

# 乳腺良恶性病变组织中 PRL 和三种酶的分布 及在乳癌中相互关系

湖南医科大学附二院肝胆研究室 杨竹林 杨元华· 许建晃\*

**摘要** 本文应用组化方法研究乳腺良恶性病变组织中 PRL 和 NADHDH、GDH、LDH 三种酶活性分布及在乳癌中相互关系。乳癌和良性病变 PRL 阳性率分别为 80.5% 和 85.7%；乳癌组织 NADHDH、GDH 和 LDH 高酶活性率分别为 73.2%、39% 和 82.9%，良性病变分别为 51.4%、51.4% 和 65.7%，NADHDH 和 LDH 高酶活性率乳癌高于良性病变 ( $P < 0.05$ )；PRL 阳性率及半定量分级均与 NADHDH 和 LDH 高酶活性率有高度密切关系，GDH 和 LDH 高酶率均与 NADHDH 高酶活性率存在密切关系。上述结果提示：大部分乳癌存在 PRL 依赖性，PRL 可能参与乳癌形成；NADHDH、GDH 和 LDH 可能是较好的乳癌酶生物学标记物，检测这些酶活性可能对估测乳癌预后及临床治疗方案选择有较重要意义；乳癌组织中 PRL 可能诱导 NADHDH 和 LDH 酶活性。

**关键词：** 乳腺疾病；酶；组织化学

乳腺是 PRL (催乳素) 作用的靶器官，乳腺发生病变时 PRL 含量及表达发生一定变化。NADHDH (NADH 还原酶) 能使 NADH 还原成  $\text{NAD}^+$ ，NADH 和  $\text{NAD}^+$  与细胞生物呼吸链有密切关系。GDH (谷氨酸脱氢酶) 和 LDH (乳酸脱氢酶) 均为  $\text{NAD}^+$  依赖性脱氢酶，GDH 为细胞线粒体功能标记酶，LDH 使乳酸转变成丙酮酸，与糖代谢有极密切关系。本文应用 PAP 法检测 PRL 和酶组化方法检测 NADHDH、GDH 和 LDH，探讨他们在乳腺良恶性病变组织中的分布及其乳癌中的相互关系。

## 材料与方法

### 1. 材料：收集新鲜乳腺手术标本 117 例。其中乳腺

\* 湖南医科大学病理教研室

癌 82 例，包括单纯癌 38 例、髓样癌 10 例、浸润性导管癌 28 例、粘液癌 4 例和浸润性小叶癌 2 例。良性病变 35 例，包括纤维腺瘤 5 例。增生性病变（小叶增生、纤维腺病、纤维囊腺病）30 例。标本低温冰冻切片，厚  $8\mu\text{m}$ 。

2. 试剂：1) 抗 PRL 抗体 (Vector 公司)，羊抗兔 IgG 和兔 PAP (上海生化研究所)；2) 还原型辅酶 I 钠盐、谷氨酸钠和乳酸钠 (上海试剂厂)，NBT (sigma 公司)。

3. 方法：1) PRL 为 PAP 法，切片中阳性细胞率  $\geq 20\%$  为阳性病例， $< 20\%$  为阴性病例；根据阳性病例切片中阳性率和着色程度，参照 kukajda 标准<sup>[1]</sup>分为 I ~ II 级：I 级（弱阳性）、II 级（阳性）、III 级（强阳性）。2) NADHDH、GDH 和 LDH 酶组化方法分别为 HQper 法、SBarke 法、Barke 和 Anderson 法；细胞浆内出现紫红色或兰色反应产物为该酶活性阳性；参照

showed that the concentrations of ER and PR in ovarian endometrioid carcinoma were higher than that of in ovarian serous, mucous and clear cell carcinomas；The percentage of positive scores for ER and PR in ovarian endometrioid and serous malignant tumors were higher than those in other epithelial malignancies. The contents of ER and PR were associated with the differentiation and menstrual status. Several ovarian epithelial malignant tumors with high ER and PR concentrations, especially high PR levels might be a possibility of endocrine therapy. Those patients with ER and PR simultaneous positive have longer survival period.

**Key Words:** Estrogen receptor；Progesterone receptor；Ovarian epithelial malignant tumor；Dextran-coated Charcoal

Sensen 标准<sup>[2]</sup>，根据酶反应产物颗粒大小、多少及颜色深浅分为 0~Ⅳ 四级：0 级：细胞浆内基本上无反应或隐约见极少量呈粉尘样极浅紫红色，切片背景无色，组织轮廓不清；Ⅰ 级：呈明显紫红色，核膜及组织轮廓清楚；Ⅱ 级：呈深紫红色或兰色，核膜及组织轮廓清楚；Ⅲ 级：反应产物较弥散或融合成片，呈兰色至兰黑色，核膜轮廓欠清；0~Ⅰ 级为弱酶活性、Ⅱ~Ⅲ 级为高酶活性。

## 结 果

### 一、PRL 和三种酶在良恶性病变组织中的分布

PRL 阳性物质可分布于胞浆和/或胞核，大部分病例胞浆和胞核较均匀着色。NADHDH、GDH 和 LDH 阳性物质均为胞浆型分布，胞核阴性，但在Ⅲ 级病例中可见胞核着色，这是由于酶在染色等处理过程中弥散所致。PRL 和三种酶活性阳性物质在组织中分布均呈异质性，同一切片不同区域着色程度和阳性细胞率不同。

82 例乳癌 PRL 阳性 66 例 (80.5%)，35 例乳腺良性病变 PRL 阳性 30 例 (85.7%)，乳癌 PRL 阳性率低于良性病变，但无统计学差异。82 例乳癌 NADHDH、GDH 和 LDH 高酶活性率分别为 72.3%、39%、82.9%，35 例良性病变高酶活性率则分别为 51.4%、51.4% 和 65.7%，NADHDH 和 LDH 高酶活性率乳癌高于良性病变，且均有统计学差异 ( $P < 0.05$ )，GDH 高酶活性率乳癌低于良性病变，但无统计学差异 ( $P > 0.05$ )。

### 二、乳癌组织中 PRL 与三种酶活性的相互关系

66 例 PRL 阳性病例中有 55 例 NADHDH、29 例 GDH 和 59 例 LDH 呈高酶活性，16 例 PRL 阴性病例中有 11 例 NADHDH、13 例 GDH 和 7 例 LDH 呈低酶活性，NADHDH 和 LDH 高酶活性率与 PRL 阳性率均存在高度密切关系 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，GDH 高酶活性率在 PRL 阳性病例高于阴性病例，但无统计学差异 ( $P > 0.05$ )。表 1 所示：NADHDH、GDH 和 LDH 高酶活性率随 PRL 半定量分级的增高而增加，且 NADHDH 和 LDH 均有高度显著意义 ( $P < 0.005$ ,  $P < 0.01$ )。

表 1 PRL 半定量分级与 NADHDH、GDH、LDH 活性的关系

PRL 分级	例数	NADHDH		GHD		LDH	
		0~Ⅰ	Ⅱ~Ⅲ	0~Ⅰ	Ⅱ~Ⅲ	0~Ⅰ	Ⅱ~Ⅲ
0	16	11	5	13	3	7	9
Ⅰ	20	7	13	11	9	5	15
Ⅱ	40	4	36	23	17	2	38
Ⅲ	6	0	6	3	3	0	6

### 三、NADHDH、GDH 和 LDH 活性在乳癌组织中相互关系

60 例 NADHDH 高酶活性病例中有 28 例 GDH 和 53 例 LDH 呈高酶活性，22 例 NADHDH 低酶活性病例中有 18 例 GDH 和 7 例 LDH 呈低酶活性，GDH 和 LDH 高酶活性率与 NADHDH 高酶活性率均有极密切关系 ( $P < 0.05$ )。GDH 高酶活性率与 LDH 高酶活性率不存在密切关系 ( $P > 0.01$ )。

## 讨 论

PRL 是一种肽类激素，乳腺是 PRL 作用的靶器官，PRL 能促进乳腺上皮发育及 RNA 和蛋白质等合成。Bonneterre 等<sup>[3]</sup>发现 72% 乳癌 PRL 阳性。Agarwal 等<sup>[4]</sup>报道乳癌和纤维腺瘤 PRL 阳性率分别为 82.5% 和 57%。本文发现乳癌和良性病变阳性率分别为 80.7% 和 85.7%，其中 5 例纤维腺瘤 PRL 阳性 2 例。一些学者<sup>[5,6]</sup>认为 PRL 能促进乳腺上皮 DNA 和 RNA 合成，PRL 可能与乳癌形成有密切关系，但 Kwa 等<sup>[7]</sup>却怀疑 PRL 水平与发生乳癌之间存在相互关系。PRL 是否参与乳癌形成有待进一步探讨。

NADHDH 能使 NADH 还原成 NAD<sup>+</sup>，使机体内 NAD<sup>+</sup> 和 NADH 保持动态平衡。本文发现乳癌 NADHDH 高酶活性率高于良性病变，有显著意义 ( $P < 0.05$ )，这可能是乳癌组织代谢旺盛，糖酵解反应增强，NADH 和乳酸积聚，诱导 NADHDH 活性增高。

GDH 和 LDH 均为 NAD<sup>+</sup> 依赖性脱氢酶。Hicf 等<sup>[8]</sup>用生化方法发现乳癌组织中 LDH 含量高于正常乳腺和良性病变组织 6~8 倍，GDH 含量乳癌略高于正常乳腺和良性病变。本文发现 LDH 高酶活性率明显高于良性病变，有显著意义，其原因可能是乳癌糖酵解代谢明显增强，乳酸含量增高，诱导 LDH 活性增高。本文发现 GDH 高酶活性率乳癌低于良性病变，但无显著意义，其结果与 Hicf 等<sup>[8]</sup>生化测定结果有一定差异，GDH 是一种反映线粒体功能的标志酶，乳腺上皮癌变时线粒体功能及数目下降，GDH 活性降低。Smith 等<sup>[9]</sup>认为高 LDH 含量预后不良，易复发，三年生存率明显地低，LDH 可作为反映乳癌预后的一个指标。Edwin 等<sup>[10]</sup>发现高 LDH、GDH 含量乳癌病人对细胞毒化疗有效，而低含量乳癌对化疗效果不佳，因此测定乳癌组织中 GDH、LDH 有可能指导乳癌病人临床治疗。

PRL 能促进乳腺 RNA、DNA 和蛋白质合成，能促使乳腺中参与糖代谢的酶活性增加。本文发现乳癌组织中 NADHDH 和 LDH 酶活性与 PRL 阳性率及半定量分级有密切关系。NADHDH 和 LDH 均为糖代谢重要酶，且 LDH 能抑制  $\alpha$ -氨基丁酸生成，Coefller 等<sup>[11]</sup>报道  $\alpha$ -氨基丁酸能抑制 PRL 生物合成。PRL 可能诱导

乳癌组织中 NADHDH 和 LDH 合成，但需进一步探讨。

三种酶活性在乳癌组织中相互关系研究中发现 LDH、GDH 高酶活性率与 NADHDH 高酶活性率均存在密切关系，这可能与 GDH、LDH 均为 NAD<sup>+</sup>依赖性脱氢酶有关，同 NADHDH 能为 GDH 和 LDH 提供两种酶活性所需的 NAD<sup>+</sup>。（本文图见封4）

### 参 考 文 献

1. Kukaja Fp, et al. The distribution of CEA in breast carcinoma diagnostic and Rognostic implications. *Cancer*, 1983, 52 :1257
2. Jensen H, et al. Fibroadenomatosis and breast cancer. *Acta Path Microbiol scannell sect A*, 1970, 78:421
3. Bonneferre J, et al. Correlation between prolactin receptor, ER, PgR in human breast cancer. *Eur J cancer clin oncol*, 1986, 22:1331.
4. Agarwal PK, et al. Highly specific sites of prolactin binding in benign and malignant breast tissue. *Indian J EXP Biol*, 1989, 27 (12) :1035
5. Sasak GH, et al. prolactin stimulation of estrogen receptor in vitro in 7, 12-dimethylbenzanthracene-induced mammary tumor *Res commun chem pathol pharmacol*, 1974, 8:409
6. Vignon F, et al. Regulation of estrogen receptor in ovarian-dependant rat mammary tumors. 1 effects of castration and prolactin. *Endocrinology*, 1976, 98 (3) :722
7. Kwa HG, et al. plasma prolactin and its relationship to risk facfor in human breast cancer. *Int J cancer*, 1976, 77 (4) :441
8. Hilf R, et al. Enzyme nucleic acid and lipid in human breast cancer and normal breast tissue. *Cancer Res*, 1970, 30:1874
9. Smith JA, et al. Enzyme activity, acid nuclear proteins and prognosis of human breast cancer. *Br, Med J*, 1970, 2:698
10. Edwin D, et al. Correlation between certain biochemical and properties of breast cancer and response to therapy: a preliminary report, *Cancer*, 1974, 33:303
11. Coeffler J P, et al. GABA inhibiting biological synthesis of prolactin in vitro and in vivo. *Neuroendocrinology*, 1986, 43 (4) :504

## DISTRIBUTIONS OF PRL, NADHDH, GDH AND LDH ACTIVITY IN BREAST LESIONS AND THEIR RELATIONSHIPS IN BREAST CANCER

Yang Zhu-lin, et al

*The Research Lab, of Hepatobiliary Diseases, the 2nd Affiliated Hospital of Hunan Medical University, Changsha, 410011*

The distributions of PRL (prolactin), NADHDH (NADH dehydrogenase), GDH (glutamic dehydrogenase) and LDH (Lactate dehydrogenase) activity in breast lesions and their relationships in breast cancer were studied by histochemical methods. The PRL positive rate in breast cancer and benign lesions was 80.5% and 85.7% respectively; the highly enzyme activity rate of NADHDH, GDH and LDH in breast cancer was 73.2%, 39% and 82.9% respectively, and in benign lesions was 51.4%, 51.4% and 65.7% respectively, the activity of NADHDH and LDH had significal increasing in breast cancer. Close correlations were found among the PRL positive rate or semiquanitative grades and the NADHDH, LDH activity, and close correlations also were found among the GDH, LDH activity and the NADHDH activity. These results suggested: A large of breast cancers might be dependence of PRL; The NADHDH, GDH and LDH activity might be good enzyme biological marker of breast cancer and might have important significances in predicting prognostic value and choosing scheme of therapy of breast cancer.

Key words: breast neoplasma; prolactin; enzyme; histochemistry

## 滋养细胞肿瘤核仁蛋白组成区研究

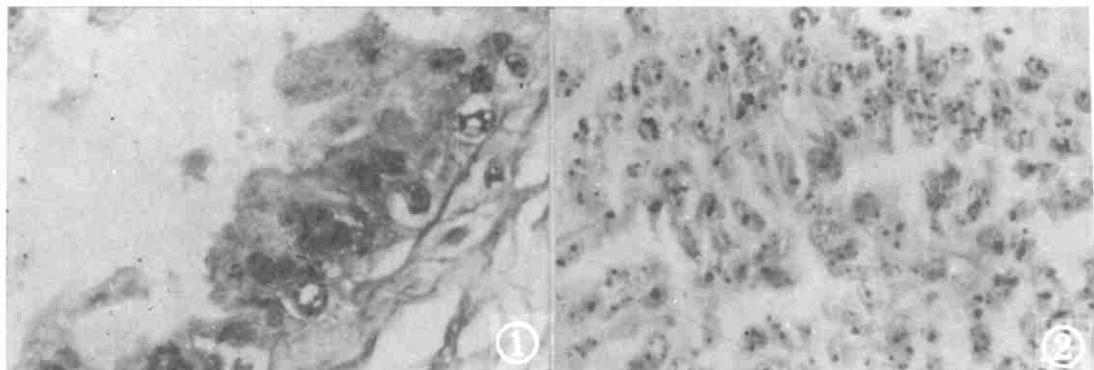


图1 水泡状胎块中 AgNOR/核均数(3/5/每细胞)。

图2 绒癌中 AgNOR/核均数>5个/每细胞

## 乳腺良恶性病变组织中 PRL 和三种酶的分布及在乳癌中相互关系

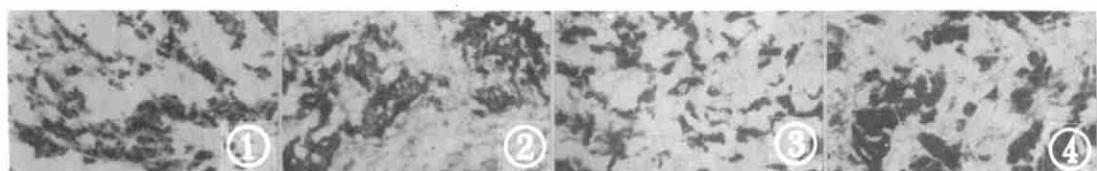


图1 PRLⅡ级,胞浆胞核均着色,乳癌,PAP法。×200

图2 NADHDH高酶活性(Ⅳ级),胞浆着色,胞核有酶染色,乳癌,II/Per法。×200

图3 GDH高酶活性(Ⅰ级),胞浆着色,部分胞核有酶染色,乳癌,Bark法。×150

图4 LDH高酶活性(Ⅳ级),胞浆着色,部分胞核有酶染色,乳癌Bard和Anderson法。×150

## AgNOR 在纤维源性肿瘤鉴别及预后中的意义



图1 纤维瘤 AgNOR染色。10×100

图2 瘤样纤维组织增生 AgNOR染色 10×100

图3 纤维肉瘤(高分化) AgNOR染色 10×100

图4 纤维肉瘤(低分化) AgNOR染色 10×100