

• 论 著 •

PBMC 中 PPAR γ 、CD68 和 CD163 表达水平在 乳腺疾病诊断中的价值

钱世宁, 张 洁, 朱小飞 Δ

南京中医药大学附属医院医学检验科, 江苏南京 210029

摘 要:目的 探讨过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)、CD68 和 CD163 在乳腺癌和乳腺纤维瘤患者外周血单个核细胞(PBMC)中的表达情况及其与孕激素受体表达(PR)的相关性,以判断 PPAR γ 、CD68 和 CD163 在乳腺疾病诊断和预后判断中的临床价值,以期为临床乳腺疾病诊疗提供一种新的方法。**方法** 选取符合要求的乳腺疾病患者及同期健康体检人群共 47 例,分为乳腺癌(术前、术后)、乳腺纤维瘤和健康对照(HC)4 组,分离 PBMC,检测 CA153 和 CEA 在手术前后乳腺癌和乳腺纤维瘤患者标本中的表达差异;采用实时荧光定量逆转录-聚合酶链反应(qPCR)法检测 PPAR γ 、CD68 和 CD163 在乳腺癌和乳腺纤维瘤患者样本中的表达情况,受试者工作特征(ROC)曲线分析诊断效率,并分析三者与 PR 的相关性。**结果** CEA 和 CA153 在乳腺良恶性疾病中的表达不具有统计学差异($P>0.05$);PPAR γ 、CD68 和 CD163 在健康组与乳腺癌术前组、乳腺癌术前组与乳腺癌术后组、乳腺纤维瘤组与健康组之间的表达差异均具有统计学意义($P<0.05$);PPAR γ 、CD68 和 CD163 对乳腺癌诊断均具有较高的灵敏度和特异性;此外,PPAR γ 、CD68 与 PR 表达呈正相关,CD163 与 PR 呈负相关。**结论** PPAR γ 、CD68 和 CD163 在乳腺癌诊断和预后判断中具有较高的诊断效率,三者与 PR 的相关性可为乳腺癌的治疗和预后提供一种新的思路。

关键词:过氧化物酶体增殖物激活受体 γ ; CD68; CD163; 肿瘤相关巨噬细胞; 乳腺癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.14.021

中图法分类号:R446.61

文章编号:1673-4130(2023)14-1768-05

文献标志码:A

The value of PPAR γ , CD68 and CD163 in PBMC for the diagnosis of breast diseases

QIAN Shining, ZHANG Jie, ZHU Xiaofei Δ

Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210029, China

Abstract: **Objective** To explore the expression of peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ), CD68 and CD163 in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of patients with breast cancer or fibroadenoma, and their correlations with progesterone receptor expression (PR) in order to determine their values in the diagnosis and prognosis of breast diseases. **Methods** Whole blood samples of patients with breast cancer, breast benign fibroma or normal peoples were collected from Jan 1 2018 to Dec 31 2021. PBMC were separated from the whole blood firstly, and the expression PPAR γ , CD68 and CD163 in PBMC were detected by quantitative reverse transcriptional PCR. Diagnostic efficiency of PPAR γ , CD68 and CD163 were analyzed by receiver operating characteristic curve (ROC) analysis. **Results** CEA and CA153 have no significant values in distinguishing breast diseases. Significant difference of PPAR γ , CD68 and CD163 were found among breast cancer (preoperative), breast cancer (postoperative), breast benign fibroma and normal control groups. Also, PPAR γ , CD68 and CD163 have high sensitivity and specificity in the diagnosis of breast cancer. Positive correlations were found between PR levels and PPAR γ or CD68 expressions respectively, whereas CD163 is negative correlated with PR levels. **Conclusion** PPAR γ , CD68 and CD163 have high diagnostic efficiency in the diagnosis and prognosis of breast cancer, which can be served as new biomarkers for diagnosis of breast diseases.

Key words: peroxisome proliferator activated receptor γ ; CD68; CD163; tumor-associated macrophages; breast cancer

乳腺癌是女性常见恶性肿瘤之一,近年来其在我国
的患病率呈上升趋势,现已居于女性恶性肿瘤首

位。目前,临床上乳腺癌的早期诊断主要依靠 B 超、
核磁和钼靶等影像学手段,临床实验室指标和组织穿

刺等病理学手段均不能在乳腺癌的早期发现和诊断中发挥良好作用。因此,寻找和建立一种能早期预测和诊断乳腺癌的方法显得尤为重要。过氧化物酶增殖物激活受体(PPAR)是Ⅱ型核激素受体超家族的成员之一,属于配体依赖的转录因子^[1]。研究证明^[2], PPAR γ 在乳腺癌的发生发展过程中起重要作用,其经配体激活后可有效抑制肿瘤细胞增殖,诱导肿瘤细胞分化和凋亡,抑制肿瘤血管侵袭,降低肿瘤细胞的侵袭力。肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)是外周循环血液中的单核细胞在肿瘤来源的细胞因子和趋化因子作用下迁移到肿瘤微环境中增殖、分化形成的^[3]。TAMs 根据功能和状态不同分为经典活化的巨噬细胞(M1 型)和替代活化的巨噬细胞(M2 型)。M1 型巨噬细胞高表达促炎因子并激活免疫细胞,杀伤吞噬微生物和肿瘤细胞,并将产生的毒素中间体提呈给 T 细胞;而 M2 型巨噬细胞产生大量细胞因子,如:IL-10 及转化生长因子- β (TGF- β)等抑制机体免疫反应,促进肿瘤进展。有研究表明^[4], TAMs 进入肿瘤微环境后诱导形成 M2 型巨噬细胞, TAMs 通过分泌和调控多种细胞因子,促进乳腺癌细胞分裂和转移、癌血管生成以及淋巴管的生成,已逐渐成为乳腺癌研究的新靶点。CD68 是巨噬细胞的经典标志物之一,已被广泛用于标志实质性肿瘤浸润的 TAMs 中,主要识别 M1 型巨噬细胞^[5],而 CD163 在乳腺癌 M2 型巨噬细胞中高表达,可作为 M2 型标志物^[6]。既往研究表明, TAMs 的检测可作为判断乳腺癌侵袭转移及临床预后的重要指标^[7]。本文通过检测 CD68 和 CD163 在乳腺疾病患者外周血单个核细胞(PBMC)中的表达差异性,阐明 TAMs 相关分子标志在乳腺良恶性疾病诊断中的价值。孕激素受体(PR)是目前乳腺癌免疫组织化学的重要指标之一,作为乳腺癌诊断和判断预后的重要影响因素。本文研究 PPAR γ 、CD68 和 CD163 在乳腺疾病患者外周血 PBMC 中的表达差异,并结合三者与 PR 表达相关性,可以为临床乳腺疾病的诊疗提供新思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 根据临床病例信息收集 2018 年 1 月至 2020 年 12 月于本院因乳腺疾病就诊的患者及健康女性的 EDTA 抗凝外周血样本共 47 例,均为女性,平均年龄 43.2 岁。其中经病理学确诊为乳腺癌者 33 例,未经手术治疗者 13 例,术后患者 20 例;乳腺纤维瘤患者 6 例,同期选取健康体检女性 33 例,作为健康对照组,4 组间年龄、性别等一般资料差异无统计学意义($P=0.13$)。本研究涉及的病患数据和样本均通过南京中医药大学附属医院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 淋巴细胞分离液(上海新睿生物科技有限公司)、三氯甲烷、异丙醇溶液、75%乙醇、TRIzol Reagent(Invitrogen 公司)、Prime ScriptTM 反转录 PCR 试剂(大连宝生物工程有限公司), SYBR

Premix Ex TaqTM II 试剂(大连宝生物工程有限公司), PCR 引物合成由大连宝生物工程有限公司完成;高速台式离心机(北京白洋医疗器械有限公司)、恒温培养箱(上海煜南仪器有限公司)、数显恒温水浴锅(基隆)、恒温混匀仪(杭州瑞诚仪器有限公司), ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司), Eppendorf Bio Photometer Plus 核酸蛋白测定仪(Eppendorf 公司)。

1.3 方法

1.3.1 PBMC 的分离 取新鲜 EDTA 抗凝外周血,吸取 2 mL 淋巴细胞分离液加入 10 mL 分离管中,混匀备用全血标本,沿分离管管壁缓慢加入到分离液上, 1 500 r/min 离心 30 min,吸取灰白层即单个核细胞层至 1.5 mL EP 管中,再于高速冷冻离心机中 13 000 r/min, 4 °C 离心 5 min,收集细胞沉淀于一 80 °C 保存备用。

1.3.2 RNA 提取和 qPCR 检测 PPAR γ 、CD68、CD163 的表达水平 使用 Trizol 试剂提取 PBMC 总 RNA。通过 qPCR 方法检测 PPAR γ 、CD68、CD163 的 mRNA 水平,引物序列如下。PPAR γ ,上游:5'-TGGAGTTCATGCTTGTGAAG-3',下游:5'-GCA TTA TGAGACATCCCCAC-3'; CD68,上游:5'-TTCCCCTATGGACACCTCAG-3',下游:5'-TTG-TACTCCACCGCCATGTA-3'; CD163,上游:5'-AAAAAGCCACAACAGGTCGC-3',下游:5'-CTT-GAGGAACTGCAAGCCG-3'。采用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法计算相对表达水平。

1.3.3 收集 CEA 和 CA153 检测数据 从医院的电子病历系统中收集乳腺癌患者术前、术后及乳腺纤维瘤患者 CA153 检测结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件分析检测数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,正态变量数据比较采用 t 检验或单因素方差分析,受试者工作特征(ROC)曲线分析各指标的诊断效率, Spearman 法计算各指标和 PR 之间的相关性。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CEA 和 CA153 在良恶性乳腺疾病中表达水平的比较 本文比较了 CEA 和 CA153 这两种肿瘤标志物在乳腺癌术前、术后和乳腺纤维瘤患者三组之间的表达水平。CEA 在乳腺癌术前组较术后组表达水平($P=0.31$),在乳腺癌术后组较乳腺纤维瘤组表达水平($P=0.22$),在乳腺癌术前组较乳腺纤维瘤组表达水平($P=0.74$),差异均无统计学意义;同样, CA153 在乳腺癌术前组较术后组表达水平($P=0.67$),在乳腺癌术后组较乳腺纤维瘤组表达水平($P=0.58$),在乳腺癌术前组较乳腺纤维瘤组表达水平($P=0.82$),差异均无统计学意义。见图 1。CEA 和 CA153 不能作为乳腺疾病鉴别诊断和预后判断的有效指标。

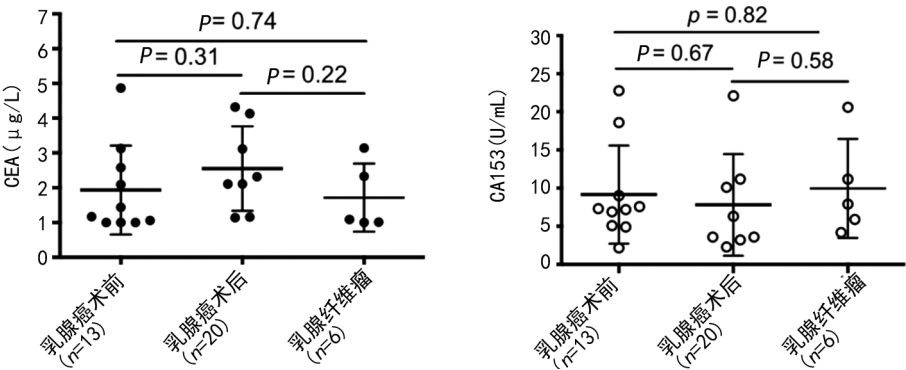


图1 CEA 和 CA153 在乳腺癌术前、术后和乳腺纤维瘤患者中的表达。

2.2 PPAR γ 、CD68 和 CD163 在乳腺癌术前、术后和乳腺纤维瘤患者之间的表达水平和差异 本研究检测了 PPAR γ 、CD68 和 CD163 在健康对照人群,乳腺癌术前、术后患者和乳腺纤维瘤患者样本中的表达水平,以健康对照人群的表达水平作为基准。与健康对照人群相比,乳腺癌术前患者的 PPAR γ 表达显著降低($P<0.001$),而乳腺纤维瘤患者的 PPAR γ 表达则明显增高($P<0.05$)。不仅如此,PPAR γ 在乳腺癌术后患者样本中的表达明显增高,与乳腺癌术前患者比较差异有统计学意义($P<0.01$)。CD68 在三组之间的表达水平和差异与 PPAR γ 相似。除此之外,CD163 在三组之间的表达也存在差异。其中,CD163 在乳腺癌术前患者的表达水平最高,显著高于健康对照组($P<0.05$)、术后组($P<0.05$)和乳癌纤维瘤患者($P<0.05$)。见图 2。上述结果提示,PPAR γ 、CD68 和 CD163 可能是鉴别乳腺疾病良恶性和预后判断的潜在指标。

2.3 ROC 分析 PPAR γ 、CD68 和 CD163 对乳腺癌的诊断效率 PPAR γ 在乳腺癌术前、术后和乳腺纤维瘤患者中的 ROC 曲线分析显示,ROC 曲线下面积分别为 0.89、0.93 和 0.93,临界值分别为 0.77、1.08 和

0.78,灵敏度分别为 88.89%、80.00% 和 85.71%,特异度分别为 87.50%、87.50% 和 88.89%。CD68 在乳腺癌术前、术后和乳腺纤维瘤患者中的 ROC 分析显示,ROC 曲线下面积分别为 0.79、0.83 和 0.90,临界值分别 0.77、1.08 和 1.16,灵敏度分别为 77.78%、80.00% 和 57.14%,特异度分别为 87.50%、87.50% 和 88.89%;CD163 在乳腺癌术前、术后和乳腺纤维瘤患者中的 ROC 分析显示,ROC 曲线下面积分别为 0.86、0.54 和 0.85,临界值分别为 1.08、1.08 和 1.28,灵敏度分别为 77.78%、33.33% 和 85.71%,特异度分别为 87.50%、87.50% 和 77.78%。根据 ROC 曲线分析的结果,PPAR γ 在乳腺癌和乳腺纤维瘤中均具有较高的灵敏度和特异度,诊断效能较高;而 CD68 对于乳腺癌和乳腺纤维瘤的诊断均具有较高的特异度,在乳腺癌中也具有较高灵敏度,但对于乳腺纤维瘤的诊断灵敏度较低;CD163 在乳腺癌和乳腺纤维瘤诊断中的特异度较高,但对乳腺癌术后患者的灵敏度过低。因此,PPAR γ 、CD68 和 CD163 在乳腺癌和乳腺纤维瘤的鉴别诊断和预后判断中具有一定作用。

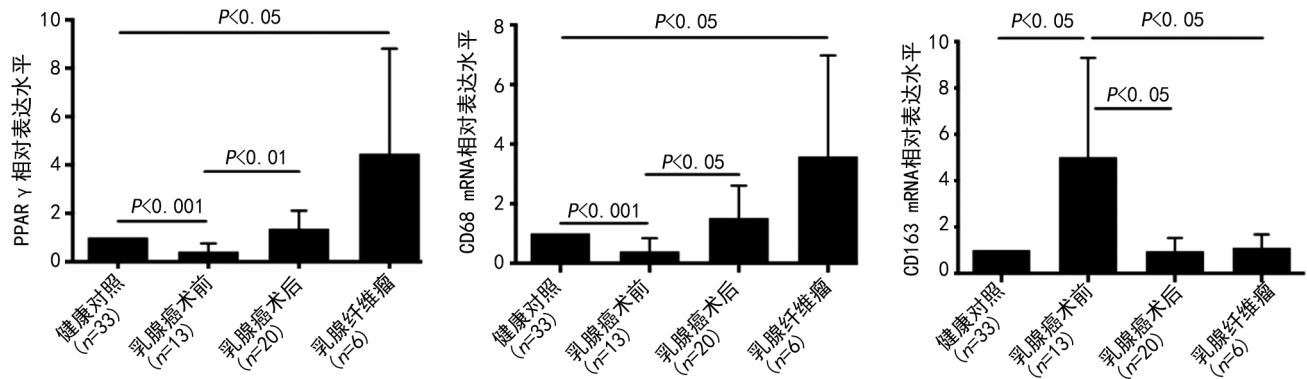
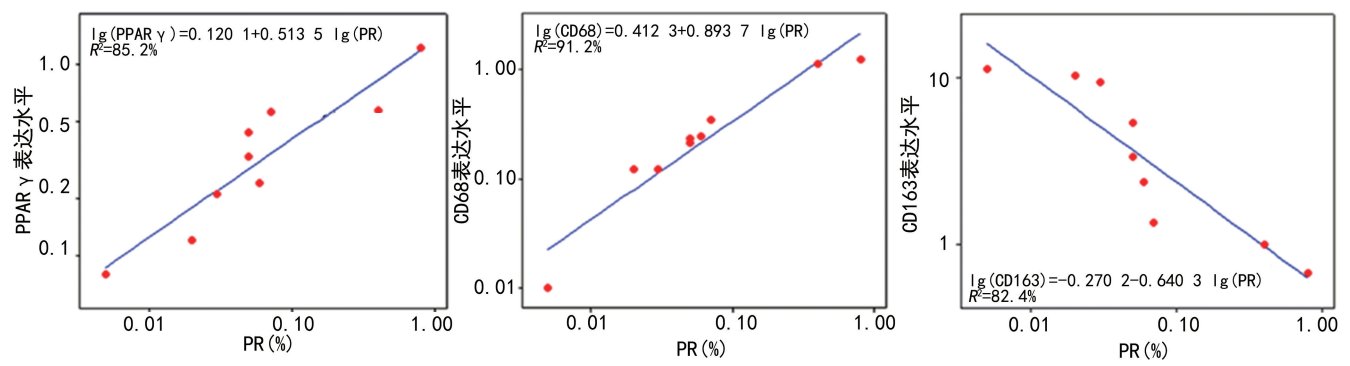


图2 PPAR γ 、CD68 和 CD163 在健康对照、乳腺癌术前、术后和乳腺纤维瘤患者中的表达水平和差异情况

2.4 PPAR γ 、CD68 和 CD163 表达水平与乳腺癌组织中 PR 表达的相关性分析 乳腺癌患者 PBMC 中 PPAR γ 表达水平与癌组织中 PR 的表达呈正相关($r=0.92$, $P<0.001$);CD68 表达水平与癌组织中

PR 的表达也呈正相关性($r=0.96$, $P<0.001$);而 CD163 表达水平与癌组织中 PR 的表达呈负相关($r=0.91$, $P<0.001$)。上述结果表明,PPAR γ 、CD68 和 CD163 表达水平与乳腺癌组织中 PR 的表达

存在着相关性,提示三者可能作为乳腺癌诊断和判断预后的潜在指标。见图 3。



注:左、中、右依次为 PPAR γ 、CD68 和 CD163 表达水平与 PR 的相关性分析。
图 3 乳腺癌术前患者 PPAR γ 、CD68 和 CD163 表达水平与癌组织中 PR 表达的相关性

3 讨 论

过氧化物酶增殖物激活受体(PPARs)根据结构特征分为三种亚型:PPAR α 、PPAR β 、PPAR γ ,其中 PPAR γ 是研究最多的亚型^[2]。PPAR γ 经与配体结合后激活,从而与维 A 酸类 X 受体(RXR- α)形成异源二聚体,入核与目标基因的过氧化物酶体增殖体反应元件(PPRE)结合,激活目的基因转录,引起相应的生物学效应^[8]。有实验研究证明^[9],PPAR γ 激动剂罗格列酮(ROZ)可抑制乳腺癌细胞(MCF-7)增殖并诱导其凋亡。江颖等^[1]实验证明 PPAR γ 与 TNM 分期、肿瘤组织学分级呈负相关,PPAR γ 在良性乳腺组织中的表达强度高于乳腺癌组织。这些发现与本实验中观察到的 PPAR γ 在乳腺纤维瘤患者 PBMC 中表达水平高于乳腺癌患者的现象一致。另多项研究证明^[1,10-12],PPAR γ 与 PR 表达呈正相关,其高表达与乳腺癌患者总生存率正相关,是预后良好的重要指标。本文同样也观察到乳腺癌患者 PBMC 中 PPAR γ 的表达水平与癌组织中 PR 的表达存在着正相关性,说明患者外周血 PBMC 中的 PPAR γ 同样能够反映肿瘤本身的特性。

TAMs 与肿瘤的发生和进展存在相关性。既往研究显示^[3,13-16],TAMs 在乳腺癌中的浸润程度与肿瘤分级、激素状态有关。良性乳腺疾病中 TAMs 的浸润密度明显低于其在乳腺癌组织中的密度,提示 TAMs 可能具有用于乳腺癌诊断筛查的潜在价值。TAMs 主要包括 M1 和 M2 两种类型的巨噬细胞,其中 M1 型巨噬细胞可表达促炎因子并激活免疫细胞,具有增强免疫反应和杀伤肿瘤细胞的功能;而 M2 型巨噬细胞主要产生抑制性细胞因子抑制免疫反应,促进肿瘤进展。由于肿瘤血供和机体血流存在着联通交换的病理特征,因此外周血中的 PBMC 可能通过肿瘤血供进入肿瘤微环境转化成为 M2 型巨噬细胞,促进肿瘤进展;而另一方面肿瘤微环境中的 TAMs 也可能通过血流途径进入外周循环,从而使得通过监测外周血 PBMC 的极性状态预测肿瘤发生发展成为可能。

本文首次通过检测外周血 PBMC 中 TAMs 标志分子 CD68 和 CD163 的表达水平,同样发现了 CD68 和 CD163 分子在健康人群、乳腺癌患者和良性乳腺纤维瘤患者之间的显著差异,并通过 ROC 曲线分析提示两种分子对乳腺癌和乳腺纤维瘤患者具有较高的诊断效率。值得注意的是,CD68 在乳腺癌患者 PBMC 中的表达水平显著低于其在正常组织和良性乳腺疾病组织中的水平,可能原因在于 PBMC 由单核巨噬细胞和淋巴细胞等单个核细胞组成,乳腺癌患者外周循环池中的单核巨噬细胞被肿瘤细胞招募至肿瘤微环境极化形成 M2 型巨噬细胞参与肿瘤进展^[17-18],从而导致外周 PBMC 中 CD68 相对表达水平降低。

除此之外,TAMs 还与肿瘤组织中 ER、PR 和 Her2 等受体表达有关^[19]。尽管 PR 作为单独指标对乳腺癌诊断价值不大,与患者年龄、肿瘤体积、有无淋巴结转移、肿瘤分期及组织学类型的差异也无统计学意义,但其与 ER、p53 及 c-erbB-2 等联合检测可用来指导临床用药和预后判断^[20]。本实验结果表明外周血 PBMC 中 CD68 和 CD163 分别与乳腺癌组织中 PR 表达呈正、负相关性,因此可将 CD68 和 CD163 纳入早期联合诊断指标之中,提高乳腺癌诊断的准确性。

本文同时研究 PPAR γ 和 TAMs 相关标志在乳腺良恶性疾病中的表达及诊断价值是基于二者在乳腺疾病中作用机制的共通之处。研究表明:M2 型巨噬细胞受低氧刺激分泌 VEGF,诱导血管生成并招募更多的巨噬细胞至肿瘤微环境^[4],以正反馈方式调控肿瘤微环境的血管生成,而 PPAR γ 配体 15d-PGJ2 等能有效抑制肿瘤细胞 VEGF 及其受体表达,从而抑制肿瘤血管生成^[21]。在对乳腺癌细胞的增殖、分化和侵袭的调控方面,TAMs 可被 MCF-7 刺激分泌大量 IL-6,经 JAK2-STAT3 通路活化后,增加靶基因 TGF- β 1、HIF-1 α 转录,激活癌干细胞,促进肿瘤生长和转移^[22],而配体介导的 PPAR γ 激活可阻滞 TAMs 向 M2 型巨噬细胞转化,抑制 M2 型“促癌”作用发挥^[22-23]。种种迹象表明,PPAR γ 在 TAMs 极化过程

中发挥了重要作用。因此本实验联合检测 TAMs 分子标志(CD68 和 CD163)以及 PPAR γ 在乳腺良恶性疾病中的表达,并且发现 PPAR γ 表达水平与 TAMs 极化状态存在密切关联。

综上所述,本文研究了外周血 PBMC 中 PPAR γ 和 TAMs 标志分子(CD68 和 CD163)在乳腺疾病患者的差异性表达,初步探讨了三种分子与肿瘤组织 PR 表达的相关性,为临床乳腺疾病的诊断和预后判断提供了新方法和新思路。

参考文献

[1] 江颖,刘文帅,黄也清,等.不同分子亚型乳腺癌中 PPAR γ 的表达及临床意义[J].中国临床医学,2013,20(2):114-117.

[2] 陈武科,周灿,何建军,等.PPAR γ 及其配体与乳腺癌[J].现代肿瘤医学,2009,17(2):353-356.

[3] PATYSHEVA M, FROLOVA A, LARIONOVA I, et al. Monocyte programming by cancer therapy[J]. Front Immunol, 2022, 13: 994319.

[4] 金香,谢明均.肿瘤相关巨噬细胞在乳腺癌中的研究进展[J].西南军医,2013,23(3):265-268.

[5] CENCINI E, FABBRI A, SICURANZA A, et al. The role of tumor-associated macrophages in hematologic malignancies[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(14): 3597.

[6] El-Nadi M, Hassan H, Saleh M E, et al. Induction of heparanase via IL-10 correlates with a high infiltration of CD163+ M2-type tumor-associated macrophages in inflammatory breast carcinomas[J]. Matrix Biol Plus, 2020, 6: 100030.

[7] 李玲玲,王霞.肿瘤相关巨噬细胞在乳腺浸润性导管癌中的表达及临床意义[J].滨州医学院学报,2017,40(1):7-10.

[8] HEUDOBLE D, RECHENMACHER M, LUKE F, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors(PPAR) γ agonists as master modulators of tumor tissue[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(11): 3540.

[9] 王鹏,李晋福,弓军胜,等.过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 与肿瘤[J/CD].中华临床医师杂志(电子版),2016,10(20):3081-3084.

[10] 王丽,柳雅玲,李亚鲁.乳腺导管内癌、浸润性导管癌中 PPAR- γ 和 COX-2 的联合检测及临床意义[J].中国妇幼保健,2015,30(14):2264-2267.

[11] HERMAWAN A, PUTRI H. Bioinformatics analysis reveals the potential target of rosiglitazone as an antiangiogenic agent for breast cancer therapy[J]. BMC Genom Data, 2022, 23(1): 72.

[12] 张洪斌,高鹏飞,赫海涛,等.乳腺癌组织中 PPAR γ 的表

达及其预后意义[J].现代预防医学,2011,38(23):4848-4849.

[13] MUKHTAR R A, MOORE A P, TANDON V J, et al. Elevated levels of proliferating and recently migrated tumor-associated macrophages confer increased aggressiveness and worse outcomes in breast cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2012, 19(12): 3979-3986.

[14] AMER H T, STEIN U, EL TAYEBI H M. The monocyte, a maestro in the tumor microenvironment(TME) of breast cancer[J]. Cancers(Basel), 2022, 14(21): 5460.

[15] 李玲玲,王霞.肿瘤相关巨噬细胞在乳腺浸润性导管癌中的表达及临床意义[J].滨州医学院学报,2017,40(1):7-10.

[16] HEY J, HALPERIN C, HARTMANN M, et al. DNA methylation landscape of tumor associated macrophages reveals pathways, transcription factors, and prognostic value relevant to triple-negative breast cancer patients[J]. Int J Cancer, 2023, 152(6): 1226-1242.

[17] PAKRAVAN K, MOSSAHEBI-MOHAMMADI M, GHAZIMORADI M H, et al. Monocytes educated by cancer-associated fibroblasts secrete exosomal miR-181a to activate AKT signaling in breast cancer cells[J]. J Transl Med, 2022, 20(1): 559.

[18] SOUSA S, BRION R, LINTUNEN M, et al. Human breast cancer cells educate macrophages toward the M2 activation status[J]. Breast Cancer Res, 2015, 17(1): 101.

[19] 宣奇佳.肿瘤相关巨噬细胞与乳腺癌关系的研究进展[J].临床肿瘤学杂志,2014,19(1):78-81.

[20] 王超奇,张艳,吴云飞,等.ER、PR、p53 及 c-erbB-2 癌基因在乳腺癌中的表达及预后意义[J].现代肿瘤医学,2013,21(2):314-316.

[21] MALEKAN M, EBRAHIMZADEH M A. Vascular endothelial growth factor receptors [VEGFR] as target in breast cancer treatment: current status in preclinical and clinical studies and future directions[J]. Curr Top Med Chem, 2022, 22(11): 891-920.

[22] ZHOU N, ZHANG Y, ZHANG X, et al. Exposure of tumor-associated macrophages to apoptotic MCF-7 cells promotes breast cancer growth and metastasis[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(6): 11966-11982.

[23] LI N, QIN J, LAN L, et al. PTEN inhibits macrophage polarization from M1 to M2 through CCL2 and VEGF: a reduction and NHERF-1 synergism[J]. Cancer Biol Ther, 2015, 16(2): 297-306.

(收稿日期:2022-12-09 修回日期:2023-03-26)