

一、中文摘要

本院透過乳房攝影所篩檢出來的乳癌，原位癌的比例佔 48%，合計第零期及第一期的乳癌佔 87%，大大提昇早期乳癌的比例。而在乳癌的發展過程中，周邊組織的侵襲及淋巴腺的轉移是重要的步驟，而影響這些步驟的因子也決定了癌症的發展和預後。本研究顯示 Martix metalloprotease 2(MMP2)在這兩個發展進程中均佔有重要的角色。而血管內皮生長激素和血管密度則無關。缺乏 ER、PR 的表現代表乳癌的分化及預後較差，與乳癌的侵襲和轉移有關。在各組因子的相關性方面，VEGF 與 ER、PR 呈負相關，VEGF 與 MMP2 呈正相關，表示乳癌在血管生成、侵襲及轉移的過程中，各因子有相互影響相輔相成的作用。

關鍵詞： 乳房攝影、血管內皮生長激素、MMP2、血管密度

Abstract

In our study, the percentage of early cancer is much higher in impalpable cancer detected by mammography and needle localization. In 54 cases, 26 cases(48%) were ductal carcinoma in situ. 47 out of 54 patients(87%) had stage 0 or I disease. The expression of MMP2 showed significant correlation with breast cancer invasion and metastasis. However, VEGF expression and MVD had no correlation with these two steps. Lack of ER & PR expression present potential of invasion and metastasis, poor differentiation and worse prognosis. Among these factors, VEGF and ER、PR showed negative correlation; VEGF and MMP2 showed positive correlation. This provided evidence that factors interact during angiogenesis, invasion and metastasis.

Keywords: mammography、Vascular endothelial growth factor(VEGF)、Martix metalloprotease 2(MMP2)、Microvessel density(MVD)

二、緣由與目的

對於台灣的女性而言，乳癌的發生率僅次於子宮頸癌。此外，由於飲食習慣西化和生活作息都市化的結果，乳癌的發生有日漸增加及年輕化的趨勢。當務之急便是研究出乳癌發生的可能機轉，進而發展有效的預防，診斷和治療的方法。

在癌症的發展過程中，血管生成、周邊組織的侵襲及淋巴腺的轉移是重要的步驟，而影響這些步驟的因子也決定了癌症的發展和預後。

血管內皮生長激素 (Vascular endothelial growth factor; VEGF)，在乳癌血管生成方面似乎是一個主要的因素，在腫瘤與非腫瘤組織的比較上，唯有在血管內皮生長激素的分泌上，兩者有明顯的差異。此外，其分泌與血管的生成、淋巴腺的轉移和存活的時間確實有密切的關聯(1-5)。然而，與動情、黃體激素受體的有無，卻無相關(3)。

組織切片的血管密度是一種評估血管生成的定量指標，而且証實與癌症的轉移和預後有關(6-8)。有報告指出，其本身即是推測乳癌預後的獨立因子(7,8)。

分解細胞外的組織間質(Extracellular matrix)，特別是基底層(basement membrane)，是由原位癌發展成侵襲癌的重要步驟，蛋白質分解酵素在此過程是決定性的因素，其中MMP2主要作用在組合成基底層的collagen type IV，在諸多的文獻報中指出參與癌症的侵襲有密切關係(9-13)。

當乳房攝影漸漸推廣做為乳癌篩檢的工具，愈來愈多臨床上觸診無法發現的早期乳癌會被診斷出來。然而，這些由篩檢而來的和已經發展成腫塊的乳癌篩檢所發現在分子生物學的層次是否有明顯的差異？由於經篩檢所發現的乳癌有高達半數是原位癌，我們計劃希望以血管生成的觀點為主軸，了解乳癌由原位癌、侵襲周圍組織進而轉移的可能機轉，利用石蠟包埋的組織切片進行免疫來評估分子指標血管內皮生長激素(Vascular endothelial growth factor, VEGF)，Martix metalloprotease 2(MMP2)，血管密度，在這些步驟所扮演的角色。

三、材料及方法(Subjects and Methods)

本研究篩選85年5月至88年6月腫塊無法觸摸之乳癌54例，是經白乳房攝影偵測出可疑鈣化，再透過立體定位切片所診斷出來的。另選擇同時期可觸摸到的乳癌個案共25例，其中原位癌(Ductal carcinoma in situ)26例，侵襲癌(Infiltrating ductal carcinoma)53例，其中沒有腋下淋巴腺轉移者25例，有轉移者18例，此三組案例分別代表乳癌演進的三個階段步驟：生成、侵襲、轉移。利用石蠟包埋的組織切片進行免疫來評估分子指標血管內皮生長激素(Vascular endothelial growth factor, VEGF)，Martix metalloprotease 2(MMP2)，血管密度(透過CD34的染色，計算在高倍鏡下(High power field)的血管數)在此三組的表現。VEGF及MMP2表現依強弱分級，由(-)到時(+++)。此外，動情激素受體(Estrogen receptor, ER)及黃體激素受體(Progesteron receptor, PR)的表現也予以記錄。

四、結果 (Results)

1. 54例經由乳房攝影所篩檢出來的乳癌中，其中原位癌(Ductal carcinoma in situ) 26例佔48%，與本院所有乳癌統計中原位癌佔6%比較有明顯的差異($p < 0.05$)。侵襲癌(Infiltrating ductal carcinoma) 28例中有腋下淋巴腺轉移者7例佔25%，同時期可觸摸到的乳癌25例個案中則有11例有轉移者佔44%，
2. 針對原位癌及侵襲癌的單變數分析比較，在VEGF的表現方面，如果視為次序變項(-, +, ++~++++)，兩組並沒有顯著差異($p = 0.765$)，若當作布林變項(無 vs 有)，則顯示侵襲癌有表現較少的趨勢(odds ratio=0.762; 0.232-2.507; $p = 0.654$)；但是在MMP2的表現方面，則不論是當作次序變項($p = 0.052$)或布林變項(odds ratio=3.923; 1.155-13.319; $p = 0.023$)，侵襲癌皆有較多的表現。至於在血管密度上，不論是平均值($p = 0.6974$)或最大值($p = 0.9024$)，兩組皆無差異；ER、PR的表現沒有統計上的差異，但侵襲癌有表現較少的趨勢(ER: odds ratio=0.598, 0.117-3.062, $p = 0.319$; PR: odds ratio=0.314, 0.058-1.689, $p = 0.068$)。
3. 如果以多變數分析來比較原位癌及侵襲癌差異，而將VEGF、MMP2及血管密度納入模組，則仍只有MMP2的表現有意義，而且更顯著(odds ratio=17.751; 2.159-145.961; $p = 0.0075$)。
4. 在侵襲癌中探討影響腋下淋巴腺轉移的因子方面，依單變數分析比較，如果VEGF視為次序變項，

兩組並無差別($p=0.688$)，若當作布林變項，則有轉移者傾向有較多的表現，但無統計上的意義($odds\ ratio=1.136; 0.286-4.515; p=1.000$)。在MMP2的表現方面，視為次序變項，兩組並無差異($p=0.740$)，而當作布林變項時，雖然有轉移者傾向表現較多的MMP2，但沒有統計上的意義($odds\ ratio=2.381; 0.702-8.073; p=0.227$)。ER、PR的表現方面，固然沒有統計上的差異，但PR在有轉移者有不表現的傾向(ER: $odds\ ratio=1.061, 0.226-4.974, p=1.000$; PR: $odds\ ratio=0.570, 0.127-2.555, p=0.153$)。在血管密度上，則不論是平均值($p=0.2404$)或最大值($p=0.1679$)，都與淋巴腺轉移無關。

5. 如果以多變數分析來比較侵襲癌中淋巴腺轉移的有無，而將VEGF、MMP2及血管密度納入模組，則發現MMP2的表現有意義($odds\ ratio=5.045; 1.044-24.375; p=0.0441$)。
6. 探討各因子之間的相關性方面發現：血管密度的平均值及最大值有高度相關($\rho=0.947, p=0.0001$)，VEGF和ER、PR的表現有負相關(vs ER: $\rho=-0.8293, p=0.0210$; vs PR: $\rho=-0.8293, p=0.0210$)和MMP2有正相關但未達統計上的意義($\rho=0.3612, p=0.1176$)。

五、討論 (Discussion)

1. 透過乳房攝影所篩檢出來的早期乳癌，原位癌的比例佔了將近一半，即便是侵襲癌，腋下淋巴腺轉移也明顯減少，合計第零期及

第一期的乳癌佔87%，比台灣平均的20%有很大的提昇，有關單位應該審慎考慮將50歲以上婦女年度乳房攝影之例行篩檢列入健保給付的範圍。

2. 乳癌的發展過程中，周遭組織的侵襲和淋巴腺轉移被視為重要的步驟，本研究顯示MMP2在這兩個發展進程中均佔有重要的角色。
3. 之前的研究報告指出血管內皮生長激素(VEGF)的分泌與血管的生成、淋巴腺的轉移和存活的時間確實有密切的關聯(41-45)。但在本研究中，不論是單變數或多變數分析，都發現其與乳癌的侵襲及轉移無關。可能VEGF是影響乳癌預後因子的獨立變數，但樣本太小不以驟下結論。
4. 組織切片的血管密度是一種評估血管生成的定量指標，而且証實與癌症的轉移和預後有關(47-55)。本結果並不見此趨向，可能需要增加個案數來釐清此一問題。
5. 一般認為缺乏ER、PR的表現代表乳癌的分化及預後較差，本研究有類似結論，與乳癌的侵襲和轉移有關，但礙於樣本太小，未達統計上的差異。
6. 在各組因子的相關性方面，VEGF與ER、PR呈負相關，這點和之前報告的結論相佐(43)，但是，如果VEGF的表現代表易於淋巴腺的轉移和較差的存活，ER、PR的表示分化及預後較好的乳癌，這是合理的結果。VEGF與MMP2呈正相關，表示乳癌在血管生成、侵襲及轉移的過程中，各因子有相互影響相輔相成的作用。

六、計畫成果自評

1. 証明乳房攝影在篩檢出早期乳癌上有重要的角色，有關單位可據此作為訂定乳癌篩檢策略的參考。
2. 本研究顯示MMP2在周邊組織的侵襲及淋巴腺的轉移進程中均佔有重要的角色，未來可作為乳癌預後的指標。而血管內皮生長激素(VEGF)和血管密度則無關。

七、參考文獻(References)

1. Lawrence FB, Brygida B, Robert WJ et al. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in breast cancer. *Human pathology* 1995;26(1):86-91
2. Keisei A, Takashi M, Mitsuo K, et al. Vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor are potential angiogenic and metastatic factors in human breast cancer. *Surgery* 1996;119:333-9.
3. Michele R, Susas L, Prudence AE, et al. Growth factor, placenta growth factor, and pleiotrophin in human primary breast cancer and its relation to angiogenesis. *Cancer research* 1997;57:963-9.
4. Giampietro G, Masakazu T, Masstmo G, et al. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein in node-negative breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1997;89(2):139-47.
5. Hitoshi Y, Daniel EG, Masabumi S, et al. Expression of vascular endothelial growth factor, its receptor, and other angiogenic factors in human breast cancer. *Cancer research* 1996;56:2013-6.
6. Weidner N, Semple JP, Welch WR, et al. Tumor angiogenesis and metastasis correlation in invasive breast-carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.
7. Horak ER, Leek R, Klenk N, et al. Angiogenesis, assessed by platelet/endothelial cell adhesion molecule antibodies, a indicator of node metastases and survival in breast cancer. *Lancet* 1992;340:1120-4.
8. Weidner N, Folkman J, Pozza F, et al. Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1992;84:1875-87.
9. Davies B., Miles DW., Happerfield LC., et al.: Activity of type IV collagenase in benign and malignant breast disease. *Br J Cancer* 1993;67:1126-1131.
10. Levy AT, Cioce V, Sobel ME, et al.: Increased expression of the Mr 72000 type IV collagenase in human colonic adenocarcinoma. *Cancer Res* 1991;51 :4399-444.
11. Naylor MS, Stamp GW, Davies BD, Balkwill FR.: Expression and activity of MMPs and their regulators in ovarian cancer. *IntJ Cancer* 1994;58:50-56.
12. Kusukawa J, Sasaguri Y, Shima I, Kameyama T, Morimatsu M.: Expression of matrix metalloproteinase-2 related to lymph node metastasis of oral squamous cell carcinoma. *Al clinicopathologic*

study. Am J Pathol 1993;99: 18-23.

13. Gress TM, Muller-Pillasch F, Lerch MM, Friess H, Buchler M, Adler G.: Expression and in-situ localization of genes coding extracellular matrix proteins and extracellular matrix degrading protease in pancreatic cancer. Int J Cancer 1995;622:407-413.