

• 临床研究 •

乳腺导管内癌及其微浸润癌病理和生物学指标表达差异的临床意义

连臻强 张江宇 王颀 朱彩霞 张安秦 李文萍 许娟 陈中杨 杨剑敏

【摘要】 目的 比较乳腺导管内癌(DCIS)与微浸润癌(DCIS-MI)的病理及生物学指标表达差异,探讨 DCIS 发展为浸润癌的过程中可能存在的病理或生物学特性改变。**方法** 回顾分析 40 例 DCIS 和 30 例 DCIS-MI,采用 Pearson χ^2 检验比较两者导管内癌成分的病理学指标,采用 Wilcoxon 秩和检验比较两者雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、人表皮生长因子受体(HER-2)、P53 及 Ki67 生物学指标的差异。**结果** DCIS 的病理分型中,粉刺型和非粉刺型的病例分别占 25.0% (10/40) 和 75.0% (30/40),而 DCIS-MI 的导管内癌成分中粉刺型和非粉刺型分别占 63.3% (19/30) 和 36.7% (11/30),两者差异有统计学意义($\chi^2 = 10.38, P = 0.001$); DCIS-MI 的导管内癌成分中高级别的核分级和伴坏死的比例明显高于 DCIS ($\chi^2 = 9.52, P = 0.009, \chi^2 = 8.57, P = 0.003$)。DCIS 与 DCIS-MI 两组间 ER、PR、HER-2 和 P53 的表达差异均无统计学意义($P > 0.050$)。DCIS-MI 中 Ki67 增殖指数高表达(>20%)比例明显高于 DCIS(40.0% 比 17.5%; $Z = -2.35, P = 0.019$)。**结论** Ki67 增殖指数对评价 DCIS 发生浸润有一定的临床价值。

【关键词】 乳腺肿瘤;导管内癌;微浸润癌;P53;Ki67

【中图分类号】 R737.9 **【文献标识码】** A

Differences of pathological indicators and biological markers between ductal carcinoma in situ (DCIS) and DCIS with microinvasion LIAN Zhen-qiang, ZHANG Jiang-yu, WANG Qi, ZHU Cai-xia, ZHANG An-qin, LI Wen-ping, XU Juan, CHEN Zhong-yang, YANG Jian-min. Breast Disease Center, Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou Medical College, Guangzhou 510010, China

Corresponding author: WANG Qi, E-mail: wangqigz@21cn.com

【Abstract】 Objective To compare the pathological indicators and biological markers between ductal carcinoma *in situ* (DCIS) and DCIS with microinvasion (DCIS-MI) for investigating the possible pathological and biological alterations during the progression of DCIS to DCIS-MI. **Methods** Forty patients with DCIS and 30 patients with DCIS-MI were retrospectively analyzed. Pearson χ^2 test was applied for comparison of the pathological indicators of the intraductal components between DCIS and DCIS-MI. Wilcoxon rank sum test was used for comparison of the differences of biological markers as estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2), P53 and

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乳腺病中心(连臻强、王颀、朱彩霞、张安秦、李文萍、许娟、陈中杨、杨剑敏),病理科(张江宇)

通信作者:王颀, E-mail: wangqigz@21cn.com

Ki67 between DCIS and DCIS-MI. **Results** For the pathological type, comedo and non-comedo types were 25. 0% (10/40) and 75. 0% (30/40) in the DICS group, and 63. 3% (19/30) and 36. 7% (11/30) in the DCIS-MI group, respectively; and there was statistically significant difference between the two groups ($\chi^2 = 10. 38, P = 0. 001$). The proportions of high nuclear grade and necrosis were significantly higher in the DCIS-MI group than in the DICS group ($\chi^2 = 9. 52, P = 0. 009$; $\chi^2 = 8. 572, P = 0. 003$). There were no differences in the expressions of ER, PR, HER-2 and P53 between the DCIS and the DCIS-MI groups ($P > 0. 050$). But Ki67 index was significantly higher in the DCIS-MI group than in the DICS group (40. 0% vs 17. 5%, $Z = -2. 351, P = 0. 019$). **Conclusion** Cell proliferation capacity and expression of Ki67 may have a role to predict the progression of DCIS to DCIS-MI.

【**Key words**】 breast neoplasms; ductal carcinoma *in situ*; microinvasive carcinoma; P53; Ki67

随着乳腺 X 线检查和微小病灶活检的普及,在欧美国家,乳腺导管内癌(ductal carcinoma *in situ*, DCIS)的检出率迅速上升,DCIS 已占乳腺癌新发病例的 20% ~ 30%,而中国 DCIS 的检出率也达到 7. 8% ~ 18. 8%^[1]。DCIS 作为浸润癌的癌前病变,其发展为浸润癌的机制至今仍不十分清楚。根据美国癌症联合会的标准,微浸润(microinvasion, MI)是指癌细胞突破基底膜,浸润灶不超过 0. 1 cm;而一般认为,微浸润癌处于 DCIS 进展为浸润癌的中间阶段。笔者回顾分析了本院 70 例乳腺 DCIS 及其微浸润癌(DCIS-MI)的临床病理学特点,比较两者生物学指标表达的差异,探讨 DCIS 发展为浸润癌过程中可能存在的病理或生物学特性改变。

1 资料和方法

1. 1 一般资料

本研究收集广东省妇幼保健院乳腺病中心 2006 年 8 月至 2009 年 7 月的 DCIS 40 例及 DCIS-MI 30 例,所有病例均为女性。DCIS 组年龄 26 ~ 68 岁,中位年龄 42 岁;绝经前 29 例,绝经后 11 例;肿瘤直径为 0. 5 ~ 7. 0 cm,平均直径为 2. 8 cm。DCIS-MI 组年龄 24 ~ 62 岁,中位年龄 38 岁;绝经前 22 例,绝经后 8 例;肿瘤直径为 1. 0 ~ 7. 0 cm,平均直径为 3. 2 cm。所有病例均经术后病理检查确诊,对肿瘤 > 2 cm 者均经多次(8 ~ 10 次)病理取材切片病理确诊。根据 2002 年国际抗癌联盟乳腺癌临床分期标准:DCIS 组 0 期 40 例,DCIS-MI 组 I 期 30 例。DCIS 组雌激素受体(ER)(+) 33 例,ER(-) 7 例,孕激素受体(PR)(+) 25 例,PR(-) 15 例;DCIS-MI 组 ER(+) 20 例,ER(-) 10 例,

PR(+)14 例,PR(-)16 例。

1.2 试剂及生物学指标检测

ER、PR、人表皮生长因子受体(HER-2)、P53 和 Ki67 抗体为即用型鼠抗人单克隆抗体,均购自福州迈新公司。免疫组织化学检测采用 Elivision 免疫组织化学试剂盒。将组织切片,经二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱水后按说明书步骤行免疫组织化学染色,DAB 显色,苏木精复染,中性树胶封固,用以往确诊的阳性病例作为阳性对照,用 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3 结果观察和判断

所有病理资料均由病理科医生重新阅片确定。ER、PR、P53 和 Ki67 以细胞核呈现棕黄色为阳性,HER-2 以细胞膜呈现棕黄色为阳性。根据切片所选视野中阳性细胞占全部细胞的百分率,ER、PR 和 P53 结果的判断^[2]:阳性细胞数 < 10% 为(-),阳性细胞数 ≥ 10% 为(+). HER-2 结果的判断^[2]:阳性细胞数 < 10% 为(-),10% ~ 25% 为(+),26% ~ 50% 为(++), > 50% 为(+++). 根据切片所选视野中 Ki67 细胞核染色细胞占全部细胞的百分率计算其增殖指数, > 20% 为 Ki67 高表达^[3]。

1.4 统计学处理

表 1 各组数据间的比较采用 Pearson χ^2 检验,表 2 各组数据间的比较采用 Wilcoxon 秩和检验,以 $P < 0.050$ 表示差异具有统计学意义。所有统计资料均采用 SPSS 10.0 软件进行分析。

2 结果

2.1 DCIS 与 DCIS-MI 病理学指标表达的差异

DCIS 的病理分型中粉刺型和非粉刺型的比例分别为 25.0% (10/40) 和 75.0% (30/40),而 DCIS-MI 中粉刺型和非粉刺型的百分率分别为 63.3% (19/30) 和 36.7% (11/30),两者差异有统计学意义($P < 0.050$)。DCIS-MI 中高级别的细胞核分级明显高于 DCIS($P < 0.050$)。DCIS-MI 伴坏死的比例比 DCIS 高[56.7% (17/30) 比 22.5% (9/40), $P < 0.050$,表 1]。

2.2 DCIS 与 DCIS-MI 生物学指标表达的差异

DCIS 与 DCIS-MI 两组间 ER、PR、HER-2 表达的差异均无统计学意义($P > 0.050$)。DCIS 组与 DCIS-MI 组比较,P53 阳性率差异也无统计学意义[15.0% (6/40) 比 23.3% (7/30), $P > 0.050$;表 2,图 1、2]。DCIS-MI 中 Ki67 增殖指数高表达(>20%)的比例明显高于 DCIS[40.0% (7/30) 比 17.5% (7/40), $P < 0.050$;表 2,图 3、4]。

表 1 DCIS 与 DCIS-MI 中导管内癌成分病理学指标表达的差异 [例(%)]

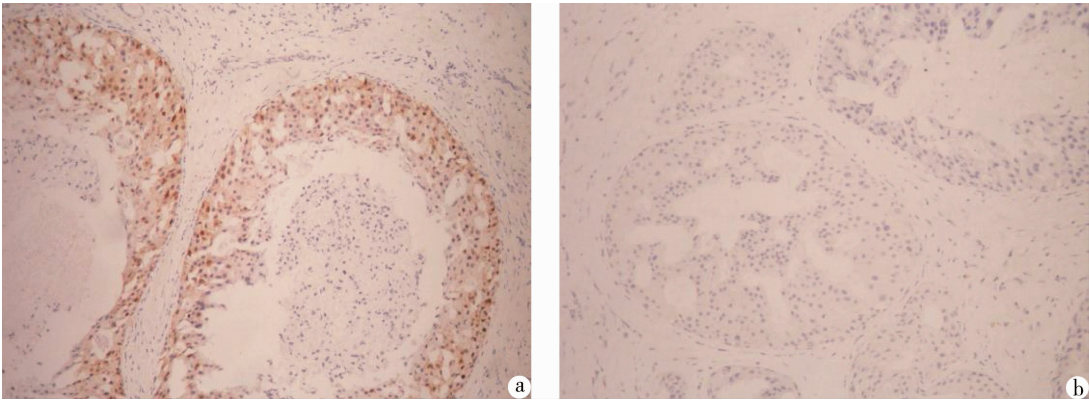
组别	DCIS 病理分型		细胞核分级			DCIS 伴坏死	
	粉刺型	非粉刺型	低级别	中高级别	高级别	无坏死	有坏死
DCIS 组	10(25.0)	30(75.0)	27(67.5)	12(30.0)	1(2.5)	31(77.5)	9(22.5)
DCIS-MI 组	19(63.3)	11(36.7)	11(36.7)	13(43.3)	6(20.0)	13(22.5)	17(56.7)
χ^2 值	10.38		9.52			8.57	
P 值	0.001		0.009			0.003	

DCIS:乳腺导管内癌;DCIS-MI:微浸润癌

表 2 DCIS 与 DCIS-MI 中导管内癌成分生物学指标表达的差异 [例(%)]

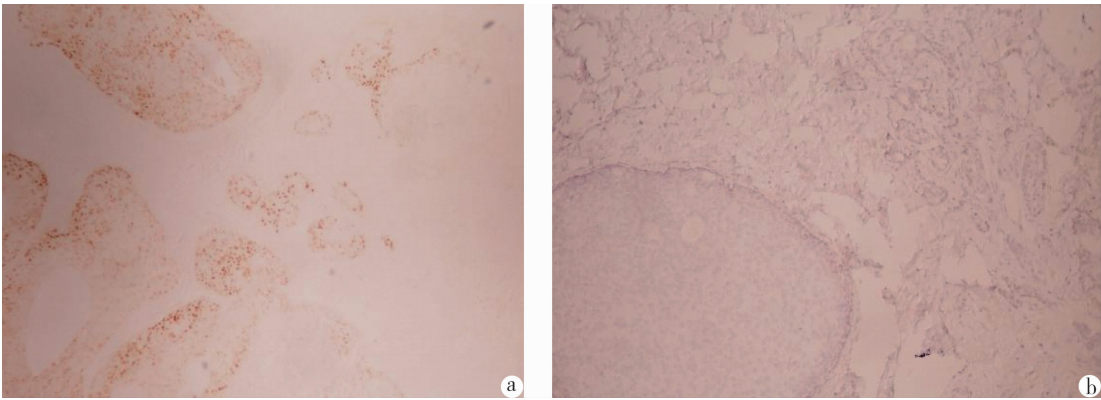
组别	雌激素受体		孕激素受体		人表皮生长因子受体			P53		Ki67 增殖指数	
	(-)	(+)	(-)	(+)	(- / +)	(+ +)	(+ + +)	(-)	(+)	≤20%	>20%
DCIS 组	7(17.5)	33(82.5)	15(37.5)	25(62.5)	31(77.5)	4(10.0)	5(12.5)	34(85.0)	6(15.0)	33(82.5)	7(17.5)
DCIS-MI 组	10(33.3)	20(66.7)	16(53.3)	14(46.7)	20(66.7)	4(13.3)	6(20.0)	23(76.7)	7(23.3)	18(60.0)	12(40.0)
Z 值	-1.52		-1.31		-1.02			-0.88		-2.35	
P 值	0.129		0.190		0.308			0.378		0.019	

DCIS:乳腺导管内癌;DCIS-MI:微浸润癌



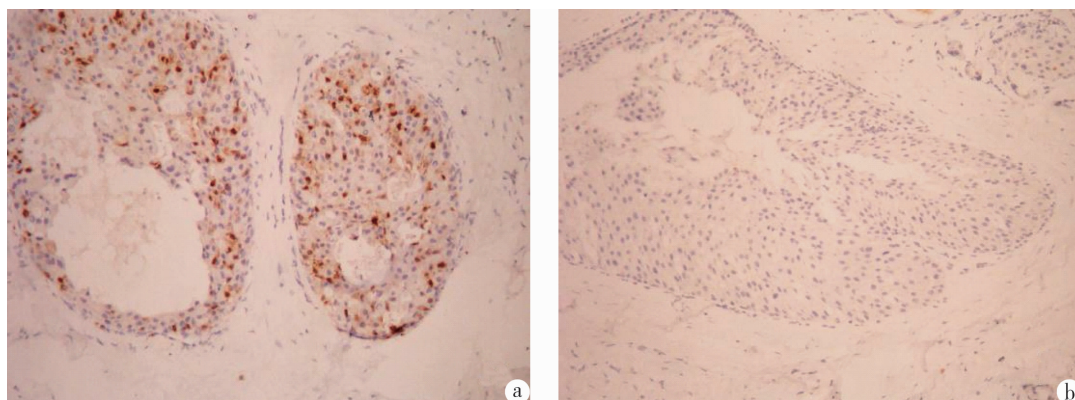
a: P53(+);b: P53(-)

图 1 DCIS 中 P53 的表达(免疫组织化学染色 ×100)



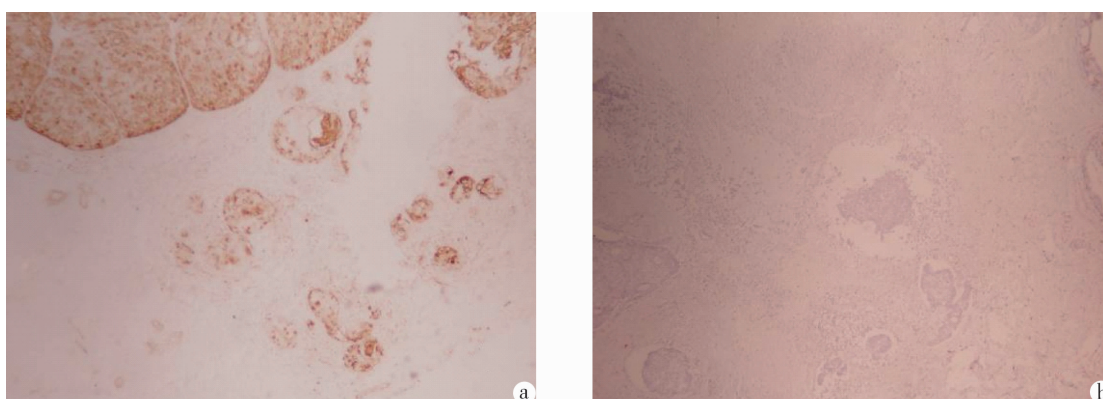
a: P53(+);b: P53(-)

图 2 DCIS-MI 中 P53 的表达(免疫组织化学染色 ×100)



a: Ki67 增殖指数 >20% ; b: Ki67 增殖指数 <1%

图 3 DCIS 中 Ki67 的表达(免疫组织化学染色 ×100)



a: Ki67 增殖指数 >20% ; b: Ki67 增殖指数 <1%

图 4 DCIS-MI 中 Ki67 的表达(免疫组织化学染色 ×100)

3 讨论

一般认为,微浸润癌是 DCIS 进展为浸润癌过程中的中间阶段。尽管不少研究显示,不同分化的 DCIS 可能沿不同遗传学通路发生演变,分化好的 DCIS 也可通过其他信息通路发展为浸润癌^[4-5],但既往的文献资料显示,DCIS 伴细胞核分化差或坏死的病例,术后复发并出现浸润癌的机会明显增加^[6]。日本 Okumura 等^[7]比较 52 例 DCIS 和 28 例 DCIS-MI 的病理学特点,结果显示 DCIS-MI 中伴坏死的比例明显高于 DCIS(85.7% 比 51.9%, $P=0.001$)。本研究结果同样显示,DCIS-MI 中伴坏死的比例高于 DCIS,而且 DCIS-MI 导管内癌成分粉刺型的比例和细胞核分级明显高于 DCIS($P<0.050$),从而提示高细胞核分级、粉刺型和伴坏死的 DCIS 更具侵袭性,发生浸润的可能性更大。

目前,临床上 ER、PR 和 HER-2 是判断乳腺癌预后的重要指标,但其在 DCIS 进展为浸润癌的具体机制仍不十分清楚。有文献报道,DCIS 中 HER-2 过

表达率明显高于浸润癌,从而推测 HER-2 在 DCIS 发展为浸润癌的过程中并不起关键性的作用^[8]。Schorr 等^[9]比较 45 例 DCIS 和 DCIS-MI 的免疫组织化学指标,结果显示 DCIS 中 ER 和 PR 的阳性率明显高于 DCIS-MI (ER: 86.7% 比 66.7%, $P=0.040$; PR: 80% 比 55.6%, $P=0.020$)。但 Steinman 等^[10]对 99 例 DCIS 和 96 例 DCIS-MI 的研究结果显示,两者 ER、PR 和 HER-2 的表达并无任何差异。本研究中 DCIS 和 DCIS-MI 间 ER、PR、HER-2 的表达差异也无统计学意义。

P53 蛋白是由抑癌基因 P53 编码,主要通过诱导细胞周期阻滞或凋亡,发挥其抑制增殖的作用,而突变的 P53 蛋白丧失抑制肿瘤生长的作用^[11]。Ki67 是特异性针对表达于增殖细胞的核抗原抗体,是检测肿瘤增殖活性可靠的指标^[12]。文献报道 P53 和 Ki67 的表达均与乳腺癌的预后密切相关^[13-14]。有关浸润癌伴导管内癌 P53 和 Ki67 表达的研究显示,P53 在导管内癌和浸润癌瘤灶的表达差异并无统计学意义,而 Ki67 在浸润癌中的表达明显高于导管内癌^[15-16]。本研究中 P53 在 DCIS 和 DCIS-MI 两者中的表达差异也无统计学意义,而后者中 Ki67 增殖指数高表达的比例明显高于前者($P<0.050$)。Ki67 与细胞增殖和细胞有丝分裂有关,而肿瘤细胞增殖和分化能力的提高与肿瘤发生浸润的过程密切相关^[12]。本研究结果提示 DCIS 进展为微浸润癌的过程中,Ki67 表达上调,因此肿瘤细胞的异常增殖可能是 DCIS 发生浸润过程中的早期事件之一,但其具体机制仍有待进一步研究。

目前对于 DCIS 的生物学特性的认识仍然较为贫乏,其发展为浸润癌也是一个复杂的过程,往往需要多种因素共同作用完成。本研究结果显示,DCIS-MI 的细胞核高分级和坏死的比例明显高于 DCIS,Ki67 增殖指数也明显高于 DCIS,而这些差异能否成为预测 DCIS 发生浸润的指标及其具体机制,仍需要进一步的研究证实。

参考文献

- [1] 牛昀. 乳腺导管内癌的基础与临床研究: 一个应倍加重视的领域[J]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2008, 2(6): 626-633.
- [2] 张弛, 段学宁. 乳腺癌生物标记物表达水平对新辅助化疗疗效的预测价值[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2010, 4(6): 712-720.
- [3] 尹子毅, 刘晖, 李洪利, 等. 乳腺癌组织 P53 和 Ki67 表达及其与新辅助化疗关系的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2008, 15(9): 676-678.
- [4] Ellsworth RE, Ellsworth DL, Love B, et al. Correlation of levels and patterns of genomic instability with histological grading of DCIS[J]. Ann Surg Oncol, 2007, 14(11): 3070-3077.
- [5] Meijnen P, Peterse JL, Antonini N, et al. Immunohistochemical categorisation of ductal carcinoma *in situ* of the breast [J]. Br

- J Cancer, 2008, 98(1):137-142.
- [6] Kerlikowske K, Molinaro A, Cha I, et al. Characteristics associated with recurrence among women with ductal carcinoma *in situ* treated by lumpectomy [J]. J Natl Cancer Inst, 2003, 95(22):1692-1702.
- [7] Okumura Y, Yamamoto Y, Zhang Z, et al. Identification of biomarkers in ductal carcinoma *in situ* of the breast with microinvasion [J]. BMC Cancer, 2008, 8:287.
- [8] Latta EK, Tjan S, Parkes RK, et al. The role of HER2/neu overexpression/amplification in the progression of ductal carcinoma *in situ* to invasive carcinoma of the breast [J]. Mod Pathol, 2002, 15(12):1318-1325.
- [9] Schorr MC, Pedrini JL, Savaris RF, et al. Are the pure *in situ* breast ductal carcinomas and those associated with invasive carcinoma the same[J]? Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2010, 18(1):51-54.
- [10] Steinman S, Wang J, Bourne P, et al. Expression of cytokeratin markers, ER-alpha, PR, HER-2/neu, and EGFR in pure ductal carcinoma *in situ* (DCIS) and DCIS with co-existing invasive ductal carcinoma (IDC) of the breast [J]. Ann Clin Lab Sci, 2007, 37(2):127-134.
- [11] Molchadsky A, Rivlin N, Brosh R, et al. P53 is balancing development, differentiation and de-differentiation to assure cancer prevention[J]. Carcinogenesis, 2010, 31(9):1501-1508.
- [12] Urruticoechea A, Smith IE, Dowsett M. Proliferation marker Ki67 in early breast cancer [J]. J Clin Oncol, 2005, 23(28):7212-7220.
- [13] 韩晓蓉, 郜红艺, 王颀, 等. 三阴性乳腺癌的临床病理特点(附 35 例报告)[J]. 中华乳腺病杂志:电子版, 2009, 3(1):11-13.
- [14] de Azambuja E, Cardoso F, de Castro Jr G, et al. Ki67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12 155 patients [J]. Br J Cancer, 2007, 96(10):1504-1513.
- [15] Menezes MV, Cestari AL, Almeida O, et al. Protein expression of c-erbB-2 and p53 in normal ducts, ductal carcinoma *in situ* and invasive carcinoma of the same breast [J]. Sao Paulo Med J, 2006, 124(3):121-124.
- [16] Mylonas I, Makovitzky J, Jeschke U, et al. Expression of Her2/neu, steroid receptors (ER and PR), Ki67 and p53 in invasive mammary ductal carcinoma associated with ductal carcinoma In Situ (DCIS) Versus invasive breast cancer alone [J]. Anticancer Res, 2005, 25(3A):1719-1723.

(收稿日期:2010-05-10)

(本文编辑:罗承丽)

连臻强, 张江宇, 王颀, 等. 乳腺导管内癌及其微浸润癌病理和生物学指标表达差异的临床意义 [J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版, 2011, 5(4):419-425.