

erbB 基因表达与乳腺癌发生的相关关系^①

王劲松¹ 王深明¹ 黄雪玲¹ 吴惠茜² 叶财盛¹ 李晓曦¹

(中山医科大学 1 附属第一医院普外科; 2 病理教研室; 广州, 510080)

摘要 目的: 研究 c-erbB-2, c-erbB-4 原癌基因过度表达与乳腺癌发生及其病理参数的相关关系。方法: 对 122 例乳腺疾病石蜡切块, 其中 80 例乳腺癌, 16 例乳腺纤维腺瘤, 9 例乳腺纤维囊性病, 17 例乳腺癌转移淋巴结均采用免疫组化(LSAB 法)结合计算机图象分析研究原癌基因产物 c-erbB-2, c-erbB-4 的表达情况。结果: c-erbB-2 在乳腺癌中存在过度表达, $P < 0.05$ 。c-erbB-2 在乳腺癌转移淋巴结中的表达较原发灶中高, 在统计学上有显著意义。c-erbB-4 与 c-erbB-2 二者在乳腺癌中的表达有相关性, $P < 0.05$, 未发现 c-erbB-4 在乳腺癌中的表达在统计学上有显著意义。结论: c-erbB-2 过度表达不仅发生于乳腺癌早期, 而且可能在乳腺癌细胞转移、播散中有一定作用, 并可能是一个独立的预后指标。对于 c-erbB-4 在乳腺癌中的作用尚未肯定, 需要更深入的研究以证实。

主题词 乳腺肿瘤; 基因, erbB; 基因表达; 免疫组织化学

中图分类号 R 655.8; 602

CORRELATION OF ERBB EXPRESSION IN THE BREAST CARCINOMA

Wang Jinsong¹ Wang Shenming¹ Huang Xueling¹ Wu Huixi² Ye Caisheng¹ Li Xiaoxi¹

(1 General Surgery, First Affiliated Hospital 2 Department of Pathology, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080)

Abstract Objective To study the correlation between the overexpression of c-erbB-2, c-erbB-4 and breast carcinoma. **Methods:** Protein expression of oncogene c-erbB-2, c-erbB-4 was studied by immunohistochemistry (LSAB) and computer image analysis in 122 paraffin samples of breast diseases, which included 80 cases of breast carcinoma, 16 cases of breast fibroadenoma, 9 cases of fibrocystic disease of breast, 17 cases of metastatic lymph nodes of breast carcinoma. **Results:** Overexpression of c-erbB-2 was significant in breast carcinoma $P < 0.05$. Higher expression of c-erbB-2 in metastatic lymph nodes existed significantly than that in primary breast carcinoma. Expression of c-erbB-4 correlated with c-erbB-2 significantly in breast carcinoma $P < 0.05$. The expression of c-erbB-4 was of no significance in breast carcinoma. **Conclusions:** c-erbB-2 effects not only on the early stage of breast carcinoma, but also in the dissemination, metastasis of breast carcinoma cells and may be an independent prognostic indicator in breast carcinoma. The effect of c-erbB-4 in breast carcinoma is not definite. Further research is needed to study its effect.

Subject headings breast neoplasm; genes, erbB; gene expression; immunohistochemistry

乳腺癌是发生于女性最常见的恶性肿瘤。近年来关于乳腺癌的分子生物学研究和基因治疗的研究已深入广泛开展。现已证实 c-erbB-2 作为原癌基因, 在乳腺癌患者中有过度表达, 且预后欠佳^[1]。而与 c-erbB-2 同属 I 型酪氨酸激酶受体家族的 c-erbB-4 表达产物与乳腺癌的关系研究很少, 两者的关系未得以证实。本实验采用免疫组化, 计算机图像分析 c-erbB-2, c-erbB-4 基因产物在 80 例乳腺癌, 16 例乳腺纤维腺瘤, 9 例乳腺纤维囊性病, 17 例乳腺癌转移淋巴结中的表达, 分析二者之间的相关性以及与乳腺癌发生的关系。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 标本 收集我院 1994—1996 年间送检的乳腺疾

病存档石蜡标本 122 例, 其中乳腺癌 80 例, 乳腺纤维腺瘤 16 例, 乳腺纤维囊性病 9 例, 乳腺癌转移淋巴结 17 例存档蜡块。4 μm 厚切片 3 张, 1 张做 HE 染色, 另 2 张用于免疫组化。患者均为女性, 年龄 29—83 岁, 平均年龄 56 岁。

1.1.2 病理组织类型 采用 WHO 分类标准对乳腺癌标本进行病理分型: 髓样癌 2 例, 胶样癌 6 例, Paget 病 1 例, 浸润型小叶癌 4 例, 小叶癌 1 例, 原位导管癌 6 例, 混合导管及小叶癌 3 例, 浸润型导管癌 55 例, 印戒细胞癌 2 例。

1.2 免疫组化

采用 LSAB 法染色。切片脱蜡, 经等级酒精水化至蒸馏水后, 用于行 c-erbB-4 染色的玻片, 用 0.1% 胰酶消化液, 微波(低挡)2 min, 用 3% 过氧化氢微波炉(低挡 1 min)阻断内源性过氧化物酶, PBS 液洗 3 次。小牛血清封闭非特异性位点室温 10 min, 滴加 c-erbB-2 抗体(Dako, 兔抗人 A0485, 1:100)4 °C 过夜, c-erbB-4 抗体(Santa Cruz, 兔抗

人, Ca+Sc283 1:100)4 ℃过夜。加生物素标记的 IgG 工作液(Dako)37 ℃温箱 20 min, PBS 液洗; 加链霉素卵蛋白(Dako), 37 ℃温箱 20 min, PBS 彻底浸洗, DAB 显色, 苏木素淡复染, 常规脱水, 透明, 封固。用已知阳性切片做阳性对照, 已不加一抗做阴性对照。阳性反应为棕黄色。

1.3 计算机图像分析

在不知道任何临床和病理资料的情况下, 对免疫组化进行评估, 采用德国 Koution IBAS 计算机彩色图像分析仪(显微镜为德国 ZEISS, 20 摄录头为 JVC, 3-CCD)对棕黄色阳性物质进行定量分析, 细胞膜及浆内棕黄色的灰度高于背底灰度为阳性, 每张切片取 3 个视野, 取阳性物与背底灰度差平均值(G), 阳性物面积与视野面积比值平均值(A)为检测结果。

1.4 统计学分析

将所得结果及临床资料建立数据库, 采用 SPSS 软件包对数据库进行统计学分析。

2 结果

2.1 两种原癌基因产物在乳腺疾病中的表达

c-erbB-2 阳性表达棕黄色物多位于细胞膜上(见图 1),

其在乳腺良、恶性疾病中均有表达, 但表达在统计学上有显著性差异, 在乳腺癌中的表达远超过在良性疾病中的表达。我们的研究尚表明 c-erbB-2 在转移淋巴结中的表达阳性率高, 与其在乳腺癌原发灶中的表达, 在统计学上有显著性差异。c-erbB-4 阳性表达棕黄色物多位于细胞浆内, 呈颗粒状, 少部分位于细胞膜上(见图 2), c-erbB-4 在乳腺良、恶性疾病中的表达在统计学上无显著性差异。

2.2 两种原癌基因产物与乳腺癌病理类型的关系

c-erbB-2 c-erbB-4 表达产物与乳腺癌病理类型的关系, 见表 2。

因样本例数少, c-erbB-2, c-erbB-4 类型的表达差异未行统计学分析, 但 c-erbB-2 在原位导管癌中的表达阳性率较高。

2.3 两种原癌基因产物与乳腺癌临床病理特征的关系

c-erbB-2 c-erbB-4 与乳腺癌临床病理特征的关系, 见表 3。

c-erbB-2 在乳腺癌中表达与雌激素受体状态呈负相关。

c-erbB-4 表达与以上临床病理参数间无相关性。

2.4 两种癌基因产物在乳腺癌中表达的相关性

c-erbB-2 与 c-erbB-4 在乳腺癌表达之间的相关性, 见表 4 P < 0.05。

表 1 c-erbB-2、c-erbB-4 基因产物在乳腺疾病中的表达
Table 1 The expression of c-erbB-2、c-erbB-4 in breast diseases

Breast disease	n	c-erbB-2			c-erbB-4		
		+	%	P ¹⁾	+	%	P ¹⁾
Primary breast carcinoma	80	43	53.8	—	60	75.0	—
Metastisic LN	17	14	82.4	< 0.005	12	70.6	> 0.05
Fibroadenoma	16	2	12.5	< 0.05	12	75.0	> 0.05
Fibrocystic disease	9	0	0	< 0.05	7	77.8	> 0.05

1) compared with the primary breast carcinoma



图 1 c-erbB-2 在乳腺癌中的表达

Fig 1 The positive expression of c-erbB-2 in breast carcinoma (the arrow shows the positive product)

图 2 c-erbB-4 在乳腺癌中的表达

Fig 2 The positive expression of c-erbB-4 in breast carcinoma (the positive product)

表 2 c-erbB-2, c-erbB-4 表达产物与乳腺癌病理类型的关系

Table 2 The relationship between expression of c-erbB-2, c-erbB-4 and pathological diagnosis of breast carcinoma

Tissue diagnosis	n	c-erbB-2		c-erbB-4	
		+	%	+	%
Medullary carcinoma	2	2	—	2	—
Colloid carcinoma	6	3	50	3	50
Paget disease	1	1	—	1	—
Invasive lobular carcinoma	4	3	—	3	—
Lobular carcinoma	1	0	—	1	—
Duct carcinoma in situ	6	5	83.3	5	83.3
Mixed duct and lobular carcinoma	3	2	—	2	—
Invasive duct carcinoma	55	26	47.3	43	78.2
Ring carcinoma	2	1	—	1	—

表 3 c-erbB-2, c-erbB-4 与乳腺癌临床病理特征的关系

Table 3 The relationship between expression of c-erbB-2, c-erbB-4 and clinically pathological parameters

Clinically pathological parameters	n	c-erbB-2			c-erbB-4		
		+	%	P	+	%	P
Clinical class(TMN)							
I	25	16	64.0	> 0.05	21	84.0	> 0.05
II	26	18	69.2		21	80.8	
III	26	15	57.7		17	65.4	
IV	3	3	100		2	66.7	
LN status							
LN+	41	29	70.7	> 0.05	33	80.5	> 0.05
LN-	39	24	61.5		31	79.5	
ER status							
ER-	14	10	76.4	< 0.05	11	78.6	> 0.05
ER+	18	8	44.4		15	83.3	
PR status							
PR-	6	4	66.7	> 0.05	5	83.3	> 0.05
PR+	13	7	53.8		10	76.9	

表 4 c-erbB-2 与 c-erbB-4 在乳腺癌表达之间的相关性

Table 4 The analysis of correlation of c-erbB-2 and c-erbB-4 in breast carcinoma

C-erbB-4	c-erbB-2		total
	+	-	
+	40	20	60
-	3	17	20
Total	43	37	80

c-erbB-2 与 c-erbB-4 在乳腺癌中表达有相关性, 两者表达的相关性在统计学上均有显著意义。

3 讨论

在我们的研究中发现, c-erbB-2 在乳腺癌中的表达率为

53.75%, 高于国外文献报道的阳性率(20%~30%)^[2,3], 与国内文献报道的阳性率相似(33.3%~61.9%)^[4,5], 而 c-erbB-2 在乳腺纤维腺瘤、乳腺纤维囊性病等乳腺良性疾病中的表达明显低于在乳腺癌中的表达, 两者在统计学上有显著意义, 说明 c-erbB-2 的过度表达与乳腺癌的发生有关, 可作为检测乳腺癌的指标。

因样本数少, c-erbB-2 在乳腺癌各病理类型中的表达差异未行统计学分析。c-erbB-2 在原位导管癌的表达率较高, 与 Gusterson 等人发现原位导管癌有 40% 表达, 提示 c-erbB-2 在原位导管癌中表达较高相符^[6]。

Barnes 等认为 c-erbB-2 扩增可能发生于乳腺癌发生早期, 可作为癌前病变或早期肿瘤检测的敏感指标^[7]。但在我们的研究中发现, c-erbB-2 不仅在原位导管癌中表达较高, 而且在淋巴结转移灶与乳腺癌原发灶中 c-erbB-2 的过度表达在统计学上有显著性差异, 说明 c-erbB-2 扩增不仅

发生于乳腺癌早期,而且在癌细胞晚期转移播散中可能有一定作用。因此,对于其能否作为癌前病变或早期肿瘤检测的敏感指标,我们认为需要有更充足的证据以证实。

自1987年Slamon等报道c-erbB-2扩增与乳腺癌的不良预后有关以来,对该基因与乳腺癌各种临床病理参数之间的关系及预后意义的研究得到广泛的开展,但结论并未取得一致^[3,8,9]。许多研究者观察c-erbB-2癌基因异常与淋巴结状态、肿瘤大小、核或组织学分级、临床分期、组织学分类以及应用的激素受体状态和癌细胞倍性和S期化等的关系,经多因素分析表明,乳腺癌c-erbB-2基因扩散和过度表达与上述指标间无显著相关或仅有弱相关^[10,11],认为c-erbB-2是一个独立的预后指标。我们的研究中发现c-erbB-2过度表达仅与雌激素受体呈负相关(揭示c-erbB-2表达与ER表达之间可能互有影响,从而影响乳腺癌的生物学行为),而c-erbB-2与病理分期、病理类型、淋巴结状态无相关性,因此,我们也同意以上观点。

目前研究表明,c-erbB-2在与其配体结合时,必须与c-erbB-3或c-erbB-4基因产物之一同时作用,才能发生酪氨酸磷酸化,使c-erbB-2激活^[1]。因此推测c-erbB-4基因产物可能与乳腺癌发生有关,但有关此方面的研究报道很少,尚未取得结论。我们的研究表明c-erbB-2,c-erbB-4两者表达在乳腺癌中有相关性,在统计学上有显著意义,这表明c-erbB-4与c-erbB-2参与乳腺癌发生过程中,可能起间接的辅助作用,与Bacus等采用免疫组化方法检测c-erbB-4与c-erbB-2表达无相关性的结论相反^[12]。然而我们的研究尚发现,c-erbB-4基因产在乳腺癌中表达率为75%,在乳腺纤维腺瘤中的表达为80%,乳腺纤维囊性病为78%,在乳腺良、恶性疾病中其表达率无差异。在乳腺癌中,c-erbB-4的表达与乳腺癌病理分期、病理类型、淋巴结状态、雌、孕激素受体状态等指标均无相关性,提示c-erbB-4与乳腺癌的发展进程可能无关,与Bacus等研究认为c-erbB-4表达提示乳腺癌预后较好结果不同^[12]。这可能是由于该受体家族抗原决定簇之间存在交叉性,及产生抗体的抗原区域不同,抗体的特异性存在差异所致。随着对该受体家族的进一步了解,对c-erbB-4在乳腺癌中的表达及意义会有更多、更深入的研究。

参 考 文 献

- 姜 琨,童堤君. 原癌基因 c-erbB-2 研究进展. 中华医学杂志, 1996, 76(2): 158
- Slamon D J, Clark G M, Way S G, *et al*. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*, 1987, 235: 177
- Slamon D J, Godolphin W, Jones L A, *et al*. Studies of the HER-2/neu protooncogene in human breast and ovarian cancer. *Science*, 1989, 244: 707
- 陈仁胜, Yong L J T, Luel J K, 等. 乳腺癌预后与肿瘤基因 HER-2/neu 的研究. 中华病理学杂志, 1993, 22: 291
- 余薇荃, 刘尚廉, 张延珍, 等. 新鲜乳腺疾病组织 c-erbB-2 基因蛋白表达、癌胚抗原、性激素受体的研究. 肿瘤, 1994, 14: 19
- Gusterson B A, Machin L G, Gullick W J, *et al*. c-erbB-2 expression in benign and malignant breast disease. *Br J Cancer*, 1988, 58: 454
- Bames D M, Lammie G A, Millis R R, *et al*. An immunohistochemical evaluation of c-erbB-2 expression in human breast carcinoma. *Br J Cancer*, 1998, 88: 448
- Piffanelli A, Dittadi R, Catozzi L. Determination of erbB-2 protein in breast cancer tissues by different methods relationships with other biological parameters. *Breast Cancer Res Treat*, 1996, 37(3): 267
- Bekman M W, Niederacher D, Massenkeil G, *et al*. Expression analyses of epidermal growth factor receptors and HER-2/neu: No advantage of prediction of recurrence or survival in breast cancer patients. *Oncology*, 1996, 55: 441
- Nagai M A, Marques L A, Torloni H, *et al*. Genetic alterations in c-erbB-2 protooncogene as prognostic markers in human primary breast tumors. *Oncology*, 1993, 50(6): 412
- Paik S, Hazan R, Fisher E R. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project: prognostic significance of erbB-2 protein overexpression in primary breast cancer. *J Clin Oncol*, 1990, 8(1): 103
- Bacus S S, Chin D, Yarde Y. Type I receptor tyrosine kinases are differentially associated with steroid receptors. *Am J Pathol*, 1996, 148(2): 549

(1997-12-24 收稿 1998-02-15 修回)