

文章编号:1005-6947(2006)04-0247-03

· 乳腺外科专题研究 ·

# 乳腺癌 p53, ki-67 和 bcl-2 的表达与新辅助化疗的关系

阮永威, 金星, 马宏岩

(山东大学山东省立医院 普通外科, 山东 济南 250021)

**摘要:**目的 研究乳腺癌 p53, ki-67 和 bcl-2 基因蛋白表达与新辅助化疗临床效果的关系, 以寻找指导治疗、判断预后的生物学指标。方法 采用免疫组化 SABC 法测定 118 例可手术的乳腺癌标本的 p53, ki-67 和 bcl-2 的蛋白表达, 并分析其与新辅助化疗疗效的关系。结果 术前辅助化疗有效率为 68.6%。p53 表达阳性, 化疗效果差 ( $P < 0.05$ ); 而 ki-67 阳性表达者有效率明显高于 ki-67 不表达者 ( $P < 0.05$ ); bcl-2 表达与疗效无明显关系。p53 蛋白阳性表达者 bcl-2 表达下降。p53 与 ki-67 蛋白表达有明显关系。结论 p53 和 ki-67 蛋白表达可作为指导新辅助化疗及预后判断的分子生物学指标。

**关键词:** 乳腺肿瘤/病理学; 基因表达; 癌基因蛋白 p53

**中图分类号:** R737.9; R730.231.3

**文献标识码:** A

## p53, ki-67 and bcl-2 expression in breast cancer and its relation to neoadjuvant chemotherapy

RUAN Yong-wei, JIN Xing, MA Hong-yan

(Department of General Surgery, Shandong Provincial Hospital, Shandong University, Jinan Shandong 250021, China)

**Abstract:** **Objective** To study the correlation of p53, ki-67 and bcl-2 expression in breast cancer with the clinical response to neoadjuvant chemotherapy, and search for biological markers to guide therapy and predict prognosis. **Methods** The expression of the p53, ki67 and bcl-2 was examined by immunohistochemical assay in samples of breast cancer tissue which taken from 118 cases of operable breast cancer patients. The relationship between p53, ki-67 and bcl-2 and the effect of neoadjuvant chemotherapy was analyzed by chi-square test. **Results** The overall response rate to neoadjuvant chemotherapy was 68.6%. Patients with expression of ki-67 were more likely to respond to treatment. The effect of neoadjuvant chemotherapy had a significantly negative correlation with p53 expression. There was no significant difference between the response to neoadjuvant chemotherapy and bcl-2 expression. Expression of p53 protein was correlated with low expression of bet-2. Expression of p53 and ki-67 protein was significantly related. **Conclusions** The results indicated that p53 and Ki-67 expressions are strong prognostic molecular markers that can be a guide for neoadjuvant chemotherapy and prediction of prognosis for patients with breast cancer.

**Key words:** Breast Neoplasms/pathol; Gene Expression; p53

**CLC number:** R737.9; R730.231.3

**Document code:** A

新辅助化疗是对非转移性肿瘤局部治疗之前

进行的全身性、系统性细胞毒性药物治疗。它能降低临床分期, 提供体内肿瘤对化疗敏感性的信息, 为术后选择辅助化疗提供依据<sup>[1]</sup>。肿瘤对药物的反应情况也是乳腺癌有效的预后指标。本研究通过监测反映肿瘤细胞凋亡的 p53, ki-67 和 bcl-2 蛋白的表达, 以探讨和寻找判断新辅助化疗效果和预

收稿日期:2006-01-20; 修订日期:2006-03-10。

作者简介:阮永威,男,山东威海人,山东省立医院副主任医师,主要从事乳腺肿瘤方面的研究。

通讯作者:阮永威 电话:0531-85186940; E-mail:ruan6306302003@sina.com。

后有效的分子生物学指标。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

收集我院 2002 年 1 月 ~ 2005 年 5 月收治的 118 例乳腺癌病理标本,患者均为女性,均在 B 超引导下穿刺活检证实为浸润性乳腺癌。年龄 28 ~ 65 (平均 47.8) 岁。

### 1.2 病例入选条件

(1) 组织学确诊为浸润性导管癌; (2) 年龄 28 ~ 65 岁,预期生存  $\geq 3$  个月; (3) 有可测量或可评价的肿瘤病灶,体检病变直径  $\geq 1.0$  cm, CT 或 B 超可测病变直径  $\geq 1.5$  cm; (4) 未接受任何相关治疗如化疗、内分泌、中药等; (5) 可行乳腺癌根治或改良根治术; (6) 术后有病理诊断。

### 1.3 化疗方案及疗效评估

化疗方案 CEF: 环磷酰胺 (CTX)  $600 \text{ mg/m}^2$ , 表阿霉素 (Epi)  $60 \text{ mg/m}^2$ , 5-氟尿嘧啶 (5-FU)  $500 \text{ mg/m}^2$ , 用药 4 个周期后进行疗效评估。依据世界卫生组织 (WHO) 实体肿瘤近期客观疗效评估标准分为: 完全消失 (CR)、部分消失 (PR)、没变化 (NC) 和病情发展 (PD)。有效率 (RR) = CR + PR。临床获益率 = CR + PR + NC。脱落病例按 PD 处理。

### 1.4 p53, ki-67 和 bcl-2 蛋白的表达

应用链霉菌抗生物素蛋白 - 过氧化酶联结法 (SABC) 进行测定。用三羟甲基氨基甲烷缓冲盐水 (TBS) 代替一抗作为阴性对照。p53 作为一抗时, 细胞核内出现棕黄色颗粒为阳性结果。ki-67 作为一抗时, 细胞浆内出现棕黄色颗粒为阳性结果。Bcl-2 作为一抗时, 细胞核内出现棕黄色颗粒为阳性结果。400 倍光镜下随机观察 10 个视野, 计算出每 1 000 个肿瘤细胞中阳性细胞所占百分比。p53 表达  $\leq 10\%$  为阴性,  $> 10\%$  为阳性; bcl-2 表达  $\leq 10\%$  为阴性,  $> 10\%$  为阳性; ki-67 表达  $\leq 20\%$  为阴性,  $> 20\%$  为阳性。

### 1.5 统计学处理

应用 SPSS 10.0 统计软件进行统计学处理。组间应用  $\chi^2$  检验, 分析 p53, ki-67 及 bcl-2 蛋白表达与化疗疗效的关系。线性相关分析分析 p53 与 Ki-67, bcl-2 之间的关系。

## 2 结果

### 2.1 疗效评估

有 4 病例脱落归属 PD。化疗效果: CR 15.3% (18/118), PR 53.4% (63/118), NC 25.4% (30/118), PD 5.9% (7/118)。RR 为 68.6%。临床获益率为 94.1%。

### 2.2 ki-67, p53 和 bcl-2 与化疗效果的关系

ki-67 阳性表达率为 58.47%, 阴性表达率为 41.53%, ki67 阳性表达化疗效果明显高于 ki-67 阴性表达; p53 阳性表达率为 42.37%, 阴性表达率为 57.63%, p53 阳性化疗效果较 p53 阴性者低; bcl-2 阳性率为 55.93%, 阴性率为 44.07%, bcl-2 与化疗效果无明显关系 (表 1)。

表 1 p53, ki67 和 bcl2 与化疗效果的关系

疗效	p53		ki-67		bcl-2	
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
有效(例)	17	45	63	28	50	41
无效(例)	33	23	6	21	16	11
$\chi^2$	11.7		18.9		0.157	
P	<0.005		<0.005		>0.05	

注:  $\chi^2$  和 P 值为阳性者有效与无效相比较

### 2.3 p53 与 ki-67, bcl-2 的关系

p53 表达与 bcl-2 表达呈负相关, p53 蛋白表达与 ki-67 呈正相关关系 ( $P < 0.001$ ) (表 2)。

表 2 p53 与 ki67, bcl-2 的关系

p53	ki67(+)	bcl-2(+)
(+)	35/50(70.0%)	13/50(26.0%)
(-)	30/68(44.1%)	44/68(64.7%)
r	0.93	-0.81
P	<0.001	<0.01

## 3 讨论

新辅助化疗的应用逐渐被认可。目前对新辅助化疗效果的评估方法很多, 如 B 超、钼靶 X 线片、CT 及磁共振显像 (MRI) 对肿瘤的测量, 但均存在一定的偏差。区域淋巴结的评估主要依靠临床体检, 偏差更大。因此, 人们的注意力转向肿瘤细胞分子生物学上, 试图寻找到敏感分子生物

学指标以指导手术后的进一步治疗。

笔者发现 ki67 阳性患者化疗效果明显高于 Ki67 阴性表达者。肿瘤细胞的增殖率与肿瘤细胞对化疗的反应和最终效果有关,但用以评价细胞增殖的标志物尚无统一意见。目前应用最多的是 ki-67,研究发现 ki67 在正常组织中几乎不表达,甲状腺滤泡状腺癌的 ki-67 表达最高,并随着恶性程度的增加而增高<sup>[1]</sup>。ki-67 阳性表达与肿瘤细胞增殖阳性明显相关<sup>[2]</sup>。ki-67 表达阳性,反映肿瘤细胞增殖活跃,而化疗药物对增殖活跃的肿瘤细胞杀伤力更强。因此,ki-67 阳性表达者化疗较好。

本文发现 p53 阳性表达者化疗效果较 p53 阴性表达者差 ( $P < 0.05$ ), bcl-2 表达与化疗效果无明显关系 ( $P > 0.05$ )。研究表明尽管基础 bcl-2 与疗效无关,但化疗后 bcl-2 可明显下降, p53 阳性表达增加<sup>[3-4]</sup>。

目前相当一部分化疗药物是以损伤肿瘤细胞 DNA 而发挥杀伤作用的。如果细胞能有效地修复损伤的 DNA,则细胞能继续进入细胞周期;反之细胞凋亡。研究证实野生型 p53 可诱导细胞凋亡,其抑制肿瘤的功能基于能诱导细胞 G<sub>1</sub> 期停滞和/或导致细胞凋亡<sup>[5]</sup>。笔者发现 p53 阳性表达而化疗效果差,这可能是因为野生型 p53 蛋白的半衰期短,仅 6 ~ 21 min,通常情况下并不能聚集到足够免疫组化法所能检测的量。相反,突变型 p53 蛋白较稳定,半衰期较长,约 2 ~ 12 h。当在细胞中检测到 p53 表达蛋白时,说明 p53 基因已发生突变。因此, p53 蛋白表达阳性者化疗效果差。研究发现乳腺癌患者有淋巴结转移的 p53 阳性率较无转移者高,且 5 年生存率较低<sup>[6]</sup>。同时发现突变型 p53 表达与腋淋巴结转移成正相关,并推测对乳腺癌预后的影响可能由于诱发耐药所致<sup>[7]</sup>。同时验证了突变型 p53 能延迟和/或阻止细胞凋亡<sup>[8]</sup>。

笔者同时发现 p53 蛋白表达增高者其 bcl-2 表达下降。提示突变型 p53 能下调 bcl-2 表达。野生型 p53 促进凋亡是激活后导致 PZ1<sup>WAF1/WZP1</sup> 和 GAAD45 的编码,导致细胞 G<sub>1</sub> 期的中断。此时细

胞将修复其受损的 DNA,成功后 mdm2 便抑制和降解 p53 蛋白。如果失败,则在包括 bcl-2 和 Bax 等多种因子的协同下细胞进入凋亡<sup>[9]</sup>。研究表明,突变型 p53 可下调 bcl-2 的表达,且取决于突变点的位置<sup>[10]</sup>。同时注意到 p53 表达与 ki-67 表达呈明显相关,这与文献报道一致<sup>[11]</sup>。

总之,笔者认为:测定 ki-67 和 p53 蛋白的表达可作为预测乳腺癌对新辅助化疗的反应以及选择化疗方案的重要分子生物学指标。当然,肿瘤的化疗敏感与耐受是一个受多种因素影响的复杂过程,结合其他基因表达进行多指标的多因素综合分析可能更有益于预测肿瘤的化疗效果。

#### 参考文献:

- [1] 郭贵龙,姚榛祥. p27 及 Ki67 对鉴别良、恶性甲状腺滤泡状肿瘤的价值[J]. 中国普通外科杂志,2002,11(5):289-292.
- [2] Vincent-Salomon A, Rousseau A, Jouve M, *et al.* Proliferation markers predictive of the pathological response and disease outcome of patients with breast carcinomas treated by anthracycline-based preoperative chemotherapy [J]. *Eur J Cancer*, 2004, 40(10):1502-1508.
- [3] Buchholz TH, Davis DW, Mc Conkey DJ, *et al.* Chemotherapy-induced apoptosis and Bcl-2 levels correlate with breast cancer response to chemotherapy [J]. *Cancer J*, 2003, 9(1):33-41.
- [4] Penant-Llorca F, Cayre A, Bonhet Mishellany F, *et al.* Lncclusion chemotherapy for breast carcinoma: predictive markers and relation with outcome [J]. *J Oncol*, 2003, 22(6):1319-1325.
- [5] Ryan JJ, Danish R, Gottlieb CA, *et al.* Cycle analysis of P53-induced cell death in murine erythroleukemia cells [J]. *Mol Cell Boil*, 1993, 13:711-714.
- [6] 毛杰,海健,舒海平,等. 乳腺癌组织中 survivin, p53 蛋白的表达与预后的关系 [J]. 中国普通外科杂志,2005, 14(4):265-268.
- [7] 黄宝俊,徐惠绵,李凯,等. 联合检测多基因在乳腺癌组织中的表达及其临床意义 [J]. 中国普通外科杂志,2005, 14(4):247-252.
- [8] Xia F, Wang X, Wang YH, *et al.* Altered p53 status correlates with differences in sensitivity to radiation-induced mutation and apoptosis in two closely related human lymphoblast lines [J]. *Cancer Res*, 1995, 55(1):12-15.
- [9] Yarnold J. Molecular aspects of cellular responses to radiotherapy [J]. *Radiother Oncol*, 1997, 44(1):1-7.
- [10] 范宇,傅西林,王颖,等. 细胞凋亡及其相关基因与乳腺癌预后关系的研究 [J]. 中国肿瘤临床,2000, 27(7):34-36.
- [11] Hiroko Y, Marko N, Tatsuya T, *et al.* Coexistence of HEK-2 over-expression and p53 protein accumulation is a strong prognostic accumulation is a strong prognostic molecular marker in breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2004, 6(1):R24-R30.