicker MJ. It is time to use treponema-specific antibody screening tests for diagnosis of syphilis[J]. J Clin Microbiol, 2012,50(1):2-6.

[8] 郑伟,杜艳丽,王慧媛,等. 三种梅毒螺旋抗体 IgM 抗体检测方法在献血员筛查中的意义评价[J]. 航空航天医学杂志,2013,17(4):405-406.

[9] 刘春华,孙国清,薛秀娟,等. TPPA 和酶联免疫吸附法在梅毒诊断中的作用[J]. 中国医药科学,2014,4(6):142-

144.

[10] 唐满玲,顾敏,将最明,等. 几种梅毒血清学检测方法的评价及临床应用[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(9):1105-1107.

[11] 夏雁南. 化学发光微粒子免疫分析法对梅毒螺旋体特异性抗体的检测价值探究[J]. 中国性科学,2013,22(1):40-41.

[12] 薛大奇. 我国梅毒防治面临的挑战及对策[J]. 中国性科学,2012,21(1):15-16.

[13] 柴银柱,张俊强,宋玉平,等. 综合医院 HIV 抗体和梅毒抗体检测结果分析[J]. 中国性科学,2013,22(1):36-39.

[14] 薛大奇,薛立纬,薛少真,等. 梅毒预防控制问题的思考[J]. 中国性科学,2013,22(3):40-45.

[15] 蒋银,王红华,冯娅萍,等. 三种梅毒血清学试验在梅毒诊断中的临床对比研究[J]. 中国性科学,2013,22(11):40-42.

(收稿日期:2017-07-11 修回日期:2017-09-24)