

· 论 著 ·

## 63 例乳腺癌组织中 Twist 和 VEGF 的表达及相关性分析\*

齐贵胜<sup>1</sup>, 李玉红<sup>2</sup>

(1. 聊城职业技术学院病理学教研室, 山东 252000; 2. 山东省聊城市人民医院病理科 252000)

**摘要:**目的 探讨 Twist 和 VEGF 在乳腺癌组织中的表达及其相关性。方法 采用免疫组化 EliVision Plus 法检测 63 例乳腺癌及 20 例乳腺纤维腺瘤组织中 Twist 和 VEGF 的表达,并结合临床病理特点进行分析。结果 Twist 和 VEGF 在乳腺癌组织中的表达阳性率分别为 57.14%、63.49%,明显高于其在乳腺纤维腺瘤中的表达阳性率(15.00%、35.00%),差异有统计学意义( $P=0.001, P=0.025$ )。Twist 和 VEGF 的表达阳性率与乳腺癌腋窝淋巴结转移有关( $P=0.003, P=0.038$ ),与组织学分级呈正相关( $P=0.023, P=0.006$ ),与患者年龄、肿瘤大小无关( $P>0.05$ );Twist 表达与 VEGF 表达呈显著正相关( $P<0.01$ )。结论 Twist 和 VEGF 在乳腺癌组织中呈高表达。Twist 可能通过上调 VEGF 的表达而促进乳腺癌浸润、转移。

**关键词:** Twist; VEGF; 乳腺癌; 免疫组化

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.23.008

中图分类号: R737.9; R730.43

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)23-3170-03

## Expression and correlation analysis of Twist and VEGF in breast carcinoma of 60 cases\*

QI Gui-sheng<sup>1</sup>, LI Yu-hong<sup>2</sup>

(1. Department of Pathology, Liaocheng Vocation and Technical College, Shandong 252000, China;

2. Department of Pathology, People's Hospital of Liaocheng, Shandong 252000, China)

**Abstract:** **Objective** To study the expression and correlation of Twist and VEGF in breast carcinoma. **Methods** Immunohistochemical EliVision Plus method was performed to detect the expression of Twist and VEGF in 63 cases of breast carcinoma and 20 cases of breast fibroadenoma and the relationship of the expression with clinical-pathological characteristics was examined in this study. **Results** The positive expression rates of Twist and VEGF in the breast carcinoma was 57.14% and 63.49% respectively, they were significantly higher than that in breast fibroadenoma 15.00% and 35.00% ( $P=0.001, P=0.025$ ). The positive expression of Twist and VEGF in breast carcinoma was correlated with axillary lymph node metastasis ( $P=0.003, P=0.038$ ) and histologic grade ( $P=0.023, P=0.006$ ), but not correlated with age of patients and tumor size ( $P>0.05$ ). There was a positive correlation between the expression of Twist and VEGF in breast carcinoma ( $P<0.01$ ). **Conclusion** There is over-expression of both Twist and VEGF in breast carcinoma. To stimulate expression of VEGF may be one of the pathways of Twist to contribute to the invasion and metastasis in the human breast carcinoma.

**Key words:** twist; VEGF; breast carcinoma; immunohistochemistry

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤之一,近年来其发病率有逐渐上升的趋势,其发生、发展和浸润扩散机制尚不清楚。肿瘤细胞增殖/凋亡失衡及新生血管形成与大多数肿瘤的发生、发展有重要关系,研究发现 Twist 能通过多种途径抑制细胞凋亡,在肿瘤的发生、发展和转移过程中发挥重要作用<sup>[1]</sup>; VEGF 在人类多种恶性肿瘤中过度表达,并与肿瘤的侵袭性生长有关<sup>[2]</sup>。本研究采用免疫组化技术检测乳腺癌组织中 Twist 和 VEGF 的表达,并分析 Twist 和 VEGF 表达的相关性及其临床意义。

## 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 选择本院病理科存档的 2008 年 6 月至 2009 年 5 月外检乳腺浸润性导管癌组织标本蜡块 63 份(术前均未放疗、化疗及激素治疗),均为女性患者,年龄 32~71 岁,平均 49.78 岁。根据 Elson-Ellis 半定量分级法进行组织学分级: I 级 22 例, II 级 29 例, III 级 12 例;选择 20 例乳腺纤维腺瘤为对照组。病理诊断经两位病理学专家复核证实。

**1.2 试剂** Twist 鼠抗人单克隆抗体为 Santa Cruz 公司产品(工作浓度为 1:200);鼠抗人 VEGF 单克隆抗体(即用型)及免疫组化试剂盒购自福州迈新公司,操作步骤按说明书进行。

**1.3 方法** 所有标本经 10% 中性甲醛溶液固定,常规脱水,石蜡包埋。将每例蜡块作 4 μm 厚连续切片,采用免疫组化 EliVision Plus 法检测组织中 Twist 和 VEGF 的表达。用已知的阳性切片作阳性对照,用 PBS 代替一抗作阴性对照。

**1.4 结果判断** Twist、VEGF 表达以胞质呈棕黄色或棕褐色颗粒为阳性。参照文献<sup>[3]</sup>半定量判断 Twist、VEGF 免疫组化结果,光镜下随机观察免疫组化切片 5 个高倍镜视野,每个视野计数 200 个细胞,共计 1 000 个细胞;按着色程度评分:0 分为无着色,1 分为浅黄色,2 分为棕黄色,3 分为棕褐色;按阳性细胞所占比例评分:0 分为阴性,1 分为小于 10%,2 分为 11%~50%,3 分为 51%~75%,4 分为大于 75%。以两者乘积判定结果:4~12 分为阳性,4 分以下为阴性。

**1.5 统计学处理** 应用 SPSS11.5 软件进行统计学处理,组

\* 基金项目:聊城职业技术学院科研基金资助项目(2009LZY27)。

间比较采用  $\chi^2$  检验, Twist 和 VEGF 表达的相关分析采用非参数相关性 Spearman 检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Twist、VEGF 在乳腺癌和乳腺纤维腺瘤组织中的表达比较 Twist、VEGF 在乳腺癌组织中表达阳性率分别为 57.14%、63.49%, 明显高于其在乳腺纤维腺瘤中的表达阳性率(15.00%、35.00%), 差异有统计学意义( $P = 0.001, P = 0.025$ ), 见表 1。

2.2 Twist、VEGF 表达水平与乳腺癌临床病理特征的关系 Twist 表达阳性率与乳腺癌腋窝淋巴结转移、组织学分级呈

著正相关( $P = 0.03, P = 0.023$ ); VEGF 表达阳性率与乳腺癌腋窝淋巴结转移、组织学分级呈显著正相关( $P = 0.038, P < 0.006$ )。Twist 和 VEGF 阳性表达率均与患者年龄、肿瘤大小无关( $P > 0.05$ ), 见表 2。

表 1 乳腺癌及乳腺纤维腺瘤组织中 Twist 和 VEGF 的阳性表达

检测项目	乳腺纤维腺瘤				乳腺癌				$\chi^2$	P
	n	-	+	阳性率(%)	n	-	+	阳性率(%)		
Twist	20	17	3	15.00	63	27	36	57.14	10.824	0.001
VEGF	20	13	7	35.00	63	23	40	63.49	5.018	0.025

表 2 Twist、VEGF 表达与乳腺癌临床病理特征的关系

临床病理指标	n	Twist				VEGF						
		-	+	阳性率(%)	$\chi^2$	P	-	+	阳性率(%)	$\chi^2$	P	
患者年龄(岁)												
≤50	29	13	16	55.17			10	19	65.52			
>50	34	14	20	58.82	0.085	0.770	13	21	61.76	0.095	0.758	
肿瘤直径(cm)												
≤2	28	14	14	50.00			12	16	57.14			
2~5	19	7	12	63.16	1.052	0.591	6	13	68.42	0.877	0.645	
>5	16	6	10	62.50			5	11	68.75			
淋巴结转移												
无	33	20	13	39.39			16	17	51.51			
有	30	7	23	76.66	8.914	0.003	7	23	76.66	4.289	0.038	
组织学分级												
I	22	14	8	36.36			13	9	40.91			
II	29	11	18	62.07	7.527	0.023	9	20	68.96	10.117	0.006	
III	12	2	10	83.33			1	11	91.66			

2.3 乳腺癌组织中 Twist、VEGF 表达的相关性 63 例乳腺癌组织中 Twist 和 VEGF 同时表达阳性 30 例(47.62%); Twist 和 VEGF 同时表达阴性 17 例(26.98%)。经非参数相关性 Spearman 检验,  $r = 0.476, P < 0.01$ , 说明 Twist 表达与 VEGF 表达呈显著正相关。见表 3。

表 3 乳腺癌组织中 Twist、VEGF 表达的相关性

VEGF 表达	Twist 表达		total	r	P
	-	+			
-	17	6	23		
+	10	30	40	0.476	<0.01
total	27	36	63		

3 讨 论

Twist 作为果蝇、鼠、人等生物体内的一种碱性螺旋-环-螺旋转录因子, 在胚胎生长发育阶段诱导细胞迁移的调控过程中起着关键作用[4]。研究发现 Twist 具有癌基因的特征, 能编码凋亡抑制蛋白, 通过多种途径引起恶性肿瘤的发生、发展, 如通过抑制分化、阻断 p53 通路及 N-Myc 的促凋亡作用、抑制 NF-

KB/TNF 通路等, 显示抗凋亡作用[5]; Twist 还可通过对 Akt 途径的正性调控作用抑制细胞凋亡[6]。上皮间质化(EMT)是胚胎发育阶段一种重要形态学特征, 也是慢性炎症、纤维化及肿瘤进展中的一个重要过程[7]。Twist 与其他一些基因如 snail、slug 等能够诱导 EMT, 造成 E-Cadherin 表达下调, 导致其介导的细胞-细胞间黏附功能减弱或丧失, 促进肿瘤细胞从原发灶脱落, 侵入周围组织[8]。Rosivatz 等[9]研究证实, Twist 表达显著上调见于弥散性胃癌等恶性程度高、侵袭性强的肿瘤组织中。李坤等[10]采用免疫组化 SP 法研究 112 例食管鳞癌组织中 Twist 蛋白的表达, 显示 Twist 表达增强与食管鳞癌的发生和远处转移有关, 对患者术后生存时间有显著影响。

血管生成在实体肿瘤的恶变、生长和转移等方面起着重要作用。VEGF 被认为是最重要的血管生成因子之一, 它能够促进血管内皮细胞增殖, 增强血管壁通透性, 还可以诱导内皮细胞降解细胞外基质, 介导其迁移和浸润[11]。大量研究证实 VEGF 过表达可促进恶性肿瘤的生长、浸润和转移[12]。Yang 等[13]研究显示 Twist 对癌细胞的血管内渗和肺转移起重要作用, 应用 RNA 干扰技术抑制 Twist 的表达后能明显降低肿瘤肺转移效率和肿瘤细胞进入血液循环的数目。

本实验结果显示乳腺癌组织中 Twist 和 VEGF 的表达阳性率分别为 57.14%、63.49%，明显高于对照组 ( $P=0.001$ ,  $P=0.025$ )，Twist 和 VEGF 的表达阳性率与患者有无腋窝淋巴结转移及组织学分级显著相关 ( $P<0.05$ )，提示 Twist 和 VEGF 共同参与了乳腺癌的发生、发展，并与乳腺癌的恶性程度密切相关，肿瘤级别越高，Twist、VEGF 表达越强，越容易发生浸润、转移。本实验结果表明，乳腺癌组织中 Twist 表达，与 VEGF 表达呈显著正相关 ( $P<0.01$ )，二者关联可能源于 Twist 表达上调增强了 VEGF 的表达。有研究表明在乳腺癌细胞株中 Twist 过表达可增强 VEGF 表达、诱导血管生成，并且与染色体不稳定性密切相关<sup>[14]</sup>。由此可见 Twist 和 VEGF 在乳腺癌发生、发展中发挥着重要作用，Twist 可能通过上调 VEGF 的表达，促进肿瘤组织血管生成，增强肿瘤细胞的侵袭力，从而成为其促进乳腺癌浸润、转移的可能途径之一，联合检测 Twist 和 VEGF 的表达状况，对于正确评估乳腺癌的恶性程度、发展和预后具有一定意义，对乳腺癌的诊断和治疗具有重要的临床参考价值。

#### 参考文献:

- [1] Kang Y, Massague J. Epithelial mesenchymal transitions: twist in development and metastasis[J]. Cell, 2004, 118(3):277.
- [2] Yokoyama Y, Sato S, Futagami M, et al. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor and its receptors in endometrial carcinoma[J]. Gynecol Oncol, 2000, 77:413.
- [3] 赵杰, 杨春雨, 王丽华, 等. Twist 蛋白、E-cadherin、VEGF 在食管鳞状细胞癌中的表达[J]. 辽宁医学院学报, 2008, 29(8):506.
- [4] 刘瑞鸣. Twist 与恶性肿瘤关系的研究[J]. 广西医科大学学报, 2009, 26(2):326.
- [5] Valsesia-Wittmann S, Magdeleine M, Dupasquier S, et al.

Oncogenic cooperation between H-Twist and N-Myc overrides failsafe programs in cancer cells[J]. Cancer Cell, 2004, 6(6):625.

- [6] Zhang X, Wang Q, Ling MT, et al. Anti-apoptotic role of TWIST and its association with Akt pathway in mediating taxol resistance in nasopharyngeal carcinoma cells[J]. Int J Cancer, 2007, 120(9):1891.
- [7] 陆虹曼. 上皮间质细胞转化的分子机制及其在肿瘤转移中的作用[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2009, 16(5):541.
- [8] Vesuna F, van Diest P, Chen JH, et al. Twist is a transcriptional repressor of E-cadherin gene expression in breast cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 367(2):235.
- [9] Rosivatz E, Becker I, Specht K, et al. Differential expression of the epithelial-mesenchymal transition regulators snail, SIP1, and twist in gastric[J]. Cancer Am J Pathol, 2002, 161(5):1881.
- [10] 李坤, 陈建明, 蒋耀光, 等. Twist 在食管鳞癌中的表达及其对预后的影响[J]. 重庆医学, 2008, 37(8):837.
- [11] 李启明, 李宁. 血管内皮生长因子与肿瘤转移[J]. 重庆医学, 2006, 35(22):2085.
- [12] 秦双, 来俊英. COX-2、VEGF 在乳腺癌组织中的表达及临床意义[J]. 医学信息手术学分册, 2007, 20(8):675.
- [13] Yang J, Mani SA, Donaher JL, et al. Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis[J]. Cell, 2004, 117(7):927.
- [14] Mironchik Y, Winnard PT, Vesuna F, et al. Twist overexpression induces in vivo angiogenesis and correlates with chromosomal instability in breast cancer[J]. Cancer Res, 2005, 65(23):10801.

(收稿日期:2010-06-06 修回日期:2010-07-21)

(上接第 3169 页)

- [10] Sonden A, Svensson B, Romman N, et al. Mechanisms of shock wave induced endothelial cell injury[J]. Lasers Surg Med, 2002, 31:233.
- [11] 傅重洋, 洪光祥, 刘敬军, 等. 血管内皮生长因子受体在大鼠脊髓组织中的表达与分布[J]. 重庆医学, 2004, 33(12):1831.
- [12] Kuin A, Kruse JJ, Stewart FA. Proteinuria and vascular changes after renal irradiation; the role of reactive oxygen species(ROS) and vascular endothelial growth factor (Vegf)[J]. Radial Res, 2003, 159:174.

- [13] 黄家君, 李霞辉, 谢娟, 等. <sup>99m</sup>Tc-ASON-EGF 在荷乳腺癌裸鼠体内分布及反义显像研究[J]. 重庆医学, 2006, 35(19):1770.
- [14] 徐万龙, 白靖平, 锡林宝勒日, 等. 犬脊柱适形调强放疗对脊髓中 Fas、FasL 和 HSP70 分布的影响[J]. 新疆医科大学学报, 2009, 32(5):549.
- [15] 锡林宝勒日, 徐万龙, 陈刚, 等. 脊柱 IMRT 和普通放疗脊髓生物安全性的比较[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2010, 30(1):17.

(收稿日期:2010-04-21 修回日期:2010-05-10)