

文章编号:1005-6947(2006)04-0261-04

· 乳腺外科专题研究 ·

## p130Cas 和 paxillin 在乳腺癌中表达的研究

张彦武, 张玮, 张林, 吴亚群

(华中科技大学同济医学院附属同济医院 甲乳外科, 湖北 武汉 430030)

**摘要:**目的 研究 p130Cas 蛋白和 paxillin 蛋白在乳腺癌组织中的表达, 及其与乳腺癌临床特征、病理特征的关系, 以评价乳腺癌的预后。方法 采用免疫组化 SP 法检测 53 例原发性乳腺癌, 10 例乳腺纤维腺瘤, 10 例正常乳腺组织中 p130Cas 和 paxillin 蛋白的表达情况。结果 与正常乳腺组织和乳腺纤维腺瘤相比较, 乳腺癌组织中 p130Cas 表达显著增高 ( $P < 0.001$ ), 而 paxillin 表达显著减少 ( $P = 0.003$ )。p130Cas 的表达与患者的年龄、绝经状况、肿瘤细胞的 ER 和 PR 表达及组织学分级相关, 而与肿瘤大小、淋巴结转移状况及病理学分期无关。paxillin 的表达与患者的年龄、绝经状况、肿瘤细胞的 ER 和 PR 表达及肿瘤大小无关, 而与病理学分期、组织学分级和淋巴结转移有关。结论 p130Cas 和 paxillin 与乳腺癌细胞的恶性转化和侵袭转移有关; 检测上述两种蛋白表达有助于评价乳腺癌患者的预后。

**关键词:** 乳腺肿瘤/病理学; p130Cas 蛋白; paxillin 蛋白; 预后

**中图分类号:** R737.9

**文献标识码:** A

## Expression of p130Cas and paxillin in human breast carcinoma

ZHANG Yan-wu, ZHANG Wei, ZHANG Lin, WU Ya-qun

(Department of thyroid and mammary surgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, HuaZhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

**Abstract: Objective** To explore the expression of p130Cas and paxillin in human breast carcinoma and to investigate the relationships of p130Cas and paxillin levels with clinical and pathological characteristics.

**Methods** SP immunohistochemistry staining was applied to detect the expression of p130Cas and paxillin in tumor tissues from 53 cases of primary breast carcinoma, 10 cases of breast fibroadenoma and in 10 cases of normal breast tissues.

**Results** Breast carcinoma tissues showed higher levels of p130Cas ( $P < 0.001$ ) and lower levels of paxillin ( $P = 0.003$ ) than normal and fibroadenoma tissues. The expression of p130Cas was related with age, menopausal status, ER, PR status and histological grades, but not related with tumor size, lymph node status and pathological stages. The expression of paxillin was related with pathological stages, histological grades and lymph node status, but not related with age, menopausal status, ER, PR status and tumor size. **Conclusions** p130Cas and paxillin have relations with the malignant transformation, invasion and metastasis of breast carcinoma. They can be used as useful factors in predicting the prognosis of breast carcinoma.

**Key words:** Breast Neoplasms/pathol; p130Cas; paxillin; Prognosis

**CLC number:** R737.9

**Document code:** A

乳腺癌是严重危害妇女健康的恶性肿瘤之一。近年来, 与整合素介导的细胞黏附和信号传导相关

的一些蛋白分子, 如 p130Cas 和 paxillin 被证明与细胞的黏附、迁移、增殖、细胞骨架的重组以及细胞的恶性转化有关<sup>[1-2]</sup>, 提示它们作为乳腺癌预后因子的可能性。对于 p130Cas 和 paxillin 在乳腺癌中的表达情况目前国内尚未见报道。本研究采用免疫组织化学方法, 检测乳腺癌, 纤维腺瘤, 正常乳腺组织中 p130Cas 和 paxillin 蛋白的表达, 试图寻找它们

收稿日期:2006-02-14; 修订日期:2006-03-14。

**作者简介:**张彦武,男,河南开封人,华中科技大学同济医学院附属同济医院硕士研究生,主要从事乳腺肿瘤方面的研究。

**通讯作者:**吴亚群 电话:027-62172525; 027-83663819。

与某些已知预后因素的关系。

## 1 材料与方 法

### 1.1 标本及其一般资料

随机抽取同济医院 2003 年 6 月—2005 年 8 月经病理证实的存档石蜡标本,包括乳腺癌 53 例及乳腺纤维腺瘤 10 例。另取距癌灶边缘 5 cm 以上病理检查正常的乳腺组织切片 10 例。乳腺癌患者均为女性,年龄 31~75(平均 49.60)岁。病理类型:浸润性特殊癌 4 例,浸润性非特殊癌 49 例(包括浸润性导管癌 43 例,硬癌 3 例,髓样癌 1 例,浸润性小叶癌 1 例,腺癌 1 例)。乳腺癌分期按 AJCC 第 6 版乳腺癌 pTNM 分期标准进行。对浸润性导管癌按 Nottingham 乳腺癌分级法进行组织学分级。

### 1.2 方 法

采用免疫组化 SP 染色法。p130Cas 和 paxillin 鼠抗人单克隆抗体购自 Neomarker 公司;SP 试剂盒购自北京中山生物技术公司。一抗工作浓度为 1:100,操作步骤严格按试剂说明进行。阴性对照片用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗。阳性对照采用已知的乳腺癌 p130Cas 阳性片和结肠癌 paxillin 阳性片。

### 1.3 免疫组化结果判定

p130Cas 的表达定位于细胞浆,paxillin 的表达定位于细胞浆和/或细胞膜;以相应部位出现棕黄

色颗粒为阳性表达。具体判定采用半定量积分法:每片选取 5 个高倍视野( $\times 400$ ),各计数 100 个细胞。按照细胞染色强度分为阴性(0 分),弱阳性(1 分),较强阳性(2 分),强阳性(3 分);按照阳性细胞百分比分为  $< 10\%$  (0 分), $10\% \sim 30\%$  (1 分), $30\% \sim 70\%$  (2 分), $> 70\%$  (3 分)。以两项计分的乘积作为判定标准。

### 1.4 统计学处理

采用非参数检验。视统计学分析性质不同分别采用 Mann-whitney U 检验,Kruskal-Wallis 检验和 Spearman 等级相关分析。使用 SPSS11.5 软件包进行辅助分析。

## 2 结 果

### 2.1 乳腺组织中 p130Cas 的表达

p130Cas 主要定位于癌细胞胞浆。正常乳腺组织与乳腺纤维腺瘤中表达差异无显著性( $P = 0.149$ )。与前两者相比,乳腺癌组织中表达增高( $P$  均  $< 0.001$ ) (表 1,图 1)。

### 2.2 乳腺组织中 paxillin 的表达

paxillin 主要定位于上皮细胞膜和细胞浆,在间质细胞中也有少量表达。正常乳腺组织与乳腺纤维腺瘤中表达差异无显著性( $P = 0.873$ ),与前两者相比,乳腺癌组织中表达降低( $P$  分别为 0.008,0.012) (表 1,图 2)。

表 1 乳腺癌组织和对照乳腺组织中 p130Cas 和 paxillin 的表达情况

标本类型	例数	p130Cas			paxillin		
		中位数(四分位间距)	$\chi^2$	$P$	中位数(四分位间距)	$\chi^2$	$P$
正常乳腺组织	10	1.50(1.25)			6.00(2.75)		
乳腺纤维腺瘤	10	2.00(2.00)	38.41	$< 0.001^\dagger$	6.00(5.25)	11.56	0.003 <sup>†</sup>
乳腺癌	53	6.00(2.00)			4.00(3.00)		

注:  $^\dagger$  采用 Kruskal-Wallis 检验( $\alpha = 0.05$ )。不同类型标本间两两比较采用 Mann-whitney U 检验(经修正的  $\alpha = 0.017$ )

### 2.3 p130Cas 表达与乳腺癌患者临床病理因素的关系

p130Cas 的表达与患者年龄呈正相关 ( $r_s = 0.497, P < 0.001$ )。绝经后较绝经前患者的表达增高 ( $P = 0.007$ )；ER, PR 阳性乳腺癌较阴性者表达增高 ( $P$  分别为 0.001 和 0.018)。p130Cas 的表达与肿瘤大小, 淋巴结转移状况和病理学分期无关。在 43 例浸润性导管癌组织中 p130Cas 表达与肿瘤的组织学分级呈负相关 ( $r_s = -0.351, P =$

$0.021$ ) (表 2)。

### 2.4 paxillin 表达与乳腺癌患者临床病理因素的关系

paxillin 的表达与患者的年龄、绝经状况、ER 和 PR 状态、肿瘤大小无关, 而与肿瘤的病理学分期呈负相关 ( $r_s = -0.387, P = 0.004$ )；在 43 例浸润性导管癌组织中与组织学分级呈负相关 ( $r_s = -0.364, P = 0.017$ )。淋巴结转移多的肿瘤 paxillin 表达较低 ( $P = 0.040$ ) (表 2)。

表 2 乳腺癌组织中 p130Cas 和 paxillin 的表达与临床病理因素的关系

临床病理因素	例数	p130Cas		统计量	P	paxillin		统计量	P
		中位数(四分位间距)				中位数(四分位间距)			
年龄(岁)									
<40	6	3.00(1.50)		$r_s = 0.497$	<0.001 <sup>1)</sup>	3.50(3.00)	$r_s = 0.210$	0.131 <sup>1)</sup>	
40~49	27	4.00(2.00)	4.00(3.00)						
50~59	9	6.00(3.50)	3.00(2.00)						
≥60	11	6.00(3.00)	4.00(3.00)						
绝经状况									
未绝经	31	4.00(3.00)	$U = 198.50$	0.007 <sup>2)</sup>	4.00(3.00)	$U = 317.50$	0.659 <sup>2)</sup>		
已绝经	22	6.00(5.00)			4.00(3.00)				
肿瘤大小									
T <sub>1</sub>	17	6.00(2.00)	$\chi^2 = 0.257$	0.879 <sup>3)</sup>	6.00(3.00)	$\chi^2 = 2.154$	0.341 <sup>3)</sup>		
T <sub>2</sub>	28	4.00(2.75)			3.50(2.50)				
T <sub>&gt;2</sub>	8	6.00(2.75)			3.50(1.00)				
淋巴结转移									
N <sub>0</sub>	22	5.00(2.00)	$\chi^2 = 0.292$	0.864 <sup>3)</sup>	6.00(3.00)	$\chi^2 = 6.447$	0.040 <sup>3)</sup>		
N <sub>1</sub>	17	6.00(2.00)			4.00(1.00)				
N <sub>&gt;1</sub>	14	5.00(3.00)			3.00(1.25)				
ER									
阴性	28	4.00(3.00)	$U = 178.00$	0.001 <sup>2)</sup>	4.00(3.00)	$U = 311.50$	0.476 <sup>2)</sup>		
阳性	25	6.00(5.00)			3.00(3.00)				
PR									
阴性	34	4.00(3.00)	$U = 201.00$	0.018 <sup>2)</sup>	4.00(3.00)	$U = 298.50$	0.637 <sup>2)</sup>		
阳性	19	6.00(5.00)			3.00(3.00)				
病理学分期									
I	13	6.00(2.50)	$r_s = -0.017$	0.901 <sup>1)</sup>	6.00(2.50)	$r_s = -0.387$	0.004 <sup>1)</sup>		
II	22	4.00(2.00)			4.00(3.00)				
III	18	6.00(3.00)			3.00(1.00)				
组织学分级									
I	9	6.00(5.00)	$r_s = -0.351$	0.021 <sup>1)</sup>	6.00(1.50)	$r_s = -0.364$	0.017 <sup>1)</sup>		
II	17	6.00(2.00)			4.00(1.50)				
III	17	4.00(3.00)			3.00(1.00)				

注: 1) Spearman 等级相关 ( $\alpha = 0.05$ ); 2) Mann-whitney U 检验 ( $\alpha = 0.05$ ); 3) Kruskal-Wallis 检验 ( $\alpha = 0.05$ )

### 3 讨论

p130Cas 和 paxillin 是位于细胞黏着斑部位的两个接头蛋白。p130Cas 的相对分子质量为 130kD, 其氨基端的 SH3 结构域可与黏着斑激酶 (FAK) 的脯氨酸富集区结合, p130Cas 羧基端的脯氨酸富集区可与 Src 的 SH3 结合, 同时其底物域能与 Crk 的

SH2 结合。paxillin 的相对分子质量为 68kD, 在黏着斑中处于中心性地位, 构成肌动蛋白与细胞外基质 (ECM) 的连接, 同时它能与纽蛋白、踝蛋白、张力蛋白、FAK 以及癌基因蛋白如 BCR/ABL, Src, Crk 等相互作用。

p130Cas 和 paxillin 是整合素介导的细胞黏附和信号传导过程中的两个关键分子, 整合素与其配体

(主要为细胞外基质)结合后,通过 FAK-Src 途径导致 p130Cas 和 paxillin 的酪氨酸磷酸化,除可参与细胞骨架的调节外,还可与 Crk 的 SH2 结构域结合,从而进一步通过 C3G-Ras-Raf-MEK-ERK 途径最终激活 ERK。后者转位至细胞核内,通过磷酸化激活某些转录因子,改变某些基因的表达水平,从而促进细胞的恶性转化<sup>[3-4]</sup>。本研究发现乳腺癌组织中的 p130Cas 表达较对照组增高,而 paxillin 的表达减少,说明 p130Cas 和 paxillin 均与细胞的恶性转化有关。

单变量和多变量研究均显示,p130Cas 的表达水平与乳腺癌患者的无病生存率和总生存率呈负相关,是独立于其他经典预后因素的因子<sup>[5-6]</sup>。本研究因缺乏有效的随访资料,而未做此探讨。本资料发现 p130Cas 的表达水平与年龄,ER 和 PR 表达及绝经状态呈正相关,与乳腺癌的组织学分级呈负相关。一般认为高龄、ER 和 PR 阳性、绝经后、组织学分级低的肿瘤预后较好。据此,说明 p130Cas 的预测作用与这些因素无关。

内分泌治疗是乳腺癌综合治疗的重要手段之一。在 ER 阳性的乳腺癌患者中<sup>[5,7,8]</sup>,约有一半因对该治疗不敏感而预后较差。多项研究显示,ER 阳性乳腺癌对内分泌治疗的抵抗与 p130Cas 高表达有关。通过将 p130Cas 基因转染到 ZR-75-1 细胞株,可使其对三苯氧胺失去敏感。这可能是 p130Cas 高表达乳腺癌预后较差的原因之一。本实验证实 p130Cas 和 ER 存在共表达。提示可对 ER 阳性病例进行 p130Cas 的测定以预测其对内分泌治疗的敏感性。

有研究表明,paxillin 在乳腺癌、肺癌和某些肝转移瘤中表达降低<sup>[9-12]</sup>。本研究显示在人类乳腺癌中 paxillin 表达减少,且其表达水平与肿瘤的组织学分级、病理学分期、淋巴结转移程度呈负相关。提示 paxillin 的表达减少是促进乳腺癌增殖和转移的因素之一。其可能的机制是:(1)研究发现在细胞的有丝分裂期,paxillin 水平降低<sup>[13]</sup>,而恶性程度高的肿瘤有丝分裂旺盛,故其 paxillin 表达减少;(2) paxillin 低表达使癌细胞与细胞外基质(ECM)的黏附能力下降,从而使癌细胞易于从瘤巢脱落,发生转移;(3)多项研究显示 paxillin 可控制细胞的扩展和运动能力<sup>[14]</sup>,paxillin 的低表达可能使癌细胞的迁移失去控制;(4) paxillin 的正常表达是细胞的正常增殖、分化、黏附、运动和细胞内信号传导所必需的<sup>[15]</sup>,paxillin 的表达下降干扰或阻碍了这些过程。

其确切机制有待进一步研究。

本研究显示,p130Cas 和 paxillin 与乳腺癌细胞的恶性转化及侵袭转移有关。检测乳腺癌组织中 p130Cas 和 paxillin 的表达有助于对预后的评价,并可能成为肿瘤生物治疗的新靶点,而对前者的检测有望用于指导内分泌治疗。

#### 参考文献:

- [1] Bouton AH, Riggins RB, Bruce-Staskal PJ. Functions of the adaptor protein Cas: signal convergence and the determination of cellular responses [J]. *Oncogene*, 2001, 20 (44): 6448 - 6458.
- [2] Sattler M, Pisick E, Morrison PT, *et al.* Role of the cytoskeletal protein paxillin in oncogenesis [J]. *Crit Rev Oncog*, 2000, 11 (1): 63 - 76.
- [3] Cary LA, Han DC, Polte TR, *et al.* Identification of p130Cas as a mediator of focal adhesion kinase-promoted cell migration [J]. *J Cell Biol*, 1998, 140 (1): 211 - 221.
- [1] 张辉,张有成,王杉,等. 结直肠癌中 MEK2/ERK 信号传导通路的研究 [J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13 (4): 257 - 260.
- [5] Van der Flier S, Brinkman A, Look MP, *et al.* Bcar1/p130Cas protein and primary breast cancer: prognosis and response to tamoxifen treatment [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92 (2): 120 - 127.
- [6] Dorssers LC, Grebenchtchikov N, Brinkman A, *et al.* The prognostic value of BCAR1 in patients with primary breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10 (18): 6194 - 6202.
- [7] Brinkman A., Van der Flier S, Kok EM, *et al.* BCAR1, a human homologue of the adapter protein p130Cas and antioestrogen resistance in breast cancer cells [J]. *J nat Cancer Inst*, 2000, 92 (2): 112 - 120.
- [8] Van der Flier S, Chan CMW, Brinkman A, *et al.* Bcar1/p130Cas expression in untreated and acquired tamoxifen-resistant human breast carcinomas [J]. *Int J Cancer*, 2000, 89 (5): 465 - 468.
- [9] Scibelli A, d'Angelo D, Pelagalli A, *et al.* Expression levels of the focal adhesion-associated proteins paxillin and p130Cas in canine and feline mammary tumors [J]. *Vet Res*, 2003, 34 (2): 193 - 202.
- [10] Pelagalli A, Scibelli A, Lombardi P, *et al.* Expression of the focal adhesion protein paxillin in normal and breast cancer tissues [J]. *Vet Res Commun*, 2003, 27 (Suppl 1): 343 - 346.
- [11] 张鑫,彭品贤,吕嘉春,等. Paxillin 基因在肺癌组织中的表达研究 [J]. *广州医学院院报*, 2004, 32 (2): 4 - 7.
- [12] Ayaki M, Komatsu K, Mukai M, *et al.* Reduced expression of focal adhesion kinase in liver metastases compared with matched primary human colorectal adenocarcinomas [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7 (10): 3106 - 3112.
- [13] Yamaguchi R, Mazaki Y, Hirota K, *et al.* Mitosis specific serine phosphorylation and down-regulation of one of the focal adhesion proteins, paxillin [J]. *Oncogene*, 1997, 15 (15): 1753 - 1761.
- [14] Schaller MD. Paxillin: a focal adhesion-associated adaptor protein [J]. *Oncogene*, 2001, 20 (44): 6459 - 6472.
- [15] Hagel M, George EL, Kim A, *et al.* The adaptor protein paxillin is essential for normal development in the mouse and is a critical transducer of fibronectin signaling [J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22 (3): 901 - 915.