

文章编号:1005-6947(2007)11-1118-03

· 简要论著 ·

乳腺浸润性导管癌中 ER, PR, c-erbB-2, p53 和 nm23 的表达及对预后的多因素分析

于冰¹, 丁锦辉³, 王闽全¹, 孙国辉¹, 古力巴哈尔²

(新疆医科大学第二附属医院 1. 肿瘤外科 2. 病理科, 新疆 乌鲁木齐 830028; 3. 新疆克拉玛依市中心医院 普通外科, 新疆 克拉玛依 834000)

摘要:应用免疫组化 S-P 法检测 78 例乳腺浸润性导管癌组织中 ER, PR, c-erbB-2, p53 和 nm23 蛋白的表达,以 Cox 模型分析影响其预后的临床病理和生物学指标。结果示 ER, PR, c-erbB-2, p53 和 nm23 蛋白阳性表达率分别为 44.9%, 39.7%, 67.9%, 51.3% 和 69.2%。ER 表达与年龄、月经状况、组织学分级有关;PR 和 c-erbB-2 表达仅与组织学分级有关;p53 表达仅与年龄有关;nm23 表达与肿瘤大小、TNM 分期、3 年生存率有关。多因素 Cox 回归分析显示:患病年龄、TNM 分期和组织学分级的危险度分别为 3.574, 31.661 和 2.019。提示:患病年龄、TNM 分期和组织学分级等临床病理学指标能反映乳腺浸润性导管癌的预后情况;同时参考上述 5 种生物学指标,有助于评估预后。

[中国普通外科杂志, 2007, 16(11):1118-1120]

关键词: 乳腺肿瘤/病理学; 癌, 导管, 乳腺; 生物学指标; 免疫组织化学; 预后

中图分类号: R 736.1

文献标识码: B

本研究采用免疫组化链霉菌抗生物素-过氧化物酶连接法(S-P法),检测了乳腺癌相关的雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、c-erbB-2, p53 和 nm23 蛋白的表达及其与临床病理指标的关系;并应用 Cox 模型研究它们在乳腺浸润性导管癌中的预后判断价值。

1 材料与方法

1.1 标本来源及临床病理资料

收集新疆医科大学第二附属医院和新疆克拉玛依市中心医院 1995 年 7 月—2005 年 7 月间有病历记载和随访完整的维、汉民族原发乳腺浸润性导管癌患者共 234 例,均为女性,单侧。采用单纯随机抽样方法,抽取 78 例样本作为研究对象。78 例患者术前均未经放疗、化疗及其他治疗,术后病理确诊并经正规综合治疗。本组 78 例患者其临床病理因素、各分组的例数见表 1。所有患者进行了 1 年以上的随访,随访起始时间为接受手术治疗之日,终止时间为 2006 年 9 月 30 日。

1.2 免疫组化方法

鼠抗人 c-erbB-2, p53 和 nm23 单克隆抗体和 ER, PR 单克隆抗体及相关试剂盒购自福州迈新生物技术公司。所有标本经 10% 福尔马林固定,常规石蜡包埋,连续 4 μ m 切片。采用 S-P 免疫组化方法,微波炉内抗原修复,二氨基联苯胺(DAB)显色。用已知阳性的乳腺癌切片作阳性对照,用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作阴性对照。结果判断:ER, PR 和 p53 阳性表达在细胞核上,c-erbB-2 阳性表达在胞膜及胞浆上,nm23 阳性表达在胞浆上,以上部位出现均匀棕黄色颗粒为阳性。采用计数法,镜下每张切片观察 5 个高倍视野,阳性细胞 $\geq 10\%$ 为阳性, $< 10\%$ 为阴性。

1.3 统计学处理

采用 SPSS12.0 软件包进行统计分析。患者的生存时间以手术治疗日为起点,死于乳腺癌为终点。用 χ^2 检验分析上述生物学指标在乳腺癌中的表达及其与各临床病理因素的关系;Cox 回归逐步后退法(Backward LR)作多因素预后分析。

2 结果

2.1 ER, PR, c-erbB-2, p53 和 nm23 蛋白的表达及与临床病理因素的关系

ER, PR, nm23 蛋白表达阳性率分别为 44.9%,

收稿日期:2006-12-02; 修订日期:2007-08-10。

作者简介:于冰,男,新疆乌鲁木齐人,新疆医科大学第二附属医院副教授,主要从事甲状腺、乳腺肿瘤方面的研究。

通讯作者:于冰 E-mail:xydyubing@sohu.com.cn

39.7% 和 69.2%; c-erbB-2, p53 蛋白阳性表达率分别为 67.9% 和 51.3%。ER 阳性表达率随患病年龄的增大、绝经而升高; ER 和 PR 均随组织学分级的升高而降低 ($P < 0.05$); 而 c-erbB-2 表达率随组织学分级的递增而升高 ($P < 0.01$); p53 表达率在患病年龄 > 55 岁者明显降低 ($P < 0.05$); nm23 表达率在肿瘤直径 > 5 cm 后明显降低 ($P < 0.05$), III, IV 期的肿瘤阳性率低于 I, II 期; 阳性率高的乳腺癌 3 年生存率高 ($P < 0.05$)。各生物学指标在民族、肿瘤部位、腋淋巴结转移分组之间均未发现有统计学差异 (表 1)。

表 1 5 种蛋白的阳性表达及其与各临床病理因素的关系 (例, %)

临床病理因素	n	ER	PR	c-erbB-2	p53	nm23
民族						
汉	54	26(48.1)	24(44.4)	40(74.1)	25(46.3)	37(68.5)
维	24	9(37.5)	7(29.2)	13(54.2)	15(62.5)	17(70.8)
年龄(岁)						
≤ 35	6	0(0.0)	0(0.0)	4(66.7)	3(50.0)	4(66.7)
35~55	50	22(44.0) ¹⁾	23(46.0)	35(70.0)	31(62.0) ¹⁾	35(70.0)
> 55	22	13(59.1) ¹⁾	8(36.4)	14(63.6)	6(27.3) ¹⁾	15(68.2)
月经状况						
未绝经	41	12(29.3) ²⁾	15(36.6)	28(68.3)	24(58.5)	28(68.3)
绝经	37	23(62.2)	16(43.2)	25(67.8)	16(43.2)	26(70.3)
肿瘤部位						
外侧区	62	26(41.9)	22(35.5)	42(67.7)	32(51.6)	43(69.4)
乳晕区	6	4(66.7)	5(83.3)	4(66.7)	4(66.7)	5(83.3)
内侧区	10	5(50.0)	4(40.0)	7(70.0)	4(40.0)	6(60.0)
肿瘤大小(cm)						
≤ 2	14	6(42.9)	7(50.0)	10(71.4)	7(50.0)	10(71.4) ¹⁾
$> 2 \sim \leq 5$	53	23(43.4)	21(39.6)	34(64.2)	27(50.9)	40(75.5) ¹⁾
> 5	11	6(54.5)	3(27.3)	9(81.8)	6(54.5)	4(36.4)
腋淋巴结转移(个)						
阴性	29	14(48.3)	10(34.5)	21(72.4)	11(37.9)	23(79.3)
阳性 1~4	17	6(35.3)	7(41.2)	12(70.6)	8(47.1)	12(70.6)
阳性 4~8	9	4(44.4)	5(55.6)	6(66.7)	5(55.6)	7(77.8)
阳性 ≥ 8	23	11(47.8)	9(39.1)	14(60.9)	16(69.6)	12(52.2)
TNM 分期						
I + II	55	24(43.6)	23(41.8)	36(65.5)	28(50.9)	43(78.2) ¹⁾
III + IV	23	11(47.8)	8(34.8)	17(73.9)	12(52.1)	11(47.8)
组织学分级						
I	20	15(75.0)	12(60.0)	8(40.0)	9(45.0)	16(80.0)
II	31	15(48.4) ²⁾	15(48.4) ²⁾	25(80.6) ²⁾	16(51.6)	23(74.2)
III	27	5(18.5) ²⁾	4(14.8) ²⁾	20(74.1) ²⁾	15(55.6)	15(55.6)
生存时间(年)						
< 3	16	5(31.3)	3(18.8)	12(75.0)	9(56.3)	7(43.8) ¹⁾
≥ 3	35	16(45.7)	15(42.9)	22(62.9)	20(57.1)	26(74.3)

注:同一指标组间比较:1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$

2.2 临床病理因素及 5 项生物学指标与乳腺浸润性导管癌预后的关系

nm23 表达与乳腺浸润性导管癌的 3 年生存率有统计学差别 ($P < 0.05$)。PR 表达率虽差异较大,但无统计学意义 (表 1)。单因素 Cox 模型分析发现,民族、肿瘤大小、腋淋巴结转移、TNM 分期、nm23 表达 5 项指标虽与乳腺浸润性导管癌预后有关 ($P < 0.05$), 危险度分别为 2.473, 5.104, 2.024, 20.136 和 0.407。但经多因素 Cox 回归分析,仅年龄、TNM 分期、组织学分级 3 项指标与其预后有关 ($P < 0.05$), 危险度分别为 3.574, 31.661 和 2.019 (表 2)。

表 2 本组患者预后的 Cox 回归多因素分析结果

预后因素	β	SE	Wald	P	Exp(β)	95.0% CI for Exp(β)	
						下限	上限
年龄	1.274	0.487	6.853	0.009	3.574	1.377	9.274
TNM 分期	3.455	0.563	37.603	0.000	31.661	10.494	95.528
组织学分级	0.703	0.283	6.142	0.013	2.019	1.158	3.519

2.3 随访结果

78 例患者均进行了术后随访, 全组随访时间为 4 ~ 118 个月, 中位随访时间为 32 个月; 随访达到 3 年及以上的有 51 例, 其 3 年生存率为 68.6% (35/51); 随访达到 5 年及以上的有 29 例, 其 5 年生存率为 48.3% (14/29)。随访期间因本病死亡 27 例, 病死率为 34.6%。

3 讨论

本组结果显示 ER, PR 的阳性表达与组织学分级有关, 符合有关文献^[1]的结论。乳晕区肿瘤和 ≥ 3 年生存期的患者 ER, PR 阳性率虽高于内、外侧区及 < 3 年生存者, 但无统计学意义。民族、肿瘤大小、腋淋巴结转移、TNM 分期对 ER, PR 表达影响不大。单因素 Cox 模型分析显示 ER 和 PR 是保护因素, 危险度是 0.905 及 0.555, 但两者无统计学差异; 多因素 Cox 分析亦未发现其预后价值。这有待于更为细致的研究, 特别是 PR 与预后的关系。

研究^[2-3]表明, c-erbB-2 扩增及蛋白表达与乳腺癌的组织学分级、核分裂数、临床肿瘤进展期呈显著正相关, 而与 ER 和 PR 呈负相关。本研究显示, c-erbB-2 的阳性率为 67.9%; 与宋辉等^[4]报道的阳性率 (70.6%) 相接近。本组还发现浸润性导管癌 c-erbB-2 的表达仅与组织学分级有关, 而其他临床病理指标无关, 与 Hayes 等^[5]的

结论一致。故此,如作为评价乳腺癌临床病理的一种有效标记物 c-erbB-2 的价值还有待研究确定。这也与黄俊辉等^[6]大样本的分析大致相同。单因素及多因素 Cox 模型分析表明,c-erbB-2 的预后意义均不大。与马树东等^[7]的结论相似。

大量研究表明,p53 基因突变与乳腺癌的发生密切相关,已知其在人类乳腺癌的突变率为 15%~60%^[8]。多数文献报告 p53 的阳性率与组织学分级、淋巴结转移有关^[9]。曹亚丽等^[10]报告 p53 表达与临床分期、病理类型有关。但有学者^[11]认为 p53 表达与组织学分级、淋巴结转移均无显著关系。本研究发现,p53 的阳性率为 51.3%,仅与患者年龄有关,年龄大阳性率降低,提示 p53 突变可能与早发性乳腺癌关系密切。本组患者 p53 的阳性率与其他临床病理因素及 3 年生存率均无统计学意义。单因素及多因素 Cox 模型分析 p53 的预后意义不大,马树东等^[7]和田兴松等^[12]的 Cox 多因素分析亦未发现 p53 是判断乳腺癌术后生存的独立指标,笔者认为 p53 作为乳腺浸润性导管癌单独的预后指标尚不能肯定。

1989 年 Bevilacqua 等^[13]最先研究 nm23 基因在乳腺癌转移中的作用,发现 nm23 mRNA 含量低与组织病理学的低分化、高淋巴结转移和 ER, PR 阴性一致。黄俊辉等^[6]发现,nm23 基因在原发性乳腺癌患者中的表达率与年龄、肿瘤病理类型无关,但与临床分期、腋淋巴结转移有关,临床分期越高,阳性率越低。本资料中 nm23 表达率为 69.2%,与临床分期和肿瘤大小呈负相关,与患者的生存呈正相关,而与其他临床病理指标无关。单因素 Cox 模型分析 nm23 是保护因素,危险度是 0.407,有统计学意义;但经多因素 Cox 分析发现其预后价值不明显,考虑可能与本研究样本数较少有关。综合以上分析,笔者认为乳腺癌组织中的 nm23 水平,可以作为判断浸润性导管癌预后的参考指标;它有助于筛选出高危患者。

从单因素分析结果看,民族、肿瘤大小、腋淋巴结转移、TNM 分期等 4 种临床病理因素与乳腺浸润性导管癌预后有关,其他指标对其预后的影响不大;经多因素 Cox 回归分析,发现年龄、TNM 分期、组织学分级 3 项指标进入回归方程,成为与乳腺浸润性导管癌预后最有关的影响因素。马树东等^[7]的 Cox 生存分析亦发现年龄、TNM 分期是影响乳腺癌预后的重要指标。表明年龄、TNM 分期、组织学分级等传统的临床病理因素是预后评价中最重要指标。在单因素分析中有意义的

肿瘤大小、腋淋巴结转移经多因素分析后失去了统计学意义,考虑与 TNM 分期内容中包含了该两项病理因素有关。

综上所述,要有效、准确地估计乳腺浸润性导管癌的预后,须充分重视临床分期、组织学分级等传统的临床病理指标,同时参考部分有评估预后价值的生物学指标,从而有助于指导其个体化治疗,提高患者的术后生存率。

参考文献:

- [1] 朱从敏,鹿德智,柳红,等. 乳腺癌中 CyclinD1, p21ras, p53, nm23, ER, PR 的表达及其临床病理相关性研究[J]. 徐州医学院学报, 2003, 23(1): 45-47.
- [2] Tanner M, Jarvinen P, Isola J. Amplification of Her 2/neu and topoisomerase II in primary and metastatic breast cancer [J]. Cancer Res, 2001, 61(14): 5345-348.
- [3] 缪云翔,吴浩荣. PCNA 和 c-erbB-2 及 nm23-H1 在乳腺癌组织中的表达及临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2006, 23(3): 322-324.
- [4] 宋辉,沈波,徐健. 人乳腺癌 c-erbB-2 及 nm23 基因表达及临床意义[J]. 河南肿瘤学杂志, 2003, 16(2): 119-120.
- [5] Hayes DF, Thor AD. c-erbB-2 in breast cancer: development of a clinically useful marker [J]. Semin Oncol, 2002, 29(3): 231-245.
- [6] 黄俊辉,海健,李洋,等. 原发性乳腺癌组织中 c-erbB-2 和 nm23 的表达及其意义[J]. 中国普通外科杂志, 2004, 13(11): 861-863.
- [7] 马树东,罗荣城,丁彦青,等. 乳腺癌组织中 EGFR、IGF-1R、HER2/neu 和 p53 蛋白的表达及意义[J]. 肿瘤防治杂志, 2005, 12(5): 335-338.
- [8] Sotiropoulos C, Powles TJ, Dowsett M, et al. Gene expression profiles, derived from fine needle aspiration correlate with response to systemic chemotherapy in breast cancer [J]. Breast Cancer Res, 2002, 4(3): R3.
- [9] 杜长征,李惠平,马力文,等. 中国乳腺癌患者 P53 表达临床生物学意义的 Meta 分析[J]. 中国癌症杂志, 2005, 15(6): 514-517.
- [10] 曹亚丽,熊冀平,吴晓波,等. 乳腺癌组织中 c-erbB-2、p53 和 PCNA 的表达及与预后因素的关系[J]. 医师进修杂志, 2005, 28(12B): 12-14.
- [11] Reed W, Hannisdal E. The prognostic value of p53 and c-erbB-2 immunostaining is overrated for patients with lymph node negative breast carcinoma: a multivariate analysis of prognostic factors in 613 patients with a follow-up of 14-30 years [J]. Cancer, 2000, 15: 88(4): 804-813.
- [12] 田兴松,周文红. 乳腺癌细胞中 p16, p53, CDK4/cyclinD1 的表达和预后的关系[J]. 中国普通外科杂志, 2005, 14(4): 260-264.
- [13] Bevilacqua G, Sobel ME, Liotta LA, et al. Association of low nm23 RNA levels on human primary infiltrating ductal breast carcinoma with lymph node involvement and other histopathological indicators of high metastatic potential [J]. Cancer Res, 1989, 49(18): 5185-5190.