

三阴性乳腺癌临床病理特点及与EGFR表达关系的探讨*

吉茹 李敬永^① 赵秀兰 古强 李江波 杜秋越 刘易欣
天津医科大学病理教研室 (天津市 300070)

摘要 目的:研究三阴性乳腺癌的临床病理特点、预后及与EGFR表达的关系。方法:回顾性分析天津医科大学总医院1997年1月至2004年1月200例乳腺癌患者的临床资料,总结其病理特征及随访结果,并将200例病例对应的石蜡标本制作成组织芯片,用免疫组织化学法检测乳腺癌组织中ER、PR、HER-2的表达,进行乳腺癌分子分型。检测EGFR蛋白的表达,分析其与乳腺癌病理特征及预后的关系。结果:200例乳腺癌患者中三阴性乳腺癌42例(21.00%),在患者年龄、肿瘤大小、临床分期、淋巴结状态等病理参数的分析中,三阴性乳腺癌与非三阴性乳腺癌的分布无明显差异,而在绝经状态及肿瘤组织学分级的分析中,三阴性乳腺癌与非三阴性乳腺癌差异有统计学意义($P<0.05$)。三阴性乳腺癌患者中17例死亡(生存率59.52%),非三阴性患者26例死亡(生存率83.54%),二者有显著性差异($P<0.05$)。EGFR在三阴性乳腺癌中表达率较高(69.05%),与肿瘤组织学分级及淋巴结转移密切相关,且表达EGFR的三阴性乳腺癌患者生存时间较短。结论:三阴性乳腺癌发病率虽然不高,但其与常规的乳腺癌预后相关因素缺乏特定联系,患者预后差。EGFR在三阴性乳腺癌中高表达,可作为三阴性乳腺癌的一个重要的预后指标,并为临床提供了治疗的靶点。

关键词 三阴性乳腺癌 临床病理特征 预后 EGFR

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2010.01.009

The Relationship between the Clinicopathologic Characteristics of Triple Negative Breast Cancer and EGFR Expression

Ji Ru¹, Li Jingyong², Zhao Xiulan¹, Gu Qiang¹, Li Jiangbo¹, Du Qiuyue¹, Liu Yixin¹

Corresponding author: LIU Yixin, E-mail: liuyixin1960@yahoo.cn

¹Department of Pathology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

²College of Public Health, Tianjin Medical University, Tianjin 300060, China

Grant support: Natural Science Foundation of Tianjin City (06YFJMJC08000)

Abstract Objective: To study the clinicopathologic characteristics and the prognostic factors of triple negative breast cancer, and to study the correlation between clinicopathologic features and EGFR expression. **Methods:** Clinical characteristics and prognosis of 200 breast cancer patients diagnosed between 1997 and 2004 were reviewed. The paraffin embedded tissues were selected and tissue microarray blocks were made. Immunohistochemical staining was used to evaluate the expression of ER, PR and HER2 for breast cancer molecular type. EGFR expression was evaluated to analyze its correlation with the clinical characteristics and prognosis. **Results:** Forty-two cases (21%) of 200 were triple negative breast cancer (TNBC). There was no significant difference between TNBC and non-TNBC in clinicopathologic parameters such as age, tumor size, clinical stage, and lymph node status. However, there was significant difference in histological category and menostasis status between the two groups ($P<0.05$). Among TNBC, 17 of 42 died during the follow-up (the overall survival rate was 59.52%), while 26 of 158 non-TNBC died (the overall survival rate was 83.54%). EGFR was significantly overexpressed in TNBC (69.05%) and it was associated with lymph node status and histological category. **Conclusion:** Although the incidence of TNBC is low, it has a poorer prognosis than other subtypes. EGFR is highly expressed in TNBC and may serve as a prognostic index and an important therapeutic target for breast cancer.

Keywords Triple negative breast cancer; Clinicopathologic characteristic; Prognosis; EGFR

乳腺癌是一种高度异质性恶性肿瘤,表现为临床、病理、预后、分子生物学等方面的差异性。随着

分子生物学技术在肿瘤病理机制及生物学行为方面的深入,为肿瘤分子分类、预后及治疗提供了更

* 本文课题受天津市自然科学基金资助(编号:06YFJMJC08000)

① 天津医科大学公共卫生学院

通讯作者:刘易欣 liuyixin1960@yahoo.cn

多依据。按照分子分型,乳腺癌可以分为5种亚型,其中三阴性乳腺癌因具有发病年龄相对小、侵袭性高、复发率高、对激素治疗敏感性不高、预后差等特点,引起了研究者的广泛重视^[1]。另外,研究证明,EGFR是乳腺癌的特征性标志物之一,而目前对其与三阴性乳腺癌的病理特征及预后的相关性研究较少。因此,本研究构建了乳腺癌组织芯片,对200例乳腺癌患者进行回顾性分析以明确其与临床病理特征、预后等关系,并检测了乳腺癌患者肿瘤组织中EGFR的表达,分析其与三阴性乳腺癌的关系。

1 材料与方法

1.1 临床资料

1997年1月~2004年1月天津医科大学总医院收治并经病理诊断的女性乳腺癌患者中筛选出病例资料完整的浸润性乳腺癌患者200例,年龄37~74岁,中位年龄51岁。收集其临床病理资料,包括年龄、肿瘤大小、组织学分级、淋巴结转移情况、复发与转移情况等。患者均首先采用手术治疗,术前未经放、化疗,术后均采用CMF化疗作为治疗手段。

1.2 方法

1.2.1 组织芯片的制备 阅读HE切片,对典型的癌巢进行标记,于蜡块相应位置进行标记;用直径2mm的打孔针从蜡块的选定位置取出组织芯,每例标本取2个组织芯,顺序植入预先制作好的空白蜡块中,排列成9×5点的组织阵列,置于60℃温箱45min;将制作好的蜡块作4μm切片,裱于氨基酸载玻片上,置于70℃温箱7h。

1.2.2 免疫组织化学染色 采用非生物素二步法,一抗ER、PR、HER-2单克隆抗体工作液及兔抗人EGFR多克隆抗体浓缩液(sc-03, Santa Cruz公司)均购置于北京中杉金桥生物技术公司,EGFR抗体稀释浓度为1:100。每次实验均以已知的阳性组织切片作为阳性对照,以PBS缓冲液代替一抗作为阴性对照,染色结果用DAB显色。

1.2.3 阳性结果判定 ER、PR结果判定标准:细胞核内有棕色颗粒为阳性细胞,着色阳性细胞数>10%视为阳性。HER-2结果判定标准:以>10%的细胞

膜出现连续性的棕黄色表达视为阳性。EGFR计数:400倍高倍显微镜下,连续选取10个视野,每个视野计数100个肿瘤细胞,同时评价染色强度及阳性细胞百分数,染色强度分为0、1、2、3四个等级,阳性细胞百分比分为五个等级:0为阳性细胞数<10%,1为10%~25%肿瘤细胞表达阳性,2为25%~50%肿瘤细胞表达阳性,3为50%~75%肿瘤细胞表达阳性,4为肿瘤细胞>75%表达阳性。染色结果以着色强度和阳性细胞百分比乘积作为阳性指数进行判定^[2],<6为(-),≥6为(+)

1.3 乳腺癌分子类型的分类原则

按照上述ER、PR及HER-2阳性判断标准,将乳腺癌进行分类。未表达ER、PR及HER-2的乳腺癌即为三阴性乳腺癌(TNBC),ER(+)/PR(+)及HER-2(+)均视为非三阴性乳腺癌(non-TNBC)。

1.4 随访

以手术日期作为随访起始时间,随访截至2009年8月31日。随访形式主要采用电话访问或家庭访问,重点了解术后复查、化疗情况,有无复发及远处转移,死亡时间及死因。

1.5 统计学处理

应用SPSS 17.0软件进行统计分析。采用 χ^2 检验、Kaplan-Meier生存曲线分析及Log-rank检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床病理特征

200例乳腺癌患者中,TNBC 42例(其中有腋淋巴结转移25例,无腋淋巴结转移17例),non-TNBC 158例(其中有腋淋巴结转移75例,无腋淋巴结转移83例)。TNBC患病率为21.00%(42/200)。与non-TNBC组比较,TNBC患者年龄相对较小,以绝经前妇女多见,占69.05%(29/42)。TNBC组织学分级较non-TNBC高,差异有统计学意义($\chi^2=9.413, P=0.002$);EGFR在乳腺癌中的表达率为54.5%,且在TNBC中表达较高(69.05%),差异有统计学意义($\chi^2=4.537, P=0.033$),见表1。

表1 乳腺癌分子分型与临床病理参数的关系 例(%)

Table 1 The correlation of molecular type of breast cancer with the clinicopathologic characteristics

临床病理特征	例数	TNBC(n=42)	non-TNBC(n=158)	χ^2	P值
年龄(岁)					
≤50	99	27(64.29)	76(48.10)	3.480	0.062
>50	101	15(35.71)	82(51.90)		
肿瘤直径(cm)					
T1(≤2)	67	14(33.33)	50(31.65)	1.332	0.514
T2(2<T≤5)	121	24(57.14)	100(63.29)		
T3(>5)	12	4(9.53)	8(5.06)		

(续表1)

临床病理特征		例数	TNBC(n=42)	non-TNBC(n=158)	χ^2	P值
绝经状态	未绝经	103	29(69.05)	77(48.73)	5.496	0.019 [△]
	绝经	97	13(30.95)	81(51.27)		
组织学分级	I ~ II	125	17(40.48)	105(66.46)	9.413	0.002 [△]
	III	75	25(59.52)	53(33.54)		
临床分期	I	36	7(16.67)	29(18.35)	6.385	0.094
	II	139	25(59.52)	114(72.15)		
	III	23	9(21.43)	14(8.86)		
	IV	2	1(2.38)	1(0.64)		
淋巴结状态	阴性	100	17(40.48)	83(52.53)	1.929	0.165
	阳性	100	25(59.52)	75(47.47)		
转移淋巴结(枚)	1~3	38	8(32.00)	30(40.00)	1.825	0.401
	4~9	29	6(24.00)	23(30.67)		
	≥10	33	11(44.00)	22(29.33)		
EGFR表达	+	109	29(69.05)	80(50.63)	4.537	0.033 [△]
	-	91	13(30.95)	78(49.37)		

[△]与非三阴性组相比P<0.05

2.2 生存分析情况

至2009年8月31日随访截止,200例乳腺癌患者总体平均生存时间88个月(5~150个月),共43例死亡。TNBC 42例,平均生存时间67个月(5~148个月),5例复发,4例发生远处转移,17例死亡;non-TNBC 158例,平均生存时间92个月(6~150个月),4例复发,3例发生远处转移,26例死亡。Kaplan-Meier生存分析结果显示,乳腺癌总生存率(OS)为78.50%,其中TNBC OS为59.52%,non-TNBC OS为83.54%(图1),经Log-rank检验二者差异有统计学意义(P<0.001)。分层分析结果显示,TNBC淋巴结转移者OS为52.00%,而无淋巴结转移者OS明显高于淋巴结转移者,占70.59%(图2),差异有统计学意义(P<0.05)。

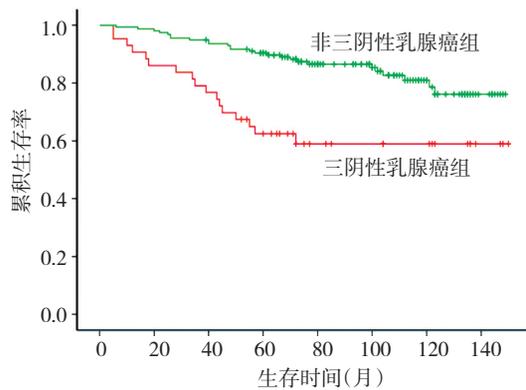


图1 三阴性乳腺癌与非三阴性乳腺癌总生存率分析
Figure 1 Kaplan-Meier analysis of overall survival of patients with triple negative breast cancer and those with non-triple negative breast cancer

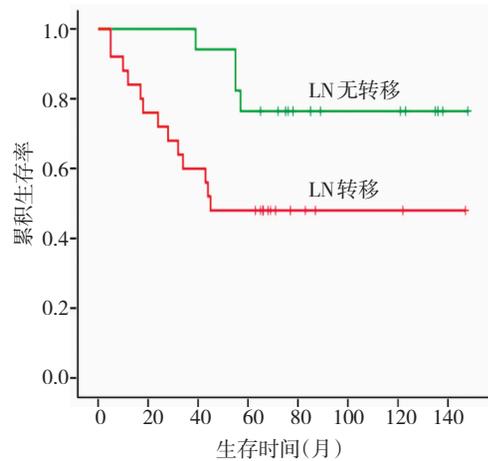
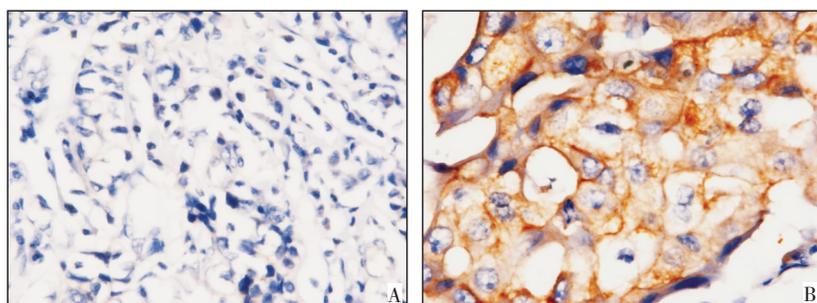


图2 三阴性乳腺癌有淋巴结转移组与无淋巴结转移组总生存率分析

Figure 2 Kaplan-Meier analysis of overall survival of patients with lymph node metastasis and those without lymph node metastasis in triple negative breast cancer

2.3 TNBC EGFR表达情况

EGFR阳性物质分布于肿瘤细胞的胞质(图3),TNBC 42例中,阳性表达EGFR 29例(69.05%)。淋巴结转移者EGFR表达率明显高于无淋巴结转移者(P<0.05),而且随组织学分级升高其表达增强(P<0.05),与患者年龄、肿瘤大小、临床分期及绝经情况等病理参数无关(P>0.05)。通过Kaplan-Meier生存分析显示,表达EGFR者预后较差,经Log-rank检验二者差异有统计学意义(P<0.05)。



A: EGFR 阴性表达 SP × 400; B: EGFR 阳性表达 免疫组化非生物素疗法 × 400

图3 EGFR在乳腺癌中的表达

Figure 3 The expression of EGFR in breast cancer

3 讨论

乳腺癌是一种异质性肿瘤,2000年Perou等首先利用cDNA基因芯片技术对65例乳腺癌样本并结合患者的预后进行综合分析,发现依据乳腺癌基因表达谱的差异可将乳腺肿瘤分为4个不同的分子亚型,即管腔型、正常乳腺样型、HER-2过表达型及基底细胞样型(BLBC)^[3]。随后Sorlie等^[4]的研究又将管腔型分为管腔A型和管腔B型,完善了乳腺癌的分子分型。五种亚型中,HER-2过表达型及基底细胞样型预后较差。三阴性乳腺癌(TNBC)指不表达ER、PR及HER-2的乳腺癌,其表型上与BLBC具有一定的相关性,有研究表明90%左右的TNBC属于BLBC^[5]。

西方国家的文献统计结果显示TNBC占乳腺癌的10%~17%,多发生于绝经前妇女,且存在种族差异性,以非洲裔美国妇女发病较高,约26%^[6]。本研究中TNBC占全部乳腺癌的21.00%,在文献报道的发病率范围内^[7],但略高于欧美及亚洲其他国家妇女TNBC发病率,而低于非洲裔美国妇女,更加证明了TNBC的发生具有种族差异这一特点。本研究表明,TNBC患者发病年龄较小,以绝经前妇女为多,组织分级较高(多为Ⅲ级)与文献报道一致。而国内外的研究报道称TNBC肿瘤瘤体大,从本研究来看,TNBC与non-TNBC两组在肿瘤大小的分布相似,差异无统计学意义。

本研究通过随访发现TNBC患者3、5、7、10年总生存率分别为76.19%、61.90%、59.52%、59.09%,明显低于non-TNBC患者的生存率(3、5、7、10年总生存率分别为94.94%、89.24%、81.42%、81.01%)。本研究表明TNBC患者死亡大多发生在术后5年内,但对患者进行5~10年随访发现死亡风险与non-TNBC患者差异逐渐缩小。另外,关于TNBC与淋巴结转移情况的关系,不同的研究之间存在一定的分歧^[5,8,9]。本研究通过比较淋巴结转移组与无淋巴结转移组TNBC发现,TNBC在淋巴结转移组较无淋巴结转移组高发,此结果与国

外一些研究一致^[5,8]。通过生存分析发现,淋巴结转移组TNBC 3、5、7、10年总生存率分别为60.00%、48.00%、46.60%、46.60%,而无淋巴结转移组分别为88.23%、76.47%、74.77%、74.10%,淋巴结转移组较无转移组TNBC生存率明显降低,而且淋巴结转移数量多的患者生存时间较短。

总之,三阴性乳腺癌是乳腺癌中一种高危的类型,患者年龄较小,易复发转移、预后差,目前联合化疗无明显效果。随着EGFR研究的深入,将为三阴性乳腺癌提供新的有效方法。

参考文献

- 1 Rhee J, Han SW, Oh DY, et al. The clinicopathologic characteristics and prognostic significance of triple-negative in node-negative breast cancer[J]. *BMC Cancer*, 2008, 8: 307-344.
- 2 Mattern J, Koomägi R, Volm M. Association of vascular endothelium growth factor expression with intratumoral microvessel density and tumor cell proliferation in human epidermoid lung cancer [J]. *Br J Cancer*, 1996, 73(7): 931-934.
- 3 Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours[J]. *Nature*, 2000, 406(6797): 747-752.
- 4 Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(14): 8418-8423.
- 5 Rakha EA, El2Sayed ME, Green AR, et al. Prognostic markers in triple-negative breast cancer[J]. *Cancer*, 2007, 109(1): 25-32.
- 6 Reis-Filho JS, Tutt AN. Triple negative tumours: a critical review [J]. *Histopathology*, 2008, 52(1): 108-118.
- 7 Tischkowitz M, Brunet JS, Bégin LR, et al. Use of immunohistochemical markers can refine prognosis in triple negative breast cancer[J]. *BMC Cancer*, 2007, 7: 134.
- 8 Mersin H, Yildirim E, Berberoglu U, et al. The prognostic importance of triple negative breast carcinoma[J]. *Breast*, 2008, 17(4): 341-346.
- 9 Yin WJ, Lu JS, Di GH, et al. Clinicopathological features of the triple-negative tumors in chinese breast cancer patients[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 115(2): 325-333.

(2009-11-11收稿)

(2009-12-11修回)

(王展宏校对)