

pS2 蛋白在乳腺癌中的表达及意义

吴东德¹,袁宏银²,杨国²,刘宝珍³

摘要:目的 研究 pS2 蛋白在乳腺癌中的表达及其临床意义。方法 应用免疫组化 S-P 法检测 100 例原发性乳腺癌患者雌激素调节蛋白 pS2 的表达。结果 100 例乳腺癌患者中,pS2 阳性表达 57 例,占 57%, 阴性表达 43 例,占 43%; pS2 阳性表达与月经状况、ER、PR 相关,与肿瘤大小、临床分期、淋巴结状况无关;pS2 阳性表达者较阴性表达者五年生存率高,复发率低。单因素分析显示,pS2 蛋白与乳腺癌患者的预后相关,pS2 阳性表达者的预后优于 pS2 阴性表达者 ($P=0.0008$, 风险比 0.370)。多因素分析显示,pS2 是影响患者术后生存的重要生物学指标。结论 pS2 蛋白可能是预测乳腺癌患者预后的一个独立的预后因子。

关键词:乳腺癌;pS2 蛋白;免疫组织化学;预后

中图分类号:R737.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-8578(2002)03-0197-03

Expression and significance of pS2 protein in breast cancer

WU Dong-de, YUAN Hong-yin, YANG Guo-liang, et al

Department of general therapy, Hubei Oncological Hospital, Wuhan 430079, China

Abstract: **Objective** To study the expression and significance of pS2 protein in breast cancer. **Methods** Applying immunohistochemical technique (S-P), pS2 protein in 100 cases of breast cancer was detected. **Results** There were 57 patients with pS2 protein positive expression, and 43 with negative expression. There was significant correlation between pS2 protein and menopausal status, ER status, PR status respectively. Neither tumor size, clinical stage, nor lymph node status was significantly related with the expression of pS2 protein. Patients with pS2 protein positive expression had higher 5-year survival rate than those with negative expression. Univariate analysis showed that pS2 protein was correlated with the prognosis of breast cancer, prognosis of patients with pS2 positive expression was better than that with negative expression ($P=0.0008$, hazard ratio 0.370). Multivariate regression analysis indicated that pS2 protein was an important biologic marker affecting relapse and survival after radical operation of breast cancer. **Conclusion** pS2 protein appears to be an independent and valid prognostic factor of breast cancer.

Keywords: Breast cancer; pS2 protein; Immunohistochemistry; Prognosis

pS2 基因是人类在研究乳腺癌 MCF-7 细胞系的雌激素调节基因时被发现的^[1]。其产物 pS2 蛋白是一段分子量为 7KD 的分泌性多肽,结构稳定^[2]。国外学者报道,pS2 蛋白在小细胞肺癌、胰腺神经内分泌瘤、胃癌中均有表达^[3]。但与乳腺癌关系更趋密切,认为它的表达可以反映乳腺癌细胞的分化,因而可以作为预后的指标^[4-7]。我们运用免疫组化(S-P)

法检测了 100 例乳腺癌患者 pS2 蛋白的表达并分析了其与临床病理学特征及预后的关系。

1 材料与方法

1.1 材料来源与选择

(1) 收集武汉大学中南医院肿瘤科,1986~1994 年间收治的女性原发性乳腺癌病例,均行乳腺癌根治术或改良根治术,并经病理学确诊;(2) 术后均行四周期化疗,方案 CAF, 后再辅以他莫昔芬治疗(Tamoxifen, TAM), 方案:TAM10mg, 口服,每日 2 次。符合上述条件的共 100 例,年龄 19~74 岁,平均年龄 48.5 岁。共随访 100 例,其中失访 3 例,以失访时间为终点记。中位随访时间 92 月。

收稿日期:2001-06-18; 修回日期:2001-09-11

作者单位:1.430079 武汉,湖北省肿瘤医院综合科;2. 武汉大学中南医院肿瘤科;3. 武汉重型机床厂职工医院

1.2 试剂与方法

将石蜡块重新包埋,制备 4um 厚切片,置 0.01mol/l 柠檬酸钠溶液(PH=6.0)微波处理后进行免疫组化染色观察。一抗为鼠抗 pS2 单克隆抗体,工作浓度 1:200,孵育条件:4⁰C 过夜。检测系统为 S-P 试剂盒(即用型),检测程序按相应说明书进行。显色剂为 DAB,阴性对照用 PBS 代替一抗(所用试剂均购自福州迈新生物工程公司)。

1.3 结果判定标准

pS2 阳性反应为胞浆内出现棕黄色颗粒,有向核周聚集趋向。参照 Detry^[5]的结果判定标准,乳腺癌细胞阳性细胞数 >10% 为阳性, 10% 为阴性。

1.4 统计学处理

pS2 阳表达与临床病理指标间的关系采用²检验,对预后单因素及多因素分析选用 COX 模型,Fox-pro 软件做统计学处理。

2 结果

2.1 pS2 的表达结果

pS2 染色主要聚集在胞浆,100 例乳腺癌中,阳性表达 57 例,占 57%,阴性表达 43 例,占 43%。

2.2 pS2 表达与临床病理学指标的关系

pS2 与月经状况、ER、PR 相关,即 pS2 阳性表达主要见于绝经前及 ER 阳性、PR 阳性者,而与肿瘤大小、临床分期、淋巴结状况无关,见表 1。

表 1 pS2 表达与临床病理指标的关系

指标	例数	pS2		²	P
		+	-		
月经状况					
绝经前	64	43	21	7.53	<0.01
绝经后	36	14	22		
临床分期					
~	47	32	15	4.63	>0.25
~	53	25	28		
肿瘤大小(cm)					
<2.0	7	5	2	0.99	>0.25
2.0~5.0	73	42	31		
>5.0	20	10	10		
LN 状况					
+	56	31	25	0.14	>0.5
-	44	26	18		
ER					
+	67	44	23	6.23	<0.05
-	33	13	20		
PR					
+	49	33	16	4.20	<0.05
-	51	24	27		

2.3 pS2 与预后的关系

pS2 阳性患者 57 例,其中五年内死亡 13 例,占

22.81%; 局部复发 11 例,占 19.30%; 远处转移 1 例,占 1.75%。pS2 阴性患者 43 例,其中五年内死亡 32 例,占 74.42%; 局部复发 20 例,占 46.51%; 远处转移 7 例,占 16.28%。pS2 阳性表达者五年生存率、局部复发率及远处转移率均明显低于阴性表达者($P < 0.005$, $P < 0.01$, $P < 0.005$),见表 2。

2.4 COX 单、多因素分析

pS2 阳性表达者较阴性表达者生存期长,复发率低,是预测乳腺癌预后的一个独立的标志物,其参数值为负值,说明它是一个保护因子,见表 3、表 4。

表 2 pS2 表达乳腺癌预后的关系

指标	例数	pS2		²	P
		+	-		
局部复发					
有	31	11	20	8.49	<0.005
无	69	46	23		
远处转移					
有	8	1	7	7.46	<0.01
无	92	56	36		
生存期					
<5 年	45	13	32	26.38	<0.005
5 年	55	44	11		

表 3 COX 模型单因素分析结果

因素	参数	标准误	²	风险比	P
pS2	-0.9936	0.2969	11.2064	0.370	0.0008
ER	-0.5817	0.1949	8.9054	0.559	0.0028
PR	-0.5561	0.3167	3.0843	0.573	0.0790
淋巴结状况	0.9908	0.3496	8.0327	2.693	0.0046
临床分期	1.2256	0.2824	18.8592	3.409	0.0001
月经状况	-0.3592	0.7295	0.2425	0.698	0.6224
肿瘤大小	0.0022	0.0057	0.1515	1.002	0.6792

表 4 COX 模型多因素分析结果

因素	参数	标准误	²	风险比	P
pS2	-0.6285	0.2920	4.6308	0.553	0.0314
临床分期	1.0591	0.2761	14.7100	2.884	0.0001

3 讨论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,而预后则是医患双方共同关心的话题。pS2 是人们在研究乳腺癌 MCF-7 细胞系的雌激素调节基因时被发现的,由于它与乳腺癌的生物学行为有一定关系,因而备受关注。

国外学者 Schwatz 在分析了 72 例进展期乳腺癌患者 pS2 表达情况以后,认为 pS2 是比 ER 更好的预后因子,尤其与内分泌治疗的结果有显著的相关性^[6]。Foekens 等研究了 205 例乳腺癌,结果认为,五年无瘤生存率及总生存率在 pS2 阳性和 pS2 阴性患者中明显不同。pS2 阴性者存活时间及肿瘤复发时间较 pS2 阳性者明显为短($P < 0.0001$)。而 pS2 阴性者较 pS2 阳性者的复发率及死亡率高出 2.5 ~ 5.0 倍^[7]。Lioffi 等还发现 pS2 蛋白的表达与乳腺癌的恶性程度相关,从 I II III 期,细胞核整倍体百分率明显下降,pS2 的阳性表达率也下降^[8]。我们在本研究中发现 pS2 与乳腺癌早期复发、转移及死亡相关。pS2 阳性患者较阴性患者局部复发及远处转移率低,五年生存率高,差别有统计学意义。单因素分析显示,pS2、ER、淋巴结状况及临床分期与预后相关,前两者为保护因子,后两者为危险因子。多因素分析显示,pS2 作为独立指标最终进入模型,表明它可以作为预测乳腺癌患者预后的生物学指标,而且可能是临床分期之外最强的预后因子。结合 Lioffi 等的报道并分析 pS2 与乳腺癌恶性程度的关系可以发现,pS2 与乳腺癌患者的预后有关,这与我们的报道是一致的。

由于 pS2 在胃肠道中亦有表达,因此有人认为 pS2 的表达调控可能不全依赖于雌激素^[9]。但是,Martin 报道,乳腺癌细胞内,只有在雌激素的诱导和调控下,pS2 才能转录^[10]。我们在研究中发现,pS2 的表达与月经状况有显著的相关性。绝经前、后患者的 pS2 表达状况有统计学差异($P < 0.01$)。另外,pS2 与 ER、PR 之间也存在正相关关系,这无疑支持了后者。同时也说明 pS2 对内分泌治疗可能有一定关系,但具体指导上的意义尚需进一步探讨。本实验中,pS2 的表达与肿瘤大小、临床分期及淋巴结状况无关,这与有关文献报道是一致的^[7]。

虽然 pS2 的确切功能尚需进一步探索,但我们的研究已表明它与乳腺癌的生物学行为有一定关系,并

且是预测乳腺癌预后的一个独立指标。由于它对乳腺癌患者辅助性治疗措施的选择可能有一定的指导作用,用免疫组化检测结果稳定^[5],有利于临床推广,因而可以根据其表达情况,对易复发、转移的高危患者及时制定合理的治疗方案,以提高患者的生存质量及生存率。

参考文献:

- [1] Masiakowski P, Breathnach R, Bloch J, et al. Cloning of a DNA sequence of hormone regulated genes from MCF-7 human breast cancer cell line [J]. *Nucleic Acid Res*, 1982, 10 (24): 7895-7903.
- [2] Polshakov VI, Williams MA, Garagar AR, et al. High-resolution structure of human pNR-2/pS2: a signal transduction protein [J]. *Mol Biol*, 1997, 276 (2): 418-432.
- [3] Wang DG, Johnston CF, Liu WH, et al. Expression of a breast cancer associated protein (pS2) in human neuroendocrine tumors [J]. *Int Cancer*, 1997, 74 (3): 270-274.
- [4] Thompson AM, Hawkins RS, Elton RA, et al. pS2 is an independent factor of good prognosis in primary breast cancer [J]. *Br Cancer*, 1993, (1) 68: 93-98.
- [5] Detre S, King N, Salter J, et al. Immunohistochemical and biochemical analysis of the estrogen regulated protein pS2, and its relation with estrogen receptor and progesterone receptor in breast cancer [J]. *Clin Pathol*, 1994, 47 (3): 240-244.
- [6] Schwatz LH, Koerner FC, Edgerton SM, et al. pS2 expression and response to hormonal therapy in patients with advanced breast cancer [J]. *Cancer Res*, 1991, 51 (2): 624-628.
- [7] Foekens JA, Rio MC, Segnin P, et al. Prediction of relapse and survival in breast cancer patients by pS2 protein status [J]. *Cancer Res*, 1990, 50 (13): 3832-3837.
- [8] Lioffi A, Karkitsos P, Aroni K, et al. DNA ploidy and pS2 protein expression in breast cancer [J]. *Cytology*, 1997, 8 (3): 171-176.
- [9] Collier JD, Bennet MK, Bassendine MF, et al. Immunolocalisation of pS2, a putative growth factor, in pancreatic carcinoma [J]. *Gastroenterol Hepatol*, 1995, 10 (4): 396-400.
- [10] Martin V, Ribieras S, Wang XG, et al. Involvement of DNA methylation in the control of expression of an estrogen-induced breast cancer associated protein (pS2) in human breast cancer [J]. *Cell Biochem*, 1997, (1) 65: 95-106.

(李奇明校对)