

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.08.005

雌激素受体阳性乳腺癌中 mTOR 蛋白的表达及与内分泌辅助治疗预后的关系

虞蕾楠¹ 姚广裕¹ 胡晓磊¹ 陈路嘉¹ 叶长生¹ 杨学习²

(1 南方医科大学南方医院乳腺科 广东 广州 510515; 2 南方医科大学生物技术学院抗体工程研究所 广东 广州 510515)

摘要 目的:研究雌激素受体阳性乳腺癌中 mTOR 蛋白的表达以及其与内分泌辅助治疗预后的关系。**方法:**选取 2010 年 6 月到 2011 年 8 月我院收治的雌激素受体阳性乳腺癌且接受内分泌辅助治疗的患者 110 例,应用免疫组化法检测患者乳腺癌组织中的 mTOR 蛋白的表达,观察其与临床特征和预后的关系。**结果:**mTOR 蛋白表达阳性者 68 例,mTOR 蛋白表达阴性者 42 例,mTOR 蛋白表达阳性者存在较多的组织学特征;mTOR 蛋白表达阴性者无病中位生存期为(56.8±1.1)个月,显著优于 mTOR 蛋白表达阳性者的(32.8±2.1)个月,比较差异具有统计学意义($P < 0.05$);多因素分析显示,mTOR 蛋白表达阳性者出现肿瘤复发转移的风险是 mTOR 蛋白表达阴性者的 3.21 倍,且是影响预后的独立性影响因子。**结论:**mTOR 蛋白的表达阳性是雌激素受体阳性乳腺癌复发转移的独立因素,在临床上可以联合 mTOR 抑制剂来治疗。

关键词:乳腺癌;雌激素受体;mTOR 蛋白;内分泌;预后

中图分类号:R737.9 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2015)08-1418-03

Expression of mTOR Protein in Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer and its Relationship with Prognosis of Endocrine Adjuvant Therapy

YU Lei-nan¹, YAO Guang-yu¹, HU Xiao-lei¹, CHEN Lu-jia¹, YE Chang-sheng¹, YANG Xue-xi²

(1 Department of Breast, Southern Hospital of Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, 510515, China;

2 Antibody Engineering Research Institute, Biotechnology college, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, 510515, China)

ABSTRACT Objective: To study the expression of mtor protein in estrogen receptor-positive breast cancer patients and its relationship with prognosis of endocrine adjuvant therapy. **Methods:** A total of 110 patients with estrogen receptor-positive breast cancer, who were admitted to Southern Hospital of Southern Medical University from June 2010 to August 2011, were selected and the mTOR protein expressions in their breast tissues were examined by immunohistochemistry method, and observed its relationship with clinical features and prognosis. **Results:** The expression of mTOR protein was positive in 68 cases; negative, in 42 cases. The patients with mTOR protein expression positive had more positive histologic features. The median disease-free survival time of mTOR protein expression negative patients was (56.8±1.1) months, significantly better than (32.8±2.1) months in mTOR protein positive patients, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Multivariate analysis showed that the risk of tumor recurrence and metastasis of mTOR protein expression positive patients, which was the independent influencing factor of prognosis, was 3.21 times that of mTOR protein expression negative patients. **Conclusion:** The mTOR protein expression positive is the independence factor of recurrence and metastasis of patients with estrogen receptor-positive breast cancer, which can be treated by being combined with mTOR inhibitor clinically.

Key words: Breast cancer; Estrogen receptor; mTOR protein; Endocrine; Prognosis

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

Article ID: 1673-6273(2015)08-1418-03

前言

现阶段 mTOR 抑制剂在临床上被广泛研究,已经证实其对肾癌、神经内分泌肿瘤以及乳腺癌具有较好的效果^[1]。据研究,乳腺癌常存在 PI3K/Akt/mTOR 的异常通路,且该通路是现阶段内分泌耐药的研究热点,但是仅仅是在初步探索时期,mTOR 的表达和乳腺癌内分泌治疗的预后存在怎样的关系尚不明确

^[2,3]。临床治疗乳腺癌旨在追求降低转移复发的风险,尽可能的延长患者的寿命,延长其无病的生存期,进而提高患者的生活质量^[4]。本研究旨在分析雌激素受体阳性乳腺癌中 mTOR 蛋白的表达以及其与内分泌辅助治疗预后的关系,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2010 年 6 月到 2011 年 8 月我院收治的雌激素受体阳性乳腺癌且接受内分泌辅助治疗的患者 110 例,所有患者均经病理证实,其中 98 例为浸润性导管癌,12 例为浸润性小叶癌。年龄介于 49 岁-70 岁,平均年龄为(58.9±1.5)岁,其中 I 期

作者简介:虞蕾楠(1989-),女,硕士研究生,从事乳腺外科方面的研究,E-mail:986593455@qq.com

△通讯作者:叶长生(1965-),男,硕士,主任医师、副教授,从事乳腺癌方面的研究

(收稿日期:2014-11-14 接受日期:2014-12-10)

为 20 例,II 期为 58 例,III 期为 32 例。所有入选者术前均未接受其他治疗,术后辅助化疗和内分泌治疗。研究经伦理委员会批准,所有患者均知情同意并签订知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 试剂 采用由 Cell Signaling Technology 公司提供的兔抗人 p-mTOR 单克隆抗体,稀释液由衫金桥生物技术公司提供,二抗和 DAB 显色系统均由上海 Gene Tech 公司提供。

1.2.2 免疫组化染色 将石蜡切片放置于 60℃ 环境中烘烤 2h,然后根据免疫组化二步法染片,应用高压热修复进行抗原修复,其修复液的 pH 值为 6.0,一抗在 4℃ 环境中孵育且过夜,根据试剂操作说明进行 DAB 显色,试验均采用 mTOR 阳性表达的切片为阳性对照,PBS 液替代一抗为阴性对照。

1.3 评价指标

根据染色的轻度、范围和内对照对比来评分:0 分:表示弱阳性染色的肿瘤细胞低于 10%;1 分:表示阳性染色肿瘤细胞

位于 10%-20%之间,弱阳性或者强阳性表达;2 分:表示强阳性的染色肿瘤细胞超过 20%;0 分表示阴性,1-2 分表示阳性^[5,6]。

1.4 统计学方法

全部数据均在 SPSS17.0 软件上统计,应用 Kaplan Meier 生存分析评估 mTOR 表达和生存的关系,组间生存情况比较应用 Log-rank 检验,应用 Cox 回归多因素分析评估 mTOR 蛋白的表达以及与内分泌辅助治疗预后的关系,取双侧检验,检验标准以 $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 形态学特征

mTOR 蛋白表达阳性者 68 例,mTOR 蛋白表达阴性者 42 例,mTOR 蛋白表达者呈现棕黄色,可以于胞质或者包膜中表达。mTOR 蛋白在乳腺癌的组织中存在高度的异质性,mTOR 蛋白强阳性表达者常存在恶性浸润的特点。

表 1 内分泌辅助治疗预后 Cox 回归分析
Table 1 Cox regression analysis of prognosis of endocrine adjuvant therapy

因素 Factors	B	SE	Sig	HR	95% CI
mTOR 情况 mTOR situation	1.17	0.47	0.01	3.21	1.29-7.99
肿瘤大小 Tumor size	1.75	0.62	0.01	5.77	1.69-19.73
雌激素受体状态 Estrogen Receptor status	-1.08	0.53	0.04	0.34	0.12-0.96

2.2 mTOR 蛋白表达和预后的关系

mTOR 蛋白表达阴性者无病中位生存期为 (56.8 ± 1.1) 个月,显著优于 mTOR 蛋白表达阳性者的 (32.8 ± 2.1) 个月,比较差异具有统计学意义($P=0.013$)。

2.3 回归分析

由表 1 可知,多因素分析显示,mTOR 蛋白表达阳性者出现肿瘤复发转移的风险是 mTOR 蛋白表达阴性者的 3.21 倍,且是影响预后的独立性影响因子。

3 讨论

现阶段,内分泌辅助治疗乳腺癌备受各界关注,且根据乳腺癌的治疗指南,局部复发的乳腺癌患者可以应用内分泌辅助治疗,对于远处转移者则首先选用化疗^[7]。调查显示,远处转移和局部复发的患者较多,且存在相似的概率,提示对于晚期的乳腺癌患者进行内分泌治疗效果与化疗相似,但是内分泌治疗具有毒性低、可长期维持的优点^[8,9]。乳腺癌属于全身性的疾病,多数患者早期即存在局部微小的转移,所以内分泌治疗的适用范围更广,对于改善患者的生存质量具有较大的优势^[10]。mROT 激酶是现阶段的研究重点和热点,该物质可以通过三条信号通路来实现对细胞的调节,分别为 PI3K/Akt 途径、非依赖 PI3K/Akt 途径以及 LKBI/AMPK 途径^[11,12]。其中 PI3K/Akt 途径在乳腺癌中的作用被研究的最广,mROT 抑制剂也出现了可以通过静脉输入的剂型,并且逐步应用于抗肿瘤的治疗中^[13]。

P-mTOP 是被公认的 mTOP 蛋白的活性形态,且 mTOP 蛋白的活性对 PI3K/Akt/mTOP 通路存在较大的影响,Akt 的直接磷酸化位点为 Ser2448,据研究,其在原位癌中存在较大的激活比例^[14,15]。本研究发现,mTOR 蛋白表达阳性者 68 例,mTOR 蛋白表达阴性者 42 例,其表达阳性率略高于其他研究结果,可能和本研究选择的病例较少有关。且其在乳腺癌中的表达为正常上皮、增生上皮、非典型增生以及浸润肿瘤中逐渐增生^[16]。本研究发现,mTOR 蛋白表达阴性者无病中位生存期为 (56.8 ± 1.1) 个月,显著少于 mTOR 蛋白表达阳性者的 (32.8 ± 2.1) 个月,比较差异具有统计学意义($P=0.013$),和其他研究结果具有一致性^[17],提示 mTOR 蛋白表达对乳腺癌预后具有较大的影响。且多因素分析显示,mTOR 蛋白表达阳性者出现肿瘤复发转移的风险是 mTOR 蛋白表达阴性者的 3.21 倍,且是影响预后的独立性影响因子。mTOR 蛋白的表达是雌激素受体阳性乳腺癌患者内分泌辅助治疗的预后影响因素存在一定的争议^[18],近年来许多研究均发现 mTOR 蛋白表达与乳腺癌患者内分泌辅助治疗的预后存在较大关系^[19],和本研究结果具有一致性。许多学者认为^[20],mROT 通路的异常调节作用引起激素依赖性的乳腺癌患者内分泌治疗产生耐药,可能和 mROT 负性调节细胞自噬诱导雌激素受体阳性的乳腺癌细胞的死亡和存活有关。

综上所述,mROT 蛋白表达是雌激素受体阳性乳腺癌患者内分泌辅助治疗预后的独立因素,提示 mTOR 阳性表达和不

良预后存在较大关系,进而为临床治疗提高新思路,可以给予患者 mROT 抑制剂联合内分泌复制治疗, 进而提高患者的预后,改善患者的生活质量,延长患者的生存期。

参考文献(References)

- [1] 陈红秋,边建民.乳腺癌雌孕激素受体临床病理研究进展[J].广西医学, 2003, 25(2): 220-221
Chen Hong-qiu, Bian Jian-min. The research of clinical pathology of estrogen and progesterone receptors in breast cancer [J]. Guangxi Medical Journal, 2003, 25(2): 220-221
- [2] Zhao Zhong-chong, Yan Chen-shang, Wang Shao-hui, et al. Shedding New Light on Neurodegenerative Diseases Through the Mammalian Target of Rapamycin[J]. Prog Neurobiol, 2012, 99(2): 128-148
- [3] Pooja Agrawal, Yu-Ting Chen, Birgit Schilling, et al. Ubiquitin-specific Peptidase 9, X-linked (USP9X) Modulates Activity of Mammalian Target of Rapamycin (mTOR)[J]. J Biol Chem, 2012, 287(25): 21164-21175
- [4] Yi Zhu, Jamie Soto, Brandon Anderson, et al. Regulation of fatty acid metabolism by mTOR in adult murine hearts occurs independently of changes in PGC-1 α [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2013, 305(1): H41-H51
- [5] Qingsong Liu, Sivapriya Kirubakaran, Wooyoung Hur, et al. Kinome-wide Selectivity Profiling of ATP-competitive Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) Inhibitors and Characterization of Their Binding Kinetics[J]. J Biol Chem, 2012, 287(13): 9742-9752
- [6] Francesca Chiarini, Annalisa Lonetti, Gabriella Teti, et al. A combination of temsirolimus, an allosteric mTOR inhibitor, with clofarabine as a new therapeutic option for patients with acute myeloid leukemia[J]. Oncotarget, 2012, 3(12): 1615-1628
- [7] Xie Hua, Zhu Feng, Huang Zun-nan, et al. Identification of mammalian target of rapamycin as a direct target of fenretinide both in vitro and in vivo[J]. Carcinogenesis, 2012, 33(9): 1814-1821
- [8] James A. McCubrey, Linda S. Steelman, William H. Chappell, et al. Mutations and Deregulation of Ras/Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR Cascades Which Alter Therapy Response [J]. Oncotarget, 2012, 3(9): 954-987
- [9] Zhi Tang, Erika Bereczki, Haiyan Zhang, et al. Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) Mediates Tau Protein Dyshomeostasis: Implication for Alzheimer Disease [J]. J Biol Chem, 2013, 288(22): 15556-15570
- [10] DA Altomare, AR Khaled. Homeostasis and the Importance for a Balance Between AKT/mTOR Activity and Intracellular Signaling[J]. Curr Med Chem, 2012, 9(22): 3748-3762
- [11] Ashley M. Fortress, Lu Fan, Patrick T. Orr, et al. Estradiol-induced object recognition memory consolidation is dependent on activation of mTOR signaling in the dorsal hippocampus [J]. Learn Mem, 2013, 20(3): 147-155
- [12] Mikhail Schepetilnikov, Maria Dimitrova, Eder Mancera-Martí nez, et al. TOR and S6K1 promote translation reinitiation of uORF-containing mRNAs via phosphorylation of eIF3h [J]. EMBO J, 2013, 32(8): 1087-1102
- [13] Ghada A. Soliman. The Role of Mechanistic Target of Rapamycin (mTOR) Complexes Signaling in the Immune Responses [J]. Nutrients, 2013, 5(6): 2231-2257
- [14] Di Wu, Jessica R. Chapman, Lifu Wang, et al. Intestinal Cell Kinase (ICK) Promotes Activation of mTOR Complex 1 (mTORC1) through Phosphorylation of Raptor Thr-908 [J]. J Biol Chem, 2012, 287(15): 12510-12519
- [15] Zhou Hong-yu, Huang Shi-le. Current development of the second generation of mTOR inhibitors as anticancer agents[J]. Chin J Cancer, 2012, 31(1): 8-18
- [16] Alejandro Vazquez-Martin, Tamara Sauri-Nadal, Octavio J. Menendez, et al. Ser2481-autophosphorylated mTOR colocalizes with chromosomal passenger proteins during mammalian cell cytokinesis[J]. Cell Cycle, 2012, 11(22): 4211-4221
- [17] Hua Xie, Mee-Hyun Lee, Feng Zhu, et al. Discovery of the novel mTOR inhibitor and its antitumor activities in vitro and in vivo[J]. Mol Cancer Ther, 2013, 12(6): 950-958
- [18] Susan M. Lang, Abid A. Kazi, Ly Hong-Brown, et al. Delayed Recovery of Skeletal Muscle Mass following Hindlimb Immobilization in mTOR Heterozygous Mice[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e38910
- [19] Sebastian Alers, Antje S. Löffler, Sebastian Wesselborg, et al. Role of AMPK-mTOR-Ulk1/2 in the Regulation of Autophagy: Cross Talk, Shortcuts, and Feedbacks[J]. Mol Cell Biol, 2012, 32(1): 2-11
- [20] James A. McCubrey, Linda S. Steelman, William H. Chappell, et al. Ras/Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR Cascade Inhibitors: How Mutations Can Result in Therapy Resistance and How to Overcome Resistance[J]. Oncotarget, 2012, 3(10): 1068-1111

(上接第 1591 页)

- [26] Sugimoto M, Yamaoka Y, Furuta T. Influence of interleukin polymorphisms in development of gastric cancer and peptic ulcer [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(10): 1188-1200
- [27] Kitadai Y, Haruma K, Mukaida N, et al. Regulation of disease-progression genes in human gastric carcinoma cells by interleukin 8[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6: 2735-2740
- [28] Kitadai Y, Haruma K, Sumii K, et al. Expression of Interleukin-8 Correlates with Vascularity in Human Gastric Carcinomas [J]. American Journal of Pathology, 1998, 152(1): 93-100
- [29] 付浩, 袁媛, 孙秀菊等. IL-8 基因在胃癌及癌前状态中的表达[J]. 中国肿瘤临床, 2002, 29(4): 237-240
- [30] Fu Hao, Yuan Yuan, Sun Xiu-ju, et al. The expression of IL-8 gene in gastric cancer and precancerous condition [J]. Chinese Journal of Clinical Oncology, 2002, 29(4): 237-240
- [31] Inoue K, Slaton JW, Kim SJ, et al. Inter 8 expression regulates tumorigenicity and metastasis in human bladder cancer [J]. Cancer Res, 2000, 60(8): 2290-2299
- [32] 黄明哲, 费哲为, 张一楚, 等. 循环血浆 VEGF, IL-8 水平与胃癌关系研究[J]. 浙江临床医学, 2005, 12(7): 1241-1242
- [33] Huang Ming-zhe, Fei Zhe-wei, Zhang Yi-chu, et al. The study of Circulating serum VEGF, IL-8 level relationship with gastric carcinoma[J]. Zhejiang Clinical Medical Journal, 2005, 12(7): 1241-1242