

iNOS、VEGF 在乳腺癌中的表达及其与腋窝淋巴结转移的关系

赵茜¹, 梁小曼², 吴秋良², 区穗芳¹, 谢秀琴¹

Expression of iNOS and VEGF in Breast Cancer and Its Relationship with the Axillary Lymph Node Metastasis

ZHAO Qian¹, LIANG Xiao-man², WU Qiu-liang², OU Sui-fang¹, XIE Xiu-qin¹

1. Department of Pathology, Guangzhou Railway Central Hospital, Guangzhou 510080, China; 2. Department of Pathology, Cancer Hospital, Sun Yat-sen University

Abstract: Objective To investigate the expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in breast cancer and its relationship with the axillary lymph node metastasis.

Methods SABC immunohistochemical method was used to detect the iNOS and VEGF expression in 91 cases within invasive ductal carcinoma after the surgical treatment. **Results** The expression rate of iNOS and VEGF in 91 cases was 68.1% and 58.2% respectively. A significant correlation was found between the iNOS expression and the tumor grade and the axillary lymph node metastasis ($P < 0.05 \sim 0.01$). A significant correlation was found between the VEGF expression and axillary lymph node metastasis ($P < 0.05$). In addition, there was a significant correlation between iNOS and VEGF ($P < 0.05$). **Conclusion** iNOS may be functioned in the angiogenesis of VEGF widely. The increase of iNOS and VEGF may promote lymph node metastasis of breast carcinoma.

Keywords: Breast carcinoma; Nitric oxide synthase; Vascular endothelial growth factor; Metastasis; Immunohistochemistry

摘要:目的 探讨诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在乳腺癌中的表达及其与腋窝淋巴结转移的关系。方法 应用免疫组化 SABC 法,对 91 例乳腺浸润性导管癌手术根治标本进行 iNOS 和 VEGF 检测。结果 iNOS 和 VEGF 阳性表达率分别为 68.1% 和 58.2%。iNOS 高表达与乳腺癌组织学分级和腋窝淋巴结转移关系密切($P < 0.05 \sim 0.01$)。VEGF 高表达与腋窝淋巴结转移密切相关($P < 0.05$)。iNOS 表达与 VEGF 表达存在显著相关性($P < 0.05$)。结论 iNOS 可能参与 VEGF 诱导的肿瘤血管形成, iNOS 和 VEGF 表达的增高对乳腺癌腋窝淋巴结转移有促进作用。

关键词: 乳腺癌; 一氧化氮合酶; VEGF; 转移; 免疫组织化学

中图分类号: R737.9 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2004)09-0545-03

0 引言

侵袭和转移是肿瘤细胞尤其是恶性肿瘤细胞的一个主要生物学行为。一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)与乳腺癌的分级和腋窝淋巴结转移密切相关;血管内皮生长因子(VEGF)是血管生成的重要促进因子,肿瘤的生长扩散取决于血管生成。我们采用免疫组织化学 SABC 技术,检测乳腺癌组织中 iNOS 及 VEGF 的表达及其与腋窝淋巴结转移的关系,并从分子生物学层面了解 NOS 在乳腺癌的发生、发展、转移等过程中所起的作用,以及与 VEGF 间相互作用的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

收集我院 1995 ~ 2002 年手术切除的乳腺浸润性导管癌根治标本 91 例,标本采用 4% 的福尔马林固定,常规石蜡包埋切片。患者均为女性,年龄 29 ~ 81 岁,平均 54 岁,其中 50 例伴有腋窝淋巴结转移。组织学分级参照全国乳腺癌协作组制订的标准分为 3 级。

1.2 免疫组化染色方法

采用 SABC 法,肿瘤组织切片用 EDTA 修复液高压锅进行抗原修复,多克隆抗 iNOS 抗体(武汉博士德公司产品)和多克隆抗 VEGF 抗体(Zymed 公司产品)分别标记, DAB 显色,苏木素复染,每批染色均设阳性及阴性对照。

1.3 阳性结果判断标准

收稿日期: 2003-06-09; 修回日期: 2003-08-13

作者单位: 1. 510080 广州铁路中心医院病理科; 2. 中山大学肿瘤医院病理科

iNOS 和 VEGF 染色阳性信号为胞质内出现棕黄色颗粒。综合染色强度和阳性细胞数量进行分级。取表达最强的部分,按着色程度分为:基本未着色,染色与背景相似者为 0 分;着色浅,略高于背景者为 1 分;中度着色,明显高于背景者为 2 分;强染,着色深棕色者为 3 分。阳性细胞数 <10% 为 0 分,25% ~ 50% 为 1 分,51% ~ 75% 为 2 分,>75% 为 3 分。两项相加后分阴性(-)和阳性(+);0 ~ 1 分为(-),2 分以上为(+)

1.4 统计学分析

采用 SPSS 8.0 统计学软件行 χ^2 检验。

2 结果

2.1 iNOS 表达与乳腺癌临床病理特征

91 例乳腺癌组织中 iNOS 阳性表达率 68.1% (62/91), iNOS 主要表达在癌细胞胞质中。其表达与患者的年龄及肿瘤大小无明显关系,但与组织学分级和腋窝淋巴结转移关系密切 ($\chi^2 = 9.1, P < 0.05, \chi^2 = 7.2, P < 0.01$), 见表 1。

2.2 VEGF 表达与乳腺癌临床病理学特征

91 例乳腺癌组织中 VEGF 阳性表达率 58.2% (53/91), VEGF 主要表达在癌细胞胞质中,其表达与患者年龄、肿瘤大小及组织学分级无明显关系,但与腋窝淋巴结转移关系密切 ($\chi^2 = 6.3, P < 0.05$), 见表 1。

表 1 iNOS、VEGF 蛋白表达与乳腺癌临床病理特征的关系

观察指标	例数	iNOS			VEGF		
		(+)	(-)	阳性率 (%)	(+)	(-)	阳性率 (%)
年龄(岁)							
>50	51	35	16	68.6	30	21	58.8
<50	40	27	13	67.5	23	17	57.5
肿瘤大小(cm)							
>3	49	34	15	69.4	30	19	61.2
<3	42	28	14	66.7	23	19	54.8
组织学分级							
	28	13	15	46.4	19	9	67.9
	36	27	9	75.0	23	13	63.9
	27	22	5	81.5	11	16	40.7
淋巴结转移							
有	50	40	10	80.0	35	15	70.0
无	41	22	19	53.7	18	23	43.9
总例数	91	62	29	68.1	53	38	58.2

2.3 乳腺癌组织中 iNOS 表达与 VEGF 表达的关系

91 例乳腺癌组织中, iNOS 阳性表达 62 例, 其中 41 例同时表达 VEGF (66.1%), 而 iNOS 阴性表

达 29 例中, 仅 12 例同时表达 VEGF (41.4%), 两者间有明显相关性 ($\chi^2 = 4.98, P < 0.05$), 见表 2。

3 讨论

3.1 iNOS 与乳腺癌组织学分级及腋窝淋巴结转移的关系

近年研究发现, iNOS 可存在于许多肿瘤细胞系和实体瘤组织中, 如头颈部鳞癌^[1]、前列腺癌^[2]、妇科肿瘤^[3]、乳腺癌^[4]、肺癌^[5]、恶性胶质瘤等。Thomsen 等^[4]报道, iNOS 在人浸润性乳腺癌组织中的表达比良性肿瘤或正常组织高, 且与乳腺癌的分级有关。Duenas-Gonzalez 等^[6]报道 NOS 与乳腺癌腋窝淋巴结转移关系密切, 在促进肿瘤的转移中起作用。本研究发现 iNOS 在浸润性乳腺癌中高表达, 阳性率为 68%, 其与患者年龄及肿瘤大小无明显相关性, 但与组织学分级和腋窝淋巴结转移关系密切, 提示 NOS 在乳腺癌的发展及转移过程中起着一定的作用。

3.2 VEGF 与乳腺癌淋巴结转移的关系

肿瘤细胞能够分泌众多的血管生成因子, 其中血管内皮生长因子(VEGF)是最重要的血管生成因子之一, 它通过对血管内皮细胞的增殖、迁移和血管构建的调控作用, 从而促进肿瘤的微血管形成。近年研究发现, VEGF 与乳腺癌血管生成及淋巴结转移密切相关。Valtola 等^[7]报道乳腺癌中可见 VEGF 表达增高, Jiang 等^[8]报道, VEGF 表达与乳腺癌淋巴结转移关系密切, 可作为预测乳腺癌生物学行为、转移潜能和预后的重要指标。王建秋等应用免疫组化法检测浸润性乳腺癌组织中 VEGF 的表达, 结果表明与淋巴结转移和术后 5 年生存率有关。我们的研究结果提示, VEGF 表达的增高对乳腺癌腋窝淋巴结转移可能有促进作用, 可作为衡量肿瘤转移和预后的指标。

3.3 乳腺癌组织中 iNOS 与 VEGF 表达的关系

近年有研究证明, 一氧化氮(nitric oxide, NO) 主要在介导的肿瘤血管形成过程的各个步骤如溶解基质、内皮细胞移动和增生、新的血管网构建和血管腔的形成中起着重要作用。并提示 NO 参与 VEGF 诱导的肿瘤血管形成^[9]。我们的研究结果表明, 乳腺癌组织中 iNOS 的表达与 VEGF 表达密切相关, 提示 iNOS 产生的 NO 可能参与了 VEGF 诱导的肿瘤血管形成, 干预 iNOS 的产生将成为阻断乳腺癌肿瘤血管形成的一个新途径。

参考文献:

- [1] RosbeKW, PrazmaJ, Petrusz, et al. Immunohistochemical char

- acterization of nitric oxides synthase activity in squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 1995, 113 (5): 541-549.
- [2] Klotz T, Bloch W, Volbergs G, et al. Selective expression of inducible nitric oxide synthase in human prostate carcinoma [J]. *Cancer*, 1998, 82 (10): 1897-1903.
- [3] Thomsen LL, Lawton FG, Knowles RG, et al. Nitric oxide synthase activity in human gynecological cancer [J]. *Cancer Res*, 1994, 54 (5): 1352-1354.
- [4] Thomsen LL, Miles DW, Harperfield L, et al. Nitric oxide synthase activity in human breast cancer [J]. *Br J Cancer*, 1995, 72 (1): 41-44.
- [5] Fujimoto H, Ando Y, Yamashita T, et al. Nitric oxide synthase activity in human lung cancer [J]. *Jpn Cancer Res*, 1997, 88 (12): 1190-1198.
- [6] Duenas-Gonzalez A, Isaacs CM, delmar Abad - Hernandez M, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase in breast cancer correlates with metastatic disease [J]. *Mod Pathol*, 1997, 10 (7): 645-649.
- [7] Valtola R, Salven P, Heikkila P, et al. VEGF-3 and sFlt-1 and VEGF-Care associated with angiogenesis in breast cancer [J]. *Am J Pathol*, 1999, 154 (5): 1381-1390.
- [8] Jiang X, Huan G, Li J. The correlation between tumor angiogenesis and lymph node metastasis in primary breast carcinoma [J]. *Zhonghua Waike*, 1997, 35 (10): 583-585.
- [9] Papapetrooulos A, Garcia-Cardena G, Madri JA, et al. Nitric oxide production contributes to the angiogenic properties of vascular endothelial growth factor in human endothelial cells [J]. *Clin Invest*, 1997, 100 (12): 3131-3139.

[编辑: 安凤; 校对: 杨卉]

第一届中国 CT 和 MRI 学术大会征文通知

由《中国 CT 和 MRI 杂志》社、中华放射学会腹部学组、吴阶平医学基金会和深圳市医学会联合主办的“第一届中国 CT/MRI 学术大会”, 将于 2005 年 3 月 25 ~ 28 日在深圳市召开, 会议特邀国内外著名放射学专家发布和交流 CT/MRI 最新成果及临床应用进展, 同时举办“第一期腹部 CT/MRI 诊断学习班”, 参加会者可获得国家级继续教育 1 类学分。

一、征文内容

CT/MRI 基础及实验研究; CT/MRI 临床应用经验和研究成果; CT/MRI 新技术的研究和开发; CT/MRI 设备的维护、保养及检修等经验; CT/MRI 图像显示、处理及管理; CT/MRI 对比剂的临床应用与进展; CT/MRI 交叉和边缘学科相关的研究成果。

二、征文形式

实验研究、论著、综述与讲座、技术交流、经验介绍、设备维护和短篇报道等。

三、征文要求

应征论文分全文论文和摘要式论文两种。全文论文限 4000 字以内, 包括中英文摘要和正文。摘要式论文必须按“目的、方法、结果、结论”四部分撰写, 限 800 字以内; 来稿必须附单位介绍信, 注明文章作者署名无争议、不涉及保密、无一稿多投; 来稿请自留底稿, 概不退稿; 来稿必须附软盘及打印稿各一份, 文稿用 Word 格式排版, 并在信封左下角注明“深圳 CT/MRI 征文”通过 E-mail 投稿者也必须说明“2005 年 3 月深圳 CT/MRI 征文”; 来稿请寄: 邮编: 518036; 地址: 深圳市福田区莲花路北京大学深圳医院内《中国 CT 和 MRI 杂志》编辑部收, 电话: 0755-83923333-5558 或 6668; E-mail: ctmrizz@sina.com; 截稿日期为 2005 年 3 月 5 日; 稿件处理: 经组委会专家审阅通过的论文编入论文汇编, 大会评选的优秀论文将直接安排在《中国 CT 和 MRI 杂志》发表; 届时给第一作者寄正式会议通知, 其他人员可来信、来电、发 E-mail 或登陆 <http://hsjbzz.periodicals.net.cn> 索取。

四、大会形式

专题报告; 专家讲座; 大会交流; 有奖读片; 优秀论文评选等。