

CD44、VEGF 和 EGFR 在乳腺癌中的表达及临床意义分析^①

王娟¹, 黄炳臣², 卢运龙², 黄赞松², 罗春英², 吴雪铭², 黄永秩², 龙喜带², 黄小英^{2②}

(1. 右江民族医学院研究生学院, 广西 百色 533000 E-mail: 827640076@qq.com;

2. 右江民族医学院附属医院/广西肝胆系统疾病临床医学研究中心, 广西 百色 533000)

摘要: **目的** 探讨白细胞分化抗原 44(CD44)、血管内皮生长因子(VEGF)和表皮生长因子受体(EGFR)在乳腺癌中的表达情况及临床意义。**方法** 收集进行了根治性切除的乳腺癌患者 187 例,并收集相应手术切除标本。使用免疫组化检测 CD44、VEGF 和 EGFR 在癌组织、癌旁组织中的表达情况。**结果** CD44、VEGF 和 EGFR 在癌组织中的表达均高于癌旁组织($P < 0.001$);且在腋窝淋巴结转移者中的阳性表达率均高于无淋巴结转移者($P < 0.05$);且在组织学分级 I、II、III 级乳腺癌的阳性表达差异均有统计学意义($P < 0.05$)。VEGF 和 EGFR($r = 0.218, P < 0.05$)、VEGF 和 CD44($r = 0.219, P < 0.05$)、EGFR 和 CD44($r = 0.147, P < 0.05$)在乳腺癌中的表达呈正相关。**结论** CD44、VEGF 和 EGFR 与乳腺癌的浸润转移有关;联合检测乳腺癌中的 CD44、VEGF 和 EGFR 的表达可为判断乳腺癌的恶性程度、寻找新的治疗靶点提供理论依据。

关键词: 乳腺肿瘤;白细胞分化抗原 44;血管内皮生长因子;受体,表皮生长因子;免疫组织化学

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2018)01-0026-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2018.01.007

An analysis of CD44, VEGF and EGFR expressions in breast cancer and their clinical significances

Wang Juan¹, Huang Bingchen², Lu Yunlong², Huang Zansong², Luo Chunying²,
Wu Xueming², Huang Yongzhi², Long Xidai², Huang Xiaoying²

(1. Graduate School of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi
E-mail: 827640076@qq.com;

2. Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities/Guangxi Clinical
Medicine Research Center for Hepatobiliary System Diseases, Baise 533000, Guangxi)

Abstract: **Objective** To explore the expressions of leukocyte differentiation antigen 44 (CD44), vascular endothelial growth factor (VEGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) in breast cancer and clinical significances. **Methods** A total of 187 patients with breast cancer undergoing radical resection were selected and the corresponding surgical resection samples were collected. Immunohistochemistry was used to detect the expressions of CD44, VEGF and EGFR in the breast cancer tissues and the tissues adjacent to breast carcinoma. **Results** The expressions of CD44, VEGF and EGFR in the cancer tissues were higher than those in the tissues adjacent to carcinoma ($P < 0.001$). The positive expression rates in all patients with axillary lymph node metastasis were higher than those in patients without lymph node metastasis ($P < 0.05$). Moreover, the positive expression rates of CD44, VEGF and EGFR in histological grades I, II and III breast cancers differed statistically significantly ($P < 0.05$). In breast cancer, the expression of VEGF was positively associated with the expression of EGFR ($r = 0.218, P < 0.05$), the expression of VEGF was positively associated with the ex-

① 基金项目:右江民族医学院 2016 年广西学位与研究生团队教育改革课题-02(右医研[2016]7 号)

② 通信作者, E-mail: huangxiaoying3770@163.com

pression of CD44 ($r=0.219, P<0.05$), and the expression of EGFR was positively associated with the expression of CD44 ($r=0.147, P<0.05$). **Conclusion** CD44, VEGF and EGFR are associated with infiltration and metastasis of breast cancer. The combined determination of the expressions of CD44, VEGF and EGFR in breast cancer can provide theoretic evidences for identifying the malignant degree of breast cancer and finding a new therapeutic target.

Key words: breast neoplasms; leukocyte differentiation antigen 44; vascular endothelial growth factor; receptor, epidermal growth factor; immunohistochemistry

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,其发病率逐年上升且发病年龄年轻化。因此相关的分子生物标志物在乳腺癌的诊断、治疗及预后中起着重要作用。通过免疫组化检测 CD44、VEGF 和 EGFR 在乳腺癌中的表达,分析它们的表达与乳腺癌患者的临床病理特性之间的关系。

1 材料与方法

1.1 临床材料 选取 2015 年 1 月—2017 年 6 月在右江民族医学院附属医院住院行根治性切除的 187 例女性乳腺癌患者为研究对象,年龄 28~90 岁。患者临床表现为乳腺肿物进行性增大数月余且术前均未做任何抗癌治疗,每例均取乳腺癌组织及对应癌旁乳腺组织(距肿瘤边缘 2cm)。患者彩超所见:患者左侧或者右侧腺体层探及肿物,低回声团,边界尚清,形态欠均匀,所有患者均为乳腺浸润性导管癌。按改良 Bloom-Richardson 半定量组织学分级法:Ⅰ级 22 例,Ⅱ级 122 例,Ⅲ级 43 例。

1.2 研究方法 手术切除标本用 10% 中性福尔马林对标本进行固定,常规脱水,石蜡包埋,4 μm 厚持续切片,HE 染色,通过光镜进行观察。免疫组化染色采用 EnVision 两步法,DAB 显色。抗体和试剂盒均购自福州迈新,所有操作步骤均按照试剂盒说明书进行。

1.3 观察指标 白细胞分化抗原 44(CD44)染色定位胞膜:细胞阳性率分为 4 个等级:无阳性染色细胞或 $<5\%$ 细胞呈阳性反应为(-);阳性细胞数在 $5\% \sim 24\%$ 之间为(+);阳性细胞数在 $25\% \sim 50\%$ 之间为(++);阳性细胞数 $>50\%$ 为(+++) [1]。表皮生长因子受体(EGFR)染色定位于胞膜:阴性为无棕黄色染色;阳性为棕黄色细胞数平均 $\geq 10\%$ [2]。血管内皮生长因子(VEGF)染色定位于胞浆:阴性为无棕黄色染色或有棕黄色细胞数 $<25\%$;阳性为棕黄色细胞数平均 $\geq 25\%$ [3]。

1.4 统计学方法 统计学应用 SPSS 23.0 软件对 CD44、VEGF 和 EGFR 的表达情况进行 χ^2 检验,对

CD44、VEGF 和 EGFR 在乳腺癌中的表达关系进行 Spearman 相关性分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌组织和癌旁组织中 CD44、VEGF 和 EGFR 的表达 CD44、VEGF 和 EGFR 在乳腺癌组织中的阳性表达率分别为 77.01%(144/187)、52.94%(99/187)和 59.89%(112/187),三者在乳腺癌组织中的表达均高于癌旁组织,差异均有统计学意义($P<0.001$),见表 1。

表 1 CD44、VEGF 和 EGFR 在乳腺癌组织、癌旁组织中的表达

组别	n	CD44		VEGF		EGFR	
		阳性	占比(%)	阳性	占比(%)	阳性	占比(%)
癌组织	187	144	77.01	99	52.94	112	59.89
癌旁组织	187	24	12.83	1	0.53	4	2.14
χ^2		155.617		131.091		145.761	
P		<0.001		<0.001		<0.001	

2.2 CD44、VEGF 和 EGFR 表达与乳腺癌患者临床病理特征的关系分析 CD44、VEGF 和 EGFR 三者在有腋窝淋巴结转移者中的阳性表达率显著高于无腋窝淋巴结转移者($P<0.05$ 或 $P<0.001$)。CD44 与组织学分级有关($P<0.05$),Ⅱ级阳性表达率最高(Ⅰ级阳性率 59.10%,Ⅱ级阳性率 81.15%,Ⅲ级阳性率 67.44%);与肿瘤直径、临床分期、患者年龄无关($P>0.05$)。VEGF 与肿瘤组织学分级、临床分期有关($P<0.05$),且Ⅱ级阳性表达最低(Ⅰ级阳性率 63.64%,Ⅱ级阳性率 45.90%,Ⅲ级阳性率 67.44%);与肿瘤直径、患者年龄无关($P>0.05$)。EGFR 与患者组织学分级、年龄、肿瘤直径均有关($P<0.05$),且分化程度越高阳性表达率越高(Ⅰ级阳性率 36.36%,Ⅱ级阳性率 45.08%,Ⅲ级阳性率 67.44%);与临床分期无关($P>0.05$)。

表 2 CD44、VEGF 和 EGFR 表达与乳腺癌患者临床病理特性的关系

临床特征	n	CD44			VEGF			EGFR		
		阳性	χ^2	P	阳性	χ^2	P	阳性	χ^2	P
年龄(岁)										
≤50	120	93	0.796	0.372	69	2.794	0.095	68	7.475	0.006
>50	67	48			30			24		
肿瘤直径(cm)										
≤3	74	54	0.389	0.533	39	0.003	0.958	50	16.534	<0.001
>3	113	87			60			42		
组织学分级										
I 级	22	13			14			8		
II 级	122	99	6.796	0.033	55	7.066	0.029	55	8.003	0.018
III 级	43	29			29			29		
临床分期										
I~II 期	148	115	2.027	0.155	70	9.073	0.003	77	2.273	0.132
III~IV 期	39	26			29			15		
淋巴结转移										
无	86	71	4.397	0.036	38	4.899	0.027	28	17.639	<0.001
有	101	70			61			64		

2.3 VEGF 和 EGFR 在乳腺癌中表达的关系 在乳腺癌中 VEGF 的表达与 EGFR 的表达呈正相关($r = 0.218, P = 0.003$), 见表 3。

表 3 VEGF 和 EGFR 在癌组织中表达的关系

VEGF	n	EGFR		r	P
		阳性	阴性		
阳性	99	61	38	0.218	0.003
阴性	88	35	53		

2.4 VEGF 和 CD44 在乳腺癌中表达的关系 在乳腺癌中 VEGF 的表达与 CD44 的表达呈正相关($r = 0.219, P = 0.003$), 见表 4。

2.5 EGFR 和 CD44 在乳腺癌中表达的关系 在乳腺癌中 EGFR 的表达与 CD44 的表达呈正相关($r = 0.147, P = 0.044$), 见表 5。

表 4 VEGF 和 CD44 在乳腺癌中表达的关系

VEGF	n	CD44		r	P
		阳性	阴性		
阳性	99	60	39	0.219	0.003
阴性	88	34	54		

表 5 EGFR 和 CD44 在乳腺癌中表达的关系

EGFR	n	CD44		r	P
		阳性	阴性		
阳性	112	69	43	0.147	0.044
阴性	75	35	40		

2.6 病理图片 乳腺癌组织形态学改变(见图 1A), CD44 染色定位于胞膜(见图 1B), VEGF 染色定位于胞浆(见图 1C), EGFR 染色定位于胞膜(见图 1D)

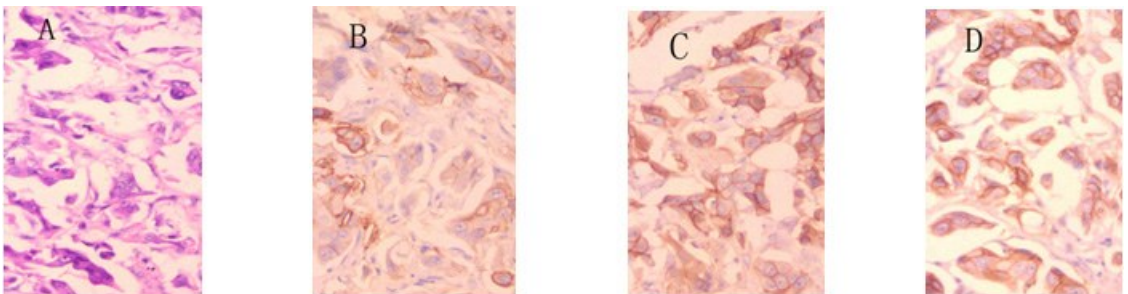


图 1 乳腺癌组织病理切片

图 A:乳腺癌组织形态学改变;图 B:乳腺癌中 CD44 的阳性表达;图 C:乳腺癌中 VEGF 的阳性表达;图 D:乳腺癌中 EGFR 的阳性表达

3 讨论

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤之一,其发病率逐年上升,因此探索乳腺癌发生机制的新靶点依旧是该研究领域的热点问题。

3.1 CD44的异常表达与乳腺癌的关系 CD44具有黏附作用,可通过与细胞内的骨架蛋白结合,参与细胞与细胞基质之间的黏附调节,使肿瘤细胞的运动能力增强,促使肿瘤细胞转移到远处脏器^[4]。李万军等^[5]应用免疫法检测CD44在乳腺癌和正常乳腺组织中的表达情况,结果显示CD44表达程度的高低与肿瘤的大小、组织学分级、腋窝淋巴结转移情况密切相关。Horimoto Y等^[6]应用免疫组化法检测61例最终发展为远处转移的乳腺癌患者,结果表明CD44是一个很好的预后标志,这将成为乳腺癌患者治疗、预后及复发的预测指标。本实验研究结果表明:CD44在癌组织中的表达率为77.01%(144/187),且与组织学分化、淋巴结转移有关($P < 0.05$),与其他指标无关($P > 0.05$),与以上文献报道相一致,CD44在乳腺癌中的阳性高表达表明癌组织中肿瘤细胞更容易发生浸润、转移。

3.2 VEGF的异常表达与乳腺癌的关系 VEGF是作用最强的、特异性最高的促血管内皮生长因子^[7-8],具有促进血管内皮细胞增殖分化,提高血管通透性的特点,在新生的血管中发挥着重要的作用^[9]。王伟等^[10]通过免疫组化法检测50例乳腺癌患者根治手术切除的癌组织和癌旁标本中的VEGF表达情况,结果表明VEGF在乳腺癌中阳性表达显著高于癌旁组织,其表达强度与组织学分级、淋巴结转移具有正相关性,与本研究结果相一致。丁佩剑等^[11]通过免疫组化法检测60例乳腺癌患者和乳腺纤维腺瘤患者中VEGF的表达情况,结果表明,乳腺癌中VEGF的表达比乳腺纤维腺瘤的表达高。本实验研究结果表明:VEGF在癌组织中的表达率为52.94%(99/187),且与组织学分化、淋巴结转移及临床分期有关($P < 0.05$),与其他指标无关($P > 0.05$),与以上文献报道相一致,表明VEGF在乳腺癌发展的过程中起重要作用,与肿瘤的恶性程度、浸润和转移有着密切关系。

3.3 EGFR的异常表达与乳腺癌的关系 文献研究表明^[12],EGFR在多种恶性肿瘤中存在着高表达或异常表达。EGFR的过度激活能促进肿瘤细胞的恶性增殖,抑制细胞凋亡^[13]。汤永峰等^[14]通过免疫组化法检测68例乳腺癌组织,结果表明EGFR的表达与腋窝淋巴结转移的情况、组织学分级程度有关,而与患者的发病年龄、肿瘤的大小、TNM分期等表达均无关。张景华等^[15]研究表明EGFR在乳腺癌中有淋巴结转移的阳性表达率明显高于无淋巴结转移现象,不同病理分

级的阳性表达率差异具有统计学意义,但EGFR的阳性率与肿瘤大小、TNM分期、年龄等均无关。本实验研究结果表明:EGFR在癌组织中的表达率为59.89%(112/187),且与组织学分化、淋巴结转移、肿瘤直径及年龄有关($P < 0.05$),与临床分期无关($P > 0.05$),与以上文献报道相一致,表明EGFR在乳腺癌的发生发展过程中起重要作用,与肿瘤的侵袭性和转移有着密切关系。

本研究结果通过相关性分析表明CD44、VEGF和EGFR阳性表达两两之间均有相关性,且都参与乳腺癌的发生发展过程,这意味着多种因子联合检测可能会提高乳腺癌侵袭和腋窝淋巴结转移的检出率,为乳腺癌的诊断、治疗和预后提供指导依据。

综上所述,CD44、VEGF和EGFR共同促进乳腺癌的血管形成和侵袭转移。随着研究的逐渐深入,有望将CD44、VEGF和EGFR指标结合起来,为提高乳腺癌的诊断率、判断乳腺癌的恶性程度、评估乳腺癌患者的预后提供帮助,为攻克乳腺癌及相关肿瘤带来无限希望。

参考文献:

- [1] 吴绍新,王涛,付颖,等. E-cd及CD44 V₆在乳腺癌中的表达及意义[J]. 右江民族医学院学报,2007,29(6):969-970.
- [2] 马桂芬,缪青,高虹,等. 人上皮生长因子受体2在胃癌发生发展中的表达及临床意义[J]. 中华消化杂志,2012,32(10):703-706.
- [3] 张利斌,王平,熊健,等. 非小细胞肺癌中VEGF-C、VEGF-D、VEGFR-3表达与微淋巴管密度的关系[J]. 安徽医科大学学报,2013,48(8):933-937.
- [4] Asiedu MK, Ingle JN, Behrens MD, et al. TGFbeta/TNF(alpha)-mediated epithelial-mesenchymal transition generates breast cancer stem cells with a claudin-low phenotype [J]. Cancer Res,2011,71(13):4707-4719.
- [5] 李万军,年瑞,李维华. CD44和MMP-2在乳腺癌中的表达和意义[J]. 长治医学院学报,2014,28(4):257-260.
- [6] Horimoto Y, Arakawa A, Sasahara N, et al. Combination of cancer Stem cell Markers CD44 and CD24 Is Superior to ALDH1 as a Prognostic Indicator in Breast Cancer Patients with Distant Metastases[J]. PLoS One,2016,11(10):e0165253.
- [7] Yang JD, Nakamura I, Roberts LR. The tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma: current status and therapeutic targets [J]. Semin Cancer Biol,2011,21(1):35-43.
- [8] 欧阳德亮,胡杨,王又保,等. 穿心莲内酯对胃癌AGS细胞增殖侵袭的影响[J]. 中南医学科学杂志,2014,42(3):246-250.

(下转第32页)

列炎症介质,并通过瀑布式级联反应参与机体各生理及病理过程。COX-2与多种癌细胞均有密切关系,参与了肿瘤的发生与发展,促进恶性肿瘤转移^[9-11]。Kumagai Y等^[12]研究显示,食管鳞癌微血管密度越高,COX-2基因表达越明显,两者具有显著相关性。Chen J等^[13]研究表明,COX-2基因对食管癌的发展具有促进作用,与P53基因联合检测对食管癌患者预后评估具有重要作用。

本次研究分析COX-2基因在食管癌组织和癌旁组织中的表达情况,结果显示癌组织中COX-2基因呈弱阳性、阳性及强阳性表达,表达程度均显著高于其在癌旁组织中的表达($P < 0.05$),表明COX-2基因在癌组织中表达较高,与唐曼等^[14]的研究结果相符。低分化组COX-2基因表达强阳性显著高于中分化组和高分化组($P < 0.05$),低分化组中COX-2阴性表达显著低于高分化组($P < 0.05$),而中分化组与高分化组中COX-2阳性表达虽无显著差异,但仍低于低分化组,表明食管鳞癌组织中COX-2的表达与肿瘤分化程度有关。张乐等^[15]研究显示,COX-2的表达随着肿瘤分化程度的升高而逐渐上调,亦与本次研究结果相符。

综上所述,COX-2基因在癌组织中的表达高于癌旁组织,其表达程度与癌分化程度有关。但是本研究纳入样本量较少,因此还需扩大样本量进行更加深入的研究。

参考文献:

- [1] 朱雄杰,田瑶,朱娟娟,等.食管癌的靶向治疗研究进展[J].实用医学杂志,2017,33(12):1910-1912.
- [2] 陈伟坚,李庆禄,庞小洋,等.中、下段食管癌术后胸内吻合口瘘的原因分析与治疗对策[J].右江民族医学院学报,2014,36(3):383-385.
- [3] 李日著,陈宏明,罗世官,等.两种吻合方式在食管癌切除术中的应用效果比较[J].右江民族医学院学报,2015,37(3):413-414.

- [4] 刘贵秋,张传山,张勤. COX-2及E-cadherin在胃癌发生发展中的作用研究进展[J]. 山东医药,2014,54(3):98-100.
- [5] 李俊青,孙建宁,李军祥. 环氧合酶-2及相关信号通路在慢性萎缩性胃炎中的研究进展[J]. 中国中西医结合消化杂志,2013,21(8):437-441.
- [6] 梁玮,陈洋洋,陈雅华. 早期食管癌内镜诊治的应用推广:福建经验[J]. 中华消化内镜杂志,2017,34(3):158-162.
- [7] 郭智,高宇,刘丽坤,等. 持续性背痛与食管癌放疗患者生存期的相关性研究[J]. 肿瘤研究与临床,2017,29(7):484-487.
- [8] 喻雄杰,李艳丽,雷金华,等. 缓释化疗粒子与支架置入治疗中晚期食管癌比较[J]. 现代仪器与医疗,2016,22(4):83-84.
- [9] 李韶令,张相民,刘联斌,等. AMPK、NF- κ B、COX-2及PGE2在非小细胞肺癌中的表达[J]. 中国现代医学杂志,2017,27(3):49-54.
- [10] 马晓春,李娟. 子宫内膜异位症非激素药物治疗研究新进展[J]. 检验医学与临床,2014,11(17):2450-2452.
- [11] 刘红波,田云霄,王艳花,等. 环氧合酶-2在消化道肿瘤中的表达研究[J]. 河北医药,2013,35(15):2356-2359.
- [12] Chen J, Wu F, Pei HL, et al. Analysis of the correlation between P53 and Cox-2 expression and prognosis in esophageal cancer[J]. Oncology Letters, 2015, 10(4): 2197-2203.
- [13] Kumagai Y, Sobajima J, Higashi M, et al. Coexpression of COX-2 and iNOS in angiogenesis of superficial esophageal squamous cell carcinoma [J]. International Surgery, 2015, 100(4): 733-743.
- [14] 唐曼,徐晓春,吴强,等. COX-2、RAR- β 2在食管鳞状细胞癌组织中的表达及相互关系[J]. 安徽医科大学学报,2013,48(2):141.
- [15] 张乐,梁宗英,辛国华,等. COX-2在不同分化程度食管鳞癌组织中的表达及临床意义及中医辨证分析[J]. 环球中医药,2014,7(S2):27-28.

收稿日期:2017-09-26;修回日期:2018-02-05

(上接第29页)

- [9] 郭晓东,张宇月,赵景民,等. VEGF和p53在肝细胞性肝癌组织中的异常表达与预后的关系[J]. 现代生物医学进展,2012,12(33):6451-6453.
- [10] 王伟,曹苏生,鹿存涛,等. VEGF在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中外医疗,2013,32(35):65-66.
- [11] 丁佩剑,杨阳. VEGF在乳腺癌中的表达及临床意义[J]. 承德医学院学报,2011,28(4):355-357.
- [12] Takada M, Nakagawa K. Role of EGFR monoclonal antibodies in the management of non-small cell lung cancer [J]. Curr Cancer Drug Targets, 2015, 15(9): 792-802.

- [13] Gala K, Chandarlapaty S. Molecular pathways: HER-3 targeted therapy[J]. Clin Cancer Res, 2014, 20(6): 1410-1416.
- [14] 汤永峰,谢莉莉,冯晓敏,等. 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.
- [15] 张景华,王保信,汪萍,等. 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.

收稿日期:2017-10-13;修回日期:2017-12-06