

CD44v6、MUC1 及 VEGF 在三阴性乳腺癌组织中的表达及其临床意义

孟迪¹,冯晓燕²,进淑娟¹,戴振华²,韩小伟¹,郝晓鹏¹,张贺秋²,黄焰¹

(1.军事医学科学院附属医院,北京 100071;2.军事医学科学院基础医学研究所,北京 100850)

摘要: [目的] 探讨 CD44v6、MUC1 及 VEGF 在三阴性乳腺癌中的生物学特征及其对预后评估的意义。[方法] 采用免疫组织化学 SP 法检测 CD44v6、MUC1 及 VEGF 在 104 例三阴性乳腺癌、168 例非三阴性乳腺癌中的表达。[结果] CD44v6 及 MUC1 在三阴及非三阴性乳腺癌中的表达无明显差异,VEGF 在非三阴性乳腺癌的表达明显高于三阴性乳腺癌 ($P<0.05$)。在三阴性乳腺癌中,CD44v6、MUC1 及 VEGF 表达与年龄、组织学分级、肿瘤大小、临床分期、淋巴结转移均无明显相关性;在非三阴性乳腺癌中,除 CD44v6 在无淋巴结转移组表达明显高于转移组 ($P<0.05$) 外,CD44v6、MUC1 及 VEGF 表达与其他临床病理参数均未见明显相关性。CD44v6、MUC1 及 VEGF 联合检测,阳性率明显增加。但不同组合中三阴性乳腺癌及非三阴性乳腺癌的表达仍无差别。[结论] 未发现 CD44v6、MUC1 及 VEGF 在三阴性乳腺癌中存在表达优势,且与预后参数如临床分期、组织学分级、淋巴结转移情况无明显相关性,其预后价值有待进一步验证。

关键词: 乳腺肿瘤;CD44v6;MUC1;VEGF;预后

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2014)02-0091-06

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2014.02.B003

Expressions of CD44v6, MUC1 and VEGF in Triple-negative Breast Cancer and Their Significances

MENG Di¹, FENG Xiao-yan², JIN Shu-juan¹, et al.

(1. Affiliated 307 Hospital, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China;

2. Beijing Institute of Basic Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the expressions of CD44v6, MUC1 and VEGF in triple-negative breast cancer (TNBC) and their relationship with prognosis. [Methods] Expressions of CD44v6, MUC1 and VEGF were determined by immunohistochemistry (IHC). Their relationships with age, histologic grade, tumor size, lymphatic metastasis, clinical stage were analyzed. [Results] Expressions of CD44v6 and MUC1 showed no statistically significant difference between TNBC and NTNBC. The expression of VEGF was significantly higher in NTNBC than that in TNBC ($P<0.05$). No correlation was between the expression of CD44v6, MUC1 and VEGF with age, histologic grade, tumor size, lymphatic metastasis, clinical stage in TNBC; In NTNBC, except the significant correlation between CD44v6 expression and negative lymph node ($P<0.05$). No correlation was found between the expression of CD44v6, MUC1 and VEGF and the other related clinicopathological characteristics. The joint detection of CD44v6, MUC1 and VEGF enhanced the positive rate, but could not distinguish the TNBC and NTNBC. [Conclusion] CD44v6, MUC1 and VEGF don't show high expression in TNBC than those in NTNBC, in terms of no correlation between their expression and prognosis related factors such as histologic grade, lymphatic metastasis, clinical stage. Their roles served as prognosis indicators in TNBC need further validation.

Subject words: breast neoplasms; CD44v6; MUC1; VEGF; prognosis

最新统计数据显示乳腺癌已成为我国女性发病率最高的恶性肿瘤,成为妇女健康的最大威胁。三阴性乳腺癌 (triple-negative breast cancer, TNBC) 是指雌激素受体 (estrogen receptor, ER)、孕激素受体

(progesterone receptor, PR) 和人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor type, Her-2) 均表达缺失的特殊亚型,约占 15%~20%^[1,2]。因其独特的生物学特性和高侵袭性, TNBC 成为临床上乳腺癌治疗难点,而探寻特异性生物标志物和新的治疗靶向是 TNBC 的治疗关键。研究表明细胞黏附分

通讯作者: 黄焰,主任医师,博士;军事医学科学院附属医院乳腺外科,北京市丰台区东大街 8 号(100071);E-mail:hy1963@126.com
收稿日期: 2013-10-04; **修回日期:** 2013-11-26

子变异体 6(homing cell adhesion molecule variant 6, CD44v6)、黏蛋白 1(mucin-1,MUC1)及血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor,VEGF)在肿瘤形成及侵袭转移中起着重要作用,但其在 TNBC 中的研究相对较少且结论不一。因此,本研究检测 CD44v6、MUC1 及 VEGF 在 TNBC 及 NTNBC 中的表达及其与临床病理参数间的关系,探讨三阴性乳腺癌潜在的预后标志物及治疗靶点。

1 资料与方法

1.1 临床资料

乳腺癌组织芯片 BRC2281 购于桂林泛谱公司,组织芯片 HBre-Duc052Bch-1 购于上海芯超有限公司,共有乳腺癌组织 272 例,其中三阴性乳腺癌 104 例、非三阴性乳腺癌 168 例(Luminal 型 105 例,Her-2 过表达型 63 例)。所有患者均为女性,中位年龄 50 岁。根据 AJCC 第六版乳腺癌分期标准,TNM 0 期 17 例,I、II 期 196 例,III、IV 期 43 例;病理组织学分级 I~II 级 127 例,III 级 138 例;淋巴结转移阳性 68 例。

1.2 试剂

鼠抗人 CD44v6 单克隆抗体(ZM-0052)、鼠抗人 MUC1 单克隆抗体(ZM-0391)、鼠抗人 VEGF 单克隆抗体(ZM-0265)及相应二步法试剂盒、DAB 显色剂均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化(SP 法)

采用免疫组织 SP 法进行染色,CD44v6、VEGF 单抗稀释度为 1:100,MUC1 单抗稀释度为 1:50。组织芯片 60℃烤箱烤片 2h,实验步骤严格按照试剂说明书操作。PBS 替代一抗作为阴性对照,已知阳性切片作阳性对照。

1.3.2 免疫组化结果判断

CD44v6、MUC1 及 VEGF 蛋白阳性表达均主要定位于细胞浆和细胞膜。参照阳性细胞半定量积分法判断结果^[3],即随机选取 5 个高倍镜视野计数阳性细胞并计分。阳性细胞数计分:≤5%为 0 分,6%~25%为 1 分,26%~50%为 2 分,51%~75%为 3 分,>75%为 4 分;染色强度计分:阴性 0 分,淡黄色 1 分,黄色 2

分,棕黄色 3 分。最后两者分数相加,0~1 分为阴性,≥2 分为阳性。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计分析软件,计数资料采用 Pearson χ^2 检验及 Fisher's Exact Test 分析。用 Spearman 等级相关分析 CD44v6、MUC1 及 VEGF 表达的相关性, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CD44v6、MUC1 和 VEGF 在三阴性乳腺癌及非三阴性乳腺癌中的表达

2.1.1 CD44v6 的表达

CD44v6 阳性表达定位于细胞膜,少数见于细胞质(Figure 1)。其在三阴性乳腺癌和非三阴性乳腺癌中的阳性表达率分别为 67.3%(70/104)和 64.3%(108/168),差异无统计学意义($P=0.061$)(Table 1)。

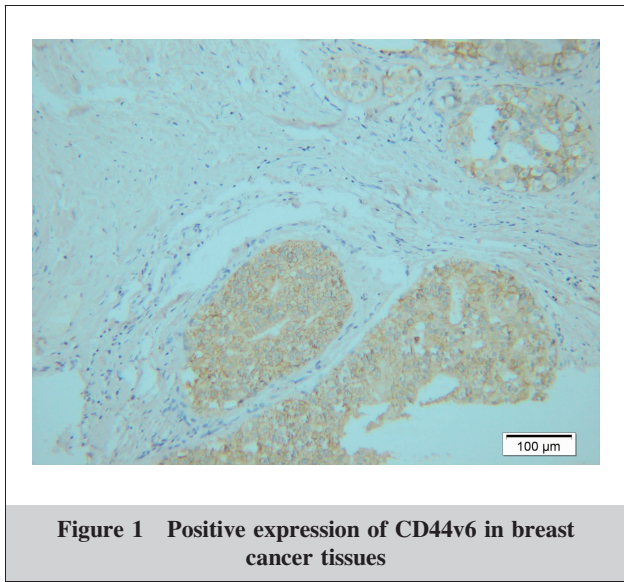


Table 1 Expressions of CD44v6,MUC1 and VEGF in TNBC and NTNBC

Groups	CD44v6			MUC1			VEGF		
	+	-	P	+	-	P	+	-	P
TNBC	70	34	0.061	49	55	0.679	59	45	0.023
NTNBC	108	60		83	84		118	50	

2.1.2 MUC1 的表达

MUC1 阳性表达主要位于细胞膜和(或)细胞质(Figure 2)。在三阴性乳腺癌及非三阴性乳腺癌中阳性表达率分别为 47.1%(49/104)和 49.7%(83/167),

差异无统计学意义($P=0.679$)(Table 1)。

2.1.3 VEGF 的表达

VEGF 阳性表达定位于细胞浆、细胞膜(Figure 3)。在三阴性乳腺癌和非三阴性乳腺癌中的阳性表达率分别为 56.7%(59/104)和 70.2%(118/168),两组间表达差异有统计学意义($P=0.023$),且在 Luminal 型中阳性表达率最高(Table 1)。

2.2 CD44v6、MUC1 及 VEGF 表达与临床病理特征的关系

2.2.1 CD44v6 表达与临床病理特征的关系

在三阴性乳腺癌中,CD44v6 的表达与年龄、组

织学分级、肿瘤大小、TNM 分期、淋巴结转移状况均无相关性($P>0.05$);在非三阴性乳腺癌中,其表达在无淋巴结转移组明显高于淋巴结转移组($P=0.023$),与年龄、组织学分级、肿瘤大小、TNM 分期无相关性($P>0.05$)(Table 2)。

2.2.2 MUC1 表达与临床病理特征的关系

在三阴性乳腺癌及非三阴性乳腺癌中,MUC1 的表达与患者年龄、组织学分级、肿瘤大小、TNM 分期、淋巴结转移状况均无明显相关性($P>0.05$)(Table 2)。

2.2.3 VEGF 表达与临床病理特征的关系

在三阴性乳腺癌及非三阴性乳腺癌中,VEGF

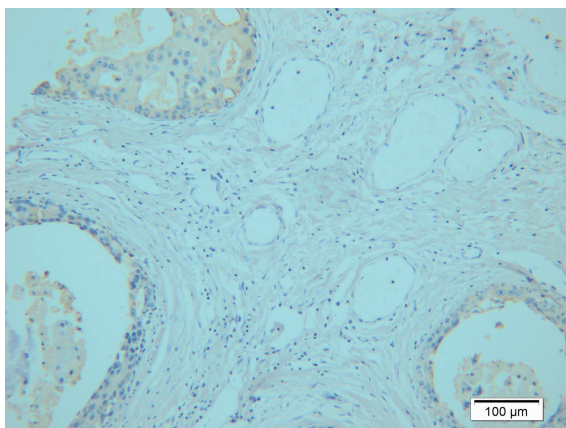


Figure 2 Positive expression of MUC1 in breast cancer tissues

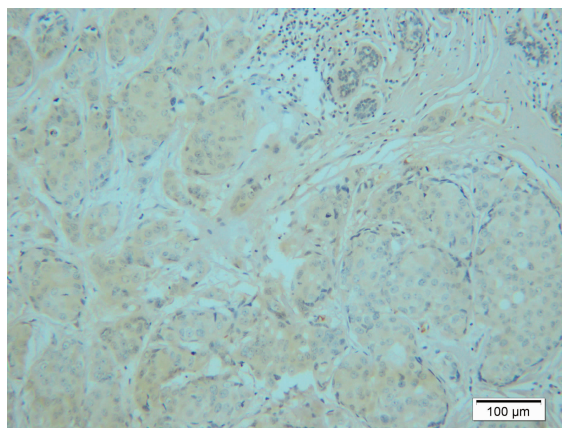


Figure 3 Positive expression of VEGF in breast cancer tissues

Table 2 The correlation of expressions of CD44v6, MUC1 and VEGF with clinical pathological characteristics of breast cancer

Factors	TNBC									NTNBC								
	CD44v6			MUC1			VEGF			CD44v6			MUC1			VEGF		
	+	-	P	+	-	P	+	-	P	+	-	P	+	-	P	+	-	P
Age(years)																		
≤50	31	18	0.436	24	25	0.697	29	20	0.814	64	33	0.545	49	47	0.620	70	27	0.484
>50	36	15		23	28		29	22		43	27		33	37		47	23	
Histologic grade																		
I ~ II	31	8	0.079	20	19	0.659	20	19	0.504	60	28	0.307	49	39	0.098	59	29	0.460
III	39	23		29	33		36	26		46	30		32	43		55	21	
Tumor size(cm)																		
≤2	8	8	0.132	8	8	0.762	9	7	0.917	27	9	0.123	20	16	0.404	26	10	0.816
>2	59	26		39	46		49	36		80	51		62	68		92	39	
TNM stage																		
0	2	1	0.804	2	1	0.580	2	1	0.741	12	2	0.177	10	4	0.170	12	2	0.291
I ~ II	46	28		32	42		47	27		74	48		58	63		87	35	
III ~ IV	10	4		6	8		6	8		19	10		12	17		18	11	
Lymph node metastasis																		
No	38	20	0.717	27	31	0.437	34	24	0.767	85	39	0.023	60	63	1.000	88	36	0.977
Yes	21	13		13	21		21	13		20	21		20	21		29	12	

的表达与患者年龄、组织学分级、肿瘤大小、TNM 分期、淋巴结转移状况均无明显相关性 ($P>0.05$) (Table 2)。

2.3 乳腺癌中 CD44v6、MUC1、VEGF 表达的相关性

在全部病例中行相关性分析显示,CD44v6 与 MUC1 呈正相关($r=0.207, P=0.001$),VEGF 与 MUC1 呈正相关($r=0.267, P=0.000$),CD44v6 与 VEGF 之间无相关性($r=0.019, P=0.756$)(Table 3)。

2.4 多指标联合检测在三阴性乳腺癌及非三阴性乳腺癌组织中的表达

CD44v6、MUC1、VEGF 之间指标联合检测时阳性率明显增加。但不同组合三阴性乳腺癌及非三阴性乳腺癌的表达仍无差别($P>0.05$)(Table 4)。

3 讨 论

乳腺癌是现今女性发病率较高的恶性肿瘤,严重威胁女性健康,目前主要治疗方法包括手术切除、辅助化疗、放疗、内分泌治疗、生物靶向治疗、免疫支持治疗等。大量研究表明,TNBC 多发生在绝经前、非裔美国人,与初诊分期晚、家族遗传、BRCA 突变具有相关性^[4,5],同时也表现出了高侵袭性的形态学特征:高组织学及核分级、高有丝分裂指数、高频率的不良组织分型、肿瘤中央性坏死和推压式生长边缘、间质淋巴细胞反应及高核质比^[6]。TNBC 由于独特的免疫分型,致使内分泌治疗和抗 Her-2 靶向治疗无效,化疗成为重要的治疗方案。研究表明 TNBC 对新辅助化疗更敏感,但是新辅助化疗疗效不明显的 TNBC 则相较有较高的 2 年内复发风险,总生存差^[7]。几乎 90%TNBC 为浸润性导管癌,且多含有高组织学分级、肿瘤体积大、淋巴结转移等不良预后因

素^[8]。与 NTNBC 相比,TNBC 生物侵袭性较高、复发转移早,且倾向于肺、脑、肝脏为主的内脏转移,预后较差^[9]。

恶性肿瘤的转移是肿瘤难治性和致死性的主要原因,是一个多分子参与的复杂过程。肿瘤细胞与细胞外基质粘附,肿瘤新生血管生成是其中的关键步骤。

CD44 是一种细胞表面广泛表达的透明质酸受体,介导细胞与细胞、细胞与基质间的相互粘附。其变异体 CD44v6 是目前研究较多的一种,能促进肿瘤细胞浸润生长,在肿瘤的侵袭转移中起重要作用^[10]。本实验中 CD44v6 在 TNBC 及 NTNBC 中的表达无明显差异,而分析 CD44v6 在两者之间差异表达的相关文献较少,研究多显示其阳性表达与 ER、PR、Her-2 状态无相关性^[11,12]。目前研究多认为 CD44v6 高表达与 TNM 分期、淋巴结转移具有相关性,与预后有关^[11,13]。Shah 等^[14]则指出 CD44v6 表达与临床病理参数无相关性。张磊超等^[15]也得出一致结论。在其他肿瘤如肾癌^[16]、膀胱移行细胞癌^[17]中还发现了 CD44v6 低表达作为不良预后的预测作用。本实验中,CD44v6 阳性表达在 NTNBC 中与淋巴结转移呈负相关,这与 Shah 等^[14]的研究结论相符,即 CD44v6 分子低表达可能促使细胞从癌巢分离,从而促进淋巴结转移,同时增强癌细胞侵袭能力,促进转移。总之,CD44v6 阳性表达及表达缺失对乳腺癌侵袭进展相关的研究均有报道,值得我们进一步研究验证。

MUC1 是一类高分子量糖蛋白,正常情况下存在于腺上皮组织,但认为其异常表达与肿瘤细胞的生长、分化、浸润转移、粘附以及机体的免疫监控有关,可促进乳腺癌进展^[18]。本实验中 MUC1 表达在 NTNBC 中表达高于 TNBC,但无统计学差异,而 DO 等^[19]的研究显示 NTNBC 中 MUC1 表达明显高于 TNBC,但与组织学分级、淋巴结转移情况、TNM 分期无相关性。庄婷等^[20]则指出 MUC1 表达与组织学分级、淋巴结转移负相关,认为 MUC1

Table 3 Correlation of CD44v6,MUC1 and VEGF in breast cancer

CD44v6	MUC1		CD44v6	VEGF		MUC1	VEGF	
	+	-		+	-		+	-
+	100	78	+	117	61	+	103	29
-	32	61	-	60	34	-	73	66

Table 4 Expression of joint detection of CD44v6,MUC1 and VEGF in TNBC and NTNBC

Groups	CD44v6+MUC1			CD44v6+VEGF			MUC1+VEGF			CD44v6+MUC1+VEGF		
	+	-	P	+	-	P	+	-	P	+	-	P
TNBC	80	24	0.860	89	15	0.551	73	31	0.119	93	11	0.958
NTNBC	130	37		149	19		132	36		149	18	

在早期乳腺癌发生发展中起重要作用。有研究称其表达与上述临床病理参数均无相关性^[21],本实验中也未发现 MUC1 表达与临床病理参数存在明显相关性,对于 MUC1 的研究虽然已有很多,但对于其在乳腺癌中的作用机制仍未完全弄清,预后作用尚不明确。

新生血管生成在原发肿瘤的生长中起着重要作用,研究证实 VEGF 在肿瘤新生血管形成、侵袭转移中具有重要作用^[22]。本研究显示 VEGF 在 NTNBC 中阳性率明显高于 TNBC,差异有统计学意义,且在 Luminal 型中表达率最高。这与 Rykala 等^[23]的结果一致,也证实了雌二醇直接参与在 ER 受体依赖途径的 VEGF 基因转录调节这一研究结果^[24]。但也有研究显示 VEGF 在 TNBC 中阳性表达率明显高于 NTNBC^[25,26]。本实验中 VEGF 阳性表达与所研究的临床病理参数均无明显相关性,与杨艳芳及 Jobim 等的研究结果一样^[26,27]。Linderholm 等^[25]的研究则指出 VEGF 在肿瘤生长的初始阶段高表达,随着肿瘤进展其表达降低。因此 VEGF 的作用机制及临床意义尚需进一步研究。

本实验对 CD44v6、MUC1、VEGF 在乳腺癌中的表达进行了相关性分析,并探讨了多指标联合检测在 TNBC 和 NTNBC 中的表达情况。研究结果显示 CD44v6 与 MUC1、MUC1 及 VEGF 呈正相关关系,提示在乳腺癌的发生、发展过程中可能起协同作用。而三个指标间的不同组合在 TNBC 及 NTNBC 中表达均无差别,联合检测仍不能区分两者。

综上所述,TNBC 的发生发展是一个极其复杂的过程,有待进一步研究。本实验中 CD44v6、MUC1 及 VEGF 并未在 TNBC 中异常高表达,与预后相关参数无相关性且多指标联合在三阴及非三阴性乳腺癌的表达仍无明显差别,所以不能作为 TNBC 优势表达基因,其预后作用尚不明确。同时,应用免疫组化方法评估蛋白的表达通常会得出具有争议的实验结果。我们下一步的研究工作是采取大样本、不同实验方法来进一步验证相关蛋白在癌症形成进展中的作用。

参考文献:

- [1] Ismail-Khan R,Bui MM. A review of triple-negative breast cancer[J]. Cancer Control,2010,17(3):173-176.
- [2] Yao-Lung K,Dar-Ren C,Tsai-Wang C. Clinicopathological features of triple-negative breast cancer in Taiwanese women[J]. Int J Clin Oncol,2011,16(5):500-505.
- [3] Shi J,Zhou Z,Di W,et al. Correlation of CD44v6 expression with ovarian cancer progression and recurrence [J]. BMC Cancer,2013,13:182.
- [4] Boyle P. Triple-negative breast cancer:epidemiological considerations and recommendations[J]. Ann Oncol,2012,23 Suppl 6:vi7-vi12.
- [5] Lee E,McKean-Cowdin R,Ma H,et al. Characteristics of triple-negative breast cancer in patients with a BRCA1 mutation:results from a population-based study of young women[J]. J Clin Oncol,2011,29(33):4373-4380.
- [6] Bosch A,Eroles P,Zaragoza R,et al. Triple-negative breast cancer:molecular features,pathogenesis,treatment and current lines of research[J]. Cancer Treat Rev,2010,36(3):206-215.
- [7] Millikan RC,Newman B,Tse CK,et al. Epidemiology of basal-like breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat,2008,109(1):123-139.
- [8] Montagna E,Maisonneuve P,Rotmensz N,et al. Heterogeneity of triple-negative breast cancer:histologic subtyping to inform the outcome[J]. Clin Breast Cancer,2013,13(1):31-39.
- [9] Penault-Llorca F,Viale G. Pathological and molecular diagnosis of triple-negative breast cancer:a clinical perspective[J]. Ann Oncol,2012,23 Suppl 6:vi19-vi22.
- [10] Negi LM,Talegaonkar S,Jaggi M,et al. Role of CD44 in tumour progression and strategies for targeting [J]. J Drug Target,2012,20(7):561-573.
- [11] Yu P,Zhou L,Ke W,et al. Clinical significance of pAKT and CD44v6 overexpression with breast cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol,2010,136(8):1283-1292.
- [12] Yang RD,Nijati Rehemu. Expression of Cdc42,VEGF and CD44v6 in breast invasive ductal carcinoma and their significance[J]. Journal of Xinjiang Medical University,2012,35(4):468-471.[杨瑞东,尼加提·热合木. Cdc42、VEGF 及 CD44v6 在乳腺浸润性导管癌中的表达及其意义[J]. 新疆医科大学学报,2012,35(4):468-471.]
- [13] Huang XY,Li FL,Tang FX,et al. Expression of P-selectin,CD44v6 and nm23 and their implications in breast cancer[J].Chinese Journal of Diagnostic Pathology,2013,20(1):42-45.[黄秀英,李凤玲,唐福兴,等.P-选择素、CD44v6 和 nm23 蛋白在乳腺癌中的表达及其临床意义[J]. 诊断病理学杂志,2013,20(1):42-45.]
- [14] Shah NG,Trivedi TI,Vora HH,et al. CD44v6 expression

- in primary breast carcinoma in western India: a pilot clinicopathologic study[J]. *Tumori*, 2010, 96(6): 971–977.
- [15] Zhang LC. Expression of CD44v6 and the relationship to clinical and pathological factors in breast invasive ductal carcinoma[D]. Jilin: Jilin University, 2013. [张磊超. CD44v6 在乳腺浸润性导管癌中的表达及其与临床病理的相关性研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2013.]
- [16] Avoranta ST, Korkeila EA, Syrjänen KJ, et al. Lack of CD44 variant 6 expression in rectal cancer invasive front associates with early recurrence[J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(33): 4549–4556.
- [17] Klatte T, Seligson DB, Rao JY, et al. Absent CD44v6 expression is an independent predictor of poor urothelial bladder cancer outcome[J]. *J Urol*, 2010, 183(6): 2403–2408.
- [18] Sinn BV, von MG, Denkert C, et al. Evaluation of Mucin-1 protein and mRNA expression as prognostic and predictive markers after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer[J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(9): 2316–2324.
- [19] Do SI, Kim K, Kim DH, et al. Associations between the expression of mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6) and clinicopathologic parameters of human breast ductal carcinomas[J]. *J Breast Cancer*, 2013, 16(2): 152–158.
- [20] Zhuang T, Xue M, Fang AJ, et al. Expression of mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6) and their significance in invasive ductal breast carcinoma[J]. *Journal of Shandong University (Health Sciences)*, 2012, 50(5): 108–111. [庄婷, 薛梅, 房爱菊, 等. 黏蛋白(MUC1、MUC2、MUC5AC 和 MUC6)在乳腺浸润性导管癌中的表达及意义[J]. 山东大学学报(医学版), 2012, 50(5): 108–111.]
- [21] Pereira MB, Dias AJ, Reis CA, et al. Immunohistochemical study of the expression of MUC5AC and MUC6 in breast carcinomas and adjacent breast tissues [J]. *J Clin Pathol*, 2001, 54(3): 210–213.
- [22] Greenberg S, Rugo HS. Triple-negative breast cancer: role of antiangiogenic agents[J]. *Cancer Journal (Sdbury Mass)*, 2010, 16(1): 33–38.
- [23] Rykala J, Przybyłowska K, Majsterek I, et al. Angiogenesis markers quantification in breast cancer and their correlation with clinicopathological prognostic variables[J]. *Pathol Oncol Res*, 2011, 17(4): 809–817.
- [24] Kawai H, Li H, Chun P, et al. Direct interaction between BRCA1 and the estrogen receptor regulates vascular endothelial growth factor (VEGF) transcription and secretion in breast cancer cells[J]. *Oncogene*, 2002, 21(50): 7730–7739.
- [25] Linderholm BK, 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.
- [26] Yang YF, Liu J, Jiang ZS, et al. VEGF expression in triple-negative breast cancer and its clinical significance[J]. *Clinical Oncology and Cancer Research*, 2012, 39(8): 439–442. [杨艳芳, 刘君, 姜战胜, 等. VEGF 在三阴性乳腺癌中的表达及临床意义[J]. 中国肿瘤临床, 2012, 39(8): 439–442.]
- [27] Jobim FC, Schwartzmann G, Xavier NL, 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.