

EGFR及VEGF在汉族与维吾尔族女性三阴性乳腺癌中的表达差异分析

蒋威华, 李涌涛, 王晓文, 张明帅, 张晨光, 伊丽娜, 欧江华

新疆医科大学附属肿瘤医院乳腺外科二病区, 新疆 乌鲁木齐 830011

[摘要] **背景与目的:** 三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)是目前乳腺癌研究关注的焦点。有研究显示, 不同民族其分子生物学特征也不尽相同。该研究旨在分析汉族及维吾尔族女性TNBC患者表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达情况, 了解其与预后间的关系。**方法:** 选择新疆医科大学附属肿瘤医院2007年1月—2009年1月收治的汉族、维吾尔族女性TNBC患者167例, 其中汉族患者121例, 维吾尔族患者46例, 应用PV-9000免疫组织化学染色方法测定其EGFR、VEGF的表达状态, 并与淋巴结转移情况及临床分期进行比较, 结果采用SPSS 18.0统计软件进行分析。**结果:** 汉族与维吾尔族女性患者在5年无病生存期方面差异无统计学意义($P>0.05$); 同时汉族患者EGFR、VEGF阳性率低于维吾尔族患者($P<0.05$), 并且其表达均与TNM分期及淋巴结转移呈正相关($0<r<1$, $P<0.05$)。**结论:** 汉族女性TNBC患者EGFR、VEGF的阳性率低于维吾尔族女性患者, 但两组5年无病生存期差异无统计学意义($P>0.05$), 提示维吾尔族TNBC患者可能存在与汉族患者不同的影响其预后的因素, 需开展进一步研究证实。

[关键词] 表皮生长因子受体; 血管内皮生长因子; 汉族; 维吾尔族; 三阴性乳腺癌

DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2016.05.009

中图分类号: R737.9 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2016)05-0404-05

The differences in expressions of EGFR and VEGF between Han and Uygur triple-negative breast cancer patients JIANG Weihua, LI Yongtao, WANG Xiaowen, ZHANG Mingshuai, ZHANG Chenguang, YI Lina, OU Jianghua (Ward 2, Department of Breast Surgery, Tumor Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China)

Correspondence to: OU Jianghua E-mail: oujianghua@hotmail.com

[Abstract] **Background and purpose:** Triple-negative breast cancer (TNBC) is currently the focus of breast cancer research. Researches demonstrated that the molecular biological characteristics of different ethnic groups are not the same. This study mainly probed into the expression of endothelial growth factor receptor (EGFR) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in Han and Uygur TNBC patients, and the relationship between the expression and prognosis of patients. **Methods:** From Jan. 2007 to Jan. 2009, 167 patients were admitted. Among those, 121 were Han and 46 were Uygur patients. The expressions of EGFR, and VEGF were detected by PV-9000 immunohistochemical staining, and compared with lymph node metastasis and clinical staging. The results were analyzed by SPSS 18.0 statistical software. **Results:** Five-year disease-free survival (DFS) of two groups had no indifferent ($P>0.05$). EGFR and VEGF positive rate of Han patients was lower than that of Uygur patients ($P<0.05$). Their expressions were correlated with TNM staging and lymph node metastasis ($0<r<1$, $P<0.05$). **Conclusion:** This study found that the EGFR and VEGF expression rate which was unfavorable to prognosis of TNBC patients was lower in the Uygur group than that in the Han group. However, no significant difference in 5-year DFS was found between the two groups ($P>0.05$). Uygur TNBC patients might have a different prognostic factor as compared with Han patients. Further studies need to be carried out.

[Key words] Endothelial growth factor receptor; Vascular endothelial growth factor; Han; Uygur; Triple-negative breast cancer

三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)是目前乳腺癌研究关注的焦点。近几年,对不同民族间TNBC的差异问题日益受到重视。本文通过分析汉族、维吾尔族女性TNBC患者表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的阳性表达是否存在差异,并探讨其与预后间的关系,为求证不同民族TNBC患者的生物学特征提供线索,同时也为进一步了解影响TNBC患者的预后因素提供一定的依据。

1 资料和方法

1.1 一般资料

收集2007年1月30日—2009年1月30日于新疆医科大学附属肿瘤医院住院乳腺癌患者785例,选择其中雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)以及人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER-2)经我院免疫组织化学染色检测确认均为阴性的患者共167例。其中汉族患者121例,维吾尔族患者46例。纳入标准:①在本院首次接受治疗的可行手术的汉族、维吾尔族女性乳腺癌患者;②临床病理资料完整;③ER、PR及HER-2表达均阴性的患者。

EGFR、VEGF确定标准:采用PV-9000法测定EGFR、VEGF的表达,PV-9000免疫组织化学染色检测方法是将二抗抗体分子的单价Fab段与酶聚合在一起,与一抗结合后,直接用底物进行显色的方法。此方法有简单、快速、敏感性强且避免了内源性生物素所造成的背景染色的优点。本研究中PV-9000试剂盒及鼠抗人EGFR单抗、鼠抗人VEGF单抗均购自北京中杉金桥生物技术有限公司,一抗稀释度均为1:100,实验严格按照质量控制内容进行操作,实验步骤按照试剂盒的说明进行。用已知阳性表达的癌组织做阳性对照,PBS代替一抗作阴性对照,结果采取两人双盲法观察切片。

(1) EGFR结果判读:阴性表达为细胞或细胞膜无染色或非特异染色,分值记0分。低度阳性(+)表达为视野中有大于10%的区域呈现棕色或棕褐色但细胞膜染色不连续,分值为1分;中等强度(++)表达为大于10%的区域呈棕色或棕褐色且细胞膜染色连续,但形态不完整,分值为2分;强阳性(+++)表达为大于10%区域呈棕色或棕褐色,同时细胞膜染色连续且形态完整,分值为3分。而细胞轻度棕褐色染色为1分;中度棕褐色染色为2分,重度棕褐色染色为3分。

(2) VEGF结果判读:阴性表达为细胞质内棕褐色染色小于25%,分值为0分;低度阳性(+)表达为25%~50%细胞质内呈棕褐色染色,分值为1分;中等强度(++)表达为细胞质内染色50%~75%,分值为2分;强阳性(+++)表达为细胞质内染色>75%,细胞质内弥漫棕褐色染色,分值为3分。

(3) 将分值相加,最后EGFR、VEGF总分值小于等于2分为阴性,大于3分为阳性。

1.2 随访方式

采用入院复查和电话等随访方式,将患者术后第1次化疗开始定为随访起始时间,观察两组患者治疗后复发转移情况;发生复发转移为终止事件,随访时间为5年,随访截止日期为2014年1月30日。

1.3 观察指标

预后观察指标包括:两组复发转移比例和两组5年无瘤生存期;两组EGFR、VEGF的阳性表达率,与肿瘤分期及腋窝淋巴结转移关系。

1.4 统计学处理

采用SPSS 18.0统计软件进行数据处理,两组比较采用秩和检验和 χ^2 检验;EGFR和VEGF与TNM临床分期及淋巴结转移数采用Spearman秩相关分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

121例汉族TNBC患者中,复发转移共30例(24.8%),而46例维吾尔族女性患者复发转移共15例(32.6%, $\chi^2=1.034$, $P=0.333$),两组在局部

复发、远处转移及远处转移部位的对比上, 差异无统计学意义($P>0.05$, 表1)。

两组TNBC患者比较, 汉族患者EGFR阳性表达数为52例(52/121, 43%), 维吾尔族为26例(26/46, 56.5%), 汉族患者VEGF阳性表达数

为59例(59/121, 48.8%), 维吾尔族患者为30例(30/46, 65.2%), 汉族女性患者EGFR和VEGF的阳性率表达均要低于维吾尔族女性患者, 差异有统计学意义($P<0.05$, 图1、2, 表2)。

表1 汉族、维吾尔族女性TNBC复发、转移情况比较

Tab. 1 The comparison of recurrence and metastasis in Han and Uygur TNBC

Item	Han <i>n</i> (%)	Uygur <i>n</i> (%)	OR	95%CI	<i>P</i> value
Local recurrence	12(9.91)	7(15.21)	0.613	0.225–1.67	0.335
Distant metastasis	25(20.66)	11(23.9)	0.938	0.41–2.144	0.878
Local distant-metastasis					
Bone	12(9.91)	8(17.39)	0.583	0.167–2.036	0.396
Lung	18(14.87)	8(17.39)	1.313	0.376–4.581	0.67
Other sites	10(8.26)	2(4.35)	3.25	0.611–17.283	0.153

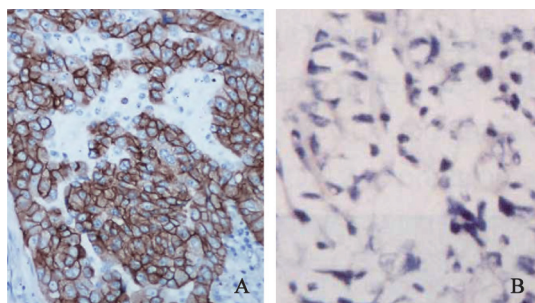


图1 EGFR阳性及阴性表达

Fig. 2 Positive and negative expression of EGFR

A: Positive; B: Negative

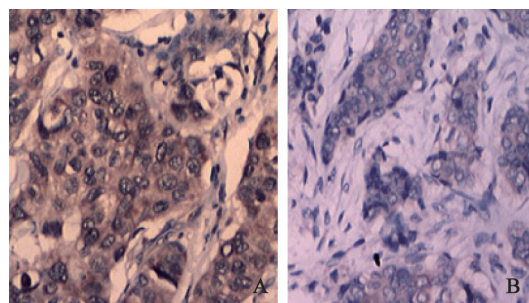


图2 VEGF阳性及阴性表达

Fig. 2 Positive and negative expression of VEGF

A: Positive; B: Negative

表2 汉族、维吾尔族女性三阴性乳腺癌EGFR、VEGF表达情况比较

Tab. 2 The comparison of EGFR and VEGF in Han and Uygur TNBC

Group	EGFR		VEGF	
	+	-	+	-
Han <i>n</i> (%)	52(42.9)	69(57.1)	59(48.8)	62(51.2)
Uygur <i>n</i> (%)	26(57.0)	20(43.0)	30(65.2)	16(34.8)
χ^2	3.92		5.22	
<i>P</i> value	0.048		0.022	

汉族与维吾尔族女性TNBC患者EGFR及VEGF阳性率在不同淋巴结转移分组的比较, 差异有统计学意义($P<0.05$), 特别是在淋巴结转移数大于等于4个的患者组中阳性表达率最高, 其中汉族EGFR表达率为78.1%, 维吾尔族为71.4%, 汉族VEGF阳性表达率为84.4%, 维吾尔族为85.0%; 将两组淋巴结转移情况与EGFR和VEGF的阳性表达率比较, 结果提示, 随着淋巴结转移个数的增加, 两组EGFR和VEGF的阳性表达也逐渐增高, 差异有统计学意义($0<r<1$,

$P<0.05$, 表3)。

汉族与维吾尔族女性TNBC各临床分期中的EGFR和VEGF表达差异有统计学意义($P<0.05$)。两组患者I期阳性表达率均要低于II、III期患者, 再行TNM临床分期与EGFR及VEGF的阳性率相关性比较。结果提示, 随着TNM临床分期的增高, 两组患者EGFR及VEGF的阳性率也随之增高, 差异有统计学意义($0<r<1$, $P<0.05$, 表4)。

表3 汉族、维吾尔族女性三阴性乳腺癌淋巴结转移情况与EGFR、VEGF表达相关性比较

Tab. 3 The comparison of EGFR and VEGF with lymph node metastasis in Han and Uygur TNBC

Lymph node	EGFR		Positive rate/%	Difference <i>P</i> value	Correlation <i>P</i> value	VEGF		Positive rate/%	Difference <i>P</i> value	Correlation <i>P</i> value
	+	-				+	-			
Han										
1-3	11	30	26.83			16	25	39.02		
≥4	25	7	78.12	0.00	0.03	27	5	84.35	0.03	0.01
Uygur										
1-3	5	5	50.00			6	4	60.00		
≥4	15	6	71.43	0.03	0.02	17	3	85.00	0.00	0.00

表4 汉族、维吾尔族女性三阴性乳腺癌TNM分期与EGFR、VEGF表达情况相关性比较结果

Tab. 4 The comparison of EGFR and VEGF with TNM staging in Han and Uygur TNBC

Stage	EGFR		Positive rate/%	Difference <i>P</i> value	Correlation <i>P</i> value	VEGF		Positive rate/%	Difference <i>P</i> value	Correlation <i>P</i> value
	+	-				+	-			
Han										
I	3	24	11.11			5	22	18.51		
II	38	42	47.50	0.005	0.00	42	38	52.50	0.02	0.03
III	11	3	78.57			12	2	85.71		
Uygur										
I	2	6	25.00			3	5	37.50		
II	15	10	60.00	0.011	0.02	17	8	68.00	0.00	0.02
III	9	4	69.23			10	3	76.92		

3 讨 论

乳腺癌的发生、发展与遗传、生理及环境因素都有关。自2000年Perou等^[1]提出TNBC的概念以来,由于其预后差、进展快等特点,很快成为乳腺癌研究关注的焦点。EGFR是表皮生长因子受体家族成员之一,EGFR信号通路对细胞的增殖、分化、生长有重要调节作用。作为原癌基因C-erb编码的跨膜蛋白,其表达于正常上皮细胞。有研究发现,在肿瘤的进展过程中,EGFR的异常表达和活化与肿瘤血管生成、侵袭、转移等一系列生物学行为密切相关^[2]。针对其分子靶向治疗的代表性药物是吉非替尼(gefitinib),主要作用于EGFR细胞内的酪氨酸激酶,与ATP竞争并抑制其功能。Nielsen等^[3]报道的EGFR在TNBC的表达率为45%~70%。本研究中EGFR阳性表达总数为78例(46.7%),与国外报道基本一致。本研究发现,EGFR阳性表达在汉族女性组(42.9%)明显低于维吾尔族女性组(57%),差异有统计学意义($P<0.05$)。

VEGF是一种血管生成调控因子,它可与血管内皮细胞发生特异性结合,并刺激血管内皮细胞增殖,促进肿瘤新生血管形成,为肿

瘤细胞的转移提供基础,与肿瘤生长关系密切^[4]。研究显示,VEGF在TNBC中的阳性表达率明显高于非三阴性乳腺癌(non-triple-negative breast cancer, NTNBC),并且与其5年生存率显著相关,VEGF高表达提示预后较差^[5-6]。研究显示,鉴于VEGF的特性,其有可能成为TNBC治疗的新靶点^[7]。目前临床上针对VEGF靶向治疗的药物主要有两种,一种是抗血管内皮细胞生长因子的贝伐单抗,另一种是血管内皮抑素,代表药物是恩度。

本研究结果显示,汉族、维吾尔族女性TNBC中VEGF阳性表达率为53.3%(89/167),与杨艳芳等^[8]的研究报道(45.0%)相近。但两组比较,汉族TNBC患者阳性率为48.8%,维吾尔族患者为65.2%,汉族组明显低于维吾尔族组($P=0.022$)。同时,EGFR的表达汉族患者也低于维吾尔族患者,分析产生此种差异的原因,可能是因为维吾尔族TNBC患者就诊时肿瘤分期较晚有关。

本研究随访结果显示,汉族TNBC患者5年内发生复发转移人数为30例(24.8%),而维吾尔族患者发生复发转移人数为15例(32.6%),差异无统计学意义($P>0.05$)。在两组患者5年无

瘤生存无明显差异的情况下, 我们进一步讨论EGFR、VEGF与肿瘤临床分期及淋巴转移情况的关系。

EGFR、VEGF在TNBC中过表达, 与淋巴结转移、肿瘤分期有一定相关性, EGFR及VEGF过度表达的患者, 容易早期复发、转移, 通常预后较差^[9]。但也有不同结论者, Jobim等^[10]的研究结果显示, 乳腺癌患者的淋巴结转移、肿瘤大小及组织学分级与VEGF的阳性表达并无关系。本研究结果显示, EGFR、VEGF阳性表达率与汉族、维吾尔族TNBC患者的淋巴结转移数量及TNM分期呈正相关($0 < r < 1$, $P < 0.05$)。EGFR、VEGF阳性表达随着淋巴结转移数目增加及TNM分期的增高而逐渐升高, 说明EGFR、VEGF在TNBC的进展过程中起到了一定作用。淋巴结转移和TNM分期是临床判断预后的重要依据, 而两者也是制定个体化综合治疗方案的重要参考依据, EGFR及VEGF与淋巴结转移情况和TNM分期的相关性也进一步提示: 我们应高度重视不同民族TNBC患者中EGFR、VEGF的表达差异。作为TNBC分子靶向治疗的突破口及新靶点, 其临床意义重大。我们应针对不同民族患者的TNBC生物学特征, 采取不同的个体化治疗策略, 以进一步获得更高的治愈率及生存率。

综上所述, 本研究汉族与维吾尔族女性TNBC 5年无病生存期差异无统计学意义($P > 0.05$), 但EGFR及VEGF阳性率表达差异有统计学意义($P < 0.05$)。此外, 两组在EGFR、VEGF阳性表达均与TNM临床分期及淋巴结转移数呈正相关($0 < r < 1$, $P < 0.05$)。有研究表明, EGFR和VEGF作为TNBC的独立预后因素, 当它们在乳腺癌患者中高表达时, 往往提示预后较差^[11]。本研究中经过统计分析发现, 无论是EGFR, 还是VEGF, 汉族TNBC患者的阳性表达率都要低于维吾尔族患者, 但两者的5年无病生存率以及复发转移情况都没有明显差别, 因

此, 我们认为, 维吾尔族女性TNBC患者可能存在与汉族女性患者不同的影响其预后的因素, 需开展进一步研究证实。

[参 考 文 献]

- [1] PEROU C M, SORLIE T, EISEN M B, et al. Molecular portraits of human breast tumours [J]. *Nature*, 2000, 406(6797): 747-752.
- [2] SLIWKOWSKI M X, MELLMAN I. Antibody therapeutics in cancer [J]. *Science*, 2013, 341(6151): 1192-1198.
- [3] NIELSEN T O, HSU F D, 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.
- [4] KIM M S, PARK T I, LEE Y M, et al. Expression of id-1 and VEGF in non-small cell lung cancer [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(10): 2012-2111.
- [5] GREENBERG S, RUHO H S. Triple-negative breast cancer: role of antiangiogenic agents [J]. *Cancer J*, 2010, 16(1): 33-38.
- [6] LINDERHOLM B K, HELLBORG H, JOHANSSON U, et al. Significantly higher levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and shorter survival times for patients with primary operable triple-negative breast cancer [J]. *Ann Oncol*, 2009, 20(10): 1639-1646.
- [7] RYDEN L, JIRSTROM K, HAGLUND M, et al. Epidermal growth factor receptor and vascular endothelial growth factor receptor-2 are specific biomarkers in triple-negative breast cancer. Results from a controlled randomized trial with long-term follow-up [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 120(2): 491-498.
- [8] 杨艳芳, 刘君, 姜战胜, 等. VEGF在TNBC中的表达及临床意义 [J]. *中国肿瘤临床*, 2012, 39(8): 439-441.
- [9] RAKHA E A, EI-SAYED M E, GREEN A R, et al. prognostic markers in triple-negative breast cancer [J]. *Cancer*, 2007, 109(1): 25-32.
- [10] JOBIM F C, SCHWARTSMANN G, XAVIER N L, et al. Expression of MMP-9 and VEGF in breast cancer: correlation with other prognostic indicators [J]. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 2008, 30(6): 287-293.
- [11] SOLIE T, TIBSHIRANI R, PARKER J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets [J]. *Proc Natl Acad*, 2003, 100(14): 8418-8423.

(收稿日期: 2015-05-19 修回日期: 2016-02-22)