

示病变范围,利于临床评价预后和定出治疗方案,以及评价治疗效果。本病是隐性遗传疾病,病人亲属的CT或MRI检查可能发现无症状的Wilson's病。

(本文承第一军医大学南方医院影像中心陈龙华教授大力支持与审校,特此致谢!)

3 参考文献

- 1 解毓章,张雪哲,许贤豪. 肝豆状核变性的骨关节改变. 中华医学杂志,1978,28(9):542
- 2 高元桂,蔡幼铨,蔡祖龙等. 磁共振成像诊断学. 北京:人民军医出版社,1992.236

(2000-06-10 收稿,责任编辑 蔡义鸿)

肿瘤微血管计数和碱性成纤维细胞生长因子与乳腺癌预后的关系^①

武警总医院普外科 韩承新 张纪华 刘煜 潘惠娟 朱晓丹 王沁德 (北京100039)

摘要 目的 肿瘤微血管计数和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)是反映肿瘤微血管形成的重要指标。本文研究它们与乳腺癌预后的关系。方法 收集我院近年收治的乳腺癌32例,并随访。采用免疫组化LSAB法,检测vWf和bFGF在乳腺癌组织中的表达。采用Weidner法进行微血管计数。通过影响生存率的单因素和多因素分析,确定影响预后的因素。结果 平均肿瘤微血管计数为36.42。 $T_3 + T_4$ 与 $T_1 + T_2$ 相比,肿瘤微血管计数明显增高。肿瘤微血管计数增高对预后有明显影响。bFGF阳性表达率为68.75%,阳性组中肿瘤微血管计数明显增高。bFGF的表达对预后无明显影响。结论 肿瘤微血管计数可作为乳腺癌预后的指标,而bFGF在肿瘤形成和肿瘤生长有重要作用但不能作为临床预后的指标。

关键词 乳腺癌 预后 肿瘤微血管计数 碱性成纤维细胞生长因子

Correlation between tumor microvessel count, basic fibroblast growth factor and prognosis of breast cancer

Han Chengxin, Zhang Jihua, Liu Yu, Pan Huijuan, Zhu Xiaodan and Wang Qinde. Department of General Surgery General Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Beijing 100039, China

Abstract Objective Tumor microvessel count (MVC) and basic fibroblast growth factor (bFGF) are important indexes reflecting tumor angiogenesis. Hence, the relation of them with the prognosis of breast cancer was studied. **Methods** Thirty two patients with breast cancer hospitalized between 1988 and 1998 were enrolled and followed up. The expression of bFGF and vWf in the tissues of the breast cancer was detected, using immunohistochemical staining LSAB. The tumor microvessels were counted by Weidner's method. The factors influencing the prognosis of the breast cancers were determined by univariate and multivariate analyses. **Results** The average MVC was 36.42. MVC was significantly higher when the diameters of tumor exceeded 5 cm. MVC influenced the prognosis more significantly in bFGF positive group, but no effect of bFGF could be seen on the prognosis. **Conclusions** MVC can be used as an index for prognosing the breast cancer, but can not be used as a clinical index of the prognosis.

Key words Breast cancer Prognosis Microvessel count Basic fibroblast growth factor

肿瘤血管形成(Tumor Angiogenesis)是当前肿瘤学的研究热点之一,已经证实血管形成是肿瘤恶变、生长、转移的重要机制之一^[1],某些参与血管形成的相关因子与恶性肿瘤的预后也有关^[2,3]。

本文通过研究反映血管形成的肿瘤微血管计数、血管形成因子碱性成纤维细胞生长因子bFGF(basic fibroblast growth factor)与乳腺癌预后的关系,探讨其临床价值。

① 本课题由武警总医院科研基金资助完成

1 材料和方法

1.1 临床资料 采用我院 1988 ~ 1998 年收治的女性乳腺癌 32 例, 收集年龄、手术日期、手术方式、病理类型、腋窝淋巴结转移情况、TNM 分期、辅助治疗、死亡日期、终检日期。病理诊断采用全国乳腺癌病理诊断标准。TNM 分期采用 1988 年国际抗癌联盟的推荐标准。随访采用信访和电话。

1.2 免疫组织化学染色 取相应的乳腺癌手术切除标本, 用 10% 福尔马林固定, 常规石蜡包埋及切片(厚 4 μm)。试剂采用 bFGF 兔抗人多克隆抗体(美国 Sigma 公司)、vWf 兔抗人多克隆抗体、LSAB 试剂盒。多抗工作浓度 1:50。免疫组织化学染色采用常规 LSAB 方法, DAB 显色, 以 PBS 缓冲液做阴性对照。肿瘤组织中基质或上皮细胞有棕色颗粒者即为 bFGF 表达阳性。

1.3 肿瘤的微血管计数(Microvessel count, MVC) vWf 是血管内皮细胞标记物, 用 LSAB 的方法行 vWf 免疫组织化学染色, 阳性染色区域即为肿瘤的微血管组织, 在低倍光镜下, 确定 5 个血管密集视野, 在中倍镜下行血管计数, 取平均值, 即为本组的 MVC, 单位个/视野。计算全组平均值, 依此分为高低两组。

1.4 统计学处理方法 计量资料用均数和标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用 SPSS 7.5 统计学软件行方差分析、Whitney - Mann 检验、Kaplan - Meier 寿命图、单因素分析、Cox 比例风险模型多因素分析及时序检验。检验水平 $P = 0.05$ 。

2 结果

2.1 一般项目 资料完整的乳腺癌病例 32 例 34 侧。全部完成随访, 最短 1 月, 最长 114 月, 平均 36.9 月。平均年龄 48.47 岁(35 ~ 72 岁), 其中单纯癌 10 例, 浸润性导管癌 20 例, 髓样癌、粘液癌各 1 例。T₁ 期 4 例, T₂ 期 20 例, T₃ 期 3 例, T₄ 期 5 例(将 T₁、T₂ 期, T₃、T₄ 期分别合并, 以便于统计分析)。腋窝淋巴结转移 19 例。肝转移、肺转移各 1 例。行单纯乳腺切除 2 例, 标准乳腺癌根治 7 例, 改良乳腺癌根治 23 例。术后行辅助化疗 6 例, 放疗 5 例, 放疗加化疗 13 例。共死亡 7 例, 其中 1 例死于术后心功能衰竭, 6 例分别于术后 9、12、13、14、16、24 月死于乳腺癌。总生存率为

70%。2 a 生存率 T₁ + T₂ 组为 89%, T₃ + T₄ 组为 50%。肿瘤微血管计数(MVC)在 T₃ + T₄ 组中(49.92)明显高于 T₁ + T₂ 组(31.93), $P < 0.05$, 而在年龄(≤ 40 岁、 > 40 岁)、腋窝转移(+、-)、血运转移(+、-)等参数中无分布差异。bFGF 的阳性表达率为 68.75% (22/32), 其中在肿瘤细胞胞浆内表达 15 例, 在肿瘤血管内皮细胞表达 17 例、基膜及细胞外基质中表达 10 例。bFGF 阳性组的 MVC 比阴性组明显增高, 分别为 41.25 ± 14.55 , 30.22 ± 14.36 , 统计学分析有显著性差异($P < 0.05$)。

2.2 生存预后单因素分析 全组平均 MVC 为 36.43, 依此分为高低两组, 生存率用 Kaplan - Meier 寿命表表示, 分析 MVC 与生存率关系, 见图 1, 显示低组生存率大于高组, 但统计学无显著性差异($P = 0.234$)。bFGF 与生存率的关系分析结果见图 2, 显示 bFGF 阴性组与阳性组生存率相近, $P = 0.54$ 。

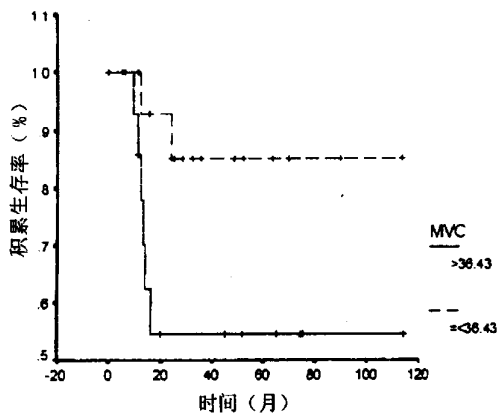


图 1 MVC 与生存率的关系

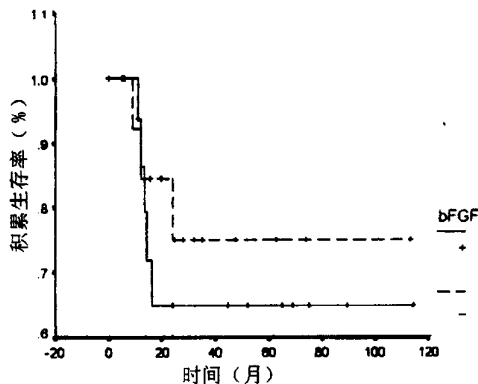


图 2 bFGF 与生存率的关系

2.3 生存预后多因素分析 将影响预后的因素: 年龄(≤ 40 岁、 > 40 岁)、淋巴结转移(+、-)、血运转移(+、-)、T分期($T_1 + T_2 + T_3 + T_4$)、MVC(≤ 36.43 、 > 36.43)、bFGF(+、-)等参数输入Cox模型,结果,MVC的P值为0.0261,相对危险度为0.2418,明显影响预后。其他参数P值均大于0.05,相对危险度从大到小依次为腋窝淋巴结转移、血运转移、年龄、T分期、bFGF。bFGF对生存率无明显影响。

3 讨论

3.1 肿瘤微血管计数(MVC)是反映乳腺癌预后的重要指标 MVC是从病理组织学角度反映肿瘤内血管形成的指标。Ogawa发现,MVC的高低与肿瘤大小、淋巴结转移、肿瘤分化程度没有明显关系,但MVC增高者无瘤生存时间和总生存时间均明显缩短。多因素分析显示,MVC是一个单独的预后因素,作者认为,MVC对于预测乳腺癌复发和死亡的危险性有价值^[4]。Morphopoulos的结果却显示,MVC与乳腺浸润性小叶癌患者的年龄、肿瘤大小、淋巴结转移等无明显关系,与无瘤生存及总生存时间也无明显关系^[5]。本研究采用的是Weidner肿瘤微血管计数方法。采用单因素分析结果显示,MVC低者生存率高,而计数高的生存率低,但统计学分析两组无明显差异。采用Cox比例风险模型分析结果显示,肿瘤微血管计数对生存率有明显影响。因此可以认为肿瘤微血管计数增高是乳癌预后不好的指标。肿瘤微血管计数影响预后的机制,主要是肿瘤中丰富的血管能促进肿瘤细胞增值和转移。研究证实,肿瘤细胞、肿瘤内微血管之间有相互促进作用,肿瘤微血管将营养物质输送到肿瘤组织内,同时将肿瘤细胞代谢产物排泄出,促进肿瘤细胞生长;另一方面肿瘤细胞分泌生长因子刺激血管形成。本研究也发现, $T_3 + T_4$ 的微血管计数明显增高,提示血管形成对乳癌生长起重要作用。

本研究采用vWf作为血管标记物,主要表达在血管内皮细胞胞浆中,采用LSAB法染色DAB显色后呈棕褐色颗粒。我们体会采用阳性染色区进行计数,使以前繁琐的血管计数方法大大简化。按Weidner法使计数的可重复性、可比性明显提高,便于临床应用。目前区分肿瘤血管计数高低的标准尚未统一。有作者选用25个血管/中

倍视野,也有人选用30个血管/中倍视野。本组采用所研究病例的平均值,即36.42个/中倍视野。

3.2 乳腺癌组织中bFGF表达对预后影响不明显 FGF是一组与肝素结合的蛋白质,其中,bFGF是最强烈的刺激血管形成的生长因子之一,主要由血管内皮细胞、周细胞、纤维细胞合成、分泌,对血管内皮细胞具有极强的促增殖和化学趋向作用。在正常组织,也可见bFGF的表达,主要储存在基膜和细胞外基质,与硫酸肝素糖蛋白结合^[6]。

研究显示,bFGF在乳腺癌组织中的阳性表达率为55.56%,雌激素受体阳性者bFGF表达率更高^[7]。Smith采用ELISA方法检测结果表明,bFGF在乳腺癌组织中的浓度高于正常乳腺组织的10倍,高于乳腺癌旁组织的3倍,免疫组织化学染色显示bFGF主要位于基质,在上皮细胞内较少表达^[8]。本组bFGF表达率为68.75%,除主要在间质表达外,在肿瘤细胞、肿瘤血管也有明显表达,而且大多同时在2种以上组织成分中表达,单一组织成分中表达者较少,如单纯在血管或肿瘤细胞中表达仅分别为4例、1例,与其它作者结果明显不同。阳性表达者的肿瘤大小、淋巴结及远处转移率与阴性者相比无明显差别。结果表明,bFGF在乳腺癌组织中有较高的表达率,可能主要由肿瘤细胞、血管内皮细胞合成、分泌,一方面促进血管内皮细胞生长,另一方面也直接促进肿瘤细胞生长,参与乳腺癌的生长、转移。

目前有关bFGF与乳腺癌预后的文献极少。Colomer发现bFGF在乳腺恶性、非恶性病变的表达无明显差异^[9]。Smith发现bFGF表达与乳腺癌的雌激素表达、肿瘤微血管计数无关,而bFGF低表达与肿瘤大小、肿瘤分化相关,但与生存率、复发率无明显关系^[8]。本组结果也显示,bFGF阳性的肿瘤微血管计数明显高于阴性组,单因素分析、多因素分析结果均显示,bFGF阳性表达与否与生存率无明显关系。因此,bFGF不是一个独立的预后因素,而只是参与、加强其它生长因子(如VEGF)的促血管形成的作用^[3]。值得注意的是,在本实验中,可见许多切片上的bFGF染色深度有明显差别,由于本组例数所限,尚难以分析bFGF定量与乳腺癌预后关系。有人通过研究乳腺癌组织中bFGF定量与预后的关系,发现肿瘤组织中bFGF浓度越低,生存率越低,局部复发率

越高,认为肿瘤组织中低水平的 bFGF (< 400 pg/mg)提示预后不佳^[9],认为可能是 bFGF 通过抑制 Bcl - 2 并促进乳腺癌细胞凋亡的缘故^[10]。因此定量研究有重要意义。

近年来随着对血管形成在肿瘤生物学过程中作用认识的日益深入,已开始研究抗血管形成疗法在乳癌中的作用。本研究证实 bFGF 在乳癌有较高的表达率,而且对肿瘤血管形成起重要作用,提示可以作为抗血管形成药物的作用点。

总之,肿瘤微血管计数可以作为乳腺癌预后的有效指标。虽然 bFGF 在乳癌组织中有较高表达率,而且对肿瘤微血管生长有明显影响,但尚不能将其表达与否作为预后指标。

4 参考文献

- 1 Ellis LA, Fidler IJ. Angiogenesis and breast cancer metastasis. *Lancet*, 1995, 346: 388 ~ 389
- 2 Kern FG, Lippman ME. The role of angiogenic growthfactors in breast cancer progression. *Cancer and Metastasis Review*. 1996, 15: 213 ~ 219
- 3 Weidner N, Semple JP, Welch WR *et al.* Tumor angiogenesis; a new significant and independent prognostic indicator in early - stage breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst*, 1992, 84: 1 975 ~ 1 987
- 4 Ogawa Y, Chung YS, Nakada B *et al.* Microvessel quantitation in invasive breast cancer by staining for factor V III - related antigen. *Br J Can*, 1995, 71: 1 297 ~ 1 301
- 5 Morphopoulos G, Pearson M, Ryder WD *et al.* Tumour angiogenesis as a prognostic marker in infiltrating lobular carcinoma of the breast. *J Pathol*, 1996, 180(1): 44 ~ 49
- 6 Eggo MC, Hopkins JM, Franklyn JA *et al.* Expression of fibroblast growth factor in thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995, 80: 1 006 ~ 1 011
- 7 黄学文, 赵 琪. 碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)mRNA 的表达在部分恶性肿瘤中的检测. *上海免疫学杂志*, 1996, 16(5): 350 ~ 352
- 8 Smith K, Fox SB, Whitehouse R *et al.* Upregulation of basic fibroblast growth factor in breast carcinoma and its relationship to vascular density, oestrogen receptor, epidermal growth factor receptor and survival. *Ann Oncol*, 1999, 10: 707 ~ 713
- 9 Colomer R, Aparicio J, Montero S *et al.* Low levels of basic fibroblast growth factor (bFGF) are associated with a poor prognosis in human breast carcinoma. *Br J Cancer*, 1997, 76: 1 215 ~ 1 220
- 10 Maloof P, Wang Q, Wang H *et al.* Overexpression of basic fibroblast growth factor (FGF - 2) downregulates Bcl - 2 and promotes apoptosis in MCF - 7 human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat*, 1999, 56: 153 ~ 167

(2000 - 08 - 10 收稿, 责任编辑 梁秋野)

氨基胍对大鼠创伤性面瘫恢复及面神经核一氧化氮合酶表达的影响^①

武警总医院口腔科 王立军 周树夏^② (北京 100039)

摘要 目的 研究诱导型一氧化氮合酶抑制剂氨基胍对大鼠创伤性面瘫恢复的影响及面神经核内一氧化氮合酶表达的变化。方法 通过大鼠面瘫前后腹腔内小剂量给予氨基胍,在伤后各个时间点上观察面瘫的恢复,并采用兔抗大鼠 NOS 抗血清免疫组织化学 ABC 法对面神经核内 NOS 阳性神经元的变化进行研究。结果 氨基胍在创伤性面瘫恢复的早、中期有促进恢复的作用,其面神经核内诱导型一氧化氮合酶的免疫反应性明显受到抑制。结论 氨基胍慢性干预明显抑制面神经核内诱导型一氧化氮合酶的表达,并促进创伤性面瘫的早、中期恢复。

关键词 氨基胍 一氧化氮合酶 创伤 损伤 面瘫 免疫组织化学 大鼠

Effects of aminoguanidine on recovery of traumatic facial paralysis and expression of NOS in facial nucleus in rats.

Wang Lijun, Zhou Shuxia. Department of Stomatology, Chinese People's Armed Police Forces, General Hospital, Beijing 100039, China

Abstract Objective To study the effects of inducible NOS inhibitor aminoguanidine on the recovery of traumatic facial paralysis in rats and the change in the expression of NOS in the facial nucleus. **Methods** A small dose of aminoguanidine was injected intraperi-

① 全军指令性课题(NO. 96L047)

② 第四军医大学口腔医院颌面外科