

# 神经生长因子及其受体 p75 在乳腺癌中的表达

章 菊,叶书来,张昌龙,周 倩

**[摘要]** **目的:**探讨神经生长因子(NGF)及其低亲和力受体 p75 在乳腺癌中的表达及其意义。**方法:**采用 PV-9000 免疫组织化学方法检测 118 例乳腺疾病患者病灶组织中 NGF 和 p75 的表达。**结果:**NGF 在乳腺癌上皮细胞中表达,在恶性肿瘤中阳性率高于良性肿瘤( $P < 0.01$ ),在原位癌和浸润癌中阳性率差异无统计学意义( $P > 0.05$ );p75 在乳腺的肌上皮细胞表达,在良性肿瘤中的阳性率高于恶性肿瘤( $P < 0.01$ )。NGF 阳性率在肿瘤的分级、年龄、淋巴结转移间差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),p75 阳性率在年龄间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),而在肿瘤的分级和淋巴结转移间表达阳性率差异均有统计学意义( $P < 0.01$ 和  $P < 0.05$ )。**结论:**NGF 可能是乳腺癌发生、发展的分子事件,但与乳腺癌的浸润性进展无关;p75 可作为乳腺癌恶性程度的分子标志物。

**[关键词]** 乳腺肿瘤;神经生长因子;p75

**[中国图书资料分类法分类号]** R 737.9 **[文献标志码]** A

## The expression of nerve growth factor and its receptor p75 in breast cancer

ZHANG Ju, YE Shu-lai, ZHANG Chang-long, ZHOU Qian

(Department of Clinical Laboratory, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei Anhui 230071, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the expression and significance of nerve growth factor (NGF) and its receptor (p75) in breast cancer. **Methods:** The expressions of NGF and p75 in cancer tissue of 118 patients with breast disease were detected using immunohistochemical method of PV-9000. **Results:** The NGF expression in mammary tumor epithelial cells was detected, the positive expression rate of NGF in malignant tumor was higher than that in benign tumor ( $P < 0.05$ ), the difference of the NGF expression *in situ* and invasive carcinoma was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). The p75 expression in the mammary gland myo-epithelial cells was detected, the positive expression rate of p75 in benign tumor was higher than that in malignant tumor ( $P < 0.05$ ). The differences of the positive expression rate of NGF in tumor grade and lymph node metastasis, and patient age were not statistically significant ( $P > 0.05$ ). The difference of the positive expression rate of p75 in patient age was not statistically significant ( $P > 0.05$ ), but in tumor grade and lymph node metastasis, the differences were statistically significant ( $P < 0.01$  and  $P < 0.05$ ). **Conclusions:** NGF may be a molecular event of the occurrence and development of breast cancer, but it is unrelated with the invasion of breast cancer. p75 can be used as a molecular marker of malignant degree of breast cancer.

**[Key words]** breast neoplasm; nerve growth factor; p75

神经生长因子(NGF)是最早被发现的神经营养因子,对神经系统的发展起重要作用,能刺激外周交感神经元和感觉神经元的分化存活,NGF 也涉及了非神经细胞的肿瘤的发生。近年来发现,NGF 及其受体在多种肿瘤如胰腺癌、乳腺癌、肝癌等中均有表达,并在肿瘤发生、发展及预后等方面具有重要作用<sup>[1-2]</sup>。NGF 在不同肿瘤细胞中的生物学作用不完全相同,可能与受体类型及表达水平相关。p75 是 NGF 低亲和力受体。已有报道<sup>[3]</sup>,p75 通过中枢或外周神经系统参与人体多种肿瘤的发生、发展,但其

在乳腺癌中的表达变化及发生机制尚未完全明了。本研究应用免疫组织化学方法检测 118 例乳腺疾病中 NGF 及 p75 的表达,旨在探讨其与乳腺癌发展及转移之间的相关性。

### 1 资料与方法

**1.1 标本来源** 标本取自 2009 年 8 月至 2012 年 12 月我院收治、经病理组织学证实并行手术治疗的 118 例乳腺疾病患者,均为女性,年龄 40 ~ 75 岁。15 例乳腺小叶增生,15 例乳腺良性肿瘤,58 例乳腺原位癌(包括导管内原位癌 44 例,小叶原位癌 14 例),30 例浸润性乳腺癌(包括乳腺浸润性导管癌 21 例,浸润性小叶癌 5 例,黏液癌 4 例)。

**1.2 主要试剂** NGF- $\beta$  一抗为鼠抗人单克隆抗体(CAS),p75 单克隆抗体(abbiotec),SABC 试剂盒和

**[收稿日期]** 2013-10-11

**[基金项目]** 安徽省教育厅自然科学基金资助项目(KJ2012Z176)

**[作者单位]** 安徽省医科大学附属医院 检验科,安徽 合肥 230071

**[作者简介]** 章 菊(1975 -),女,硕士,主管检验师。

DAB 染色试剂盒(武汉博士德公司)。

1.3 免疫组织化学方法 采用 SABC 免疫组织化学法。全部标本经 10% 甲醛液固定,常规组织脱水,石蜡包埋,4  $\mu\text{m}$  厚连续切片后水化,然后作 SABC 染色,主要步骤:3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  阻断内源性过氧化物酶,滴加系列抗体(NGF- $\beta$  为 1:400, p75 为 1:200) 室温过夜,滴加生物素化二抗孵育,最后滴加 SABC 复合物。上述各步均以 PBS 洗涤 3 次。DAB 溶液显色,苏木素复染,脱水封片。以 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.4 结果判断标准 NGF 阳性表达主要位于胞质和胞膜,阳性表达均为棕黄色颗粒,阳性细胞百分比是阳性肿瘤细胞数占总肿瘤细胞数的比例。其表达分为 4 个等级: <10% 者为 -, 10% ~ 25% 为 1+,

>25% ~ 50% 为 2+, >50% 为 3+。其中 - ~ 1+ 为低表达, 2+ ~ 3+ 为高表达。p75 主要表达于乳腺肌上皮细胞的胞膜或胞质中,其染色阳性为棕黄色颗粒。据肿瘤细胞染色百分比(A)及染色强度(B)确定实验结果。A + B > 3 者为阳性,否则为阴性<sup>[4]</sup>。

1.5 统计学方法 采用  $\chi^2$  检验和秩和检验。

## 2 结果

2.1 不同患者 NGF 和 p75 表达比较 乳腺原位癌和浸润性乳腺癌 NGF 和 p75 的阳性率均高于乳腺疾病和良性乳腺癌( $P < 0.05$ ),但二者在乳腺原位癌和浸润性乳腺癌中阳性率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(见图 1、2 和表 1)。

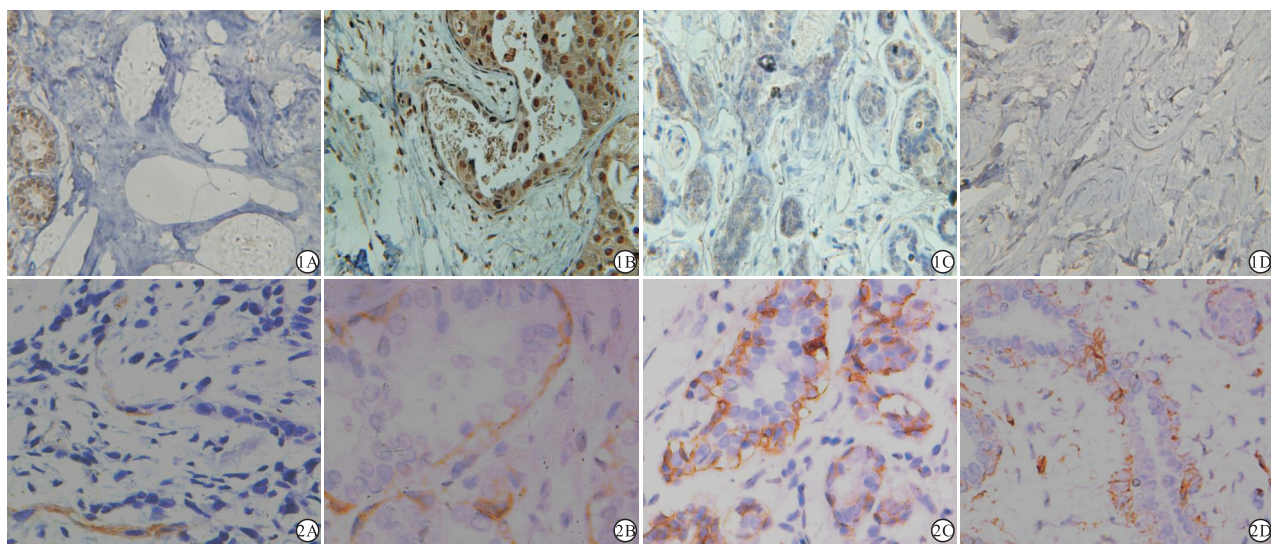


图1 NGF在乳腺癌中的表达(A:浸润癌;B:原位导管癌;C:乳腺纤维腺瘤;D:乳腺增生)

图2 p75在乳腺癌中的表达(A:浸润癌;B:原位导管癌;C:乳腺纤维腺瘤;D:乳腺增生)

表1 乳腺癌中 NGF 与 p75 表达比较 [n; 百分率 (%) ]

分组	n	NGF	p75
乳腺腺病和良性乳腺癌	30	6(20.0)	24(80.0)
乳腺原位癌	58	36(62.1) *	25(43.1) *
浸润性乳腺癌	30	18(60.0) *	6(20.0) *
合计	118	60(50.8)	55(46.6)
$\chi^2$	—	15.35	22.26
P	—	<0.01	<0.01

率的两两比较:与乳腺腺病和良性乳腺癌比较 \*  $P < 0.05$

2.2 乳腺癌临床病理学指标与 NGF 和 p75 表达的关系 p75 在乳腺癌分级间阳性率差异均有统计学意义( $P < 0.01$  和  $P < 0.05$ ),而在年龄间阳性率差异无统计学意义( $P > 0.05$ );NGF 在乳腺癌年龄、淋巴结转移和肿瘤分级间阳性率差异均无统计学意义

( $P > 0.05$ )(见表 2)。

表2 乳腺癌临床病理学指标与 NGF 及 p75 阳性表达的关系 [n; 百分率 (%) ]

临床病理学指标	n	p75	$\chi^2$	P	NGF	$\chi^2$	P
年龄/岁							
≤50	22	4(18.2)	3.74	>0.05	11(50.0)	0.06	>0.05
>50	66	27(40.9)			31(47.0)		
淋巴结转移							
有	30	6(20.0)	4.63	<0.05	17(56.7)	1.45	>0.05
无	58	25(43.1)			25(43.1)		
肿瘤分级							
I级	9	7(7/9)			5(5/9)		
II级	55	23(41.8)	18.34	<0.01	22(40.0)	3.60 <sup>#</sup>	>0.05
III级	24	1(4.2) * $\Delta$			15(62.5)		

#示 Hc 值;率的两两比较:与 I 组比较 \*  $P < 0.05$ ;与 II 组比较  $\Delta P < 0.05$

### 3 讨论

NGF 是一种“靶源性”多肽生长因子,在乳腺癌中常自分泌并与效应细胞上的受体发生特异性结合。依据受体亲和力的差异分为高亲和力受体(TrkA)和低亲和力受体(p75)。两者共同调节从而发挥 NGF 生物学作用<sup>[5]</sup>。

TrkA 高表达于乳腺恶性肿瘤中<sup>[6]</sup>,与肿瘤的恶性程度呈正相关;p75 属于肿瘤坏死因子家族成员,它的表达在多种肿瘤中被视为抑癌基因,并与肿瘤的良性预后相关<sup>[7-8]</sup>。在乳腺癌中,Sakamoto 等<sup>[9]</sup>对临床 71 例乳腺浸润性导管癌分析发现,p75 表达与凋亡指数相关,当 p75 阴性而 NGF 高表达时,提示患者预后不良。而且 p75 仅在乳腺肌上皮细胞层表达,可以作为乳腺癌向肌上皮细胞分化和浸润的一个辅助标志物<sup>[10]</sup>。然而,另有研究<sup>[11]</sup>表明,p75 与肿瘤的存活及抗凋亡密切相关,p75 可以通过 carboxyl-terminal 片段支持 PC12 细胞存活,并独立于 PI3-kinase, NF- $\kappa$ B/MAP 激酶信号通路。当乳腺癌细胞转染 p75 过表达载体时,肿瘤细胞发生凋亡抑制和药物抵抗<sup>[12]</sup>。

虽然以上研究显示 p75 可能与乳腺癌的抗凋亡作用相关,但大多数乳腺恶性上皮病变(除腺肌上皮-肌上皮细胞癌、腺样囊性癌、化生性癌和某些分化差的浸润性导管癌等少数癌外)通常查不到肌上皮细胞,p75 在乳腺癌细胞中的蛋白表达有限,因此其抗凋亡作用的发挥可能在其转录水平。但基于以上研究,本实验用免疫组织化学法分析 118 例乳腺疾者中的 NGF 和 p75 受体的表达,发现 NGF 在乳腺恶性肿瘤中阳性率高于良性肿瘤( $P < 0.01$ ),但在乳腺原位癌和浸润癌中 NGF 阳性率差异无统计学意义( $P > 0.05$ );因此 NGF 可能是乳腺癌发生、发展的分子事件,但与乳腺癌的浸润性进展无关;而 p75 在乳腺良性肿瘤中的阳性率高于其在恶性肿瘤中的表达( $P < 0.05$ ),并与肿瘤分级和淋巴结转移相关,因此,NGF、p75 联合其他指标检测可以作为乳腺癌恶性程度的分子标志物<sup>[9]</sup>。

#### [ 参 考 文 献 ]

[1] Li PY, Ke XL, Zhu Q, *et al.* Expression and clinical significance

of nerve growth factor in primary liver cancer[J]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*, 2013, 21(2): 121-124.

- [2] Yoshinori T, Ronald L. Tumor necrosis factor alpha regulates responses to nerve growth factor, promoting neural cell survival but suppressing differentiation of neuroblastoma cells[J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(3): 855-864.
- [3] Zhang YH, Khanna R, Nicol GD. Nerve growth factor/p75 neurotrophin receptor-mediated sensitization of rat sensory neurons depends on membrane cholesterol[J]. *Neuroscience*, 2013, 248C: 562-570.
- [4] Dewar R, Fadare O, Gilmore H, *et al.* Best practices in diagnostic immunohistochemistry: myoepithelial markers in breast pathology[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2011, 135(4): 422-429.
- [5] Negrini S, D'Alessandro R, Meldolesi J. NGF signaling in PC12 cells: the cooperation of p75(NTR) with TrkA is needed for the activation of both mTORC2 and the PI3K signalling cascade[J]. *Biol Open*, 2013, 2(8): 855-866.
- [6] 杨清玲, 陈昌杰, 高艳军, 等. 神经生长因子受体 TrkA 和 p75 在乳腺肿瘤中的表达及意义[J]. *华中科技大学学报*, 2011, 40(4): 423-428.
- [7] Rende M, Rambotti MG, Stabile AM, *et al.* Novel localization of low affinity NGF receptor (p75) in the stroma of prostate cancer and possible implication in neoplastic invasion: an immunohistochemical and ultracytochemical study[J]. *Prostate*, 2010, 70(5): 555-561.
- [8] Anagnostopoulou V, Padiatitakis I, Alkahtani S, *et al.* Differential effects of dehydroepiandrosterone and testosterone in prostate and colon cancer cell apoptosis: the role of nerve growth factor (NGF) receptors[J]. *Endocrinology*, 2013, 154(7): 2446-2456.
- [9] Sakamoto Y, Kitajima Y, Edakuni G, *et al.* Combined evaluation of NGF and p75 NGFR expression is a biomarker for predicting prognosis in human invasive ductal breast carcinoma[J]. *Oncol Rep*, 2001, 8(5): 973-980.
- [10] Reis-Filho JS, Steele D, Di Palma S, *et al.* Distribution and significance of nerve growth factor receptor (NGFR/p75NTR) in normal, benign and malignant breast tissue[J]. *Mod Pathol*, 2006, 19(2): 307-319.
- [11] Verbeke S, Tomellini E, Dhamani F, *et al.* Extracellular cleavage of the p75 neurotrophin receptor is implicated in its pro-survival effect in breast cancer cells[J]. *FEBS Lett*, 2013, 587(16): 2591-2596.
- [12] Wilmet JP, Tastet C, Desruelles E, *et al.* Desruelles E Proteome changes induced by overexpression of the p75 neurotrophin receptor (p75NTR) in breast cancer cells[J]. *Int J Dev Biol*, 2011, 55(7/9): 801-809.

( 本 文 编 辑 刘 璐 )