



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.05.023
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2016.05.023
Chinese Journal of General Surgery, 2016, 25(5):756-760.

· 简要论著 ·

TGF- β RII 与 HER-2 阴性乳腺癌患者预后的关系研究

漆云翔¹, 叶菲², 宋晏琼¹

(1. 四川省肿瘤医院 放疗科, 四川 成都 610041; 2. 哈尔滨医科大学 病理教研室, 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要

目的: 探讨转化生长因子 β III 型受体 (TGF- β RII) 在人表皮生长因子受体 2 (HER-2) 阴性乳腺癌中的表达变化及与患者预后的关系。

方法: 收集 73 例 HER-2 阴性乳腺癌组织标本 (乳腺癌组)、40 例正常乳腺组织 (正常组)、40 例乳腺纤维瘤术后病理组织 (纤维瘤组), 采用免疫组化 SP 法检测 3 组标本中 TGF- β RII 的表达情况, 并分析其与患者预后的关系。

结果: 乳腺癌组的 TGF- β RII 阳性表达率 (24.66%) 显著的低于纤维瘤组 (70.00%) 和正常组的 (82.50%) 且差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 乳腺癌组织中的 TGF- β RII 阳性表达与患者的 TNM 分期、发生淋巴结转移、组织学分级有关 ($P < 0.05$)。Cox 分析显示: 乳腺癌组织患者 TGF- β RII 阳性表达是患者远期预后的保护因素 ($OR = 0.644$, $P < 0.05$); 患者的 TNM 分期、发生淋巴结转移、组织学分级是患者远期预后的危险因素 ($OR = 1.338$, $OR = 1.276$, $OR = 1.552$, 均 $P < 0.05$)。

结论: TGF- β RII 在 HER-2 阴性乳腺癌中表达下调可能与疾病的发生发展及不良预后具有一定的关系。

关键词

乳腺肿瘤; 转化生长因子 β III 型受体; 人表皮生长因子受体 2; 预后

中图分类号: R737.9

目前, 乳腺癌的发病率较高, 已经成为一种严重威胁妇女健康的常见恶性肿瘤^[1]。尤其近些年, 该病在世界范围内的发病率逐年攀升, 临床中多采取化疗、免疫治疗等保守治疗和手术治疗^[2-4], 但其均对患者造成长时间肉体及心理折磨, 严重干扰她们的生活质量, 同时, 乳腺癌治愈后复发性较强^[5], 故患者预后较差。因此, 为寻找最佳治疗乳腺癌方式, 有效治疗乳腺癌及改善患者预后, 需探查清晰乳腺癌肿瘤产生及发展机制。转化生长因子 β II 受体 (transforming growth factor- β II receptor, TGF- β RII) 与多种肿瘤的产生、发展具有密切关系, 并能显著影响患者预后相关, 且其能影响表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER-2) 基因扩增^[6], 从而调控肿瘤生长及进一步浸润、转移。笔者检测本院病理科收集的 HER-2 阴性乳腺癌组

组织标本、正常乳腺组织和乳腺纤维瘤术后标本病理组织内 TGF- β RII 表达, 分析探讨其在 HER-2 阴性乳腺癌中的表达变化特点和与患者预后的相关性, 结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取本院病理科收集的 HER-2 阴性乳腺癌组织标本 73 例 (乳腺癌组)、正常乳腺组织 40 例 (正常组)、乳腺纤维瘤术后病理组织 40 例 (纤维瘤组)。

乳腺癌组 73 例患者, 年龄 36~72 岁, 平均年龄 (51.0 ± 9.3) 岁; 组织学分级: I 级 39 例, II 级 20 例, III 级 14 例; TNM 分期: I 期 18 例, II 期 19 例, III 期 20 例, IV 期 16 例; 肿瘤直径 (1.89 ± 0.82) cm, 淋巴结转移 31 例, 术后接受化疗 22 例。正常组 40 例研究对象, 年龄 38~67 岁, 平均年龄 (49.4 ± 9.4) 岁。纤维瘤组 40 例患者, 年龄 34~72 岁, 平均年龄 (48.9 ± 11.6) 岁。两组患者的年龄构成差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

收稿日期: 2016-02-06; 修订日期: 2016-04-18。

作者简介: 漆云翔, 四川省肿瘤医院主治医师, 主要从事肿瘤放疗化疗方面的研究。

通信作者: 叶菲, Email: qyunxiang12@163.com

1.2 纳入排除标准

1.2.1 纳入标准^[7] (1) 乳腺癌、纤维瘤患者的诊断依据手术后病理学证实,正常乳腺组织标本来源于乳腺纤维瘤旁组织,经病理学证实为正常乳腺组织;(2) 乳腺癌患者术前未接受放化疗及免疫治疗;(3) 患者的临床资料、术后随访结果资料齐全。

1.2.2 排除标准^[8] (1) 未经病理学证实的标本;(2) 患者的临床资料不完整,术后未接受随访观察的患者。

1.3 标本采集

手术中,活检穿刺或切取患者乳腺癌组织、正常乳腺组织及乳腺纤维瘤术后病理组织,用4%甲醛固定24 h,选择石蜡包埋,并在切片连续切片,4 μ m/片,备用。

1.4 免疫组化染色

采用SP免疫组织化学法测定,SP免疫组化染色试剂盒购于北京绿源大德生物科技有限公司,取乳腺癌组织标本、正常乳腺组织和乳腺纤维瘤术后病理组织用4%的甲醛固定,常规脱水、透明、渗蜡和包埋,连续切片,厚度4 μ m,对切片常规脱蜡、水化。取切片,PBS液洗3次,5 min/次,滴3%浓度过氧化钠溶液,25 $^{\circ}$ C下孵育10 min。蒸馏水洗2次,PBS浸泡5 min,高压抗原修复切片。再蒸馏水洗2次,5 min/次,PBS洗3次,5 min/次,滴50 μ L一抗(鼠抗人TGF- β RII

抗体及鼠抗人HER-2抗体购自南京赛泓瑞生物科技有限公司);覆盖切片,入37 $^{\circ}$ C水浴30 min,PBS洗3次,5 min/次,滴50 μ L二抗(辣根过氧化物标记试剂盒,购自上海捷瑞生物有限公司)。PBS洗3次,5 min/次,DAB显色及苏木素复染,吹干切片。SP染色具体操作依照说明书严格进行。且阴性对照采取生理盐水磷酸盐(PBS)缓冲液代替一抗,并以已测得阳性病例为阳性对照,ELISA分析试剂操作步骤严格依照产品说明书执行。用倒置相差显微检测制备好的切片。

1.5 免疫组化结果判断

免疫组化结果判定^[9-10]: TGF- β RII的阳性着色表达于细胞浆、少量表达与细胞膜,呈黄色、棕黄色、褐色表达,每1张切片选取10个高倍镜视野,计数阳性着色细胞数目和比例;(1) 根据着色强度:0分为无色,1分为淡黄色,2分为棕黄色,3分为褐色、黑色;(2) 根据阳性细胞比例:阳性细胞数目所占比例<5%为0分,阳性细胞所占比例6%~25%为1分,阳性细胞数26%~50%为2分,阳性细胞数51%~75%为3分,阳性细胞数所占比例>75%为4分;两种积分相乘总分<3分为阴性、 \geq 3分为阳性。(-)为总分<3分,阴性表达;(+)为3~5分,弱阳性表达;(++)为6~9分,中阳性表达;(++)为>9分,强阳性表达(图1)。

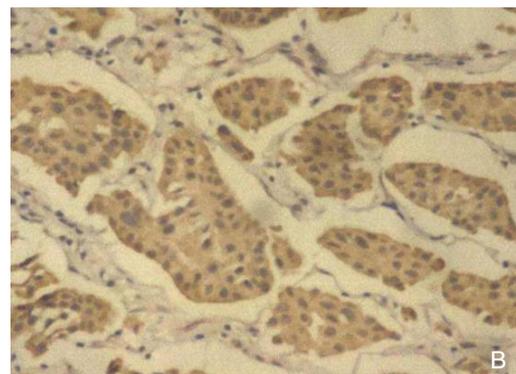
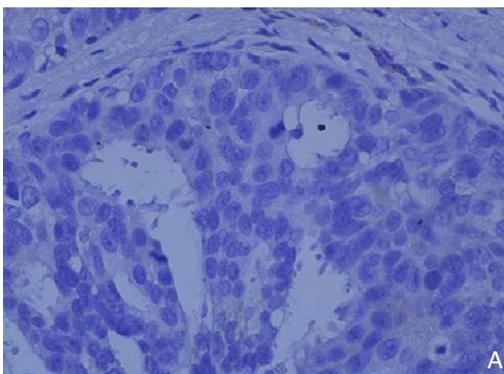


图1 免疫组化染色结果 A: TGF- β RII在乳腺癌组织中的阴性表达;B: TGF- β RII在正常组织中的阳性表达(SP \times 400)

1.6 统计学处理

数据分析在SAS 9.0软件包中处理,计量指标采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料采用百分率或构成比(%)表示,比较采用 χ^2 检验;生存分析采用Cox比例风险回归模型进行分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组织标本中的TGF- β RII阳性表达比较

乳腺癌组的TGF- β RII阳性表达率(24.66%)显著的低于纤维瘤组(70.00%)和正常组

的(82.50%),组间差异有统计学意义($P<0.05$);纤维瘤组和正常组的TGF- β RII阳性表达率间差异无统计学意义($P>0.05$)(表1)。

表1 各类组织标本中的TGF- β RII阳性表达率比较

组别	n	(-)	(+)	(++)	(+++)	阳性率(%)
正常组	40	7	16	13	4	33(82.50)
纤维瘤组	40	12	18	10	0	28(70.00)
乳腺癌组	73	55	13	5	0	18(24.66)
χ^2	—	—	—	—	—	41.935
P	—	—	—	—	—	<0.001

2.2 乳腺癌组织中TGF- β RII阳性表达率与临床病理特征关系

乳腺癌组织中的TGF- β RII阳性表达与患者的TNM分期、有无淋巴结转移、组织学分级有关($P<0.05$);与患者年龄、肿瘤大小、雌激素受体、孕激素受体无关($P>0.05$)(表2)。

表2 TGF- β RII阳性表达率与患者的临床病理特征关系

临床病理学特征	阳性(n=18)	阴性(n=55)	阳性率(%)	χ^2	P
年龄(岁)					
≤50	11	26	29.73	1.309	0.308
>50	7	29	19.44		
肿瘤最大径(cm)				1.333	0.248
≤2	10	22	31.25		
>2	8	33	19.51		
TNM分期				7.016	0.008
I+II期	14	23	37.84		
III+IV期	4	32	11.11		
组织学分级				5.694	0.017
I级	14	25	35.90		
II+III级	4	30	11.76		
淋巴结转移				6.508	0.011
是	3	28	9.68		
否	15	27	35.71		
雌激素受体				1.659	0.198
阳性	11	24	31.43		
阴性	7	31	18.42		
孕激素受体				1.033	0.309
阳性	10	23	30.30		
阴性	8	32	20.00		

2.3 TGF- β RII表达与HER-2阴性乳腺癌患者5年预后关系

采用Cox比例风险模型进行回归分析,显示乳腺癌组织患者TGF- β RII阳性表达是患者远期预后的保护因素($OR=0.644$, $P<0.05$);患者的

TNM分期、发生淋巴结转移、组织学分级是患者远期预后的危险因素($OR=1.338$, $OR=1.276$, $OR=1.552$, 均 $P<0.05$);患者的远期预后与患者术后是否接受化疗关系不明显($P>0.05$)(表3)。

表3 Cox比例回归模型分析结果

因素	B	S.E	Wald	P	OR	95% CI
TGF- β RII	-0.218	0.409	4.491	0.041	0.644	0.338~0.814
TNM分期	0.337	0.198	4.029	0.046	1.338	1.406~2.685
组织学分级	0.264	0.305	4.582	0.037	1.276	1.102~1.975
淋巴结转移	0.317	0.516	5.133	0.029	1.552	1.286~3.029
术后化疗	-0.172	0.322	1.096	0.518	1.302	1.202~2.660

3 讨论

目前,在世界范围内,乳腺癌属于常见、高发类女性恶性肿瘤之一,每年约有1 000多万确诊的新增病例^[11],且病死率达到61.5%~63.3%。近几年,我国女性乳腺癌患者人数也不断增高,尤其在北京、上海及广州等大中城市,其发病率居各类女性恶性肿瘤首位。国内外研究资料表明,乳腺癌早期病灶不明显,潜伏时间较长^[12],但患者一旦发病即表现为全身性的病灶。临床中常采取放、化疗及内分泌激素疗法和手术切除癌变组织的方式治疗乳腺癌,并获得较理想的治疗效果,能够有效延缓病情,极大提高患者生存率,但这些方法对癌灶根治性不高^[13],同时部分患者合并淋巴结转移,易导致乳腺癌复发或恶性,极大威胁患者生命安全。因此,通过探讨乳腺肿瘤的产生及发展机制,便可有效预防、诊断和治疗乳腺癌,显著改善其患者预后。

随着对乳腺癌研究的不断深入,已明确TGF- β RII与各类癌症产生及发展具有密切相关性。其作为机体组织转化生长因子(transforming growth factor- β , TGF- β)受体^[14],能够与TGF- β 相互结合、作用,介导细胞增殖、复制及分化,并可影响细胞外基质构成和细胞凋亡,调控肿瘤新生血管生成及生长,使得肿瘤实现免疫逃逸^[15-17]。在女性健康乳腺组织内,TGF- β 表达水平保持相对稳定,能够促进乳房发育^[18-19],但当其呈现过表达或基因病理性变异时,可致乳腺组织癌变而生产肿瘤。而TGF- β RII作为TGF- β 受体之一,其阳性率和乳腺癌肿瘤恶性度呈现负相关性^[19],即

其表达越低,则乳腺癌患者预后越差。这是因为TGF- β RII基因缺失、活性下降及功能出现障碍时,导致TGF- β 对细胞促凋亡和抑增殖信号传导受到阻断,使得肿瘤细胞无限制复制和增殖^[20],导致癌症进一步恶化,而该过程可能受到乳腺组织内HER-2基因影响,但TGF- β RII和乳腺癌患者预后间的相关性尚不清楚。

在本研究中,乳腺癌组TGF- β RII阳性表达率达到17.81%,显著低于纤维瘤组和正常组($P<0.05$),而纤维瘤组和正常组的TGF- β RII阳性表达率差异无统计学意义($P>0.05$)。结果表明TGF- β RII表达在乳腺癌组织内呈现异常性低表达,可致TGF- β 表达上升,而高表达TGF- β 能够造成乳腺组织细胞增殖失控,引起细胞恶变,同时TGF- β 还可促进乳腺癌肿瘤血管生成及生长,从而进一步加重肿瘤恶化及浸润、转移。本研究乳腺癌组织中的TGF- β RII阳性表达与患者的TNM分期、组织学分级均具有关($P<0.05$),这表明通过测定乳腺组织或乳腺肿瘤组织内TGF- β RII表达水平,可有效评估肿瘤是否产生或进一步恶化。同时,我们还发现TGF- β RII是HER-2阴性患者预后主要影响因素之一,这可能因为其为TGF- β 调控细胞信号功能发挥主要受体,可通过抑乳腺癌肿瘤细胞增殖,实现降低患者癌症恶化及复发。本研究中,TGF- β RII阳性表达患者的5年生存率显著高于TGF- β RII阴性表达患者($P<0.05$);且TGF- β RII阳性表达患者的5年生存中位时间显著长于TGF- β RII阴性表达患者($P=0.018$),说明TGF- β RII表达升高,降低TGF- β 表达后使得由HER-2激活的促阴性乳腺癌肿瘤细胞活动、迁移能力上升的信号途径活性减弱,可使得患者乳腺癌肿瘤生长、迁移得到抑制,降低癌症复发。

综上所述,TGF- β RII在HER-2阴性乳腺癌中表达下调时可能与乳腺癌发生、发展和恶化有关;并可能导致患者不良预后。因此,测定乳腺癌患者治疗前后TGF- β RII表达,可为临床工作提供有价值的指导。

参考文献

[1] 殷科,郭宇. 转化生长因子 β II受体与人表皮生长因子受体2阴性乳腺癌患者预后的关系[J]. 中国临床药理学杂志, 2014,

30(4):306-308.

Yin K, Guo Y. Relation between transforming growth factor- β typeIIreceptor and progmosis of patients with human epidermal growth factor receptor-negative breast tumors[J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2014, 30(4):306-308.

[2] 王义民,郭宝良. 乳腺癌新辅助化疗进展[J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(11):1561-1566.

Wang YM, Guo BL. Advances in neoadjuvant chemotherapy for breast cancer[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2014, 23(11):1561-1566.

[3] 刘卫国. 免疫治疗对乳腺癌患者术后免疫功能和生存状况的影响[J]. 中国现代普通外科进展, 2015, 18(3):189-191.

Liu WG. Effects of immunotherapy on immunologic function and survival in breast cancer patients after surgery[J]. Chinese Journal of Current Advances in General Surgery, 2015, 18(3):189-191.

[4] 廖晓红,谢艳萍. 多西他赛联合希罗达对大鼠乳腺癌癌前病变组织MVD、TGF- α 与VEGF表达的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2015, 31(5):638-642.

Liao XH, Xie YP. Study on combination of Docetaxel and Capecitabine on angiogenesis and expression of related regulatory factors in breast precancerous of rats[J]. Chinese Journal of Immunology, 2015, 31(5):638-642.

[5] 沈叶,徐梅玉,盛友华. 转化生长因子 β 1与乳腺癌微血管密度及预后的相关性[J]. 中国临床医学, 2015, 22(1):41-43.

Shen Y, Xu MY, Sheng YH. Correlation of Transforming Growth Factor β 1 with Microvessel Density and Prognosis in Breast Cancer[J]. Chinese Journal Of Clinical Medicine, 2015, 22(1):41-43.

[6] 于海明,杨俊兰,李莹,等. 乳腺癌原发灶成纤维细胞活化蛋白 α 表达与患者预后相关[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2015, 31(3):370-374.

Yu HM, Yang JL, Li Y, et al. The expression of fibroblast activation protein- α in primary breast cancer is associated with poor prognosis [J]. Journal of Cellular and Molecular Immunology, 2015, 31(3):370-374.

[7] Kassem L, Deygas M, Fattet L, et al. TIF1 γ interferes with TGF β 1/SMAD4 signaling to promote poor outcome in operable breast cancer patients[J]. BMC Cancer, 2015, 15:453. doi:10.1186/s12885-015-1471-y

[8] Wang Y, Lei R, Zhuang X, et al. DLC1-dependent parathyroid hormone-like hormone inhibition suppresses breast cancer bone metastasis[J]. J Clin Invest, 2014, 124(4):1646-1659.

[9] Singha P K, Pandeswara S, Geng H, et al. TGF- β induced TMEM16A/PMEPA1 inhibits canonical Smad signaling through R-Smad sequestration and promotes non-canonical PI3K/Akt signaling by

- reducing PTEN in triple negative breast cancer[J]. *Genes Cancer*, 2014, 5(9/10):320-336.
- [10] Xu C, Wang Z, Cui R, et al. Co-expression of parathyroid hormone related protein and TGF-beta in breast cancer predicts poor survival outcome[J]. *BMC Cancer*, 2015, 15(1):1-10.
- [11] Liu L, Zhou W, Cheng CT, et al. TGFβ induces "BRCAness" and sensitivity to PARP inhibition in breast cancer by regulating DNA-repair genes[J]. *Mol Cancer Res*, 2014, 12(11):1597-1609.
- [12] 玄东春, 金文彪, 崔海, 等. Her-2与ALDH1在乳腺癌中表达与相关性研究[J]. *现代仪器*, 2012, 18(6):26-29.
- Xuan DC, Jin WB, Cui H, et al. Studies of correlation between Her-2 and ALDH1 expression in breast cancer[J]. *Modern Instrument*, 2012, 18(6):26-29.
- [13] Epstein Shochoet G, Tartakover-Matalon S, Drucker L, et al. Placenta-breast cancer cell interactions promote cancer cell epithelial mesenchymal transition via TGFβ/JNK pathway[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2014, 31(8):961-975.
- [14] Deng T, Liu JC, Chung PE, et al. shRNA kinome screen identifies TBK1 as a therapeutic target for HER2+ breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(7):2119-2130.
- [15] 余之刚, 高忠诚, 张连芳, 等. ERα/ERβ、转化生长因子β1在乳头状瘤、原位癌及乳腺癌组织中的表达差异及其意义[J]. *中华乳腺病杂志: 电子版*, 2013, 7(2):29-32.
- Yu ZG, Gao ZC, Zhang LF, et al. Expression difference of ERα/ERβ and transforming growth factor β1 in papilloma, carcinoma in situ and breast cancer tissue and clinical significance[J]. *Chinese Journal of Breast Disease: Electronic Version*, 2013, 7(2):29-32.
- [16] Slattery ML, Lundgreen A, Stern MC, et al. The influence of genetic ancestry and ethnicity on breast cancer survival associated with genetic variation in the TGF-β-signaling pathway: The Breast Cancer Health Disparities Study[J]. *Cancer Causes Control*, 2014, 25(3):293-307.
- [17] Ma Y, Liu H, Zhang H, et al. The TGF-β signaling pathway induced EMT in breast cancer[J]. *Acta pharmaceutica Sinica*, 2015, 50(4):385-392.
- [18] 李开富, 张晓耀, 康骅. 肿瘤相关成纤维细胞在乳腺癌内分泌治疗中作用的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2015, 24(5):733-738.
- Li KF, Zhang XY, Kang H. Research progress in the role of carcinoma-associated fibroblasts in endocrine therapy for breast cancer[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2015, 24(5):733-738.
- [19] Alqumber MA, Dar SA, Haque S, et al. No association of the TGF-β1 29T/C polymorphism with breast cancer risk in Caucasian and Asian populations: evidence from a meta-analysis involving 55,841 subjects[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(20):8725-8734.
- [20] Singh R, Shankar BS, Sainis KB. TGF-β1-ROS-ATM-CREB signaling axis in macrophage mediated migration of human breast cancer MCF7 cells[J]. *Cell Signal*, 2014, 26(7):1604-1615.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 漆云翔, 叶菲, 宋晏琼. TGF-βRII与HER-2阴性乳腺癌患者预后的关系研究[J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(5):756-760. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.05.023

Cite this article as: Qi YX, Ye F, Song YQ. Study on relationship of TGF-β RII on prognosis of HER-2 negative breast cancer patients[J]. *Chin J Gen Surg*, 2016, 25(5):756-760. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.05.023