

乳腺浸润性导管癌中 Clusterin 蛋白表达及其与临床病理特征的关系

The Expression of Clusterin Protein in Invasive Ductal Breast Cancer and Its Relationship with Clinicopathologic Features // LI Jing-wu, ZHANG Jing-hua, XUE Shu-xia, et al.

李景武¹, 张景华¹, 薛书霞¹, 张志勇²

(1.唐山市人民医院, 河北 唐山 063001; 2.唐山市工人医院, 河北 唐山 063000)

摘要: [目的] 探讨细胞凋亡抑制因子 Clusterin 在乳腺浸润性导管癌组织中的表达及其与临床病理因素的关系。[方法] 应用免疫组化 SP 法检测 70 例乳腺浸润性导管癌、20 例乳腺增生和 10 例乳腺癌旁组织标本中 Clusterin 的表达情况。[结果] Clusterin 在乳腺癌旁正常组织、乳腺增生及乳腺浸润性导管癌组织中的阳性表达率分别为 0、20.0% 及 71.4%, 乳腺浸润性导管癌组织中的 Clusterin 表达水平明显高于乳腺增生及乳腺癌旁正常组织 ($P < 0.05$)。Clusterin 蛋白在乳腺浸润性导管癌中的表达与临床分期、组织学分级及淋巴结转移情况有关 ($P < 0.05$), 而与患者年龄、肿瘤大小无关 ($P > 0.05$)。在乳腺浸润性导管癌组织中 Clusterin 与 ER、PR 的表达呈负相关 ($P < 0.05$)。[结论] Clusterin 可能在乳腺癌的发生发展中发挥重要促进作用, 可望成为乳腺浸润性导管癌诊断中的标志物及新的治疗靶点。

关键词: 乳腺肿瘤; 浸润性导管癌; Clusterin 蛋白; 免疫组织化学

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2012)06-0405-03

肿瘤的发生发展与细胞凋亡基因及抑制细胞凋亡基因相互调控作用密切相关。其调控机制的失常是肿瘤产生的重要原因之一^[1]。簇集蛋白(Clusterin)是近年新发现的凋亡相关因子, 已有研究表明 Clusterin 在多种肿瘤中表达上调, 其作用及变化特点是国内外关注的一个热点, 许多学者发现其在多种恶性肿瘤中(如前列腺癌、肾癌、膀胱癌、胰腺癌及淋巴瘤等)表达异常, 但在乳腺癌中的表达变化及机制目前研究较少^[2]。本文通过分析 Clusterin 在乳腺浸润性导管癌组织中的表达, 进一步阐明其与肿瘤发生发展的关系及其临床意义。

1 材料与方法

1.1 一般资料

100 例乳腺组织取自唐山市人民医院 2006 年 7 月至 2009 年 7 月期间手术切除标本, 患者均为女性, 年龄为 14~77 岁, 中位年龄 46 岁, 所有病例均由两位以上病理医师确诊。其中, 乳腺浸润性导管癌 70 例, <50 岁 27 例, ≥50 岁 43 例, 术前均未进

通讯作者: 张景华, 副院长, 硕士生导师, 博士; 河北省唐山市人民医院普外科, 河北省唐山市路南区胜利路 65 号(063001); E-mail: jinghuazh2003@yahoo.com.cn。

收稿日期: 2011-10-11; **修回日期:** 2012-03-18

行放、化疗及免疫治疗。依据 2003 年 WHO 乳腺癌分类标准进行组织学分类: 非特殊型浸润性导管癌 58 例, 特殊型浸润性导管癌 12 例(髓样癌 7 例, 黏液腺癌 3 例, 乳头状癌 2 例); 组织学分级: I~II 级 45 例, III 级 25 例。根据国际抗癌协会 TNM 分期方案将乳腺癌分为: I~II 期 42 例, III 期 28 例。70 例乳腺浸润性导管癌中 41 例有淋巴结转移。另取癌旁乳腺组织(距癌组织 ≥4cm、组织学结构正常)10 例, 乳腺增生 20 例作对照。所有标本均经 10% 甲醛固定, 石蜡包埋, 4μm 连续切片。

1.2 免疫组织化学

应用免疫组化 SP 法检测 Clusterin 蛋白的表达情况。Clusterin 蛋白阳性产物主要位于胞浆中, 阳性表达为棕黄色颗粒。采用半定量计分法判定^[3], 随机观察 10 个高倍视野(×400)后评价结果, 肿瘤细胞按染色强度分为 4 等: 0 分为无染色; 1 分为浅黄色; 2 分为棕黄色; 3 分为棕褐色。再按照肿瘤阳性细胞所占的百分数分为 5 组: 0 分, 无着色; 1 分, ≤10%; 2 分, 11%~50%; 3 分, 51%~75%; 4 分 ≥75%。蛋白表达程度计分: 染色强度计分 × 染色百分比计分。将 0~2 分定为阴性, 2 分以上定为阳性。

ER、PR、C-erbB-2 染色结果判断: ER、PR 蛋白均表达于癌细胞核, 呈黄色或棕黄色颗粒状, 采用半

定量计分法判定。C-erbB-2 表达于癌细胞包膜,呈黄色或棕黄色颗粒状,判断标准为: -:癌细胞膜无着色;+:任何比例的癌细胞呈现微弱、不完整包膜着色或<10%的癌细胞呈现弱至中度、完整但不均匀的细胞膜着色;+: ≥10%的癌细胞呈现弱至中度、完整但不均匀的包膜着色,或者≤30%的癌细胞呈现强而完整的包膜着色;+: >30%的癌细胞呈现强而完整的包膜着色。

1.3 统计学处理

对所有数据录入前进行严格校对,采用 SPSS13.0 统计软件进行统计分析,不同组间蛋白表达差异采用 χ^2 检验,相关性检验采用 Spearman 相关分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Clusterin 蛋白在不同乳腺组织中的表达

免疫组化结果显示,70 例乳腺浸润性导管癌组织中,有 50 例 Clusterin 蛋白呈阳性表达,其阳性表达率高达 71.4%(50/70);而 10 例乳腺癌旁组织中无阳性表达,乳腺增生组织的阳性表达率也仅为 20.0%。Clusterin 蛋白在乳腺癌组织中的阳性表达率显著高于乳腺增生组织及乳腺癌旁组织,差异有统计学意义($P<0.05$)。Clusterin 蛋白的阳性表达率在乳腺增生组织与乳腺癌旁组织中差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1,图 1~2。

表 1 Clusterin 蛋白在不同乳腺组织中的表达

组别	例数	Clusterin 表达		χ^2	P
		阳性数	阳性率(%)		
乳腺癌旁组织	10	0	0	2.308	0.129*
乳腺增生组织	20	4	20.0	17.143	0.000●
乳腺浸润性导管癌	70	50	71.4	19.048	0.000▲

注: *乳腺癌旁组织与乳腺增生组织组间比较; ●乳腺增生组织与乳腺癌组间比较; ▲乳腺癌旁组织与乳腺癌组间比较。

2.2 乳腺浸润性导管癌中 Clusterin 蛋白阳性表达与临床病理特征之间的关系

如表 2 所示,Clusterin 蛋白的表达随着临床分期的升高而增加,临床 I ~ II 期的阳性表达率为 61.9%,临床 III 期的阳性表达率为 85.7%,差异有统计学意义 ($P=0.031$);Clusterin 在乳腺浸润性导管癌组织学分级 I ~ II 级、III 级的阳性表达率分别为 62.2%和 88.0%,差异亦有统计学意义($P=0.022$);在

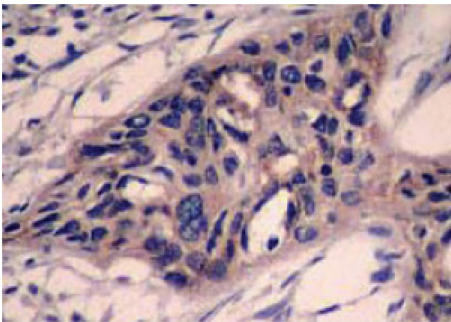


图 1 Clusterin 蛋白在乳腺浸润性导管癌 I ~ II 级中阳性表达 (SP 法×400)

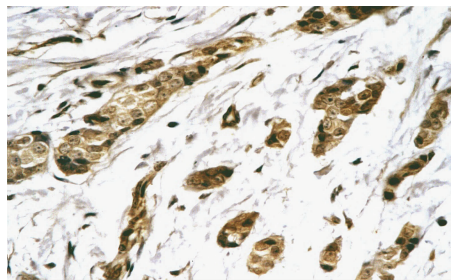


图 2 Clusterin 蛋白在乳腺浸润性导管癌 III 级中阳性表达 (SP 法×400)

无淋巴结转移和有淋巴结转移的乳腺浸润性导管癌组织中的阳性表达率分别为 58.6%和 80.5%,差异具有统计学意义($P=0.046$);但 Clusterin 蛋白表达与患者年龄、肿瘤大小及组织学类型无关($P>0.05$)。

2.3 Clusterin 蛋白表达与 ER、PR、C-erbB-2 的关系

表 3 显示 ER、PR 与 C-erbB-2 在乳腺浸润性导管癌中的阳性表达率分别为 51.4%(36/70)、47.1%(33/70) 和 60.0%(42/70)。Spearman 相关分析表明 Clusterin 蛋白在癌组织中的表达分别与 ER ($r=-0.362$)、PR ($r=-0.290$)呈负相关,差异具有统计学意义($P<0.05$)。而 Clusterin 蛋白在癌组织中的表达与 C-erbB-2 无相关性($P>0.05$)。

3 讨 论

Clusterin 又名 SGP-2,是近年新发现的凋亡抑制因子,是一种细胞外伴侣,与 DNA 修复、细胞周期调控、细胞凋亡和肿瘤发生有关^[4]。广泛存在于人类的许多组织中,如睾丸、附睾、肾脏、心脏、子宫、卵巢、乳腺及前列腺,也几乎存在于包括血浆、乳汁、尿液、脑脊液和精液等所有体液中^[5,6]。因此,Clus-

表 2 乳腺浸润性导管癌中 Clusterin 蛋白阳性表达与临床病理特征之间的关系

临床病理因素	例数	Clusterin 表达		χ^2	P
		阳性数	阳性率(%)		
肿瘤直径(cm)					
<3	24	16	66.7	0.406	0.524
≥3	46	34	73.9		
年龄(岁)					
≥50	43	31	72.1	0.024	0.887
<50	27	19	70.4		
组织学类型					
特殊型浸润性导管癌	12	9	75.0	0.091	0.764
非特殊型浸润性导管癌	58	41	70.7		
组织学分级					
I~II级	45	28	62.2	5.233	0.022
III级	25	22	88.0		
临床分期					
I~II期	42	26	61.9	4.667	0.031
III期	28	24	85.7		
淋巴结转移					
无	29	17	58.6	3.980	0.046
有	41	33	80.5		

表 3 Clusterin 蛋白表达与 ER、PR、C-erbB-2 的关系

指标	Clusterin		r	P
	+	-		
ER				
+	20	16	-0.362	0.002
-	30	4		
PR				
+	19	14	-0.290	0.015
-	31	6		
C-erbB-2				
+	32	10	0.129	0.287
-	18	10		

terin 具有多种生物学功能,主要包括调节细胞—细胞、细胞—基质的相互作用、参与脂质运输、补体调节、参与生殖、抑制细胞凋亡^[7]。Clusterin 在前列腺癌、膀胱癌等恶性肿瘤中均表达上调,与肿瘤恶性程度密切相关。尽管 Clusterin 在恶性肿瘤发生、发展中的确切分子机制还不清楚,但近年的研究结果显示,Clusterin 可能通过抗细胞凋亡机制而发挥促瘤生长的作用。Sintich 等^[3]认为 Clusterin 及抗体均为大分子蛋白,不可能进入细胞内发生作用,细胞膜是其作用部位,Clusterin 是在细胞外发挥抗凋亡作用的。

Kruger 等^[8]发现 Clusterin 表达上调与乳腺从正常组织到癌前病变和乳腺恶性变的进展密切相关。本实验应用免疫组化检测发现 Clusterin 在正常乳腺组织中不表达,乳腺增生病变中低表达(阳性表达

率为 20.0%),在乳腺浸润性导管癌中高表达(阳性表达率为 71.4%),提示其可能在乳腺浸润性导管癌发生、发展中起重要促进作用。

本研究还发现 Clusterin 在乳腺浸润性导管癌组织中的表达与肿瘤的分化程度、临床分期及淋巴结转移情况相关 ($P<0.05$),分化程度越低、分期越晚、伴有淋巴结转移 Clusterin 的阳性表达率越高,表明随着肿瘤的进展,Clusterin 表达增强。因此我们考虑 Clusterin 在乳腺浸润性导管癌组织中高表达可预示肿瘤有较高的恶性程度和侵袭性,这与 Clusterin 在其他恶性肿瘤的研究一致^[9]。本研究发现 Clusterin 的表达与患者年龄、肿瘤大小、组织学类型不相关,这与 Kruger 等^[8]的研究一致。Clusterin 蛋白在癌组织中的表达分别与 ER、PR 显著负相关 ($P<0.05$),但与 C-erbB-2 不相关 ($P>0.05$),乳腺癌组织中 Clusterin 蛋白高表达提示内分泌治疗效果不佳。Clusterin 有可能成为乳腺浸润性导管癌诊断中的标志物,有望成为乳腺浸润性导管癌靶向治疗的新靶点。

参考文献:

- [1] Schmitt E, Paquet C, Beauchemin M, et al. DNA-damage response network at the crossroads of cell-cycle checkpoints, cellular senescence and apoptosis[J]. Zhejiang Univ Sci B, 2007, 8(6): 377-397.
- [2] Xie D, Lau SH, Sham JS, et al. Up-regulated expression of cytoplasmic clusterin in human ovarian carcinoma [J]. Cancer, 2005, 103(2): 277-283.
- [3] Sintich SM, Steinberg J, Kozlowski JM, et al. Cytotoxic sensitivity to tumor necrosis factor-alpha in PC3 and LNCaP prostatic cancer cells is regulated by extracellular levels of SGP-2(clusterin)[J]. Prostate, 1999, 39(2):87-93.
- [4] Redondo M, Tellez T, Roldan MJ. The role of clusterin (CLU) in malignant transformation and drug resistance in breast carcinomas[J]. Adv Cancer Res, 2009, 105:21-43.
- [5] Trougakos IP, Gonos ES. Clusterin/apolipoprotein J in human ageing and cancer [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2002; 34(11): 1430-1448.
- [6] Trougakos IP, So A, Jansen B, et al. Silencing expression of the clusterin/ apolipoprotein J gene in human cancer cells using small interfering RNA induces spontaneous apoptosis, reduced growth ability, and cell sensitization to genotoxic and oxidative stress [J]. Cancer Res, 2004, 64 (5): 1834-1842.
- [7] Pajak B, Orzechowski A. Clusterin: the missing link in the calcium-dependent resistance of cancer cells to apoptogenic stimuli [J]. Postepy Hig Med Dosw (Online), 2006, 60 (5):45-51.
- [8] Kruger S, Ola V, Fischer D, et al. Prognostic significance of clusterin immunoreactivity in breast cancer [J]. Neoplasma, 2007, 54(1):46-50.
- [9] 王松文, 李勇, 王洁. Clusterin 和 Syk 在大肠癌中的表达及意义[J]. 肿瘤学杂志, 2011, 17(4):274-277.