

p53、bcl-2 和 CD44v6 蛋白表达与乳腺癌转移的相关性研究

王 坤,周 清,郑登云,廖 宁,李学瑞

The Study of Correlation between p53 bcl-2 CD44v6 Expression and Metastasis of Breast Cancer

WANG Kun, ZHOU Qing, ZHENG Deng-yun, LIAO Ning, LI Xue-rui

Department of Breast Cancer, Cancer Center, Guangdong Provincial People's Hospital, Guangzhou 510080, China

Abstract :Objective To investigate the expression and significance of p53, bcl-2 and CD44v6 in breast cancer and normal breast tissue beside cancer tissue. **Methods** Expression of p53, bcl-2 and CD44v6 were tested in 96 cases by immunohistochemical methods. The significance of these markers was evaluated by analyzing the correlation between these markers and lymph node metastasis, expression of c-erbB-2. **Results** p53 was negative in normal breast tissue while was positive in 65.63% cancer tissue. There was a significant positive correlation between expression of p53 and histological grade, lymph node metastasis, expression of c-erbB-2. Expression of bcl-2 in breast tissue was significantly lower than that in normal tissue and a negative correlation was found between expression of bcl-2 and histological grade, lymph node metastasis, expression of c-erbB-2. Expression of CD44v6 in breast tissue was significantly higher than that in normal tissue and no correlation was found between expression of CD44v6 and histological grade, lymph node metastasis, expression of c-erbB-2. **Conclusion** p53 and bcl-2 can be used as important metastasis markers for breast cancer, while CD44v6 can not be regarded as a stable biological symbol of metastasis even though it also has some relationship with breast cancer yet.

Key words: Breast neoplasm; p53; bcl-2; CD44v6

收稿日期:2005-03-18;修回日期:2005-07-08

作者单位:510080 广州,广东省人民医院肿瘤中心乳腺科

癌增殖作用及其机理的研究。结果表明, HA6722 对 HER2/neu 过表达乳腺癌细胞 MDA-MB-453 细胞的抑制呈现良好的剂量依赖性, 而对 HER2/neu 低表达的 MDA-MB-231 细胞却没有相同的作用。

HER2/neu 过表达乳腺癌细胞的生长有赖于持续高水平的 HER2 受体激活, 而 HER2 受体的下调将阻断细胞生长的信号传导通路。本研究表明 HA6722 对 MDA-MB-453 细胞 HER2 受体及 mRNA 表达呈现剂量依赖性下调, 而具有相同碱基组成的 Scramble 及随机序列对 HER2 mRNA 几乎没有影响。

(本文图 2 见封 3)

参考文献:

- [1] Pogram MD, Finn RS, Arzoo K, et al. The effect of HER-2/neu overexpression on chemotherapeutic drug sensitivity in human breast and ovarian cancer cells[J]. Oncogene, 1997, 15 (5): 537-547.
- [2] Yang SP, Song ST, Song HF. Advancements of antisense oligonucleotides in treatment of breast cancer[J]. Acta Pharmacol Sin, 2003, 24(4): 289-295.
- [3] Weiss RH, Marshall D, Howard L, et al. Suppression of breast cancer growth and angiogenesis by an antisense oligodeoxynucleotide to p21(Waf1/Cip1)[J]. Cancer Lett, 2003, 189 (1): 39-48.
- [4] Roh H, Pippin JA, Green DW, et al. Oncogene[J]. 2000, 19 (53): 6138-6143.
- [5] Pirolo KF, Rait A, Sleer LS, et al. Antisense therapeutics: from theory to clinical practice[J]. Pharmacology & Therapeutics, 2003, 99(1): 55-77.
- [6] Nahta R, Esteva FJ. bcl-2 antisense oligonucleotides: a potential novel strategy for the treatment of breast cancer[J]. Semin Oncol, 2003, 30(5 Suppl 16): 143-149.
- [7] Morris MJ, Tong WP, Cordon-Cardo C, et al. Phase I trial of bcl-2 antisense oligonucleotide (G3139) administered by continuous intravenous infusion in patients with advanced cancer [J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(3): 679-683.
- [8] Tanabe K, Kim R, Inoue H, et al. Antisense bcl-2 and HER-2 oligonucleotide treatment of breast cancer cells enhances their sensitivity to anticancer drugs[J]. Int J Oncol, 2003, 22(4): 875-881.
- [9] 杨栓平,宋海峰,宋三泰,等. 鞣向 HER-2 mRNA 反义寡核苷酸对 SK-BR-3 乳腺癌细胞 Caspase-3 蛋白表达的影响[J]. 中国药理学通报,2003,19(5):505-507.

[编辑:贺文]

摘要:目的 探讨乳腺癌及癌旁正常乳腺组织中 p53、bcl-2 和 CD44v6 蛋白的表达及意义。方法 采用免疫组化法检测 96 例乳腺癌及其癌旁正常乳腺组织中 p53、bcl-2 和 CD44v6 蛋白的表达,并分析其与淋巴结转移和 c-erbB-2 表达状态的相关性,从而评价这些指标在预测乳腺癌转移方面的价值。**结果** 正常乳腺组织中 p53 蛋白为阴性,在乳腺癌中阳性表达率为 65.63%,随着组织学分级的增高,阳性率逐渐增高;淋巴结转移组阳性表达率明显高于无淋巴结转移组,并与 c-erbB-2 表达状态呈正相关。乳腺癌组织中 bcl-2 阳性表达率明显低于周围正常乳腺组织,随着组织学分级的增高,阳性率逐渐降低,淋巴结转移组中的表达率明显低于淋巴结非转移组,与 c-erbB-2 的表达呈负相关。CD44v6 在乳腺癌组织中的阳性表达率明显高于正常乳腺组织,随着组织学分期的增加,CD44v6 的阳性表达率亦增高,但差异无显著性,淋巴结转移组的阳性率略高于无淋巴结转移组,差异也无显著性,与 c-erbB-2 表达无相关性。**结论** p53 和 bcl-2 蛋白可作为预测乳腺癌转移的指标,CD44v6 的阳性表达可能与乳腺癌的发生、进展有一定关系,但尚不能把它作为预测乳腺癌转移的稳定的生物学指标。

关键词:乳腺肿瘤;p53;bcl-2;CD44v6

中图分类号:R737.9 **文献标识码:**A

文章编号:1000-8578(2005)12-0748-04

0 引言

乳腺癌为女性最常见的恶性肿瘤之一,严重威胁妇女的身体健康,寻找与乳腺癌转移相关的生物标志物对指导临床治疗具有重要的意义。p53、bcl-2 和 CD44v6 蛋白在多种癌的发生、发展中起重要作用,本研究采用免疫组化方法观察了这三种标志物在乳腺癌组织和癌旁正常乳腺组织中的表达情况,并分析其与淋巴结转移和 c-erbB-2 表达状态的相关性,从而探讨这些指标在预测乳腺癌转移方面的价值。

1 材料与方法

1.1 材料

随机抽取我院乳腺浸润性导管癌根治手术标本 96 例,均为女性患者,年龄 26~51 岁,平均 36.9 岁。每例均有详细的临床资料、手术记录,术前均未接受化、放疗,无远处转移,其中有淋巴结转移者 56 例。根据 Elston-Ellis 改良的 SBR 分级系统对乳腺癌组织进行分级^[1],Ⅰ 级(低度恶性)28 例,Ⅱ 级(中度恶性)32 例,Ⅲ 级(高度恶性)36 例。

1.2 方法

对标本中的乳腺癌组织和癌旁正常乳腺组织进行 p53、bcl-2、CD44v6 和 c-erbB-2 蛋白表达检测,检测方法为免疫组化染色法(Envision 法)。Envision 试剂盒购自 Dako 公司。p53 抗体为鼠抗人单

抗 DO-7, bcl-2 抗体为鼠抗人单抗 124, CD44v6 抗体为鼠抗人单抗 DF1485, 及 c-erbB-2 检测试剂盒均购自 DAKO 公司。一抗稀释浓度为 1:100。检测步骤参照 Sabsttini 的方法^[2]。PBS 代替一抗作为阴性对照,阳性对照为试剂盒提供的阳性乳癌切片。

1.3 结果判断

随机选择 10 个高倍视野,对免疫组化结果进行评估。p53 蛋白染色的判断标准为^[3]:细胞核未见染色颗粒为阴性;阳性细胞数 < 30% 为弱阳性;阳性细胞数占 30%~70% 者为中度阳性;阳性细胞数 > 70% 为强阳性。CD44v6 蛋白染色的判断标准为^[4]:阳性物质棕黄色位于细胞膜,以阳性细胞数量占细胞数的 15% 以上为阳性,阳性细胞数低于细胞总数的 15% 或全部不着色为阴性。bcl-2 蛋白染色的判断标准为^[5]:阳性细胞占全部细胞的 25% 以下为弱阳性,25%~50% 为中度阳性,50% 以上为强阳性。c-erbB-2 蛋白染色的判断标准^[6]为:根据 FDA 推荐的 Hercep Test 结果评分:0~3 分。0~1 分判为阴性;2 分判为弱阳性;2~3 分为中度阳性;3 分为强阳性。

1.4 统计学处理

根据资料性质,应用 SPSS10.0 软件进行²检验及 Pearson 相关分析,以 P < 0.05 作为具有统计学意义。

2 结果

2.1 p53、CD44v6 和 bcl-2 的表达情况

p53 在正常乳腺组织中表达阴性,在乳腺癌组织中阳性表达为细胞核出现棕黄色颗粒或团块状沉积,阳性表达率为 65.63%。在不同组织学分级中的表达水平有显著差异,见表 1。

bcl-2 蛋白在细胞的胞浆、胞膜和核膜上呈现棕黄色颗粒,以胞浆为主,在乳腺癌组织中的阳性表达率为 39.58%,明显低于周围正常乳腺组织,在不同组织学分级中的表达水平也有显著差异,见表 1。

CD44v6 在乳腺癌组织中阳性表达部位主要位于细胞膜上,呈棕色颗粒,在乳腺癌组织中的阳性表达率明显高于正常乳腺组织,但在不同组织学分级中的表达水平无显著差异,见表 1。

2.2 c-erbB-2 的表达情况

c-erbB-2 在癌组织中的表达阳性率为 68.75%,明显高于正常乳腺组织;在有无淋巴结转移和不同组织学分级中的表达水平有显著差异,见表 2。

2.3 p53、CD44v6 和 bcl-2 的表达与 c-erbB-2 表达及淋巴结转移的相关性

表 1 p53、CD44v6 和 bcl-2 的表达情况

例数	p53		bcl-2		CD44v6	
	阳性率(%)	P	阳性率(%)	P	阳性率(%)	P
乳腺癌组织	96	65.63	<0.05	39.58	<0.05	56.25
正常乳腺组织	96	0		85.42		14.58
组织学分级						
级	28	39.29	<0.05	78.57	<0.05	46.42
级	32	65.63		32.15		56.25
级	36	86.11		16.67		63.89

p53 在淋巴结转移组中的表达率明显高于淋巴结非转移组,与 c-erbB-2 的表达呈正相关;bcl-2 在淋巴结转移组中的表达率明显低于淋巴结非转移组,与 c-erbB-2 的表达呈负相关;CD44v6 在淋巴结转移组和非转移组中的表达率无明显差异,与 c-erbB-2 的表达也无相关性,见表 3。

表 2 c-erbB-2 表达情况

	例数	阳性例数	阴性例数	阳性率(%)	P
乳腺癌组织	96	66	30	68.75	<0.05
正常乳腺组织	96	10	86	10.42	
淋巴结转移组	56	45	11	80.36	<0.05
淋巴结无转移组	40	21	19	52.50	
组织学分级					
级	28	12	16	42.86	<0.05
级	32	22	10	68.75	
级	36	32	4	88.89	

3 讨论

p53 基因定位于染色体 17p 13.1, 有两种形式, 即野生型和突变型, 野生型 p53 基因是抑癌基因, 是重要的细胞生长负调节因子, 它能诱导 WAF1/CIP1 基因表达 p21 蛋白, p21 蛋白与 G1-S 周期依赖性激酶结合, 阻止酶的作用而使细胞停滞在 G1 期, 启动损伤 DNA 的修复或者诱导程序化死亡, 阻止转化、突变细胞的繁殖而抑制肿瘤的形成。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亚单位起作用,

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^[7]。野生型 p53 蛋白半衰期短, 用免疫组化方法难以检测出, 而突变型 p53 蛋白半衰期长, 因此, 免疫组化检测到的是突变型 p53 蛋白。目前关于 p53 能否预测乳腺癌转移尚有争议, 有学者认为 p53 阳性乳腺癌患者易出现淋巴结转移, 但也有学者认为 p53 的表达与组织学类型以及淋巴结转移等情况无显著相关性^[8]。本研究结果显示, 在正常乳腺组织中 p53 蛋白为阴性, 而在乳腺癌中 p53 蛋白的阳性表达率为 65.63%; 随着组织学分级的增高, 其阳性率也逐渐增高; 有淋巴结转移组阳性表达率明显高于无淋巴结转移组, 表明 p53 蛋白在乳腺癌发生、发展和转移过程中起重要调控作用, 可做为预测患者是否发生转移的重要指标。

bcl-2 基因是近年来新发现的原癌基因, 是目前公认的抗凋亡基因, 其作用是抑制各种形式的细胞凋亡, 使细胞的寿命延长, 理论上该基因表达愈强, 肿瘤恶性程度愈高, 预后越差。但是很多研究表明 bcl-2 基因表达通常与好的生物学特性相关, bcl-2 失表达则促进乳腺癌的发生和发展, 原因是 bcl-2 不仅抑制了细胞凋亡, 而且还延长了细胞周期, 因此延缓了肿瘤细胞的增殖^[9]。本研究结果表明乳腺癌组织中的 bcl-2 阳性表达率明显低于周围正常乳腺组织, 随着组织学分级的增高, 其阳性率逐渐降低, 同时, bcl-2 在淋巴结转移组中的表达率明显低于淋巴结非转移组。提示 bcl-2 蛋白的表达反应肿瘤具有较好的生物学特性, 可以作为预测患者是否

表 3 p53、CD44v6 和 bcl-2 的表达与 c-erbB-2 表达的相关性

例数	p53		bcl-2		CD44v6	
	阳性率(%)	P	阳性率(%)	P	阳性率(%)	P
淋巴结转移组	56	80.36	<0.05	21.43	<0.05	62.50
淋巴结无转移组	40	45.00		65.00		47.50
癌组织 c-erbB-2 阴性组	30	13.33	<0.05	66.67	<0.05	43.33
癌组织 c-erbB-2 阳性组	66	89.39		27.27		62.12

发生转移的生物学指标之一。

CD44 是一种分布广泛的跨膜糖蛋白, 属未分类黏附分子。具有促进细胞间、细胞与基质成分之间特异性黏附、参与信号传递和肿瘤细胞增殖、转移等多种生物学功能。分为标准型 CD44s 和变异型 CD44v 两大类, 前者主要在非转移性肿瘤中表达, 后者亚型之一 CD44v6 主要在转移性肿瘤中表达并可提高瘤细胞的转移能力^[10]。本研究结果显示, CD44v6 在乳腺癌组织中的阳性表达率明显高于正常乳腺组织, 随着组织学分期的增加, CD44v6 的阳性表达率亦增高, 但差异无显著性。此外, 有淋巴结转移组的 CD44v6 表达阳性率略高于无淋巴结转移组, 差异也无显著性。提示 CD44v6 的阳性表达可能与乳腺癌的发生、发展有一定关系, 但尚不能把 CD44v6 作为预测乳腺癌是否转移的稳定的生物学指标。

c-erbB-2 基因又称 HER-2/neu 基因, 定位于染色体 17q21, 编码分子量为 185kDa 的跨膜蛋白 p185, 具有细胞内酪氨酸激酶样活性, 激活后可传导分裂信号, 在胚胎发育形成及上皮分化中有一定作用, 在人类组织的上皮细胞中有广泛表达。体内外实验证实 c-erbB-2 相对于正常组织的高水平表达有致癌性, 在乳腺癌的病理发生中有重要作用, 是乳腺癌重要的预后和预测指标。有研究表明肿瘤过度表达 c-erbB-2 的患者对内分泌治疗药物三苯氧胺抵抗, 而行辅助化疗时使用以蒽环类为基础的化疗方案优于传统 CMF 方案^[11,12]。本研究结果显示, p53 和 bcl-2 的表达可预测乳腺癌淋巴结转移, 且 p53 的表达与 c-erbB-2 的表达呈正相关, bcl-2 的表达与 c-erbB-2 的表达呈负相关, CD44v6 与 c-erbB-2 的表达也无相关性。故对于 p53 阳性表达和 bcl-2 阴性表达的乳腺癌患者选择内分泌治疗时应考虑避免使用三苯氧胺, 而选择辅助化疗时尽可能使用蒽环类化疗方案, 最好结合 c-erbB-2 的表达情况进行治疗方案的选择。

乳腺癌的发生、发展是一个多基因、多步骤、多阶段的过程, 联合多项指标进行综合分析可更准确、更全面地反映肿瘤的生物学行为, 为预测转移、选择合适的全身治疗方案提出更有利的证据。

参考文献:

- [1] Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer[J]. Histopathology, 1991, 19 (5): 403-410.
- [2] Sabsttini E, Bisgaard K, Ascani S, et al. The EnVision ++ system: a new immunohistochemical method for diagnostics and research. Critical comparison with the APAAP, Chem-Mate, CSA, LSABC, and SABC techniques [J]. J Clin Pathol, 1998, 51(7): 506-511.
- [3] Valerie R, David K, Ennepadam V, et al. Aberrant p53 expression predicts clinical resistance to cisplatin-based chemotherapy in locally advanced non-small cell lung cancer [J]. Cancer Res, 1995, 55(21): 5038-5042.
- [4] 戴备军, 赵仲生. CD44v6 在非小细胞肺癌中的表达及其预后意义[J]. 实用肿瘤杂志, 1998, 13(4): 214-215.
- [5] Gee JMW, Robertson JFR, Ellis IO, et al. Immunocytochemical localization of bcl-2 protein in human breast cancers and its relationship to a series of prognostic markers and response to endocrine therapy[J]. Int J Cancer, 1994, 59(5): 619-628.
- [6] 步宏, 庞宗国. c-erbB-2 基因在乳腺癌中的研究进展[J]. 基因快讯, 2001, 1(): 12-14.
- [7] 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.
- [8] 刘静贤, 高琨, 刘毅强, 等. 乳腺癌 c-erbB-2、p53、ER 和 PR 表达及意义[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2003, 10(1): 15-16.
- [9] Oda E, Ohki R, Murasawa H, et al. Noxa, a BH3-only member of the Bcl-2 family and candidate mediator of p53-induced apoptosis[J]. Science, 2000, 288 (5468): 1053-1058.
- [10] 扬秋霞, 赵贤姝. CD44 分子生物学特性与肿瘤关系的研究进展[J]. 国外医学免疫学分册, 2000, 23(1): 12-15.
- [11] Berry DA, Muss HB, Thor AD, et al. HER-2/neu and p53 expression versus tamoxifen resistance in estrogen receptor-positive, node-positive breast cancer[J]. J Clin Oncol, 2000, 18(20): 3471-3479.
- [12] Paik S, Bryant J, Tan-Chiu E, et al. HER-2 and choice of adjuvant chemotherapy for invasive breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-15[J]. J Natl Cancer Inst, 2000, 92(24): 1991-1998.

[编辑: 刘红武]