

· 综述 ·

乳腺癌相关分子病理学标志物研究进展

张江宇 综述 王颀 审校

乳腺癌是女性发病率最高的恶性肿瘤,占女性恶性肿瘤的 15%。乳腺癌分子病理学能够在基因和蛋白水平上检测瘤细胞的激素受体、生长因子、特异性蛋白、抑癌基因及癌基因等变化,并通过以上检查结果反映肿瘤细胞的分化、生长速度和转移侵袭性,为临床医师制定手术、放疗和化疗方案提供依据,提供有价值的预后信息和靶点治疗新思路。通过对这些生物标志物的阐述,可以更深入的认识乳腺癌的生物学行为。

1 信号传导及转录活化因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)

STAT3 是一类脱氧核糖核酸结合蛋白,由 750 ~ 850 个氨基酸组成,相对分子质量为 84 000 ~ 113 000。STAT3 是在 1994 年作为 IL-6(白细胞介素-6)信号传递中的急性期反应因子被纯化的。STAT3 广泛表达于不同类型的细胞和组织中,激活的 STAT3(p-STAT3)可上调抗凋亡基因 Bcl-xL 的表达,从而抑制细胞的凋亡。STAT3 在乳腺癌细胞株已被证实能被 IL-6 活化^[1],并能被 HER-2 诱导,调控小鼠乳腺癌的发生^[2]。此外,STAT3 还被证实能被黄体激素诱导,刺激乳腺癌的生长^[3]。Cheng 等^[4]发现,在 I4 乳腺癌细胞株内抑制 STAT3 蛋白的合成,可以减少癌细胞株的聚集、移动并降低其侵袭能力。此外还发现晚期乳腺癌 STAT3 血清浓度及其二倍体表达增高,提示 STAT3 转录能诱导其二倍体的合成。而后者在肿瘤的生长、浸润和转移中起着非常关键的作用,提示 STAT3 在乳腺癌的肿瘤基因转变中起着非常重要的作用。Ishii 等^[5]的研究表明,无论是体外还是体内,STAT3 都可通过细胞周期蛋白 D1 抑制肿瘤细胞生长,但他莫昔芬治疗则可通过激活 STAT3,消除 STAT3 抑制效应,刺激 cyclin D1 过表达,促进乳腺癌细胞生长,从而诱发患者对他莫昔芬(TAM)耐药。

STAT3 调控的基因促进肿瘤的发生、发展,在乳腺癌的细胞转化、凋亡、分化及生长控制中起着重要的作用。因此,阻断或干扰 STAT3 信号转导途径中的任何一个环节,阻断细胞恶性转化,诱导细胞凋亡,也将给乳腺癌提供早期

作者单位:510010 广州,广东省妇幼保健院 暨广州医学院附属广东省妇儿医院病理科

通讯作者:王颀, E-mail: wangqigz@21cn.com

诊断和生存、预后的预测指标,为乳腺癌基因靶向治疗带来新的研究方向,为乳腺癌的基因治疗提供了一个新的潜在靶位,有望成为 TAM 疗效的预测指标。

2 环氧合酶-2(Cyclooxygenase type-2, COX-2)

COX-2 又称前列腺素过氧化物合成酶,是前列腺素合成过程中一个重要的限速酶,可以将花生四烯酸代谢成各种前列腺素产物,从而在机体的生理和病理过程中发挥作用。目前的研究证实,细胞中至少有两种 COX 的编码基因,即 COX-1 和 COX-2。人类 COX-2 基因定位于染色体 1q25.2~25.3,全长约 8.3 kb,由 10 个外显子和 9 个内含子构成,相对分子质量为 72 000~74 000。COX-2 是诱导型酶,在生理情况下几乎不表达,在多种因素(如内毒素、感染性因子、生长因子、肿瘤过程等)的作用下才会上调表达。其与炎症或肿瘤发生有关,许多恶性肿瘤和癌前病变 COX-2 表达水平增高。COX-2 主要在内质网和核周表达,在肿瘤中具有刺激血管形成和血管扩张的作用^[6]。Boland 等^[7]用免疫组织化学染色的方法,观察 60 例正常乳腺组织、187 例导管内癌、65 例浸润性乳腺癌中 COX-2 阳性表达的情况,发现浸润性乳腺癌和导管内癌阳性率分别为 63% 和 67%,二者差异无统计学意义,但均显著高于正常乳腺组织阳性率 23%。进一步分析发现,导管内癌组织中 COX-2 阳性表达与细胞增殖指数(Ki-67)、核级、ER 阴性、HER-2 阳性呈正相关。Visscher 等^[8]回顾 1967~1991 年 235 例有乳腺导管上皮不典型增生患者的石蜡标本,对其进行 COX-2 免疫组化,随访中位时间 15 年,发现 41 例(17%)患者发展为浸润癌,COX-2 过表达与发展成乳腺癌的相对危险性为 5.66(95% CI = 2.59~10.75),COX-2 阴性或弱表达与乳腺癌的相对危险性为 3.56(95% CI = 1.94~5.97),提示 COX-2 的表达与发展为乳腺癌风险相关,可能是化学预防的新靶点。Nassar 等^[9]用免疫组化的方法在 43 例乳腺癌的组织芯片上检测 COX-2 的表达,发现 COX-2 的表达与肿瘤的大小和组织学分级相关,与 ER 的表达和预后无相关性。Oliveira 等^[10]亦发现 COX-2 和芳香化酶在乳腺癌的诱导和发生、发展中发挥着重要的作用,提示 COX-2 也是导管内癌高侵袭性的指标之一,可联合其他指标用于筛选。

目前认为肿瘤内血管的生成和肿瘤的生长浸润关系密切^[11],COX-2 通过对血管的作用与肿瘤的发生、发展密切相关,因此如何发现和利用 COX-2 抑制剂来防治肿瘤已成为当今肿瘤研究方面的热点之一。非甾体类抗炎药(NSAIDs)对 COX 有抑制作用,因此很多学者开始关注 NSAIDs 与肿瘤防治的关系。传统的 NSAIDs 如阿司匹林、吲哚美辛、舒林酸等是通过抑制 COX-2 起抗癌作用的,但同时对 COX-1 也有抑制作用,因而不可避免地产生胃肠道及肾脏

毒性,使其在抗癌应用方面大大受限。鉴于 NSAIDs 对乳腺癌和癌前病变的预防作用,开发高活性及高选择性 COX-2 抑制剂可能为恶性肿瘤的治疗开辟新的广阔前景,为乳腺癌的化学预防和靶向治疗提供新的策略。

3 细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1)

Cyclin D1 含 295 个氨基酸,由染色体 11q13 上的 CCND1 基因编码,相对分子质量为 36 000。细胞周期分为 G₁、S、G₂ 和 M₄ 阶段,由 3 种因子进行精密调控。它们分别是周期素依赖性激酶(CDKs)、周期素(Cyclins)和周期素依赖性激酶抑制因子(CKIs),其中 CDKs 处于调控中心地位,CKIs 发挥负调节作用,Cyclin D1 为作用于 G₁ 期的细胞周期蛋白,可与多种蛋白相互作用促进细胞进入 S 期,起正调节作用。有研究显示 CyclinD1 的过表达与肿瘤的高分化有关^[12]。动物实验结果表明,Cyclin D1 过表达可导致转基因鼠发生乳腺癌,说明 Cyclin D1 基因是导致乳腺上皮细胞恶性变的癌基因^[13]。Guo 等^[14]对 18 例早期乳腺癌和 80 例晚期乳腺癌用免疫组化、Southern blot 和 RT-PCR 方法进行 Cyclin D1 的表达检测,发现 Cyclin D1 在乳腺导管上皮增生和非典型增生中不表达,在浸润癌中有 52% (51/98) 表达,Cyclin D1 表达阴性患者 5 年生存率显著高于阳性表达的患者,提示 Cyclin D1 阳性表达与预后成反比。研究还表明,浸润性导管癌虽然 Cyclin D1 mRNA 和蛋白质的过度表达分别是 40.8% 和 52.5%,但 Cyclin D1 基因扩增只在 18.4% 的病例中见到,提示除基因扩增外还存在其他机制与 CyclinD1 蛋白表达增加有关。Ahnström 等^[15]对 230 例 ER 和 ErbB-2 均表达的阳性乳腺癌患者进行免疫组化 Cyclin D1 检测,发现 Cyclin D1 表达弱阳性、中度阳性和强阳性例数分别 69 例(29.8%)、107 (46.5%) 例和 54 例(23.7%),中度阳性的患者预后比弱阳性和强阳性患者好,提示 Cyclin D1 可能对于三苯氧胺抵抗的患者是一个提示预后的标记物。研究还表明,由于 Cyclin D1 抑制 STAT3 的表达,硼替佐米(Bortezomib)可以放大 Cyclin D1 的促进凋亡的作用,提示 Cyclin D1 很可能成为预测硼替佐米类治疗乳腺癌新药的一个标志物^[5,16]。Huang 等^[17]发现,在乳腺癌 MCF-7 细胞株中,高浓度的曲格列酮和环格列酮通过 PPAR γ 介导,抑制 Cyclin D1 增殖,可抑制癌细胞的生长并诱导癌细胞发生凋亡,其机制与 PPAR γ 干预细胞周期的调控有关。因此,Cyclin D1 不仅在肿瘤发病机制的研究中具有理论意义,而且 Cyclin D1 基因和(或)蛋白在肿瘤的生物治疗亦具有一定前景。Cyclin D1 表达水平和活化 STAT3 水平是他莫昔芬治疗乳腺癌效果重要的预测指标,可为乳腺癌治疗提供重要的预后信息。

4 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)

EGFR 是最早发现的受体酪氨酸蛋白激酶(RTK),也被命名为 C-erbB1。

EGFR 基因定位于人类第七号染色体短臂, EGFR 蛋白即表皮生长因子受体, 含有 1186 个氨基酸的糖蛋白, 相对分子质量为 170 000。EGFR 具有酪氨酸激酶活性, 是一种跨膜分布的细胞表面传感器, 分为细胞外区、跨膜区、细胞内区三个部分。EGFR 与恶性肿瘤关系密切, 目前发现, EGFR 至少与 33% ~ 50% 的人类表皮肿瘤相关, 在许多肿瘤细胞中高比例表达, 其中在乳腺癌中表达率高达 82% ~ 90%^[18]。EGFR 高表达具有抑制凋亡和促进肿瘤内血管增生的作用, 它能够促进肿瘤发生、转移和侵袭^[19-20]。这可能是由于 EGFR 与表皮生长因子(EGF)家族配体结合后, 在细胞的恶性增殖中起重要作用; 另一方面可能是 EGFR 位点与某些癌基因具有同源性有关。因此, 以 EGFR 为靶标的抗癌药物引起临床医师的高度重视^[21-22]。目前针对 EGFR 为靶点治疗途径主要有 5 种: (1) 针对 EGFR 细胞外区部分的单克隆抗体, 如西妥昔等, 可阻断体内外产生的 EGF 与 EGFR 结合, 从而阻断 EGF 促肿瘤生长的作用, 同时也有促进肿瘤细胞凋亡的作用; (2) 针对 EGFR 激酶区的小分子激酶活性抑制剂, 如吉非替尼等, 能抑制 EGFR 激酶活性, 使其失去活性; (3) 利用 RNAi 作用机理, 特异性降解 EGFR; (4) 能识别 EGFR 的细胞毒素、细胞杀伤因子、放射性粒子等, 选择性杀死富含 EGFR 肿瘤细胞; (5) 重组 EGF 疫苗, 使机体产生抗 EGF 抗体, 减少体内 EGF 含量, 从而降低 EGFR 被激活的几率。最近, Massarweh 等^[23-24]通过建立 ER 阳性乳腺癌体内模型(MCF-7 异种移植瘤)发现, 最初几乎不能检测到的 EGFR 和 HER-2, 经过 TAM 治疗后二者轻度增加, 当出现 TAM 耐药时则显著增加。但吉非替尼(Gefitinib)通过抑制 EGFR/HER-2 下游的 p42/44 和 p38 细胞分裂素活化蛋白激酶的磷酸化水平而改善 TAM 疗效, 并延缓耐药的发生。研究提示, 对最初并不表达 EGFR/HER-2 的 ER 阳性乳腺癌的治疗, 可考虑 HER-2 抑制剂与 TAM 联合的方法。因此, 对 EGFR 靶向药物研究将是近阶段临床研究的重点, 更多的 EGFR 靶向药物必将不断涌现。

5 γ -突触核蛋白基因(γ -synuclein, SNCG)

SNCG 又称乳腺癌特异性基因 1(breast cancer specific gene 1, BCSG 1), 由 Ji 和 Lavedan 等^[25-26]发现。SNCG 位于人类染色体 10q23.2 ~ q23.3, 长约 510 kb, 含 5 个外显子和 4 个内含子。外显子 1 包含一个 CpG 岛, 其甲基化程度与 SNCG 致癌作用机制密切相关。体外实验表明^[27], SNCG 过表达的乳腺癌细胞比 SNCG 阴性的乳腺癌细胞生长更活跃, 更具活力、浸润性和转移潜力。目前已有研究表明, SNCG 虽然在正常乳腺或良性乳腺病变中几乎不表达, 但在肿瘤发生的早期可出现异常表达, 而在进展的浸润性乳腺癌中高度表达, 在肿瘤进展和转移中起关键作用^[28]。Guo 等^[29]用免疫组化检测 438 例乳腺癌标

本,发现 SNCG 的表达与肿瘤的分期、淋巴结转移、肿瘤的大小和 HER-2 的表达相关,但与 ER、PR 的表达无相关性。晚期乳腺癌 SNCG 表达率为 71.4%,而 I/II 期乳腺癌的表达率为 26.8%,乳腺良性增生表达率仅为 5.2%,边缘正常乳腺组织则无表达。Wu 等^[30]检测了 93 例临床乳腺组织样本中 SNCG 的表达,发现 SNCG 表达阳性者 3 年和 5 年无病生存率(DFS)分别为 78% 和 44%,较 SNCG 表达阴性者 3 年 DFS(94%) 和 5 年 DFS(94%) 明显降低,提示 SNCG 可能是新的乳腺癌预后不良指标,而且是乳腺癌治疗的潜在靶点。最近的文献[31]报道,SNCG 作为 synucleins 家族成员之一,不仅与神经元疾病发病机制密切相关,而且在肿瘤领域也可能对肿瘤的发病机制及辅助治疗具有重要意义。肿瘤细胞对化疗药物的耐药机制与热休克蛋白功能有关。SNCG 作为参与组成热休克蛋白 ER- α 复合物,可能通过影响 ER- α 伴侣分子复合物的转录调节途径而导致肿瘤细胞耐药。其功能和临床应用前景值得进一步深入研究。

【关键词】 乳腺癌; 肿瘤; 分子病理学

【中图法分类号】 R737.9 【文献标识码】 A

参考文献

- [1] Berishaj M, Gao S P, Ahmed S, *et al.* Stat3 is tyrosine-phosphorylated through the interleukin-6/ glycoprotein 130/Janus kinase pathway in breast cancer. *Breast Cancer Res*, 2007, 9: R32.
- [2] Guo W, Pylayeva Y, Pepe A, *et al.* Beta 4 integrin amplifies ErbB2 signaling to promote mammary tumorigenesis. *Cell*, 2006, 126: 489 – 502.
- [3] Proietti C, Salatino M, Rosembli C, *et al.* Progestins induce transcriptional activation of signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3) *via* a Jak- and Src-dependent mechanism in breast cancer cells. *Mol Cell Biol*, 2005, 25: 4826 – 4840.
- [4] Cheng G Z, Zhang W, Sun M, *et al.* Twist is transcriptionally induced by activation of STAT3 and mediates STAT3 oncogenic function. *J Biol Chem*, 2008, 283: 14665 – 14673.
- [5] Ishii Y, Waxman S, Germain D. Tamoxifen stimulates the growth of cyclin D1-overexpressing breast cancer cells by promoting the activation of signal transducer and activator of transcription 3. *Cancer Res*, 2008, 68: 852 – 860.
- [6] Tan K B, Yong W P, Putti T C. Cyclooxygenase-2 expression; a potential prognostic and predictive marker for high-grade ductal carcinoma *in situ* of the breast. *Histopathology*, 2004, 44: 24 – 28.
- [7] Boland G P, Butt I S, Prasad R, *et al.* COX-2 expression is associated with an aggressive phenotype in ductal carcinoma *in situ*. *Br J Cancer*, 2004, 90: 423 – 429.
- [8] Visscher D W, Pankratz V S, Santisteban M, *et al.* Association between cyclooxygenase-2 expression in atypical hyperplasia and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2008, 100: 421 – 427.
- [9] Nassar A, Radhakrishnan A, Cabrero I A, *et al.* COX-2 expression in invasive breast cancer: correlation with prognostic parameters and outcome. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2007, 15: 255 – 259.
- [10] Oliveira V M, Piatto S, Silva M A. Correlation of cyclooxygenase-2 and aromatase immunohistochemical expression in invasive ductal carcinoma, ductal carcinoma *in situ*, and adjacent normal epithelium. *Breast Cancer Res Treat*, 2006, 95: 235 – 241.
- [11] 张江宇, 王颀, 朱彩霞, 等. 血管内皮标记物在乳腺癌演变中的表达及意义. *中华乳腺病杂志: 电子版*, 2007, 1: 25 – 27.
- [12] Bumworth B, Popp S, Stark H J, *et al.* Gain of 11q/cyclin D1 overexpression is an essential early step in skin cancer development and causes abnormal tissue organization and differentiation. , 2006, 25: 4399 – 4412.
- [13] Weroha S J, Li S A, Tawfik O, *et al.* Overexpression of cyclins D1 and D3 during estrogen-induced breast oncogenesis in

- female ACI rats. *Carcinogenesis*, 2006, 27: 491 – 498.
- [14] Gao P, Wu Y G, *et al.* Alteration of cyclin D1 in Chinese patients with breast carcinoma and its correlation with Ki-67, pRb, and p53. *Arch Med Res*, 2007, 38: 846 – 852.
- [15] Ahnström M, Nordenskjöld B, Rutqvist LE, *et al.* Role of cyclin D1 in ErbB2-positive breast cancer and tamoxifen resistance. *Breast Cancer Res Treat*, 2005, 91: 145 – 151.
- [16] Ishii Y, Pirkmaier A, Alvarez JV, *et al.* Cyclin D1 overexpression and response to bortezomib treatment in a breast cancer model. *J Natl Cancer Inst*, 2006, 98: 1238 – 1247.
- [17] Huang J W, Shiau C W, Yang Y T, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor gamma-independent ablation of cyclin D1 by thiazolidinediones and their derivatives in breast cancer cells. *Mol Pharmacol*, 2005, 67: 1342 – 1348.
- [18] Sebastian S, Settleman J, Reshkin S, *et al.* The Complexity of Targeting EGFR Signalling in Cancer: from Expression to Turnover. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1766: 120 – 139.
- [19] Taron M, Ichinose Y, Rosell R, *et al.* Activating mutations in the tyrosine kinase domain of the epidermal growth factor receptor are associated with improved survival in gefitinib-treated chemorefractory lung adenocarcinomas. *Clin Cancer Res*, 2005, 11: 5878 – 2885.
- [20] Riely G J, Pao W, Pham D, *et al.* Clinical course of patients with non-small cell lung cancer and epidermal growth factor receptor exon 19 and exon 21 mutations treated with gefitinib or erlotinib. *Clin Cancer Res*, 2006, 12: 839 – 844.
- [21] Huang S, Armstrong E A, Benavente S, *et al.* Dual-agent molecular targeting of the epidermal growth factor receptor (EGFR): combining anti-EGFR antibody with tyrosine kinase inhibitor. *Cancer Res*, 2004, 64: 5355 – 5362.
- [22] Dai Q, Ling Y H, Lia M, *et al.* Enhanced sensitivity to the HER1/epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor erlotinib hydrochloride in chemotherapy-resistant tumor cell lines. *Clin Cancer Res*, 2005, 11: 1572 – 1578.
- [23] Massarweh S, Osborne C K, Jiang S, *et al.* Mechanisms of tumor regression and resistance to estrogen deprivation and fulvestrant in a model of estrogen receptor-positive, HER-2/neu-positive breast cancer. *Cancer Res*, 2006, 66: 8266 – 8273.
- [24] Massarweh S, Osborne C K, Creighton C J, *et al.* Tamoxifen resistance in breast tumors is driven by growth factor receptor signaling with repression of classic estrogen receptor genomic function. *Cancer Res*, 2008, 68: 826 – 833.
- [25] Ji H, Liu Y E, Jia T, *et al.* Identification of a breast cancer-specific gene, BCSG1, by direct differential cDNA sequencing. *Cancer Res*, 1997, 57: 759 – 764.
- [26] Lavedan C, Leroy E, Dehejia A, *et al.* Identification, localization and characterization of the human gamma-synuclein gene. *Hum Genet*, 1998, 103: 106 – 112.
- [27] Lu A, Li Q, Liu J. Regulatory mechanisms for abnormal expression of the human breast cancer specific gene 1 in breast cancer cells. *Sci China C Life Sci*, 2006, 49: 403 – 408.
- [28] Singh V K, Zhou Y, Marsh J A, *et al.* Synuclein-gamma targeting peptide inhibitor that enhances sensitivity of breast cancer cells to antimicrotubule drugs. *Cancer Res*, 2007, 67: 626 – 633.
- [29] Guo J, Shou C, Meng L, *et al.* Neuronal protein synuclein gamma predicts poor clinical outcome in breast cancer. *Int J Cancer*, 2007, 121: 1296 – 1305.
- [30] Wu K, Quan Z, Weng Z, *et al.* Expression of neuronal protein synuclein gamma gene as a novel marker for breast cancer prognosis. *Breast Cancer Res Treat*, 2007, 101: 259 – 267.
- [31] Singh V K, Jia Z. Targeting synuclein-gamma to counteract drug resistance in cancer. *Expert Opin Ther Targets*, 2008, 12: 59 – 68.

(收稿日期: 2008-08-22)

(本文编辑: 张毅)

张江宇. 乳腺癌相关分子病理学标志物研究进展[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2008, 2(6): 677 – 682.