

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.09.008

ER、PR、HER-2 和 Ki67 在乳腺髓样癌中的表达及其临床意义

高敏娜, 李 昱

(重庆医科大学基础医学院病理学教研室, 重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨乳腺髓样癌(Medullary carcinoma of the breast, MBC)的雌激素受体(Estrogen receptor, ER)、孕激素受体(Progesterone receptor, PR)、人表皮生长因子受体-2(Human epidermal growth factor receptor-2, HER-2)和细胞增殖抗原 Ki67 表达情况及其临床意义。方法:收集 43 例临床病理资料完整的 MBC 病例,采用免疫组化 S-P 法检测癌组织中 ER、PR、HER-2、Ki67 的表达情况并分析其结果,取同期的 120 例乳腺浸润性导管癌(Invasive ductal carcinoma, IDC)作对照研究。结果:免疫组化显示 MBC 组 ER 阳性率为 8/43 (18.75%), PR 阳性率为 11/43 (25.58%), Her-2 阳性率为 14/43 (32.56%), Ki67 阳性率为 7/43 (16.28%)。乳腺 IDC 中 ER、PR、HER-2、Ki67 的阳性率分别为 25/120 (20.83%)、33/120 (27.50%)、49/120 (40.83%)、42/120 (35.00%)。Ki67 的阳性率明显高于 MBC 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Ki67 的表达与患者的年龄、临床分期无显著相关性,而与肿瘤大小以及有无淋巴结转移有关($P<0.05$)。MBC 组织中 Ki67 表达强度与 Her-2 呈正相关性($r=0.447, P<0.05$);与 ER 和 PR 的表达无显著相关性($r=0.113$ 和 $r=1.129, P>0.05$)。结论:Ki67 表达与乳腺癌发生、发展有关,可作为评价 MBC 发生、发展的生物学指标,联合 ER、PR、HER-2 检测有助于 MBC 预后的判断。

【关键词】乳腺髓样癌;雌激素受体;孕激素受体;人表皮生长因子受体-2;细胞增殖抗原 Ki67

【中国图书分类法分类号】R737.9

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-02-08

Expressions and clinical significances of ER, PR, HER-2 and Ki67 in human medullary carcinoma of the breast

GAO Minna, LI Yu

(Department of Pathology, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the expressions and clinical significances of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), human epidermal growth factor receptor-2 (HER-2) and cell proliferative nuclear antigen Ki67 in human medullary carcinoma of the breast. Methods: The pathological data of 43 cases of medullary breast carcinoma (MBC) were collected. The expressions of ER, PR, HER-2 and Ki67 in carcinoma tissues in 43 cases were detected by immunohistochemical S-P method. Another 120 cases of invasive ductal carcinoma (IDC) of the breast were chosen as the controls. Results: The positive expression rates of ER, PR, HER-2 and Ki67 in MBC tissues were 8/43 (18.75%), 11/43 (25.58%), 14/43 (32.56%), 7/43 (16.28%), respectively; meanwhile, the positive rates in IDC were 25/120 (20.83%), 33/120 (27.50%), 49/120 (40.83%), 42/120 (35.00%), respectively. The positive rate of Ki67 in IDC was significantly higher than that in MBC ($P<0.05$). The positive expression of Ki67 was associated with tumor volume and lymph node metastasis ($P<0.05$), but not correlated with the age and clinical stage. There was a positive relationship between the expression of Ki67 and HER-2 ($r=0.447, P<0.05$) and there was no relationship between the expression of Ki67 and PR and PR ($r=0.113$ and $r=1.129, P>0.05$). Conclusions: The expression of Ki67 is correlated with the genesis, development of breast cancer, which can be considered as a biological indicator in MBC. It will be useful for the prognosis through detecting the expression of Ki67 combined with ER, PR and HER-2.

【Key words】medullary carcinoma of the breast; estrogen receptor; progesterone receptor; human epidermal growth factor receptor-2; cell proliferative nuclear antigen Ki67

乳腺髓样癌(Medullary carcinoma of the breast, MBC)是乳腺癌中少见的一种病理类型^[1-3],是浸润性导管癌(Invasive ductal carcinoma, IDC)的一个变

型,因其临床表现、病理形态和预后有自己的特殊性,文献报道不多。本研究将通过免疫组化方法检测 MBC 组织中与乳腺癌密切相关的雌激素受体(Estrogen receptor, ER)、孕激素受体(Progesterone receptor, PR)、人表皮生长因子受体-2(Human epidermal growth factor receptor-2, HER-2)、细胞增殖

作者介绍:高敏娜(1980-),女,住院医师,硕士,

研究方向:女性生殖系统肿瘤。

通信作者:李 昱,女,教授,Email:liyu100@163.com。

核抗原 Ki67 的表达并探讨其相互间关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集重庆医科大学临床病理诊断中心及重庆医科大学附属永川医院病理科 2006 年 12 月至 2011 年 11 月 MBC 患者 43 例,典型 MBC 32 例,不典型 MBC 11 例,其中 20~30 岁 3 例,30~40 岁 11 例,40~50 岁 13 例,50~60 岁 9 例,60~70 岁 6 例,>70 岁 1 例,均为女性,肿块最大为 9 cm,最小者为 1.2 cm。以同期手术后经病理证实的乳腺 IDC 120 例作为对照组。根据患者病情需要行乳腺癌改良根治术、乳腺癌保留乳房手术,术后根据检查结果行辅助化疗、放疗及辅助内分泌治疗。

1.2 免疫组织化学染色(Immunohistochemical staining, IHC)

鼠抗人 ER、PR、HER-2、Ki67 单克隆抗体、Max Vision 试剂盒和二氨基苯联胺(Diaminobenzidine, DAB)试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司。乳腺癌组织标本经 10% 甲醛固定,石蜡包埋,切片厚度 5 μ m,染色程序严格按照 Max Vision 试剂盒规程要求进行。以柠檬酸盐缓冲液(Phosphate buffered saline, PBS)取代一抗作阴性对照,已知的 ER、PR、HER-2、Ki67 阳性的乳腺癌切片作阳性对照。

1.3 结果判断

阳性结果呈棕黄色或棕褐色颗粒,不同生物学指标在细胞中的着色部位不同。每张切片随机选择 10 个高倍视野,每个视野观察 100 个肿瘤细胞,计算平均阳性细胞比例为该肿瘤的阳性细胞百分比。ER、PR、Ki67 阳性细胞为核着色,根据切片所选的视野中阳性细胞占全部细胞的比例将其分为:阳性细胞数<10%为阴性,阳性细胞数>10%为阳性。HER-2 阳性细胞以细胞膜或细胞浆内出现棕黄色颗粒为阳性,其判断标准为:HER-2 阳性结果定义为 IHC 结果为 3(>30%的浸润性癌细胞的胞膜呈现完整的强着色);HER-2 可疑:IHC 结果为 2(指至少 10%的肿瘤细胞呈现弱至中度完整的胞膜染色);HER-2 阴性:指 IHC 结果为 0 或 1(任何比例的肿瘤细胞有微弱的、不完整的胞膜染色或无着色)。

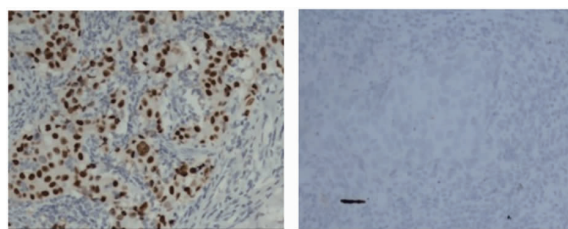
1.4 统计学方法

所有数据为计数资料,以率表示,采用 SPSS 13.0 统计软件分析,ER、PR、HER-2、Ki67 表达在研究对象组间的差异性采用 χ^2 检验和 Spearman 相关性分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ER 在 MBC 组织中的表达

ER 阳性染色主要定位于癌细胞的细胞核,呈棕黄色颗粒。43 例 MBC 组织中 8 例 ER 表达呈阳性,阳性表达率为 18.75%;120 例 IDC 组织中 25 例 ER 表达呈阳性,阳性表达率为 20.83%;两组比较差异没有统计学意义($P>0.05$)(图1)。



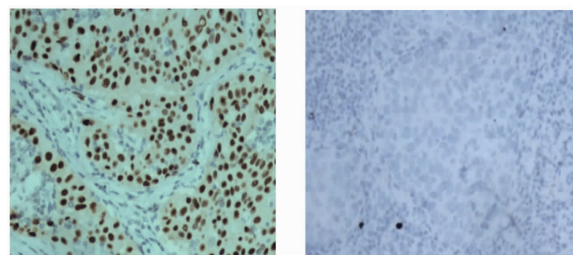
A. MBC 组织 ER 阳性表达 (IHC, 200 $\times$) B. MBC 组织 ER 的阴性表达 (IHC, 100 $\times$)

图 1 MBC 组织 ER 的表达

Fig.1 Expression of ER in MBC

2.2 PR 在 MBC 组织中的表达

PR 阳性染色主要定位于癌细胞的细胞核,呈棕黄色颗粒。43 例 MBC 组织中 11 例 PR 表达呈阳性,阳性表达率为 25.58%;120 例 IDC 组织中 33 例 PR 表达呈阳性,阳性表达率为 27.50%;两组比较差异没有统计学意义($P>0.05$)(图 2)。



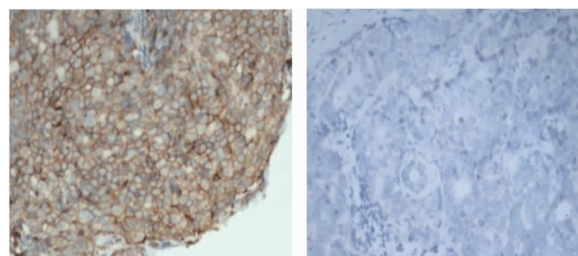
A. MBC 组织 PR 阳性表达 (IHC, 200 $\times$) B. MBC 组织 PR 的阴性表达 (IHC, 100 $\times$)

图 2 MBC 组织 PR 的表达

Fig.2 Expression of PR in MBC

2.3 HER-2 在 MBC 组织中的表达

HER-2 阳性染色主要定位于癌细胞的细胞质,呈棕黄色颗粒。43 例 MBC 组织中 14 例 HER-2 表达呈阳性,阳性表达率为 32.56%;120 例 IDC 组织中 49 例 HER-2 表达呈阳性,阳性表达率为 40.83%;2 组比较差异没有统计学意义($P>0.05$)(图 3)。



A. 乳腺髓样癌组织 HER-2 阳性表达(IHC, 200 $\times$) B. 乳腺髓样癌组织 HER-2 的阴性表达(IHC, 100 $\times$)

图 3 乳腺髓样癌组织 HER-2 的表达

Fig.3 Expression of HER-2 in MBC

2.4 Ki67 在 MBC 组织中的表达

Ki67 阳性染色主要定位于癌细胞的细胞核,呈棕黄色颗粒。43 例 MBC 组织中 7 例 Ki67 表达呈阳性,阳性表达率为 16.28%;120 例 IDC 组织中 42 例 Ki67 表达呈阳性,阳性表

达率为 35.00%;2 组比较差异有统计学意义 ($\chi^2=5.216,P<0.05$)(图 4)。

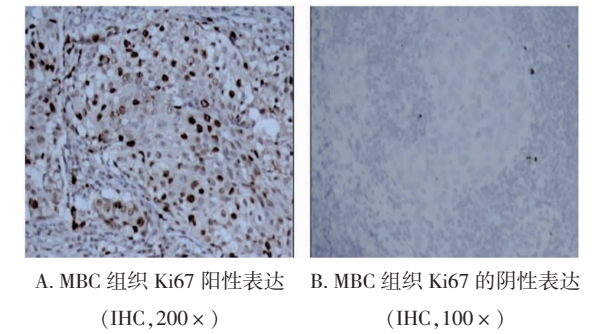


图 4 MBC 组织 Ki67 的表达
Fig.4 Expression of Ki67 in MBC

2.5 Ki67 的表达与 MBC 临床病理特征的关系

MBC 和 IDC 组织中 Ki67 阳性表达都与患者年龄、临床分期无关 ($P>0.05$);而与肿瘤大小、淋巴结转移有关 ($P<0.05$)。见表 1。

表 1 MBC 与 IDC 中的 Ki67 表达情况								
Tab.1 Expression of Ki67 in MBC and IDC								
病理指标	例数 (n)	MBC Ki67 阳性			n	乳腺 IDC Ki67 阳性		
		n	χ^2 值	P 值		n	χ^2 值	P 值
年龄 (岁)								
<40	14	3	0.404	>0.05	54	18	0.120	>0.05
≥40	29	4			66	24		
临床分期								
I 期	14	2	0.245	>0.05	35	11	3.120	>0.05
II 期	15	3			47	19		
III 期	14	2			38	12		
肿瘤大小								
≥4.0 cm	16	5	4.190	<0.05	49	27	14.710	<0.05
<4.0 cm	27	2			71	15		
淋巴转移								
有	24	8	4.244	<0.05	73	31	4.566	<0.05
无	19	1			47	11		

2.6 MBC 组织中 Ki67 分别与 ER、PR 以及 HER-2 表达的关系

经 Spearman 相关分析,MBC 组织中 Ki67 表达强度与 HER-2 呈正相关性 ($r=0.447,P<0.05$);与 ER 表达强度呈显著无相关性 ($r=0.113,P>0.05$);与 PR 的表达无显著相关性 ($r=0.129,P>0.05$)。见表 2~4。

表 2 Ki67 的表达与 ER 表达的关系				
Tab.2 Relationship between expression of Ki67 and ER				
ER 的表达	Ki67 的表达			合计
	-	+		
-	30	5		35
+	6	2		8
合计	36	7		43

注: $r_s=0.113$

表 3 Ki67 的表达与 PR 表达的关系			
Tab.3 Relationship between expression of Ki67 and PR			
PR 的表达	Ki67 的表达		合计
	-	+	
-	26	6	32
+	10	1	11
合计	36	7	43

注: $r_s=0.129$

表 4 Ki67 的表达与 HER-2 的关系			
Tab.4 Relationship between expression of Ki67 and HER-2			
HER-2 的表达	Ki67 的表达		合计
	-	+	
-	28	1	29
+	8	6	14
合计	36	7	43

注: $r_s=0.447$

3 讨 论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤,占女性肿瘤死亡率的第 2 位^[4]。髓样癌是 IDC 的一种少见的类型,约占所有乳腺癌的 3%~5%。因其表现为很软、肉质的肿物,因此而得名。近年来,随着分子生物学的发展,人们对乳腺癌的研究进入了一个崭新的时代,它们可以指导临床治疗的选择和新治疗靶点的开发,具有临床实用价值。但是,由于乳腺癌具有异质性,因此,进一步深化、了解传统的生物分子标记物的临床应用价值以及对新指标潜在的预后、预测价值的挖掘已成为目前亟待解决的问题^[5-7]。

ER、PR 是调节性器官组织生长发育的雌激素和孕激素受体,在正常乳腺上皮细胞的胞核内均含有,它们使乳腺的生长、发育和细胞增殖受雌、孕激素的调控。ER、PR 的检测对判断预后、指导内分泌治疗具有一定指导意义。通常认为,ER、PR 阳性患者对激素治疗反应性高,通过内分泌治疗,可显著改善患者预后,尤其 ER、PR 均阳性患者有更好的内分泌治疗效果^[8]。

HER-2 是属于表皮生长因子受体(Epidermal growth factor receptor,EGFR)家族的一员,具有酪氨酸激酶活性。作为肿瘤组织重要的信号传导通路,它的过表达可导致肿瘤发生、转移以及药物抵抗和化疗敏感性下降,因此被认为是乳腺癌常用的基因标志物。HER-2 的表达增强,可以促进细胞分裂和蛋白水解酶的分泌,使 DNA 合成增加,癌细胞生长加快并增强细胞的运动能力,从而促进肿瘤侵袭和转移。当受到体内外某些因素作用而被激活时,具有肿瘤转化活性^[9]。

ER、PR 和 HER-2 现已常规用于乳腺癌的诊断及预后判断,但在不同分型的乳腺癌组织中的表达有很大的差异。Matkovic 等^[10]对 48 例 MBC 组织研究发现,ER 的阳性率为 16%,PR 的阳性率为 18%,HER-2 的阳性表达率为 29%。我们的实验结果显示:43 例 MBC 组织 ER 阳性率为 18.75%,PR 阳性率为 25.58%,HER-2 阳性率为 32.56%,除了 ER 外,基本与文献报道一致。ER 检测的差异性可能源于地域、人种、分化程度的差异等因素。尽管 ER、PR、HER-2 在髓样癌和导管癌中的表达有差异,但差异没有统计学意义($P>0.05$)。

Ki67 是细胞增殖相关蛋白,是一种非组蛋白性核蛋白,由 345 kD 及 395 kD 2 条多肽链组成,仅在增殖细胞核中表达,即在细胞周期的 G_1 、 S_1 、 G_2 和 M 期均有表达,而 G_0 期缺如,是检测肿瘤增殖活性的最可靠指标^[11]。研究表明 Ki67 表达能可靠而迅速地反映恶性肿瘤的增殖率,与多种肿瘤的发展、转移、预后等密切相关,如:大肠癌^[12]、肺癌^[13]、宫颈癌^[14]、肝癌^[15]、鼻咽癌^[16]等。Ki67 表达的高低对评价细胞的增殖状态,研究肿瘤的生物行为、判断其危害性具有重要意义。本研究中 MBC Ki67 的表达率为 16.28%,显著低于在乳腺导管癌中 35% 的阳性率($P<0.05$),提示其恶性程度不如导管癌。

淋巴结有无转移是乳腺癌预后的重要因素之一,淋巴结有转移且数目越多,则表明肿瘤分期越晚预后越差。本组结果显示 Ki67 的表达与其年龄、临床分期都无显著差异性($P>0.05$),但与肿瘤的大小以及淋巴结的转移密切相关($P<0.01$)。同时还注意到在 MBC 组织中 Ki67 表达强度与 HER-2 呈正相关性($r_s=0.447$, $P<0.01$);与 ER 和 PR 的表达却无显著相关性($P>0.05$)。这提示了 MBC 与乳腺导管癌相比,预后的好坏很大程度上可能取决于髓样癌细胞中 Ki67 表达的高低;也支持了 MBC 原发肿瘤体积越大,肿瘤细胞分化越差且淋巴结转移越多,其预后更加不良。

综上所述,MBC 的发生发展也是一个多因素、多阶段的过程,是多种因素、多种力量作用的结果。本研究提示 HER-2 和 Ki67 可能成为 MBC 的高危预测因子,能够与 ER、PR 等常规的检测因子相互补充,有助于评估肿瘤的生物行为及预后,对指导治疗和提高疗效有重要意义。

参 考 文 献

[1] Mallon E, Osin P, Nasiri N, et al. The basic pathology of human

- breast cancer[J]. Mammary Gland Biol Neoplasia, 2000, 5(2): 139-163.
- [2] Page D L. Special types of invasive breast cancer, with clinical implications[J]. Am J Surg Pathol, 2003, 27(6): 832-835.
- [3] Milde S, Gaedcke J, v Wasielewski R, et al. Diagnosis and immunohistochemistry of medullary breast cancer[J]. Pathologie, 2006, 27(5): 358-362.
- [4] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2009[J]. CA Cancer J Clin, 2009, 59(4): 225-249.
- [5] Paik S, Hazan R, Fisher E R, et al. Pathologic findings from the national surgical adjuvant breast and bowel project: prognostic significance of erbB-2 protein overexpression in primary breast cancer[J]. J Clin Oncol, 1990, 8(1): 103-112.
- [6] Dowsett M, Dunbier A K. Emerging biomarkers and new understanding of traditional markers in personalized therapy for breast cancer[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(24): 8019-8026.
- [7] Cauley J A, Lucas F L, Kuller L H, et al. Elevated serum estradiol and testosterone concentrations are associated with a high risk for breast cancer: study of osteoporotic fractures research group[J]. Ann Intern Med, 1999, 130(4 Pt1): 270-277.
- [8] 杨金巧. 乳腺癌的内分泌治疗及研究进展[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2004, 11(1): 12-13.
- Yang J Q. Advances in hormone therapy for breast cancer[J]. Chinese Journal of Bases and Clinics in General Surgery, 2004, 11(1): 12-13.
- [9] Suzuki N, Shiota T, Watanabe F, et al. Discovery of novel 5-alkynyl-4-anilino pyrimidines as potent, orally active dual inhibitors of EGFR and Her-2 tyrosine kinases [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2012, 22(1): 456-460.
- [10] Matkovic B, Turetic A, Separovic V, et al. Immunohistochemical analysis of ER, PR, HER-2, CK5/6, p53 and EGFR antigen expression in medullary breast cancer[J]. Tumori, 2008, 94(6): 838-844.
- [11] Calil L N, Igansi C N, Meurer L, et al. Chlamydia trachomatis and human papillomavirus coinfection: association with p16INK4a and Ki67 expression in biopsies of patients with pre-neoplastic and neoplastic lesions[J]. Braz J Infect Dis, 2011, 15(2): 126-131.
- [12] Ceausu R A, Cimpean A M, Gaje P, et al. CD105/Ki67 double immunostaining expression in liver metastasis from colon carcinoma[J]. Rom J Morphol Embryol, 2011, 52(2): 613-616.
- [13] 刘振峰, 刘建英, 郑洪, 等. MCM5 和 Ki-67 在非小细胞肺癌组织中的表达及意义[J]. 山东医药, 2008, 48(5): 6-8.
- Liu Z F, Liu J Y, Zheng H, et al. Expressions of minichromosome maintenance protein 5 and Ki-67 in NSCLC and its significance[J]. Shandong Medical Journal, 2008, 48(5): 6-8.
- [14] Stoenescu T M, Ivan L D, Stoenescu N, et al. Assessment tumor markers by immunohistochemistry (Ki67, p53 and Bcl-2) on a cohort of patients with cervical cancer in various stages of evolution[J]. Rev Med Chir Soc Med Nat Lasi, 2011, 115(2): 485-492.
- [15] Yang Z, Tang L H, Klimstra D S. Effect of tumor heterogeneity on the assessment of Ki67 labeling index in well-differentiated neuroendocrine tumors metastatic to the liver: implications for prognostic stratification[J]. Am J Surg Pathol, 2011, 35(6): 853-860.
- [16] Shi X, Yuan X, Tao D, et al. Analysis of DNA ploidy, cell cycle and Ki67 antigen in nasopharyngeal carcinoma by flow cytometry[J]. J Hua Zhong Univ Sci Technol Med Sci, 2005, 25(2): 198-201.

(责任编辑: 冉明会)