

[文章编号] 1000-2200(2009)08-0656-03

· 基础医学 ·

PTEN、Rb 基因蛋白在乳腺癌中的表达及其意义

刘德纯, 赵云霞, 承泽农

[摘要] **目的:**探讨张力蛋白同源物磷酸酯酶(PTEN)、视网膜母细胞瘤(Rb)基因蛋白异常表达在乳腺癌发生、发展中的作用及其意义。**方法:**应用免疫组织化学 S-P 法检测 PTEN、Rb 基因蛋白在 150 例乳腺癌标本及 30 例乳腺良性增生性病变中的表达,并分析其异常表达与乳腺癌若干临床病理参数的关系。**结果:**PTEN、Rb 基因蛋白在乳腺癌组与乳腺良性病变组异常表达差异均有统计学意义($P < 0.005$)。PTEN 基因蛋白的失表达与乳腺癌淋巴结转移、雌激素受体(ER)失表达有一定关系($P < 0.05$)。Rb 基因蛋白的失表达与各临床病理参数均无关,只是在乳腺癌Ⅲ级中失表达率较高。ER 的表达与 Rb 蛋白的表达具有相关性($P < 0.05$)。**结论:**PTEN、Rb 基因蛋白在乳腺良性病变中有很高的表达率,在乳腺癌中表达率下降,表明其肿瘤抑制功能丧失,促进细胞的肿瘤性转化。PTEN 蛋白的表达与淋巴结转移、ER 失表达相关,对乳腺癌的预后判断有参考价值。

[关键词] 乳腺肿瘤;免疫组织化学;张力蛋白同源物磷酸酯酶;视网膜细胞瘤

[中国图书资料分类法分类号] R 737.9 **[文献标识码]** A

Significance of expressions of PTEN and Rb gene proteins in breast cancer

LIU De-chun, ZHAO Yun-xia, CHENG Ze-nong

(Department of Pathology, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the role and significance of abnormal expressions of phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10 (PTEN) and retinoblastoma (Rb) gene in the development of breast cancer. **Methods:** Immunohistochemical technique (S-P method) was used for detection of PTEN and Rb gene proteins in 150 cases of breast cancer and 30 cases of mammary benign proliferative lesions. The results were analyzed and compared with some clinicopathological parameters. **Results:** The protein expression levels of PTEN and Rb in breast cancer were significantly lower than those in benign proliferative lesions ($P < 0.005$). Loss of expression of PTEN protein was obviously related to lymph nodes metastasis and the loss of expression of estrogen receptor ($P < 0.05$). Loss of expression of Rb protein was not related to the clinicopathological parameters except the loss rate of expression was higher in grade III. The positive association was found between the expressions of PTEN and Rb proteins ($P < 0.05$). **Conclusions:** Expression rates of anti-oncogenes PTEN and Rb proteins are higher in benign proliferative lesions and decrease in breast cancer. The loss of inhibiting function of anti-oncogenes PTEN and Rb results in neoplastic transformation. Expression of PTEN relates to lymph nodes metastasis and the loss of expression of estrogen receptor, which shows a certain reference value to judge the prognosis of breast cancer.

[Key words] breast neoplasmas; immunohistochemistry; PTEN; Rb

[收稿日期] 2008-12-12

[基金项目] 安徽省教育厅自然科学基金资助项目(2004kj277)

[作者单位] 蚌埠医学院 病理学教研室,安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 刘德纯(1946-),男,教授。

抑癌基因是正常细胞内能抑制细胞生长的基因,其功能的丧失意味着对细胞过度增殖失去控制,并可促进细胞的肿瘤性转化。近年发现一些抑癌基因与乳腺癌的发生、发展有关,如10号染色体缺失

【参 考 文 献】

- [1] 中华人民共和国卫生部. 2006~2015年全国重点寄生虫病防治规划[J]. 中国实用乡村医生杂志, 2006, 13(11): 1-3.
- [2] Cohen S, McGregor IA, Carrington S. γ -globulin and acquired immunity to human malaria[J]. Nature, 1961, 192: 733-737.
- [3] Trang DT, Huy NT, Kariu T, et al. One-step concentration of malarial parasite-infected red blood cells and removal of contaminating white blood cells[J]. Malar J, 2004, 3: 7.
- [4] Zuckerman A, Spira D, Hamburger J. A procedure for the harvesting of mammalian plasmodia [J]. Bull World Health Organ, 1967, 37(3): 431-436.
- [5] 肖建华, 杨秋林主编. 分子寄生虫学实验指南[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2004: 12.
- [6] Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4[J]. Nature, 1970, 227(5259): 680-685.
- [7] 郭尧君. 蛋白质电泳技术[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 128-131.
- [8] 萨姆布鲁克 J 著. 分子克隆实验指南[M]. 第2版. 金冬雁译. 北京: 科学出版社, 1992: 894-898.
- [9] Janse CJ, Camargo A, Del Portillo HA, et al. Removal of leucocytes from Plasmodium vivax-infected blood[J]. Ann Trop Med Parasitol, 1994, 88(2): 213-216.
- [10] Wernsdorfer WH. 疟疾学(上)[M]//王 钊编译. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1992: 175-188.
- [11] Kirk K. Membrane transport in the malaria-infected erythrocyte [J]. Physiol Rev, 2001, 81(2): 495-537.
- [12] Grothaus GD, Kreier JP. Isolation of a soluble component of Plasmodium berghei which induces immunity in rats[J]. Infect Immun, 1980, 28(1): 245-253.

且与张力蛋白同源物磷酸脂酶 (phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10, PTEN) 和视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma, Rb) 基因等, 虽各有一些研究, 但尚未见对 PTEN 和 Rb 基因进行联合检测的报道。本实验采用免疫组织化学 S-P 法检测上述基因蛋白在乳腺癌组织和乳腺良性增生性病变中的表达情况, 并结合临床病理资料进行分析评价, 探讨它们在乳腺癌发生、发展中的作用与临床意义。

1 材料与方法

1.1 材料 来源于本教研室 2004~2005 年病理检查档案。选择连续 150 例乳腺癌切除标本, 均用 10% 甲醛固定, 石蜡包埋, 4 μm 切片, HE 染色。按照 WHO 乳腺肿瘤组织学分类 (2003) [1] 重新进行分类分级。随机选择 30 例乳腺良性增生性病变标本作为对照。

1.2 方法 用免疫组织化学 S-P 法检测 PTEN、Rb 蛋白和雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR) 的表达, 严格按有关操作规范进行标记, DAB 显色。所用即用型抗体和相关试剂均购自福州迈新生物技术开发有限公司。PTEN 蛋白 (多克隆抗体) 和 Rb 基因蛋白 (克隆号 1FB) 阳性染色见于细胞质和细胞核, 呈棕黄色颗粒; ER (克隆号 SP1)、PR (克隆号 SP2) 阳性染色均见于细胞核。切片中瘤细胞阳性率 > 10% 者为 (+)。实验中以已知的 PTEN、Rb、ER、PR 阳性片作阳性对照, 用 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.3 统计学方法 采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 临床病理资料 患者年龄 30~80 岁。肿瘤最大径 0.8~15 cm。T1 期 (肿瘤最大径 ≤ 2.0 cm) 57 例 (38%), T2 期 (肿瘤最大径 > 2.0 cm ~ 5.0 cm) 82 例 (54.7%); T3 期 (肿瘤最大径 > 5.0 cm) 11 例 (7.3%)。本组腋淋巴结清扫 95 例, 其中有 58 例发生转移, 转移率为 61.1%。组织学类型: 浸润性导管癌 (非特殊性) 121 例 (80.7%); 浸润性小叶癌 14 例 (9.3%); 导管原位癌 13 例 (8.7%); 髓样癌 2 例 (1.3%)。浸润性导管癌中 I 级 16 例 (13.2%), II 级 84 例 (69.4%); III 级 21 例 (17.4%)。乳腺癌中 ER 阳性 61 例 (40.7%), PR 阳性 54 例 (36.0%)。

2.2 PTEN 蛋白在乳腺病变中的表达及其与临床病理参数的关系 PTEN 蛋白在乳腺癌组中阳性表达 52 例 (34.7%), 阴性 98 例, 失表达率为 65.3%; 在乳腺良性病变中阳性表达 26 例 (86.7%), 阴性 4 例, 失表达率为 13.3%, 两组差异有统计学意义

($\chi^2 = 27.53, P < 0.005$)。PTEN 蛋白表达缺失在淋巴结转移组中有 44 例, 失表达率为 75.9%, 在无淋巴结转移组中 19 例, 失表达率为 51.4%, 两组差异有统计学意义 ($\chi^2 = 6.08, P < 0.05$); 在 ER 阳性组和 ER 阴性组, 其失表达率分别为 55.7% (34/61) 和 71.9% (64/89), 差异亦有统计学意义 ($\chi^2 = 4.18, P < 0.05$)。

2.3 Rb 蛋白在乳腺病变中的表达及其与临床病理参数的关系 Rb 蛋白在乳腺癌组中阳性表达 79 例 (52.7%), 阴性 71 例 (47.3%); 在乳腺良性病变组中阳性表达和阴性表达分别为 28 例 (93.3%) 和 2 例 (6.7%), 两组差异有统计学意义 ($\chi^2 = 17.15, P < 0.005$)。Rb 蛋白只是在组织学分级中其表达缺失率随分级增高而增高, 组织学 I、II、III 级中表达缺失率分别为 37.5% (6/16)、48.8% (41/84) 和 71.4% (15/21)。

2.4 PTEN 蛋白表达与 Rb 蛋白表达的关系 在 PTEN 蛋白表达阳性病例中 Rb 蛋白表达阳性率为 63.4%, PTEN 蛋白表达阴性病例中 Rb 蛋白的阳性表达率 45.9%, PTEN 蛋白表达与 Rb 蛋白表达具有相关性 (列联系数 $r = 0.186, P < 0.05$) (见表 1)。

表 1 PTEN 蛋白表达与 Rb 蛋白表达的关系 (n)

PTEN 表达	Rb 表达		合计	χ^2	P
	+	-			
+	34	18	52	4.41	<0.05
-	45	53	98		
合计	79	71	150		

3 讨论

癌基因和抑癌基因在乳腺癌发生、发展中的作用近年备受关注, 但由于病例选择、技术手段、观察标准等因素, 研究结果很不一致。在抑癌基因与乳腺癌关系方面, 对 PTEN 的研究较多, 对 Rb 研究甚少, 对二者进行联合检测者尚未见报道。

3.1 PTEN 蛋白在乳腺病变中的表达及其意义 PTEN 是 1997 年 Li 等应用代表性差异分析法研究原发性乳腺癌染色体 10q23 的同源性缺失区分离得到的一种新型肿瘤抑制基因, 具有磷酸酶的双重活性, 是迄今为止发现的第一个具有磷酸酶活性的抑癌基因, 其突变与前列腺癌、乳腺癌、膀胱癌和甲状腺癌等有关。PTEN 通过其磷酸酶活性调节细胞内多种信号转导途径, 从而调控细胞周期, 促进细胞凋亡, 抑制细胞生长。当 PTEN 发生突变后, 其异常产

物不具有上述功能,而失去对细胞生长的负调控作用,其表达水平的高低可作为判断乳腺肿瘤细胞增殖活性、侵袭力及转移的重要指标^[2-7]。

本研究显示,PTEN 蛋白在乳腺癌组的失表达率显著高于乳腺良性病变组,表明 PTEN 蛋白在乳腺良性增生性病变中已有一定比例的失表达,而在一些乳腺癌中表达缺失或减弱,提示其抑制细胞增殖的功能下降,与乳腺癌的发生、发展有关,这一观点也为其他研究所证实^[5-7]。

研究表明,PTEN 低表达患者肿瘤分级高,淋巴结转移阳性率高,5 年生存率低。如 Yuan^[3] 研究所,伴有腋淋巴结转移的乳腺癌组织 PTEN 失表达率显著高于无腋淋巴结转移者,这在一定程度上提示 PTEN 表达的缺失或减弱有利于乳腺癌的淋巴结转移。本实验中乳腺癌淋巴结转移组 PTEN 蛋白失表达率显著高于无淋巴结转移组,也提示 PTEN 基因突变使肿瘤更具有侵袭和转移能力,更容易发生淋巴结转移。

ER 阳性表达是乳腺癌对雌激素治疗敏感、预后较好的独立预后指标。本研究表明,ER 阴性组 PTEN 蛋白失表达率为 71.9%,与 ER 阳性组差异有统计学意义($P < 0.05$),与国内外多数报道相符合。PTEN 蛋白失表达时往往伴有 ER 表达缺失,提示 PTEN 基因改变是乳腺癌预后较差的指标。Bose 等^[4] 用免疫组化法检测乳腺癌 PTEN 蛋白表达结果与临床病理参数进行比较,也发现 PTEN 蛋白表达与 ER 表达缺失、淋巴结转移密切相关。PTEN 蛋白表达水平越低,患者预后越差,恶性程度越高。PTEN 低表达也可以作为他莫昔芬治疗 ER 阳性乳腺癌的重要预后指标^[5]。

3.2 Rb 蛋白在乳腺病变中的表达及其临床意义

Rb 基因是最早被克隆的肿瘤抑制基因,也是细胞周期中校验点的关键因子。Rb 基因的产物是一个负生长调控因子,其缺陷将引起细胞无限生长与繁殖,其纯合性缺失见于遗传性 Rb 及部分骨肉瘤、乳腺癌和小细胞肺癌等。Rb 基因定位于染色体 13q14。它在细胞核中以活化的脱磷酸化和失活的磷酸化形式存在。活化的 Rb 蛋白对于细胞从 G₀/G₁ 期进入 S 期有抑制作用。当细胞受到刺激开始分裂时,Rb 蛋白被磷酸化失活,使细胞进入 S 期。如果 Rb 基因失活,则 Rb 蛋白的表达就会出现异常,细胞就可能持续地处于增殖期,并可能由此恶变^[8,9]。

国内外研究显示,乳腺癌中 Rb 蛋白的表达下调或失表达率为 17% ~ 46%^[8,9]。本研究结果稍

高,Rb 蛋白在乳腺癌中的失表达率为 47.3%,在乳腺良性病变中失表达率为 6.7%,两组差异有统计学意义($P < 0.005$),提示 Rb 蛋白的表达缺失在乳腺癌中具有重要意义。Rb 蛋白的失表达与各临床病理参数均无相关性,但在组织学Ⅲ级中 Rb 基因蛋白失表达有明显增高。Dublin 等^[8] 研究显示,Rb 蛋白的失表达率在组织学Ⅲ级乳腺癌中有增高趋势,其他研究也发现 Rb 蛋白在乳腺癌中的表达率低于良性病变^[9,10]。因此 Rb 蛋白的失表达提示 Rb 基因的改变在乳腺癌发生、发展中具有重要作用,或在乳腺癌由低级别向高级别转化中发挥作用。

本研究表明,抑癌基因 PTEN、Rb 基因蛋白在乳腺良性病变中有很高的表达,在乳腺癌中其表达率下降,两者具有相关性,且均与乳腺癌组织学分级具有不同程度的关系,表明其肿瘤抑制功能丧失,促进细胞的肿瘤性转化,并可能具有协同作用。抑癌基因 PTEN 基因蛋白的表达与乳腺癌的分级、ER 表达状况等呈不同程度相关,与 Rb 基因蛋白相比对乳腺癌的预后判断更有参考价值,可作为乳腺癌的预后指标之一。

[参 考 文 献]

- [1] Tavassoli FA, Devilee P. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs [M]. Lyon: IARC Press, 2003: 10-80.
- [2] 万 榕,施东捷,王海燕,等. 乳腺癌组织抑癌基因 PTEN 的表达及其意义 [J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2005, 14 (4): 453-456.
- [3] Yuan HZ. The gene expression of the tumor suppressor PTEN in the breast cancer organizes [J]. J Prac Cancer, 2002, 17 (1): 37-39.
- [4] Bose S, Crane A, Hibshoosh H, et al. Reduced expression of PTEN correlates with breast cancer progression [J]. Hum Pathol, 2002, 33 (4): 405-409.
- [5] 张宏艳,宋三泰,江泽飞,等. 乳腺癌组织中 PTEN 的表达及其临床意义 [J]. 解放军医学杂志, 2006, 31 (10): 963-965.
- [6] 尹红玲,郑 晖. 乳腺癌组织中 PTEN 蛋白的表达 [J]. 中国医师杂志, 2001, 3 (10): 741-742.
- [7] 郭双平,翟宇强,王文亮,等. 抑癌基因 PTEN 在乳腺癌中的表达及意义 [J]. 肿瘤, 2002, 22 (4): 271-273.
- [8] Dublin EA, Patel NK, Gillett CE, et al. Retinoblastoma and p16 proteins in mammary carcinoma; their relationship to cyclin D1 and histopathological parameters [J]. Int J Cancer, 1998, 79 (1): 71-75.
- [9] 胡向阳,饶慧蓉. cyclinD1、Rb 基因蛋白在乳腺癌中的表达 [J]. 临床与实验病理学杂志, 1998, 14 (6): 558-560.
- [10] 张绪森,陈同钰,王旭芬. c-myc、Rb 及细胞 G₁ 期调控蛋白在乳腺癌中的表达 [J]. 诊断病理学杂志, 2004, 11 (3): 159-161.