

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.31.020

235 例浸润性乳腺癌中 P53、ER 的表达及其相关性探讨 *

刘永娟 李小静 刘秀萍 舒维清 滕昊骅 杨 菊 武景波

(上海市第五人民医院病理科 上海 200211)

摘要 目的:分析浸润性乳腺癌中 P53 和雌激素受体(estrogen receptor, ER)的表达及其与患者临床病理特征的关系和二者之间的相关性,探讨其在浸润性乳腺癌发生发展中的作用。**方法:**收集我院 2008 年至 2013 年 6 月收治的原发浸润性乳腺癌手术病例 235 例,采用免疫组化 SP 法检测乳腺癌组织标本中 P53 与 ER 的表达,分析其与患者临床病理特征的关系及二者之间的相关性。**结果:**本组乳腺癌组织中 P53 与 ER 的阳性表达率分别为 31.9%及 56.6%,均显著高于癌旁正常组织($P<0.05$)。乳腺癌组织中 ER 的表达仅与患者的年龄有关,与 TNM 分期无关;而 P53 的表达与患者的年龄和 TNM 分期均无关,但 P53 与 ER 的表达呈显著负相关($P<0.05$, $r=-0.174$)。**结论:**P53 与 ER 在浸润性乳腺癌中均呈高表达,且二者呈显著负相关。

关键词:浸润性乳腺癌;P53;雌激素受体;相关性

中图分类号:R737.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)31-6079-04

The Expression and Relationship between ER and P53 Expression in Invasive Breast Carcinoma*

LIU Yong-juan, LI Xiao-jing, LIU Xiu-ping, SHU Wei-qing, TENG Hao-hua, YANG Ju, WU Jing-bo

(Department of Pathology, Shanghai NO.5 Hospital, Shanghai, 200211, China)

ABSTRACT Objective: To analyze the correlation of ER, P53 expression with the clinicopathologic characteristics of patients with invasive breast carcinoma and the correlation of ER expression with P53 expression, and to study the role of ER and P53 in the tumorigenesis and development of invasive breast carcinoma. **Methods:** A total of 235 female cases with breast invasive carcinoma were retrieved from the Department of Pathology Shanghai No.5 Hospital from 2008 to 2013. The immunohistochemical SP method was used to detect the expression of ER and P53 in postoperative paraffin blocks. The correlation was analyzed between the clinicopathologic characteristics and ER, P53 expression, and between the ER expression and P53 expression. The expression of ER and P53 was observed in pericarcinoma normal tissue. **Results:** The positive expression rates of ER and P53 were 56.6% and 31.9% in the 235 cases, which were both significantly higher than those of the adjacent normal breast tissue. The positive expression rate of P53 was negatively correlated with ER expression in the 235 cases ($P<0.05$, $r=-0.174$). Compared with the pericarcinoma normal tissue, the positive expression rate of the ER and P53 were significantly higher in the carcinoma tissue ($P<0.05$). **Conclusion:** The expression of P53 and ER were both upregulated in invasive breast carcinoma, which were negatively correlated and may play an important role in the tumorigenesis of invasive breast carcinoma.

Key words: Breast invasive carcinoma; Immunohistochemical index; P53; ER

Chinese Library Classification(CLC): R737.9 **Document Code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)31-6079-04

前言

乳腺癌是妇女最常见的恶性肿瘤,死亡率居首位。在浸润性乳腺癌中,有大量基因改变^[1],以 P53 与雌激素受体(ER)最常见^[2]。P53 起控制细胞周期、DNA 损伤修复和凋亡的作用。ER 是一类由配体激活的转录因子,有 ER α 、ER β 两个亚型,乳腺组织中含有大量 ER α 。雌激素长期过度刺激使 ER α 的表达水平增高或转录活性增强,是促进乳腺癌发生的重要因素。本文以在我院确诊的 235 例原发性浸润性乳腺癌患者的临床资料为依据,通过免疫组化分析 P53 及 ER 的表达,并对其相关性

进行分析,旨在进一步了解 P53 与 ER 在浸润性乳腺癌发生发展中的作用。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集我院 2008 年至 2013 年 6 月收治的原发浸润性乳腺癌手术病例 235 例。所有标本均经 10%福尔马林固定,常规脱水,石蜡包埋切片,4 μ m 厚,行 HE 染色镜检观察后确诊。235 例患者均为女性,发病年龄 28-89 岁,平均 58.5 岁。其中,21-30 岁 3 例,占 1.3%;31-40 岁 28 例,占 11.9%;41-50 岁 62 例,占

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81071813)

作者简介:刘永娟(1982-),女,住院医师,硕士,主要研究方向:肿瘤分子病理,

电话:021-64308151-8400, E-mail:vienson410@163.com

(收稿日期:2014-02-28 接受日期:2014-03-24)

26.4 %;51-60 岁 73 例占 31.1 %;61-70 岁 36 例占 15.3 %;71 岁以上 33 例占 14.0 %。对其中 202 例(18 例由于肿块不明显未记录肿块大小,14 例未行或未在我院行根治,故胸壁、皮肤等侵犯情况不清,无法行 TNM 分期)进行 TNM 分期 I 期 85 例、II 期 91 例、III 期 20 例、IV 期 7 例。按 WHO (2003) 乳腺肿瘤标准对乳腺癌进行分期。

1.2 免疫组织化学检测方法

采用 SP 法,ER、P53 单克隆抗体均购于基因科技有限公司,常规免疫组化染色,用已知的阳性切片作阳性对照,PBS 代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判定标准

阳性结果呈棕黄色或棕褐色,P53、ER 阳性物质主要定位细胞核,根据切片中阳性细胞的比例将其分为:阳性细胞数 $\leq 5\%$ 为阴性(-),阳性细胞数 $>6\%$ 为阳性(+).

1.4 统计学方法

所有实验数据采用 SPSS 16.0 统计软件包分析,相关性分析应用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 浸润性乳腺癌的临床病理特征与 ER、P53 表达的相关性

本组全部病例中 ER、P53 的阳性表达率分别为 56.6 %、31.9 % (图 1)。选取本组中 50 例 2012-2013 年病例观察癌旁正常组织中 ER 与 P53 的阳性率,分别为 0.42 及 0,均较浸润性乳腺癌显著降低($P=0.042$ 及 0.000) (见表 1)。由表 2 可见,不同发病年龄的乳腺癌病例组之间 ER 的阳性表达率比较差异有统计学意义($P=0.01$),以发病年龄 >50 岁组 ER 的阳性表达率最高,为 65.5 %。ER、P53 的表达与患者的年龄和 TNM 分期均无关 (由于不能得到准确的关于患者是否有远处转移的资料,故未统计 ER、P53 的表达与 TNM 分期中 M 的关系)。

2.2 浸润性乳腺癌中 ER、P53 表达的相关性

采用 SPSS 卡方检验进一步分析浸润性乳腺癌中 P53 与 ER 表达之间的关系,结果显示 P53 与 ER 的表达呈显著负相关(相关系数为 -0.174), $P=0.008$ (表 3)。

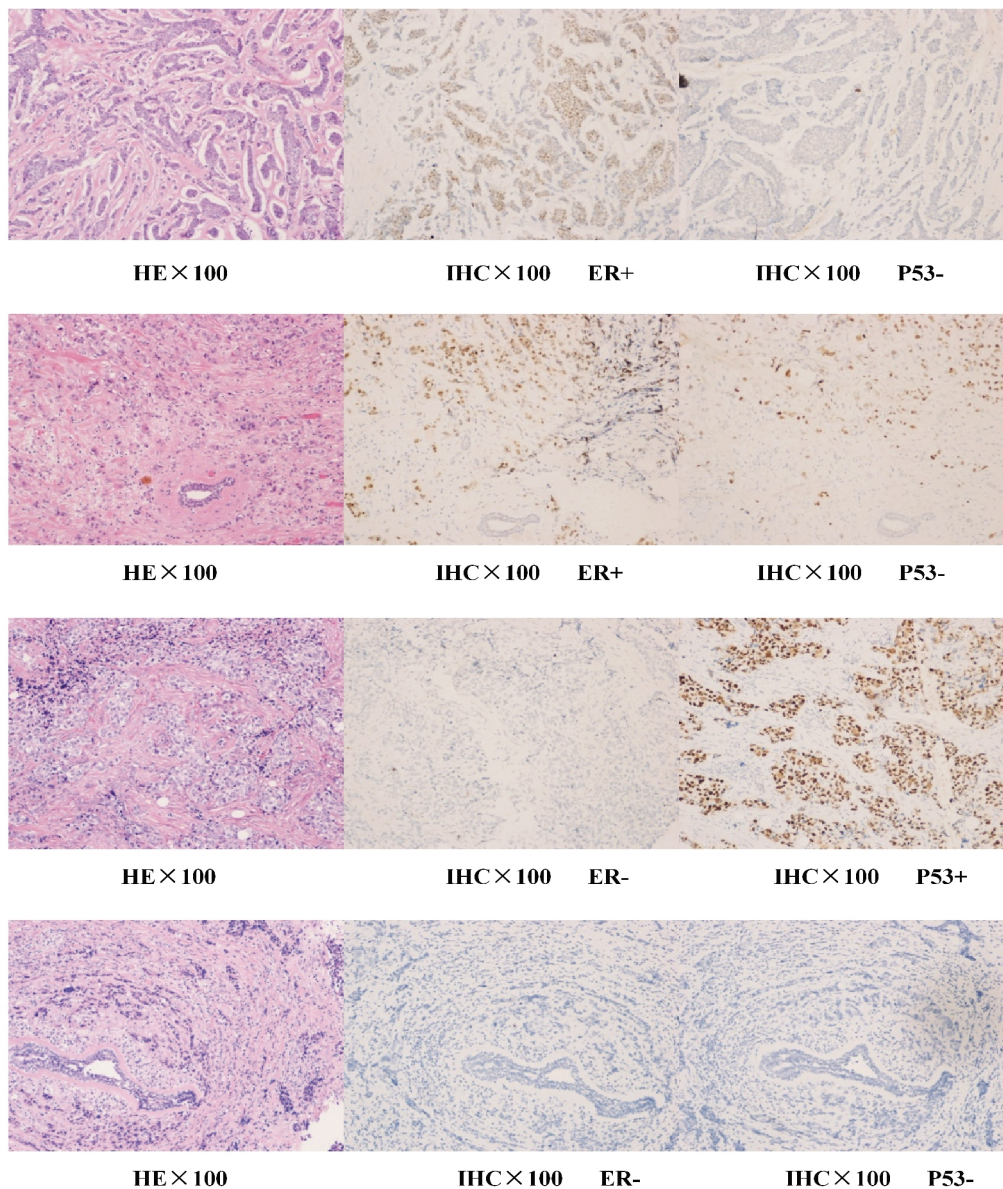


图 1 浸润性乳腺癌中 ER、P53 免疫组化检测结果

Fig. 1 The expression of ER, P53 in breast invasive carcinoma

表 1 癌和癌旁 ER、P53 阳性率比较

Table 1 Comparison of the ER, P53 expression between the carcinoma and the pericarcinoustissue

Item	ER+	ER-	P	P53+	P53-	p
Carcinoma	133	102	0.042	75	160	0
Pericarcinoustissue	21	29		0	50	

表 2 235 例浸润性乳腺癌的临床病理特征与 ER、P53 表达的相关性

Table 2 Correlation between the Clinicopathologic characteristics and ER, P53 expression in 235 cases with invasive breast carcinoma

Item	No.	ER positive	P	P53 positive	P
Age			0.01		0.568
≤ 50 y	93	40(43 %)		32(34.4 %)	
>50 y	142	93(65.5)		43(30.3 %)	
Size of the tumor*			0.172		0.911
T≤ 2 cm	93	58(62.4 %)		28(30.1 %)	
2>T≤ 5 cm	104	58(55.8 %)		32(30.8 %)	
T>5 cm	20	8(40 %)		7(35 %)	
Metastasis of lymphnodes*			0.498		0.886
Yes	120	69(57.5 %)		38(26.7 %)	
No	101	53(52.5 %)		33(32.7 %)	

* 注:其中 18 例由于肿块不明显未记录肿块大小;14 例未行或未在我院行根治,故淋巴结转移情况不详。

由于不能得到准确的关于患者是否有远处转移的资料,故未统计 ER、P53 的表达与 TNM 分期中 M 的关系。

*Note: in 18 cases the size record of the tumor is unavailable because the tumor is not evident; in 14 cases the metastasis of lymphnodes is unavailable because the radical mastectomy is not operated or not operated in our hospital. The correlation between "M" and ER, P53 is not analyzed because the datadistant of metastasis is not available.

表 3 浸润性乳腺癌中 ER、P53 表达的相关性

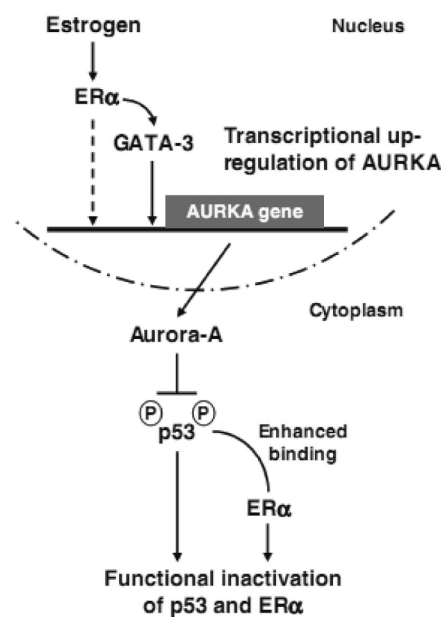
Table 3 Correlation of ER expression with P53 expression in invasive breast carcinoma

Item	ER		r
	+	-	
P53 +	33	42	0.174
P53 -	100	60	

3 讨论

ER 是一类由配体激活的转录因子,有 ER α 、ER β 两个亚型,乳腺组织中含有大量 ER。雌激素长期过度刺激,ER α 表达水平增高或转录激活活性增强是乳腺癌发生的重要因素^[3]。ER 对乳腺癌的生长、分化具有调节作用,本组病例中 ER 的阳性率为 56.6%。P53 起着控制细胞周期、DNA 损伤修复和凋亡的作用。P53 基因分为野生型和突变型,突变型 P53 不但失去了野生型 P53 的抑癌功能,而且还获得了一系列类似于癌基因的功能,促进肿瘤的发展^[4];野生型 P53 在组织中几乎不能检测到,只有当 DNA 损伤发生肿瘤时可检出。本组病例中 P53 的阳性表达率 31.9%,且与 ER 的表达呈显著负相关,说明其在肿瘤生长过程中具有相互调节作用。

研究发现,将废除 P53 功能的 MCF-7 细胞移植到裸鼠,由该细胞发展而来的肿瘤具有类似三阴乳腺癌的表型^[5]。MCF-7 移植体高表达 Mdm2, Mdm2 泛素连接酶与 ER α 、P53 组成三联体,在三联体中 Mdm2 泛素连接酶降解 ER α 蛋白,因此下调 ER α 表达^[6,7]。Arabsolghar R 等的研究中发现 ER 表达沉默的乳腺癌细胞株 MDA-MB-468 中,突变型 P53 通过 HDAC1、DNMT1、MeCP2 与雌激素受体 1 (ESR1) 启动子结合,在

图 2 ^[5]Aurora-A 介导的 P53 和 ER α 失活模式Fig. 2 Proposed model of functional inactivation of P53 and ER α mediated by Aurora-A

HDAC1 或 DNMT1 下调的细胞中 ESR1 部分去甲基化 (ER 基因启动子区 CpG 岛甲基化和组蛋白去乙酰基是 ER 表达沉默的表观遗传机制)、ER 恢复表达^[8]。Hiroshi Katayama 和 Subrata Sen 的研究发现原癌基因 Aurora 激酶 A (Aurora-A) 在乳腺癌中常过表达,ER α 激活有丝分裂 - 通过 GATA-3 信号级联促进 Aurora-A 基因转录, Aurora-A 磷酸化 P53, 导致 P53 蛋白功能失活; Aurora-A 磷酸化 P53, 还能将 P53 阻隔在胞浆, 促进

其与 ER α 的作用,从而抑制 ER α 的转录激活功能(图 2)^[9]。NCoR 和 SMRT 是 ER α 的共抑制因子,通过与组蛋白去乙酰化酶复合物结合,使组蛋白去乙酰化,改变染色质的结构,从而降低 ER α 介导的基因转录^[10]。ER α 通过募集共抑制因子(NCoR 和 SMRT) 和组蛋白去乙酰基酶 1 以抑制 P53 介导的转录激活。更有研究报道激活的 P53 抑制肿瘤细胞的增殖是抗雌激素(anti-estrogen)抑制 ER α 结合 P53,因此降低了 ER α 对 P53 应答启动子的募集,并且允许 P53 应答基因,如细胞周期蛋白依赖性激酶(CDKs)抑制剂 p21waf1/cip1 转录的结果^[11]。ER α 介导的基因转录主要受辅助调节因子(共激活因子和共抑制因子)的调控^[12],在转录被激活时,ER α 招募共激活因子复合物到靶基因启动子区域,使 ER α 介导的转录增强;在转录被抑制时,共抑制因子与 ER α 形成复合物,抑制 ER α 介导的转录。BRCA2 为抑癌基因,与乳腺癌的发生关系密切^[13]。ER α 与共激活因子 CBP^[14]/p300、p68/p72^[15,16]及 MyoD 相互作用形成激活转录复合物,该复合物能与 BRCA2 启动子上的许多 Sp1 位点结合,并通过诱导组蛋白乙酰化以激活 BRCA2 启动子转录。P53 通过抑制 ER α 转录复合体的募集和 BRCA2 启动子组蛋白乙酰化减弱 ER α 介导的 BRCA2 启动子转录活化。P53 与 HDAC1 及 CtBP1 相互作用形成抑制性转录复合物,该复合物能与 ER α 激活转录复合物竞争性结合 BRCA2 启动子上的许多 Sp1 位点,当 ER α 转录复合物被 P53 复合物替代时,组蛋白去乙酰化,BRCA2 基因转录被显著抑制^[17]。也有研究显示 ER 可拮抗 P53 的促凋亡作用^[18]。

综上所述,浸润性乳腺癌的发生是多个基因变化的结果^[19-21]。P53 与 ER 在浸润性乳腺癌均呈高表达,且呈显著负相关,癌组织中 ER 与 P53 的阳性率显著高于癌旁组织,推测 ER、P53 与乳腺癌的发生关系密切,并能互相调节。

参考文献(References)

- [1] De Abreu FB, Wells WA, Tsongalis GJ. The emerging role of the molecular diagnostics laboratory in breast cancer personalized medicine[J]. *Am J Pathol*, 2013, 183(4): 1075-1083
- [2] Bertheau P, Lehmann-Che J, Varna M, et al. P53 in breast cancer subtypes and new insights into response to chemotherapy [J]. *Breast*, 2013, 22(2): 27-29
- [3] Sotoca AM, van den Berg H, Vervoort J. Influence of cellular ERalpha/ERbeta ratio on the ERalpha-agonist induced proliferation of human T47D breast cancer cells [J]. *et al Toxicol Sci*, 2008, 105(2): 303-311
- [4] 李大虎,张令强,贺福初. 突变体 P53 研究进展[J]. *遗传*, 2008, 30(6): 697-703
Li Da-hu, Zhang Ling-qiang, He Fu-chu. The advances of the mutant P53 research[J]. *HEREDITAS (Beijing)*, 2008, 30(6): 697-703
- [5] AB D' Assoro, R Busby, ID Acu, et al. Impaired P53 function leads to centrosome amplification, acquired ER α phenotypic heterogeneity and distant metastases in breast cancer MCF-7 xenografts [J]. *Oncogene*, 2008, 27(28): 3901-3911
- [6] Duong V, Boule N, Daujat S, et al. Differential regulation of estrogen receptor alpha turnover and transactivation by Mdm2 and stress-inducing agents[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(11): 5513-5521
- [7] Duong V, Boule N, Daujat S, et al. Differential regulation of estrogen receptor alpha turnover and transactivation by Mdm2 and stress-inducing agents[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(11): 5513-5521
- [8] Arabsolghar R, Azimi T, Rasti M. Mutant P53 binds to estrogen receptor negative promoter via DNMT1 and HDAC1 in MDA-MB-468 breast cancer cells[J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(3): 2617-2625
- [9] Hiroshi Katayama. Subrata Sen Functional Significance of Aurora Kinase A Regulatory Interactions with P53 ER α Complex in Human Breast Cancer Cells[J]. *HORM CANC*, 2011, 2(2): 117-124
- [10] 刘晓霞,翟曜耀,赵越. 雌激素受体 ER α 的功能调控及研究进展[J]. *中国细胞生物学学报*, 2011, 31(1): 65-71
Liu Xiao-xia, Zhai Di-yao, Zhao Yue. The advances and functional control of the estrogen receptor ER α [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2011, 31(1): 65-71
- [11] Konduri SD, Medisetty R, Liu W, et al. Mechanisms of estrogen receptor antagonism toward P53 and its implications in breast cancer therapeutic response and stem cell regulation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(34): 15081-15086
- [12] Liu MH, Cheung E. Estrogen receptor-mediated long-range chromatin interactions and transcription in breast cancer [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2013, 7207(13): 00410-00413
- [13] Turner N, Tutt A, Ashworth A. Hallmarks of 'BRCAness' in sporadic cancers[J]. *Nat Rev Cncr*, 2004, 4(10): 814-819
- [14] Shirley SH, Rundhaug JE, Tian J, et al. Transcriptional regulation of estrogen receptor-alpha by P53 in human breast cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2009, 26(69): 3405-3414
- [15] Watanabe M, Yanagisawa J, Kitagawa H, et al. A subfamily of RNA-binding DEAD-box proteins acts as an estrogen receptor alpha coactivator through the N-terminal activation domain (AF-1) with an RNA coactivator, SRA[J]. *EMBO J*, 2001, 20(6): 1341-1352
- [16] Kato S, Masuhiro Y, Watanabe M, et al. Molecular mechanism of a cross-talk between oestrogen and growth factor signalling pathways [J]. *Genes Cells*, 2000, 5(8): 593-601
- [17] Wei Jin, Ying Chen, Gen-hong Di, et al. Estrogen Receptor (ER) β or P53 Attenuates ER α -mediated Transcriptional Activation on the BRCA2 Promoter[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(44): 29671-29680
- [18] Bailey ST, Shin H, Westerling T, et al. Estrogen receptor prevents P53-dependent apoptosis in breast cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(44): 18060-18065
- [19] Riley T, Sontag E, Chen P, Levine A. Transcriptional control of human P53-regulated genes[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 25(9): 402-412
- [20] Hurd C, Dinda S, Khattree N, et al. Estrogen- dependent and independent activation of the P1 promoter of the P53 gene in transiently transfected breast cancer cells [J]. *Oncogene*, 1999, 18(4): 1067-1072
- [21] Sivaraman L, Conneely OM, Medina D, et al. P53 is a potential mediator of pregnancy and hormone-induced resistance to mammary carcinogenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(22): 12379-12384