

Vasohibin-1 蛋白在乳腺癌组织中的表达及意义

王红丽,金磊,沈鑫鑫,王卫,冷晓玲,叶明,赵倩,迪力夏提·金斯汗,朱丽萍,杨亮
(新疆医科大学第三临床医学院(附属肿瘤医院),新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要: [目的] 探讨血管抑制蛋白 1(Vasohibin-1, VASH-1)在乳腺组织中表达及其意义。[方法] 采用免疫组织化学方法分析 Vasohibin-1 蛋白在 165 例原发性乳腺癌组织和癌旁组织中表达情况,并分析其表达与临床特征及预后的相关性。[结果] Vasohibin-1 在乳腺癌组织、癌旁组织中的阳性表达率分别为 51.52%(85/165)、26.06%(43/165),差异有统计学意义($\chi^2=22.514$, $P<0.001$)。乳腺癌组织中血流丰富区域 Vasohibin-1 阳性表达率高,乏血供区域 Vasohibin-1 表达率低,两组比较差异有统计学意义($\chi^2=9.087$, $P<0.05$)。乳腺癌 Vasohibin-1 阳性表达组 5 年生存率优于 Vasohibin-1 阴性表达组,差异有统计学意义($\chi^2=4.783$, $P=0.029$)。[结论] Vasohibin-1 在乳腺癌组织中高表达,特别是在血供丰富的部位,其表达与预后相关。

关键词: 血管抑制蛋白-1; 乳腺肿瘤; 预后

中国分类号: R735.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2021)08-0649-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2021.08.B008

Expression of Vasohibin-1 Protein in Breast Cancer and Its Clinical Significance

WANG Hong-li, JIN Lei, SHENG Xin-xin, WANG Wei, LEN Xiao-ling, YE Ming, ZHAO Qian, DILIXIATI·Jingsihan, ZHU Li-ping, YANG Liang

(The Third Clinical Medical College/Affiliated Cancer Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

Abstract: [Objective] To investigate the expression of Vasohibin-1 (VASH-1) in breast cancer and its clinical significance. [Methods] The expression of Vasohibin-1 in 165 samples of primary breast cancer and adjacent tissues was analyzed by immunohistochemistry, and the correlation between its expression and clinical features and prognosis was analyzed. [Results] The positive expression rate of vasohibin-1 in breast cancer tissues and adjacent tissues was 51.52%(85/165) and 26.06%(43/165), respectively($\chi^2=22.514$, $P<0.001$). The positive expression rate of vasohibin-1 in breast cancer tissue with rich blood flow was higher than that in areas lack of blood supply($\chi^2=9.087$, $P<0.05$). The 5-year survival rate of patients with vasohibin-1 positive expression was higher than that of patients with negative expression ($\chi^2=4.783$, $P=0.029$). [Conclusion] Vasohibin-1 is highly expressed in breast cancer tissues, especially in the blood rich sites, and its expression is related to the prognosis.

Subject words: Vasohibin-1; breast cancer; prognosis

乳腺癌是女性最常见的乳腺恶性肿瘤^[1-2]。随着医学不断发展,乳腺癌在诊疗水平上已经取巨大的进展,但有部分乳腺癌患者在 2~3 年内出现远处转移及复发,虽经过积极干预治疗,仍然预后较差^[3]。乳腺癌细胞具有侵袭性,易通过侵入血管、淋巴管而出现远处转移。乳腺肿瘤血管生成及肿瘤细胞血道转移的分子机制仍需要进一步研究。

最近研究发现,血管抑制蛋白 1(Vasohibin-1, VASH1)与肿瘤的血管生成及治疗相关^[4-5]。Vasohibin-1 反馈性抑制肿瘤血管生成^[6],在多种实体肿瘤中 Vasohibin-1 表达与肿瘤血管形成有关^[7-9]。研

究报道 Vasohibin-1 作为一种血管内皮分泌蛋白,对于抑制肿瘤血管生成具有重要作用。虽然其在部分肿瘤中的抑制血管生成作用已经得到初步证实,但其在乳腺癌中的作用却仅有少量研究。本研究对 Vasohibin-1 在乳腺癌肿瘤组织及癌旁组织中表达情况进行初步分析,探讨 Vasohibin-1 表达与乳腺癌临床病理特征及预后的关系,为进一步研究其功能和机制行前期初步研究。

1 材料与方法

1.1 一般资料

选取 2013 年 1 月 1 日至 2014 年 12 月 31 日新疆医科大学第三临床医学院(附属肿瘤医院)165 例

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2020D01C211)

通信作者: 杨亮,副主任医师,博士;新疆医科大学第三临床医学院(附属肿瘤医院)乳腺外科一病区,新疆乌鲁木齐市苏州东街 789 号(830011);E-mail: xjzlyangliang@sina.com

收稿日期: 2020-08-24; **修回日期:** 2020-10-09

原发性乳腺浸润性导管癌病例。收集病例资料性别、年龄、绝经情况、组织学分级、肿瘤大小、肿瘤分型、淋巴结转移情况等。年龄在 28~70 岁,平均年龄(48.51±10.61)岁,中位年龄 49 岁;绝经前 88 例,绝经后 77 例;有淋巴结转移 63 例,无淋巴结转移 102 例。

1.2 病例纳入排除标准

纳入标准:(1)病理确诊乳腺癌浸润性导管癌。(2)既往史无其它恶性肿瘤。(3)卡式评分(Karnofsky performance status, KPS)≥90 分,接受手术治疗。所有病理切片均由 3 位病理学专家进行病理会诊。(4)研究病例均行手术治疗并同意标本采集,入院即签署知情同意书。(5)本研究通过新疆医科大学第三临床医学院(附属肿瘤医院)伦理委员会审核[伦理批号(G-2018007)]。

排除标准:(1)远处转移乳腺癌及特殊类型浸润性乳腺癌(炎性乳腺癌、微乳头状癌、黏液癌、妊娠期乳腺癌、家族性乳腺癌、乳腺淋巴瘤、乳腺肉瘤、乳腺髓样癌、乳腺小管癌等)。(2)病例资料不完整病例。

1.3 方法

术中留取乳腺癌组织、距癌组织病灶≥3cm 的癌旁组织,采用免疫组化 SP(streptavidin peroxidase)法染色,根据试剂说明书步骤进行染色,采用微波法抗原修复。

染色结果由病理科医师采用盲法判读免疫组化染色结果。标本处理:10%甲醛固定标本,石蜡包埋,4 μm 厚连续切片,采用免疫组化自动染色仪染色。以乳腺癌作为阳性对照, PBS 代替一抗作阴性对照。判读标准:ER、PR 表达依据 2012 年美国临床肿瘤学会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)的标准判读。ER、PR 免疫组化细胞核染色,呈现深棕色,镜下浸润性癌细胞核阳性细胞≥1%判定阳性。

Vasohibin-1 主要表达于细胞浆和(或)部分细胞膜上,根据阳性染色强度和细胞百分比综合计分。计分方法如下:随机读取 5~10 个高倍镜视野(×400)计数阳性细胞百分比,无阳性细胞为 0 分,0~25%为 1 分,25%~50%为 2 分,50%~75%为 3 分,75%~100%为 4 分。按照着色强弱计分:棕褐色为 3 分,棕黄色为 2 分,淡黄色为 1 分,未着色为 0 分。阳性细胞百分比与染色强度评分的乘积进行综合判断:>3

分为高表达或阳性,≤3 分为低表达或阴性。

1.4 随访资料

通过患者病历信息上的电话及住址、社区等方法对患者进行联系或入院复查进行随访。常规情况下乳腺癌患者术后最初 2 年内每 3~6 个月随访 1 次,其后 3 年中每 6 个月随访 1 次,5 年后每年 1 次。

1.5 统计学处理

采用 SPSS18.0 统计软件进行统计分析,计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 Kaplan-Meier 方法绘制生存曲线,并行 Log-rank 检验。率的比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率方法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

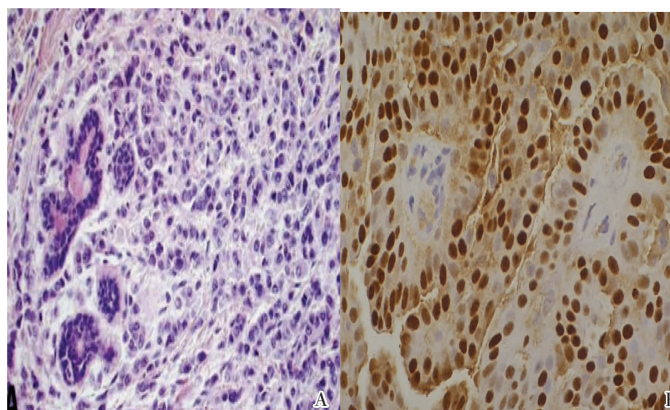
2 结果

2.1 Vasohibin-1 蛋白在乳腺癌组织和癌旁组织中的表达情况

免疫组化染色 Vasohibin-1 蛋白主要分布在乳腺癌及癌旁细胞细胞质及细胞膜,细胞胞浆内呈现棕黄色染色颗粒(Figure 1A)。在乳腺癌病灶中多呈阳性染色,阳性染色率为 51.52%(85/165),而在癌旁组织中染色阳性率为 26.06%(43/165),两组差异有统计学意义($\chi^2=22.514, P < 0.001$)(Figure 1, Table 1)。

Table 1 Expression of vasohibin-1 in breast cancer and adjacent tissues

Tissue specimen	n	Vasohibin-1 (%)		χ^2	P
		Positive	Negative		
Cancer tissues	165	85(51.52)	80(48.48)	22.514	0.001
Paracancerous tissues	165	43(26.06)	122(73.94)		



A: Negative expression of Vasohibin-1 in breast cancer tissues;
B: Positive expression of Vasohibin-1 in breast cancer tissues

Figure 1 Expression of Vasohibin-1 in different regions of breast cancer (SP × 400)

2.2 Vasohibin-1 蛋白在乳腺癌病灶中血流丰富区域和乏血供区域表达情况

采用 B 超血管成像了解病灶血流分布情况,并引导下行乳腺癌病灶血流丰富区域及乏血供区域穿刺,分别取出 B 超提示富血供及乏血供区域组织(Figure 2A~2D)。Vasohibin-1 染色主要分布在位于肿瘤富血供处。在乳腺癌病灶中血流缺乏区域多呈低表达,阳性表达率为 32.12%(53/165),而在乳腺癌富血供区域阳性表达率为 45.45%(75/165),两组差异有统计学意义($\chi^2=6.117, P=0.013$)(Figure 3A~3D, Table 2)。

2.3 Vasohibin-1 蛋白表达与乳腺癌临床病理特征的关系

Vasohibin-1 阳性表达与年龄、肿瘤分期、ER 表达、是否绝经、分子分型、CerbB-2 表达及肿瘤细胞

学分级均无关(P 均 >0.05),而与肿块大小、淋巴结转移情况有关($P<0.05$)(Table 3)。

2.4 Vasohibin-1 蛋白在乳腺癌组织中的染色强度与预后相关

乳腺癌病灶中 Vasohibin-1 免疫组化阳性染色(高表达)组 5 年生存率优于阴性染色(低表达)组,差异有统计学意义($\chi^2=4.783, P=0.029$)(Figure 4)。

3 讨论

乳腺癌的发病率逐渐增高,已经是中国妇女最常见的恶性肿瘤。部分乳腺癌,具有恶性程度高、容易内脏转移、5 年总生存率低的特点^[3]。肿瘤血管形成促进了肿瘤细胞增殖并形成了肿瘤细胞转移的通道,氧气和营养成分通过新生血管到达肿瘤细胞,直接影响肿瘤的发展进程^[4]。研究发现恶性程度较高的乳腺癌多有丰富的血流及丰富的淋巴管网,肿瘤细胞通过血管及淋巴管出现淋巴结及

Table 2 Expression of Vasohibin-1 in breast cancer					
Blood flow	n	Vasohibin-1(%)		χ^2	P
		Positive	Negative		
Lack of blood supply	165	53(32.12)	112(67.88)	6.117	0.013
Rich blood supply	165	75(45.45)	90(54.55)		

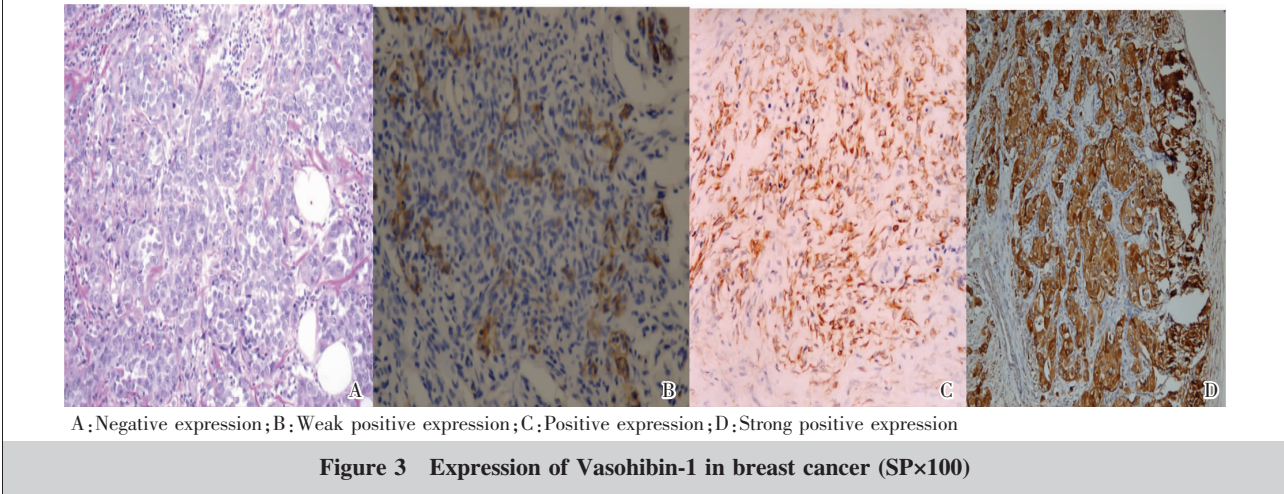
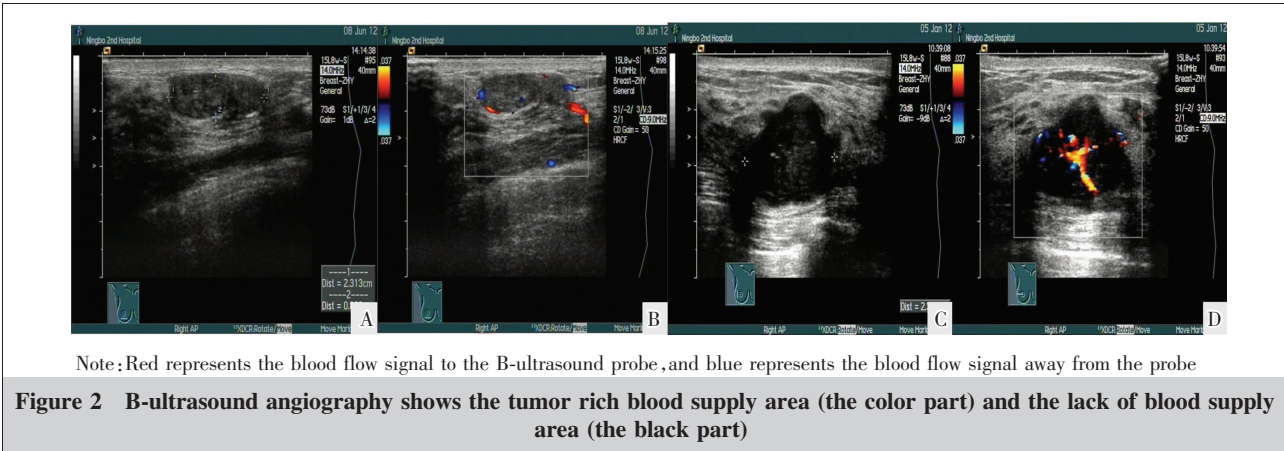


Table 3 Relationship between Vasohibin-1 expression and clinicopathological features of breast cancer

Clinicopathological factors	Vasohibin-1 expression		Positive rate(%)	χ^2	P
	Negative	Positive			
Age(years)				0.351	0.839
<35	6	7	53.85		
35~60	57	63	52.50		
>60	17	15	46.88		
Number of positive lymph nodes				7.424	0.024
No lymph node metastasis	39	24	38.10		
1~3 lymph node metastasis	26	37	58.73		
≥4 lymph node metastases	15	24	61.54		
TNM stage				0.264	0.876
I	31	36	53.73		
II	30	29	49.15		
III	19	20	51.28		
Tumor size(cm)				6.344	0.042
2	48	37	43.53		
2~5	27	34	55.74		
≥5	5	14	73.68		
Menstruation				0.011	0.917
Menstruation	43	45	51.14		
Menopause	37	40	51.95		
CerbB-2				0.003	0.957
Positive	21	22	51.16		
Negative	59	63	51.64		
ER				0.422	0.516
Positive	44	51	53.68		
Negative	36	34	48.57		
Ki-67(%)				0.049	0.826
≤14	14	16	53.33		
>15	66	69	51.11		
Molecular subtypes				0.188	0.979
Luminal A	12	14	53.85		
Luminal B	30	32	51.61		
Her-2 positive	21	23	52.27		
Triple negative breast cancer	17	16	48.48		
Cytological grading				0.402	0.818
I	12	10	45.45		
II	49	55	52.88		
III	19	20	51.28		

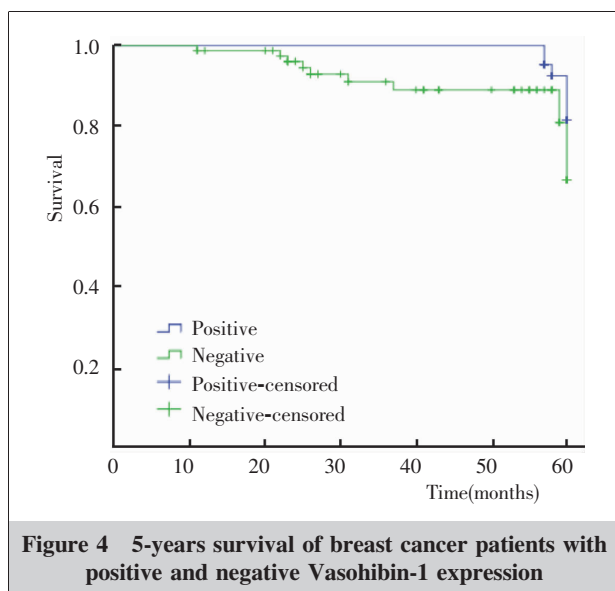
血行远处转移。最近,发现了一个内源性的血管生成抑制因子,并被命名为 Vasohibin-1(VASH1)。VASH1 是一个内源性负反馈调节因子,由内皮细胞分泌,并终止血管的形成。之后相继研究显示 VASH1 亦可抑制淋巴管的新生,具有广谱的抗血管新生及抗淋巴管新生的作用。血管新生相关因子 Vasohibin-1 在肿瘤血管生成过程中发挥了积极作用。研究结果显示,Vasohibin-1 是一种新发现的血管新生影响抑制

因子,在多种肿瘤比如前列腺癌、肺癌、胃癌和食道癌等癌细胞中均有表达^[5-10]。

本研究提示 Vasohibin-1 表达与肿瘤血流丰富程度呈正相关,在富血供乳腺癌组织和乏血供乳腺癌组织中表达存在差异,差异有统计学意义 ($\chi^2=6.117, P=0.013$)。机体正常情况下 Vasohibin-1 抑制血管生成,随着肿瘤发生发展,肿瘤细胞能够分泌 Vasohibin-1 因子抑制血管生成, Vasohibin-1 因子生成不足促使血管向肿瘤病灶延伸,肿瘤通过血管获取更多养分及通过血管通道转移。因此,乳腺癌细胞中 Vasohibin-1 的基因表达在理论上能抑制癌细胞生长和肿瘤血管生成^[12-13]。部分作者认为 Vasohibin-1 是抑制癌病灶血管生成的重要调节因子^[11]。随着肿瘤发展血管内皮细胞分泌 Vasohibin-1 抑制肿瘤血管生成,在癌病灶血管生成和癌细胞转移等过程中发挥主要的调节作用^[9]。

有作者研究发现 Vasohibin-1 表达和肝癌、食管癌预后相关^[14-15],部分研究提出 Vasohibin-1 与乳腺癌的进展相关^[16]。本次研究也发现癌病灶中 Vasohibin-1 水平高低与乳腺癌预后相关,在乳腺癌病灶中 Vasohibin-1 表达量较高组 5 年生存率优于 Vasohibin-1 表达量较低组,差异有统计学意义 ($\chi^2=4.783, P=0.029$)。本研究结果同时显示,乳腺癌病灶中 Vasohibin-1 蛋白阳性表达率明显高于癌旁组织,乳腺癌淋巴结转移组 Vasohibin-1 蛋白阳性表达率明显低于无转移组。有文献提示 Vasohibin-1 表达量减少可能与乳腺癌淋巴结转移有关^[17]。Vasohibin-1 异常表达和乳腺癌分子分型相关,Vasohibin-1 在三阴性乳腺癌中多呈现低表达,与三阴性乳腺癌更容易发生内脏转移密切相关,而 Vasohibin-1 在 ER/PR(-) 和 Her-2(-) 者表达率较低,说明 ER/PR 表达可能和 Vasohibin-1 表达相关,其机制需要进一步研究证实。

综上所述,Vasohibin-1 表达与乳腺癌血管生成相关。Vasohibin-1 可能影响乳腺浸润性导管癌的疾病进展和预后,可以作为预测乳腺癌恶性程度标志物及肿瘤治疗潜在的干预靶点。



参考文献:

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30.
- [2] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [3] 李佳伟, 时兆婷, 侯英敏, 等. 浸润性三阴性乳腺癌超声特征的临床、病理学及免疫组织化学基础[J]. 中国癌症杂志, 2019, 29(1): 42-49.
- [4] Li JW, Shi ZT, Hou YM, et al. The clinical, pathological and immunohistochemical basis of ultrasound features of invasive triple negative breast cancer [J]. Chinese Journal of Cancer, 2019, 29(1): 42-49.
- [5] 鲁美钰, 仲维兰, 司春枫, 等. 肿瘤血管生成机制及抗肿瘤血管新生的靶向药物研究进展 [J]. 安徽医药, 2018, 22(5): 798-802.
- [6] Lu MY, Zhong WL, Si CF, et al. Research progress of tumor angiogenesis mechanism and anti-tumor angiogenesis targeting drugs [J]. Anhui Medical Journal, 2018, 22 (5): 798-802.
- [7] Jiang Z, Zhang Y, Chen X, et al. Long noncoding RNA RBMS3-AS3 acts as a microRNA-4534 sponge to inhibit the progression of prostate cancer by upregulating VASH1 [J]. Gene Ther, 2020, 27(3-4): 143-156.
- [8] Wang H, Deng Q, Lv Z, et al. N6-methyladenosine induced miR-143-3p promotes the brain metastasis of lung cancer via regulation of VASH1[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 181.
- [9] Kobayashi H, Kosaka T, Mikami S, et al. Vasohibin-1 as a novel microenvironmental biomarker for patient risk reclassification in low-risk prostate cancer [J]. Oncotarget, 2017, 9(12): 10203-10210.
- [10] Ninomiya Y, Ozawa S, Oguma J, et al. Expression of vasohibin 1 and 2 predicts poor prognosis among patients with squamous cell carcinoma of the esophagus[J]. Oncol Lett, 2018, 16(4): 5265-5274.
- [11] 王亚玲, 师永红. Vasohibin-1 在常见肿瘤发生发展中作用的研究进展 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2019, 35(2): 195-197.
- [12] Wang YL, Shi YH. Research progress of vasohibin-1 in the development of common tumors [J]. Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2019, 35(2): 195-197.
- [13] 史刚刚, 甘建琛. 血管生成负反馈调节因子 Vasohibin 家族研究进展[J]. 天津医药, 2014, 42(9): 949-952.
- [14] Shi GG, Gan JC. Research progress of vasohibin family, a negative feedback regulator of angiogenesis [J]. Tianjin Medical Journal, 2014, 42(9): 949-952.
- [15] 葛倩倩. 核型 Vasohibin-1 在人胚胎组织、多器官肿瘤及正常组织中的表达及促增殖功能的初步研究[D]. 南京: 南京医科大学, 2015.
- [16] Ge QQ. Preliminary study on the expression and proliferation promoting function of karyotype vasohibin-1 in human embryonic tissues, multiple organ tumors and normal tissues[D]. Nanjing: Nanjing Medical University, 2015.
- [17] 时军利, 王磊, 李萍, 等. 血管生成抑制蛋白 1 与肿瘤血管及内镜下的表现关系分析 [J]. 蚌埠医学院学报, 2018, 43(12): 72-75.
- [18] Shi JL, Wang L, Li P, et al. Analysis of the relationship between angiopoietin-1 and tumor angiogenesis and endoscopic manifestations [J]. Journal of Bengbu Medical College, 2018, 43 (12): 72-75.
- [19] 罗来邦, 杨华, 罗丽芳, 等. Vasohibin-1 与肝癌肝移植术后复发转移及预后的关系 [J]. 实用癌症杂志, 2017, 32 (3): 370-374.
- [20] Luo LB, Yang H, Luo LF, et al. The relationship between vasohibin-1 and recurrence, metastasis and prognosis of hepatocellular carcinoma after liver transplantation [J]. Journal of Practical Cancer, 2017, 32(3): 370-374.
- [21] Ninomiya Y, Ozawa S, Oguma J, et al. Expression of vasohibin-1 and -2 predicts poor prognosis among patients with squamous cell carcinoma of the esophagus[J]. Oncol Lett, 2018, 16(4): 5265-5274.
- [22] Huang B, Huang MP, Li Q. Cancer-associated fibroblasts promote angiogenesis of hepatocellular carcinoma by VEGF-mediated EZH2/VASH1 pathway[J]. Technol Cancer Res Treat, 2019, 18: 1533033819879905.
- [23] 贺晓静, 吕心瑞. Vasohibin-1 和血管内皮生长因子在乳腺癌中表达及分子机制 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2016, 30(7): 650-652.
- [24] He XJ, Lv XR. Expression and molecular mechanism of vasohibin-1 and vascular endothelial growth factor in breast cancer[J]. Chinese Journal of Practical Diagnosis and Treatment, 2016, 30(7): 650-652.