

# 乳腺癌 c-erbB-2、E-cad 蛋白表达的意义及其相关性的探讨

吴跃龙,李 静,潘 刚

**摘要:**目的 探讨乳腺癌中 c-erbB-2、E-cad 蛋白表达与临床病理参数,淋巴结转移,临床预后的关系及其相关性。方法 应用免疫组织化学二步法技术检测 72 例乳腺癌组织中二种蛋白的表达状况。结果 c-erbB-2 蛋白的超表达,E-cad 蛋白表达下降与病理分级、核分裂、淋巴结转移、生存期短等不良因素呈正相关趋势。结论 c-erbB-2、E-cad 蛋白在乳腺癌中的表达呈负相关,在乳腺癌的发生发展中独自发挥作用。

**关键词:**乳腺肿瘤;免疫组织化学;c-erbB-2;E-cad

**中图分类号:**R737.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-8578(2002)06-0460-03

## The prognostic value and correlation of c-erbB-2 and E-cadherin protein expression in human breast carcinoma

WUYue-long, LIJin-g, PAN Gan-g

Department of Pathology, Shanghai Jiao-Tong Central Hospital, Shanghai 201800, China

**Abstract: Objective** The aim of the present study was to investigate the relationship between the gene protein expression of c-erbB-2, E-cadherin and clinical data, and to analyze the correlation among these two gene proteins in the prognostic determination of human breast carcinoma.

**Methods** In 72 cases of breast carcinoma, 2 proteins were detected by immunohistochemical methods. **Results** The gene protein overexpression of c-erbB-2 and decrease expression of E-cadherin were significantly correlated with lymph node metastasis, short survival. **Conclusion** The gene protein expression of c-erbB-2 and E-cadherin was significantly correlated and was an independent prognostic factor in the occurrence and development of breast carcinoma.

**Keywords:** Breast neoplasms; Immunohistochemistry; c-erbB-2; E-cad

癌基因 c-erbB-2 的扩增是乳腺癌中较为常见的基因改变,它的超表达往往预示着癌细胞增殖,已可以作为探讨乳腺癌预后分子指标的主要代表<sup>[1]</sup>。上皮钙粘附素(E-cad)是一种钙依赖的具有细胞与细胞粘附特性的转膜糖蛋白,维持上皮细胞的形态和组织结构<sup>[2]</sup>,是乳腺癌预后的相关因素。本文应用免疫组织化学二步法技术检测 c-erbB-2、E-cad 蛋白在乳腺癌中的表达状况,探讨其与乳腺癌的临床病理参数的关系以及二种蛋白在乳腺癌中的相关性。

### 1 资料和方法

1.1 选取 1994 年 1 月~1996 年 1 月在本院确诊为女性乳腺浸润性导管癌根治切除手术标本的存档蜡块 72 例,临床随访资料完整。患者年龄为 32~76 岁,平均 50.5 岁。30~39 岁 7 例,40~49 岁 32 例,50 岁以上 33 例。术前均未做化疗和放疗。术后化疗 56 例,化疗加放疗 5 例,未做治疗 11 例。术后无

复发与器官转移 53 例,有复发与器官转移并已死亡 19 例,随访时间 5~7 年,平均 63 个月。

1.2 病理指标 病理学分级和核分裂计数参照 Bloom-Richardson 系统的 Nottingham 改良方案<sup>[3]</sup>。

1.3 免疫组织化学方法 免疫组化试剂均为美国 ADI 产品,即用型,购自上海长岛抗体公司。切片二甲苯脱蜡,酒精梯度水化后置于 pH6.0 的柠檬酸缓冲液中煮 15min,室温冷却 20min,PBS 冲洗,滴加试剂 A(抗体),室温放置 60min,PBS 冲洗,滴加试剂 B(检测试剂),室温放置 30min,PBS 冲洗,DAB 显色,苏木素复染,脱水,封片。用已知乳腺癌阳性切片作阳性对照,以 PBS 取代试剂 A 作阴性对照。

1.4 结果判断 c-erbB-2 的免疫染色结果判定标准:A 项,按切片中癌细胞有无深浅黄色计分,0 分为不着色,1 分为浅黄色,2 分为棕黄色,3 分为棕褐色。B 项,按显色细胞的比例评分,1 分为 1%~10%,2 分为 11%~50%,3 分为 51%~80%,4 分为 >80%。每例癌细胞积分按 A×B 计算,0 分为阴性,1~4 分为弱阳性,>4 分为强阳性。E-cad 免疫结果判定标

收稿日期:2001-12-24;修回日期:2002-01-16

作者单位:201800 上海市嘉定区中心医院病理科

准, E-cad 免疫染色阳性物质呈棕褐色, 主要定位于细胞膜或围绕细胞膜呈线性着色, 无阳性细胞者为阴性, 阳性细胞占总细胞数的 25% 以下为 +, 25% ~ 75% 为 ++, 75% 以上为 +++。

1.5 统计学方法 采用  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

2.1 免疫组化结果 72 例乳腺浸润性导管癌 c-erbB-2 阳性 37 例 (51.39%)。阳性染色主要定位于细胞膜上, 少数伴有弱的胞浆染色。E-cad 阳性 39 例 (54.17%), 阳性染色定位于细胞-细胞交界处, 或围绕细胞膜呈线性着色, 见表 1。

表 1 72 例乳腺癌 c-erbB-2、E-cad 免疫组化结果

类别	c-erbB-2	E-cad
阳性例数 (%)		
强阳性	20 (54.05)	22 (56.41)
弱阳性	17 (44.95)	17 (43.59)
合计	37 (51.39)	39 (54.17)
阴性例数 (%)	35 (48.61)	33 (45.83)

2.2 两种基因蛋白表达之间的关系, 见表 2。

表 2 72 例乳腺癌 c-erbB-2、E-cad 表达之间的关系

c-erbB-2	n	E-cad			阳性率 (%)
		-	++	+++	
-	35	9	8	18	74.29
+	17	10	5	2	41.18
++	20	14	4	2	30
合计	72	33	17	22	54.17

在 35 例 c-erbB-2 染色阴性的病例中, E-cad 染色阳性 26 例 (74.29%), 在 37 例 c-erbB-2 染色阳性的病例中, E-cad 染色表达阳性 13 例 (35.14%), 两者比较存在明显的负相关趋势, 统计学上有非常显著意义 ( $P < 0.005$ )。

2.3 两种蛋白表达与临床病理参数的关系, 见表 3。

表 3 72 例乳腺癌两种蛋白表达与临床病理参数的关系

项目	分数	n	c-erbB-2、E-cad 表达状况 (n)			
			A	B	C	D
肿瘤大小	<30 (mm)	43	7	8	13	15
	>30 (mm)	29	2	5	11	11
病理分级	I	20	0	2	6	12
	II	39	0	4	15	20
	III	13	3	1	9	0
核分裂数	I	18	1	5	1	11
	II	36	7	8	8	13
	III	18	3	2	13	0
淋巴结转移	有	42	2	1	29	10
	无	30	0	5	2	23
生存期	<5 年	19	2	3	13	1
	>5 年	53	4	7	14	28

注: A: 两项均阴性 B: 两项均阳性 C: 仅 c-erbB-2 阳性 D: 仅 E-cad 阳性

2.3.1 与病理分级、核分裂计数的关系 随着乳腺癌分级的升高, c-erbB-2 过度表达率升高, I 级和 III 级、II 级和 III 级间差异均有显著性,  $P < 0.005$ , I 级和 II 级间差异无显著性,  $P > 0.05$ 。E-cad 蛋白表达随乳腺癌

分级的升高而下调, 病理分级 I 级和 III 级、II 级和 III 级间差异有显著性,  $P < 0.005$ , I 级和 II 级间差异无显著性,  $P > 0.05$ ; 核分裂计数 I 级和 III 级、II 级和 III 级、I 级和 II 级间差异均有显著性,  $P < 0.005$ 。

2.3.2 与淋巴结转移的关系 72 例乳腺癌中有淋巴结转移的 42 例, c-erbB-2、E-cad 蛋白表达的阳性率分别为 71.43% (30/42) 和 26.19% (11/42); 无淋巴结转移组 30 例, c-erbB-2、E-cad 蛋白表达的阳性率分别为 23.33% (7/30) 和 93.33% (28/30), 两两相比差异有非常显著意义 ( $P < 0.005$ )。

2.3.3 与病人术后生存期的关系 72 例乳腺癌术后生存期 5 年以下组 19 例, c-erbB-2、E-cad 蛋白表达阳性者分别为 16 例 (84.21%) 和 4 例 (28.57%); 术后生存期 5 年以上组 53 例, c-erbB-2、E-cad 蛋白表达阳性者分别 21 例 (39.62%) 和 35 例 (66.04%)。两组间两种蛋白表达阳性的差异有显著性 ( $P < 0.005$ )。

## 3 讨论

c-erbB-2 基因作为一种原癌基因, 在体内承担着重要的生理功能, 参与对细胞生长、繁殖、分裂的调控及控制肿瘤生长等复杂调控功能。介导上皮细胞粘附的最主要分子是钙依赖性上皮细胞粘附分子 E-钙粘附素 (E-cad), 属同种亲和性粘附分子, 其功能障碍或缺失会使正常细胞与正常细胞间的粘附缺失, 影响细胞的分化和粘着, 肿瘤细胞间的连接也减弱, 瘤细胞易于从母体脱离, 发生转移。

c-erbB-2 具有转化细胞的功能, 其过度表达的肿瘤细胞对化疗不敏感, 还能下调粘附分子 E-cad 和整合素  $\alpha$  亚单位, 促进细胞的侵袭; 另外, 能促进在血管生成中起重要作用的 VEGF 的产生<sup>[4]</sup>。从表 2 可以看出, 本组 72 例乳腺癌中 c-erbB-2 蛋白表达 -、+、++ 组的 E-cad 表达阳性率分别为 74.29% (26/35)、41.18% (7/17)、30% (6/20), c-erbB-2 和 E-cad 蛋白表达呈明显的负相关趋势, 统计学上有非常显著意义。本研究中, 我们还比较了 c-erbB-2 蛋白高表达与 E-cad 蛋白表达阴性、与两者均阳性、与两者均阴性这三种情况下, 对乳腺癌的病理学分级、核分裂、淋巴结转移、生存期方面的影响, 其差异无显著性, 说明 c-erbB-2 和 E-cad 蛋白表达对乳腺癌的演进没有叠加作用, 可能在乳腺癌的发生发展中独自发挥作用。

本研究显示, c-erbB-2 基因蛋白的超表达和 E-cad 蛋白表达下调与乳腺癌的病理学分级、核分裂、淋巴结转移、生存期短等不良因素关系密切。有淋巴结转移组和无淋巴结转移组 c-erbB-2 蛋白表达的阳性率分别为 71.43% 和 22.33%, 差异有显著性。同时我们也注意到, 在 c-erbB-2 蛋白阳性表达的 16 例死亡者中有 4 例无淋巴结转移 (25%)。上述结果说明: 用 c-erbB-2

表达预测乳腺癌的预后优于用淋巴结转移预测预后。另外,从表 3 可以看出,在淋巴结转移方面,E-cad 所起的负面作用似比 c-erbB-2 更强,E-cad 表达阴性的乳腺癌病人的淋巴结转移率显著增高。说明 E-cad 表达下调是乳腺癌浸润性增强、转移能力增强的一个指征,是乳腺癌重要的预后因子<sup>[5]</sup>。

参考文献:

[1] Slamon DJ, Clark GM, Wong M, et al. Human breast cancer correlation of the overexpression of HER-2/neu. *J. Oncol. Gene.* 1987;23:177-179.

[2] 韩安家,熊敏,李智,梁英杰. 上皮钙粘素相关分子在乳腺浸润性小叶癌和导管癌中表达的意义[J]. 中华病理学杂志, 2001,30 (1):27-30.

[3] 回允中. 阿克曼外科病理学[M]. 第 8 版下卷. 沈阳:辽宁教育出版社,1999.1625.

[4] 朱孝峰,曾益新,杨大俊.ST2325 对 c-erbB-2 过表达的乳腺癌细胞周期的影响及分子机制[J]. 中国癌症杂志,2001,11 (2):97-100.

[5] 赵书燕,张晓杰.E-cadherin 在乳腺癌中的表达及其意义[J]. 临床与实验病理学杂志,2000,16 (3):217-218.

(刘红武校对)

## 肺癌患者手术前后 NK 细胞及 T 细胞亚群的变化

蒋永新<sup>1</sup>,伍治平<sup>1</sup>,张勇<sup>2</sup>

关键词:肺癌;T 细胞亚群;NK 细胞

中图分类号:R734.2 文献标识码:D

文章编号:1000-8578 (2002) 06-0462-01

本文通过对 56 例肺癌患者手术前后外周血 NK 细胞活性、T 细胞亚群的动态观察,探讨外科手术对肺部患者细胞免疫功能的影响。

### 1 资料与方法

1.1 研究资料 肺癌 56 例,男 45 例,女 11 例,年龄 23~75 岁,平均年龄 61.5 岁。肺癌根治术者 20 例,非根治术者 36 例。全部患者均为来我院的初治患者,并经手术后病理学检查确诊,术前 1 周内体温、血象正常,肝肾功能正常,未用影响免疫功能的药物。46 例健康人血标本,来自我院体检的正常志愿者。

### 1.2 方法

1.2.1 NK 细胞活性检测采用 SAP 法,T 淋巴细胞亚群检测采用 SP 法,上述试剂盒均由北京中山生物技术有限公司提供。

1.2.2 所有肺癌病例均于术前 1 周内,术后 21 天空腹抽取肝素抗凝的外周血,进行 NK 细胞及 T 细胞亚群的检测。

1.2.3 统计学处理 所有数据资料均使用 PEMS 软件进行方差分析及 t 检验。

### 2 结果

术前及术后 21 天根治组与非根治组 NK 细胞活性及 T 细胞亚群变化。

肺癌患者细胞免疫功能低下,其 NK 细胞活性及 CD<sub>3</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup> 明显低于对照组,而 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 则显著增加,致使 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 比值明显降低 (P<0.01)。术后根治组基本恢复到正常水平,而非根治组则恢复不明显,见表 1。

### 3 讨论

T 淋巴细胞和 NK 细胞是手术前后进行免疫监测的重要指标。正常情况下 CD<sub>4</sub><sup>+</sup> 和 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 之间始终保持着动态平衡,若任何一方过低或过高,调控网络失去平衡,均可引起免疫紊乱,其比值下降表示患者处于免疫抑制状态。研究发现 CD<sub>4</sub><sup>+</sup> 细胞数的减少可使肿瘤发生免疫逃逸。本研究显示,肺癌患者术前 T 细胞亚群与正常

人比较 CD<sub>3</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup> 明显减少,CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 增加,CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 比值降低 (P<0.01)。说明肺癌患者免疫功能出现不同程度的抑制,降低了清除肿瘤细胞的能力,使肿瘤得以持续生长。NK 细胞对肿瘤有直接的杀伤作用,研究表明肿瘤患者 NK 细胞活性降低。本实验中 NK 细胞活性也较正常对照组低 (P<0.01)。以上均表明肺癌患者免疫功能明显障碍,主要原因是肿瘤产生或分泌大量的免疫抑制因子 (TDSF),不可避免地出现 NK 细胞活性降低及 T 细胞亚群的异常和比例失调。

本研究通过对肺癌患者手术前后细胞免疫功能动态变化观察到,术后根治组基本恢复到正常水平,而非根治组则恢复不明显。提示肿瘤负荷可能是损害肺癌患者细胞免疫功能的重要因素。彻底去除肿瘤病灶,消除产生 TDSF 的来源,消除肿瘤所至免疫抑制,使患者的免疫平衡得以恢复,能为患者提供最佳预后。所以,对肺癌的病人应力求施行根治切除术,即使对较晚期的病人,只要条件允许应力争最大限度地切除肿瘤,尽量减少肿瘤负荷及其所产生的 TDSF,这既有利于促进 NK 细胞、T 淋巴细胞等免疫活性细胞功能的恢复,也利于提高生存期及改善患者的生活质量,同时为进一步的治疗创造条件。

表 1 手术前后根治组与非根治组 NK 细胞及 T 细胞亚群变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	NK (%)	CD <sub>3</sub> <sup>+</sup> (%)	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> (%)	CD <sub>8</sub> <sup>+</sup> (%)	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> /CD <sub>8</sub> <sup>+</sup> (%)
正常组	46	13.22 ±4.49	74.71 ±8.47	47.24 ±7.11	23.75 ±3.57	1.99 ±0.14
根治组术前	20	10.83 ±3.99 *	61.36 ±9.32 **	44.18 ±7.40 *	32.12 ±3.96 **	1.38 ±0.11 **
根治组术后	20	12.59 ±7.21	75.92 ±4.40	46.97 ±3.91	24.56 ±4.38	1.81 ±0.12 **
非根治组术前	36	8.64 ±3.21 **	56.47 ±6.94 **	40.91 ±6.56 **	37.66 ±4.32 **	1.21 ±0.12 **
非根治组术后	36	8.12 ±5.81 **	59.68 ±8.31 *	39.25 ±5.17 **	29.62 ±6.24 **	1.33 ±0.23 **

\* \*:与正常组比较, P<0.01; \* :与正常组比较 P<0.05; :与术前比较, P<0.01; :与术前比较, P<0.05。

收稿日期:2001-11-20; 修回日期:2002-01-23

作者单位:1.650118昆明,云南省肿瘤医院肿瘤研究所,2.胸外科

(周永红校对)