

# 乳腺癌组织中核转录因子 NF- B 和抑癌基因 p53 的表达及其意义

邓 元, 张学斌, 王鸿雁, 张冠军, 张群岭, 王 敏

The Expression and Significance of Nuclear Transcription factor- B and p53 Protein in Breast Cancer

DENG Yuan, ZHANG Xue-bing, WANG Hong-yan, ZHANG Guan-jun, ZHANG Qun-ling, WANG Min

Department of Pathology, The First Affiliated Hospital of Medical College, Xian Jiaotong University, Xian 710061, China

**Abstract** Objective To study the expression and significance of nuclear transcription factor B (NF- B) and tumor suppressor gene p53 protein in breast cancer. Methods Immunohistochemical staining was used to detect the expression of NF- B p65 and p53 protein in 58 cases of breast cancer and 20 cases of proliferative breast disease. Results The expressive degree of NF- B in breast cancer was significantly higher than in proliferative breast disease. The positive intensities of NF- B was associated with histologic grading and axillary lymph node metastasis, but was not associated with age, tumor size, and histological type. The expressive degree of p53 is significantly higher than in proliferative breast disease. The positive intensities of p53 were associated with histologic grading, but were not associated with age, tumor size, histological type and axillary lymph node metastasis. The expression of NF- B and p53 protein were significantly positive correlated in breast carcinoma ( $r = 0.302$ ,  $P < 0.05$ ). Conclusion It is suggested that the abnormal expression of NF- B and p53 are associated with the pathogenesis and development of breast cancer.

**Key words** Breast carcinoma; NF- B; Tumor suppressor gene p53; Immunohistochemistry

**摘要** 目的 探讨乳腺癌组织中核转录因子 NF- B 和抑癌基因 p53 的表达及意义。方法 用免疫组织化学方法检测 NF- B p65 和 p53 蛋白在 58 例乳腺癌和 20 例乳腺增生症组织中的表达。结果 乳腺癌中 NF- B 表达明显高于乳腺增生症组织, NF- B 表达强度与组织学分级和腋窝淋巴结转移有关, 与患者年龄、肿瘤大小、组织学分型无关。乳腺癌中 p53 蛋白表达明显高于乳腺增生症, p53 蛋白的表达与乳腺癌组织学分级有关, 与患者年龄、肿瘤大小、组织学分型、淋巴结转移无关。NF- B p65 与 p53 蛋白在乳腺癌组织中表达呈正相关 ( $r = 0.302$ ,  $P < 0.05$ )。结论 提示乳腺癌中 NF- B 和 p53 蛋白的表达与乳腺癌的发生发展有关。

**关键词** 乳腺癌; NF- B; p53 蛋白; 免疫组织化学

中图分类号: R737.9 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2007)05-0342-03

## 0 引言

核转录因子 NF- B 是一种具有多向调节功能的转录因子, 可调控细胞增殖、分化、凋亡及恶性转化<sup>[1,2]</sup>, NF- B p65 是 NF- B 的活化成分, 在肿瘤的发生、发展中起重要作用。p53 基因是一种重要的抑癌基因, 它的突变、缺失或失活可导致肿瘤的发生。我们采用免疫组化法检测乳腺癌组织中 NF- B 和 p53 蛋白的表达, 探讨二者间的相互关系及预后意义。

收稿日期: 2006-04-17; 修回日期: 2006-06-01

作者单位: 710061 西安交通大学医学院第一医院病理科

作者简介: 邓元(1970-), 女, 在读硕士, 主治医师, 主要从事肿瘤病理研究

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

选取本院 1994~1999 年间 58 例乳腺癌切除标本存档蜡块, 患者均为女性, 年龄 30~86 岁, 平均 51.8 岁。肿瘤直径 1~10cm; 腋窝淋巴结转移阳性 38 例, 阴性 20 例。术前均未做过治疗。按 WHO 标准对各病例进行分型和分级, 其中浸润型导管癌 47 例, 浸润型小叶癌 5 例, 髓样癌 4 例, 粘液腺癌 2 例。组织学Ⅰ级 6 例, Ⅱ级 40 例, Ⅲ级 12 例。TNM 分期: 期Ⅰ 7 例, 期Ⅱ 38 例, 期Ⅲ 13 例。另选取同期 20 例乳腺增生症患者的标本存档蜡块, 患者年龄 32~47 岁, 平均 33.8 岁。标本经 10% 中性甲醛固定, 4μm 厚切片, 进行 HE 染色及免疫组化染

色。

### 1.2 试剂和方法

鼠抗人 NF- B p65 单克隆抗体为美国 santa cruz 公司产品,抗体稀释浓度为 1:50;鼠抗人 p53 单克隆抗体为工作液。一抗及免疫组化试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术公司。采用柠檬酸钠缓冲液热抗原修复,SP 法免疫组织化学,以已知阳性片作阳性对照,以 PBS 代替一抗作阴性对照。

### 1.3 结果判断

NF- B 阳性染色定位于细胞质中,p53 阳性染色定位于细胞核。染色为黄色或棕褐色颗粒。每例均随机观察 5 个高倍视野( $\times 400$ ),对每例切片,半定量积分法判断结果。阳性细胞 <5% 为 0 分。6% ~ 25% 为 1 分,26% ~ 50% 为 2 分,51% ~ 75% 为 3 分,>75% 为 4 分;阳性强度黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。两者积分相乘,0 分为阴性(-),1~4 分为弱阳性(+),5~8 分为中度阳性(++),9~12 分为强阳性(++)。

### 1.4 统计学方法

运用 SPSS 10.0 软件进行统计学处理。采用<sup>2</sup>检验及 Spearman 相关分析,以  $P < 0.05$  判为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 乳腺癌及乳腺增生症中 NF- B p65 和 p53 的表达

58 例乳腺癌中 NF- B p65 阳性 36 例,见图 1,阳性率为 62.1%,20 例乳腺增生症中 NF- B p65 阳性 3 例,阳性率为 15%。两者之间差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。58 例乳腺癌中 p53 蛋白阳性 27 例(见图 2),阳性率为 46.6%,20 例乳腺增生症中 p53 蛋白均为阴性。两者之间差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 2.2 NF- B p65 和 p53 表达与乳腺癌临床病理特征的关系

NF- B p65 的表达与组织学分级有关,分级分化组 NF- B p65 表达阳性率高于 ~ 级分化组,组织学分级越高,NF- B p65 阳性表达率越高,之间有统计学意义( $P < 0.05$ );NF- B p65 的表达也与淋巴结转移有关,有淋巴结转移组 NF- B p65 表达阳性率高于无淋巴结转移组,二者之间差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。随着临床分期的增高,NF- B p65 表达阳性率有增高趋势,但各期之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。NF- B p65 表达与患者年龄、肿瘤大小、组织学分型之间无明显相关性( $P > 0.05$ )。p53 蛋白的表达与乳腺癌组织学分级有关,

分级分化组 p53 蛋白表达阳性率高于 ~ 级分化组( $P < 0.05$ );随着临床分期的升高,p53 蛋白表达阳性率逐渐增高,但各期之间无统计学差异( $P > 0.05$ );有淋巴结转移组的 p53 蛋白表达高于无淋巴结转移组,但之间无统计学差异( $P > 0.05$ );p53 蛋白表达与患者年龄、肿瘤大小、组织学分型之间无相关性( $P > 0.05$ ),见表 1。

表 1 乳腺癌组织中 NF- B 和抑癌基因 p53 的表达

| 临床病理特征 | 例数 | NF- B p65 阳性表达率(%) | P      | p53 蛋白阳性率(%) | P      |
|--------|----|--------------------|--------|--------------|--------|
| 年龄(岁)  |    |                    |        |              |        |
| 45     | 23 | 13 ( 56.5 )        | > 0.05 | 12 ( 52.2 )  | > 0.05 |
| > 45   | 35 | 23 ( 65.7 )        |        | 15 ( 42.9 )  |        |
| 肿瘤大小   |    |                    |        |              |        |
| 3cm    | 18 | 10 ( 55.6 )        | > 0.05 | 8 ( 44.4 )   | > 0.05 |
| > 3cm  | 40 | 26 ( 65 )          |        | 19 ( 47.5 )  |        |
| 组织学分型  |    |                    |        |              |        |
| 浸润型导管癌 | 47 | 28 ( 59.6 )        |        | 20 ( 42.5 )  |        |
| 浸润型小叶癌 | 5  | 3 ( 60 )           | > 0.05 | 3 ( 60 )     | > 0.05 |
| 髓样癌    | 4  | 4 ( 100 )          |        | 3 ( 75 )     |        |
| 粘液腺癌   | 2  | 1 ( 50 )           |        | 1 ( 50 )     |        |
| 组织学分级  |    |                    |        |              |        |
| ~ 级    | 39 | 20 ( 51.3 )        | < 0.05 | 14 ( 35.9 )  | < 0.05 |
| 级      | 19 | 16 ( 84.2 )        |        | 13 ( 68.4 )  |        |
| 临床分期   |    |                    |        |              |        |
| 期      | 7  | 3 ( 42.9 )         |        | 2 ( 28.6 )   |        |
| 期      | 38 | 22 ( 57.9 )        | > 0.05 | 17 ( 44.7 )  | > 0.05 |
| 期      | 13 | 11 ( 84.6 )        |        | 8 ( 66.7 )   |        |
| 淋巴结转移  |    |                    |        |              |        |
| -      | 20 | 8 ( 40 )           | < 0.05 | 8 ( 40 )     | > 0.05 |
| +      | 38 | 28 ( 73.7 )        |        | 19 ( 50 )    |        |
| 受体状态   |    |                    |        |              |        |
| ER 阳性  | 17 | 9 ( 52.9 )         | > 0.05 | 7 ( 41.2 )   | > 0.05 |
| ER 阴性  | 11 | 7 ( 63.6 )         |        | 6 ( 54.5 )   |        |

### 2.3 乳腺癌中 NF- B p65 和 p53 蛋白的表达与雌激素受体(ER)状态的关系

本组有 28 例患者进行了 ER 检测,其中 ER 阳性患者组 NF- B p65 表达阳性率为 52.9%,ER 阴性患者组 NF- B p65 表达阳性率为 63.6%,两者间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),表明 NF- B p65 表达与 ER 状态无关。ER 阳性患者组 p53 蛋白表达阳性率低,ER 阴性患者组 p53 蛋白表达阳性率高,但之间无统计学差异( $P > 0.05$ ),显示 ER 与 p53 蛋白表达之间无相关性。

### 2.4 乳腺癌中 NF- B p65 和 p53 的表达的关系

36 例 NF- B p65 阳性表达的乳腺癌组织中,有 21 例 p53 蛋白表达为阳性,二者呈正相关( $r = 0.302, P < 0.05$ )。

### 3 讨论

核转录因子 NF- B 是一类重要的转录因子,由 p50 和 p65 两个亚基组成,通常以同源或异源二聚体的非活性形式存在于几乎所有细胞的胞质中,只有被激活后,才从细胞质转位于细胞核发挥重要的作用。多种因素可激活 NF- B,如肿瘤坏死因子、白介素、生长因子、病毒或细菌及其产物等。活化的 NF- B 在肿瘤发生发展中的作用机制与它抗凋亡及促进细胞生长等有关<sup>[3]</sup>。在一些肿瘤如乳腺癌、胰腺癌、霍奇金淋巴瘤等发现 NF- B 的活化<sup>[2,4]</sup>。NF- B 在乳腺癌中的表达及预后意义,目前国内只有少数文献报道。

本研究表明,NF- B p65 的表达水平在乳腺癌中明显高于乳腺增生症。表明 NF- B p65 异常表达与乳腺癌的发生发展过程有关。NF- B p65 通过提高促进细胞增殖和抑制凋亡基因的表达,引起细胞恶性转化。我们的研究还发现,NF- B p65 的表达水平与乳腺癌的组织学分级及淋巴结转移紧密相关,组织学分级越高,NF- B p65 表达阳性率越高。王宏等<sup>[5]</sup>研究发现 NF- B 可激活乳腺癌 MMP-9 基因的表达,而 MMP-9 在肿瘤的生长、侵袭转移过程中起重要作用。本研究表明乳腺癌中有淋巴结转移者,NF- B p65 表达阳性率较高,说明 NF- B 可通过提高 MMP-9 的表达促进肿瘤转移。因此,NF- B p65 高表达患者预后不良,可作为评判乳腺癌预后的指标。随临床分级的增高,NF- B p65 表达率有增高趋势。本研究亦表明乳腺癌中 NF- B p65 的表达水平与患者年龄、肿瘤大小及雌激素受体状态无明显相关性。

p53 基因是人类肿瘤中突变率最高的抑癌基因,p53 基因分为野生型和突变型。突变型 p53 基因是促癌基因,它能和野生型亚单位形成寡聚复合物而阻止野生型 p53 基因抑制肿瘤形成的功能,引起细胞转化、癌变<sup>[6]</sup>。野生型 p53 基因半衰期短,突变型 p53 半衰期长,用免疫组化法检测到的是突变型 p53<sup>[7]</sup>。本研究结果显示,乳腺增生症中 p53 蛋白均为阴性,而乳腺癌中突变型 p53 蛋白的表达率为 46.6%,二者之间差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

提示 p53 的过度表达与乳腺癌的发生有关。p53 蛋白的表达与乳腺癌组织学分级有关,Ⅲ 级分化组 p53 表达阳性率高于Ⅰ~Ⅱ 级分化组( $P < 0.05$ )。p53 蛋白的表达与临床分期、淋巴结转移、雌激素受体无明显相关性( $P > 0.05$ ),p53 表达率随临床分期的增高、有淋巴结转移而增高,与文献报道结果一致<sup>[8]</sup>。

本组研究亦表明,NF- B p65 与抑癌基因 p53 在乳腺癌中的表达呈正相关,p53 提示 NF- B p65 的异常表达与 p53 基因突变均参与了乳腺癌的发生发展。关于 NF- B p65 在乳腺癌组织中与抑癌基因 p53 调节失控的相关性机制,目前尚不清楚,可能是由于 NF- B 的异常激活导致 p53 基因调节失控,也可能是由于 p53 基因突变通过激活 NF- B 信号传导通路,使其转录活性增强而引起异常表达,尚需进一步研究。

(本文图见封 3)

#### 参考文献:

- [1] Baeuerle PA, Baltimore D. NF- B: ten years later [J]. Cell, 1996, 87(1): 13~20.
- [2] Mayo MW, Baldwin AS. The transcription factor NF- kappa B: control of oncogenesis and cancer therapy resistance [J]. Biochem Biophysics Acta, 2000, 1470(2): M55~62.
- [3] Chen F, Castranova V, Shi X. new insights into the role of nuclear factor rd3 in Cell Growth Regulation [J]. Am J Pathol, 2001, 159(2): 387~397.
- [4] Wang W, Abbruzzese JL, Evans DB, et al. The nuclear factor- kappa B RelA transcription factor is constitutively activated in human pancreatic adenocarcinoma cel [J]. Clin Cancer Res, 1999, 5(1): 119~127.
- [5] 王宏, 吴金民, 方勇, 等. MMP-9 与 NF- B p65 在乳腺癌组织中表达的相关性及临床意义 [J]. 实用肿瘤杂志, 2005, 20(6): 525~528.
- [6] Norberg T, Klaar S, karf G, et al. Increased p53 mutation frequency during tumor progression--results from a breast cancer cohort [J]. Cancer Res, 2001, 61(22): 8317~8321.
- [7] Bartek J, Iggo R, Gannon J, et al. Genetic and immunochemical analysis of mutant p53 in human breast cancer cell lines [J]. Oncogene, 1990, 5(6): 893~899.
- [8] 刘静贤, 高琨, 刘毅强, 等. 乳腺癌 cerbB2、p53、ER 和 PR 表达及意义 [J]. 中国肿瘤临床与康复, 2003, 10(1): 15~16.

[编辑:刘红武]

## 乳腺癌组织中核转录因 NF-κB 和抑癌基因 p53 的表达及其意义

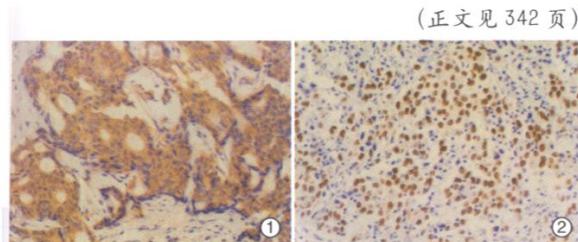


图1 乳腺癌细胞质中 NF-κB65 呈阳性表达 (SP  $\times$  200)

图2 乳腺癌细胞核中 p53 呈阳性表达 (SP  $\times$  200)

## 大肠癌组织中 HSP70 和 p53 蛋白的表达及其意义

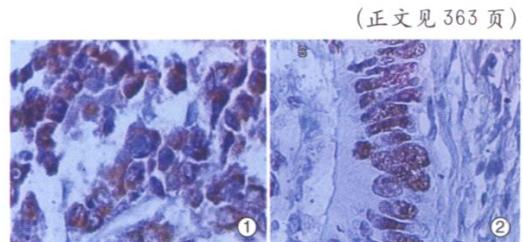


图1 HSP70 在大肠癌组织中的表达 ( $\times$  400)

图2 p53 蛋白在大肠癌组织中的表达 ( $\times$  400)

## 肿瘤相关抗原在人大肠癌中的表达

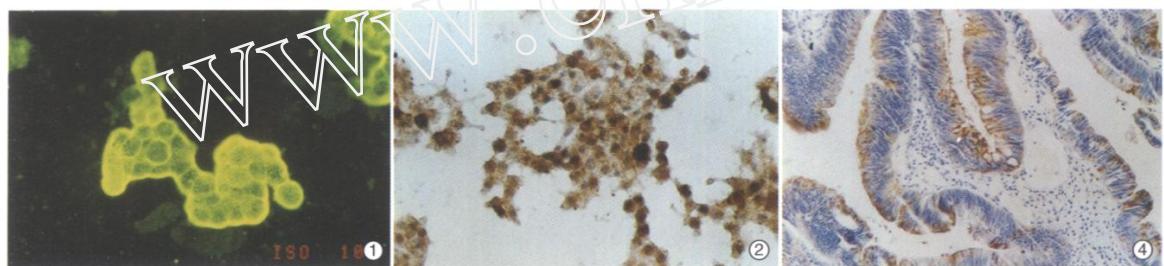


图1 ND-1 对 CCL-87 细胞间接免疫荧光照片 ( $\times$  400);

图2 LEA 对 CCL-187 细胞的免疫细胞化学染色 (SP  $\times$  400);

图4 LEA 在大肠癌组织中的免疫组化检测 (SP  $\times$  400)

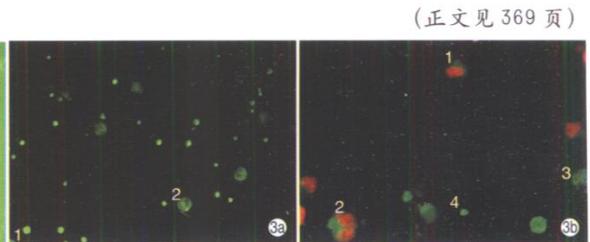
## 环氧化酶-2抑制剂 Nimesulide 对膀胱癌 T24 细胞体外生长的抑制作用



1a. 未加药组 T24 细胞 ( $\times$  400)

1b. 高浓度组 T24 细胞 ( $\times$  400)

图1 Nimesulide 作用后 T24 细胞形态学改变



3a. 1:VA 2:VN ( $\times$  200)

3b. 1:NVA 2:NVN 3:VN 4: VA ( $\times$  400)

图3 NIM 诱导 T24 细胞凋亡的荧光染色观察