

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2011.02.011

雄激素受体在不同分子亚型乳腺癌中的表达及其意义

于琦^{1,2},牛昀¹,王淑玲¹,吕淑华¹,张静¹,刘子瑜¹

Androgen Receptor Expression in Different Molecular Subgroups of Breast Cancer and Its Significance

YU Qi^{1,2}, NIU Yun¹, WANG Shu-ling¹, LV Shu-hua¹, ZHANG Jing¹, LIU Zi-yu¹

1. Key Laboratory of Breast Cancer Prevention and Therapy, Tianjin Medical University, Ministry of Education and Key Laboratory of Cancer Prevention Therapy, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 300060, China; 2. Department of Oncology, Jinghai Hospital

Corresponding Author: NIU Yun, E-mail: yunniu2000@126.com

Abstract: Objective To evaluate the expression of AR (androgen receptor, AR) in different molecular subgroups of breast cancer and its significance. **Methods** Three hundred and thirty-five cases of invasive ductal breast carcinoma were involved in this study. Immunohistochemical expression of AR on paraffin-embedded tumor tissues was analyzed, compared with patients' outcome during 66-months' follow-up observation, and its implications were evaluated in five molecular subgroups. **Results** A greater percentage (72.5%) of breast cancer cases displayed nuclear immunoreactivity for AR, and AR expression was found in 53.2% of ER, PR-negative cases. The majority (61.0%) of basal-like breast cancers showed loss of AR expression, which had poor prognosis. In luminal A, luminal B, basal-like, and normal-like subgroups, the occurrence rate of relapse, metastasis and death for AR positive was lower than that of AR negative tumors ($P = 0.019, 0.044, 0.034$ and 0.032 respectively). The disease-free survival curves also revealed that the patients with AR expression had a more favorable prognosis than those without it ($P = 0.006, 0.013, 0.036$ and 0.010). **Conclusion** The detection of AR may help improve the molecular subtyping of breast cancer and provide theoretical evidence for individualized treatment.

Key words: Androgen receptor; Breast cancer; Molecular subgroup

摘要:目的 探讨乳腺癌组织雄激素受体(androgen receptor, AR)的表达,分析其在各分子亚型中表达的特点及其意义。**方法** 采用免疫组织化学方法检测 AR 在 335 例乳腺浸润性导管癌石蜡包埋组织中的表达,结合 66 月随访情况,分析 AR 在五个分子亚型中表达的特点。**结果** 乳腺癌组织中 AR 阳性率较高,达 72.5%,尤其在 ER 阴性 PR 阴性乳腺癌病例,AR 常常显示阳性(占 53.2%)。较多(61.0%) basal-like 型乳腺癌 AR 显示阴性,提示预后欠佳。在 luminal A, luminal B, basal-like 以及 normal-like 亚型中 AR 阳性组出现局部复发、远处转移或死亡比例较 AR 阴性组少($P = 0.019, 0.044, 0.034$ 和 0.032),生存曲线也显示了 AR 阳性患者预后较好($P = 0.006, 0.013, 0.036$ 和 0.010)。**结论** 检测乳腺癌 AR 的表达水平有助于改进和细化乳腺癌的分子分型,为指导个体化治疗提供理论依据。

关键词: 雄激素受体;乳腺癌;分子分型

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2011)02-0159-04

收稿日期: 2010-06-07; **修回日期:** 2010-09-19

基金项目: 天津市自然科学基金资助项目(09JCYBJC10100);国家自然科学基金项目资助项目(30872519);教育部长江学者和创新团队计划资助项目(TRT0743)

作者单位: 1. 300060 天津,天津医科大学附属肿瘤医院 乳腺癌防治教育部重点实验室 天津市肿瘤防治重点实验室; 2. 静海医院肿瘤科

通信作者: 牛昀, E-mail: yunniu2000@126.com

作者简介: 于琦(1968-),女,博士,主任医师,主要从事乳腺癌临床诊治及基础研究工作

0 引言

近年来,根据基因微阵列分析和免疫表型特征将乳腺癌分为 5 个亚型: luminal A、luminal B、HER-2 过表达型、basal-like 以及 normal-like 乳腺癌^[1-2]。不同分子亚型乳腺癌的临床治疗反应和预防截然不同,同时人们也发现 5 个亚型和乳腺癌的生物学行为不是很一致。已有文献报道雄激素受体(androgen receptor, AR)常和雌激素受体(estrogen

receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)共表达于乳腺癌,并且与乳腺癌的发生^[3-4]、发展和预后密切相关,尤其是 AR 也存在 ER、PR 阴性乳腺癌^[5],因此,雄激素和雄激素受体逐渐成为人们研究乳腺癌所关注的焦点。

本研究采用免疫组织化学法检测乳腺癌中 AR 蛋白的表达情况,结合随访资料,分析 AR 蛋白表达在不同分子亚型中的特点,有望进一步改进乳腺癌的分子分型,使分子分型更符合乳腺癌的生物学特性,用以针对性地指导个体化治疗。

1 资料和方法

1.1 临床资料

收集天津医科大学肿瘤医院乳腺病理室 2004 年 1 月至 2004 年 5 月间乳腺浸润性导管癌(invasive ductal carcinoma, IDC)石蜡包埋组织 335 例,均为女性,中位年龄 52.5 岁,该组患者术前均未接受任何辅助治疗。

1.2 试剂

AR 鼠抗人单克隆 IgG1 抗体 (AR441, 1:100, LabVision, USA), ER 抗体 (SP1, 1:200, ZETA, USA), PR 抗体 (SP2, 1:200, ZETA, USA), HER2 抗体 (CB11, 1:100, Invitrogen, USA), CK5/6 抗体 (D5/16B4, 1:200, Invitrogen, USA), CK14 抗体 (LL002, 1:200, LabVision, USA)

1.3 免疫组织化学染色及其结果判定

采用 SP 法,石蜡包埋组织块切片,常规脱蜡至水, DAB 染色,苏木精复染,中性树胶封固。用 PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照。乳腺癌 AR 蛋白表达定位于细胞核,呈棕黄色或棕褐色颗粒,以阳性细胞 $\geq 10\%$ 为阳性; ER 和 PR 以细胞核阳性细胞 $\geq 10\%$ 为阳性; CK5/6 和 CK14 以胞质和胞膜着色为阳性细胞; HER-2 + 以胞膜强阳性细胞 $> 30\%$ 为标准^[6-7]。

五个分子亚型的免疫表型特征为 luminal A 亚型 (ER/PR+, HER-2-), luminal B (ER/PR+, HER-2+), HER-2+ (ER-, PR-, HER-2+), basal-like (ER-, PR-, HER-2-, CK5/6+, CK14+) 和 normal-like (ER-, PR-, HER-2-, CK5/6-, CK14-)^[2,6]。

1.4 随访

回顾分析了该组患者临床资料,随访时间 66 月,分析 AR 蛋白在乳腺癌 5 个分子亚型中的表达特点,比较乳腺癌 AR 阳性患者与 AR 阴性者无病

生存情况间的差异。

1.5 统计学方法

采用 SPSS13.0 统计软件包进行统计分析,以 $P < 0.05$ 作为差异有统计学意义。各组间 AR 蛋白表达情况的比较采用 χ^2 检验。生存曲线用 Kaplan Meier 方法,无病生存率间差异的比较用 log-rank 检验。

2 结果

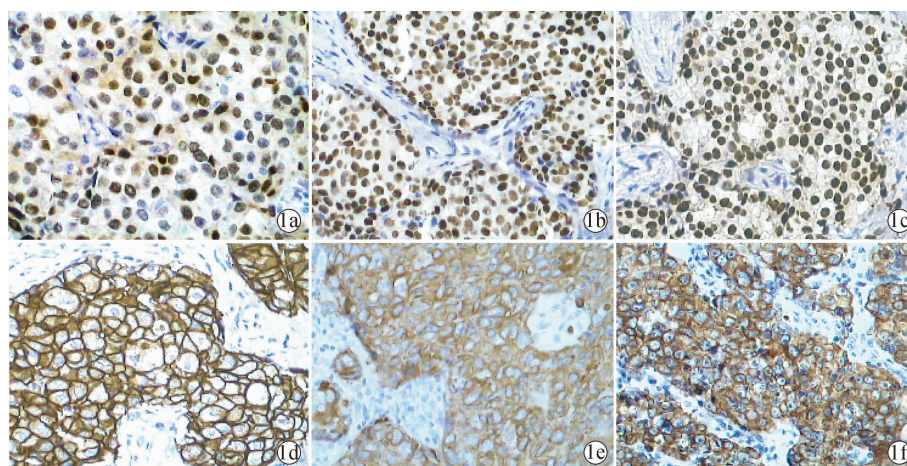
对 335 例病人进行随访,其中 2 例因脑意外死亡,6 例失访。327 例完成了 66 月的随访。其中 237 例 (72.5%) AR 阳性,尤其在 ER、PR 阴性乳腺癌病例中,53.2% (58/109) AR 显示阳性。各指标蛋白在乳腺癌中的阳性表达,见图 1,乳腺癌 5 个分子亚型中 AR 表达情况见表 1。

表 1 乳腺癌 5 个分子亚型中 AR 表达情况

Table 1 Expression of AR in five molecular subgroups of IDC of the breast

Subgroups	Total cases (%)	AR positive	
		Cases	(%)
luminal A	173(52.9)	145	(83.8)
luminal B	45(13.8)	34	(75.6)
HER-2 overexpressing	43(13.1)	24	(55.8)
basal-like	41(12.5)	16	(39.0)
normal-like	25(7.6)	18	(72.0)
Total	327	237	(72.5)

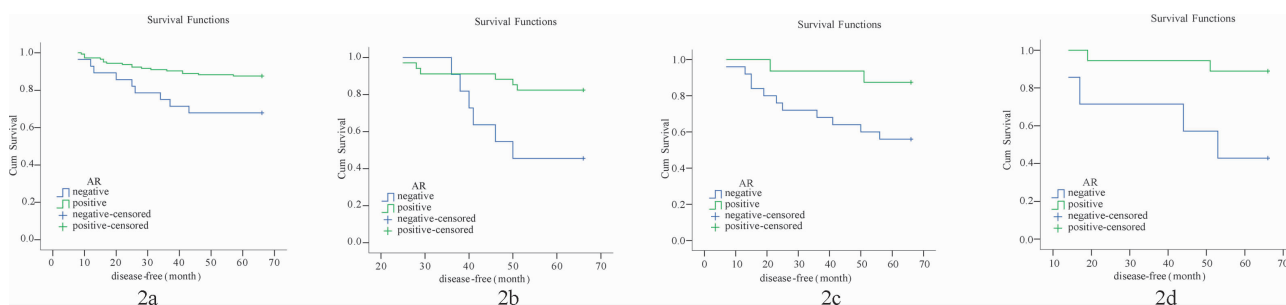
在 66 月的随访期间,41 例 basal-like 乳腺癌中,25 例 AR 蛋白阴性,其中 44.0% (11/25) 的患者出现局部复发、远处转移或死亡:3 例 (12.0%) 死亡,1 例 (4.0%) 局部复发,7 例 (28.0%) 远处转移,而 16 例 AR 阳性病人仅有 2 例 (12.5%) 局部复发,较 AR 阴性的 basal-like 病例出现复发、转移或死亡率低 ($P = 0.034$),生存曲线也显示了同样的趋势 ($P = 0.036$)。在 luminal A, luminal B 和 normal-like 乳腺癌中出现局部复发、远处转移或死亡的,AR 阴性组和 AR 阳性组相比详见表 2、图 2。而 HER-2 过表达型乳腺癌中,AR 阴性组发生局部复发、远处转移或死亡率 (26.3%) 较 AR 阳性组 (37.5%) 稍低 ($P = 0.437$),提示差异无统计学意义,而且生存曲线显示此亚型中 AR 表达与否和无病生存时间差异亦无统计学意义 ($P = 0.382$)。



1a:AR revealed nuclear staining in IDC;1b:ER revealed nuclear staining in IDC;1c:PR revealed nuclear staining in IDC;1d: The tumor showed strong membrane staining of HER-2;1e:Diffuse cytoplasmic and membrane staining of CK 5/6;1f:Diffuse cytoplasmic staining of CK14

图 1 各指标蛋白在乳腺癌中的阳性表达(SP × 200)

Figure 1 The positive expression of each protein in breast cancer tissues(SP × 200)



2a: Disease-free survival curve of 173 luminal A breast cancer patients ($P = 0.006$); 2b: of 45 luminal B breast cancer patients ($P = 0.013$); 2c: of 41 basal-like breast cancer patients ($P = 0.036$); 2d: of 25 normal-like breast cancer patients ($P = 0.010$)

图 2 乳腺癌各亚型不同 AR 表达的无病生存曲线

Figure 2 Disease-free survival curve of the patients in each breast cancer subgroup

表 2 AR 表达与各亚型乳腺癌预后的关系

Table 2 AR expression and the prognostic subcategories of each breast cancer subgroup

Subgroups	Cases	Cases of relapse, distant metastasis or death(%)	P
luminal A			
AR positive	145	18(12.4)	0.019
AR negative	28	9(32.1)	
luminal B			
AR positive	34	6(17.6)	0.044
AR negative	11	6(54.5)	
HER-2 overexpressing			
AR positive	24	9(37.5)	0.437
AR negative	19	5(26.3)	
basal-like			
AR positive	16	2(12.5)	0.034
AR negative	25	11(44.0)	
normal-like			
AR positive	18	2(11.1)	0.032
AR negative	7	4(57.1)	

3 讨论

已知多数 ER、PR 阳性乳腺癌对雌激素拮抗剂治疗敏感,曲妥珠单抗是针对 HER-2 过表达者的靶向治疗药物,而三阴性乳腺癌(ER-, PR-, HER-2-)缺乏针对性的治疗指南。较多文献已报道,大部分三阴性乳腺癌的组织学特性与新近确定的“basal-like”型重叠,这类乳腺癌具有自身独特的临床病理和分子特征,且患者的预后普遍较差,目前还没有针对这一特殊类型乳腺癌的靶向治疗药物。而且我们知道对于 ER、PR 均表达阳性的乳腺癌患者中,也有 20%~30% 的患者内分泌治疗无效。原因可能是除雌激素、孕激素以外,其他激素在乳腺癌发生发展过程中亦起到较重要的作用。近期研究发现过表达雄激素受体 AR 明显地抑制雌激素途径引起的乳腺上皮细胞增殖。值得注意的是雄激素对乳腺癌细胞的抑制作用不仅仅是通过雌激素水平及其作用的下降,一些研究显示雄激素可通过 AR 直接抑制肿

瘤细胞的生长^[8]。

本实验通过免疫组织化学方法检测 327 例浸润性乳腺癌组织中 AR 蛋白表达情况,其中 72.5% 的病例 AR 阳性,尤其在 ER、PR 阴性乳腺癌病例,也有半数以上显示 AR 阳性。这些以往人们用 ER、PR 检测认为激素受体阴性的病例,以 AR 水准检测则显示激素受体表达阳性,进一步证实雄激素、雄激素受体途径可能与乳腺癌的发生发展有着一定的关系。本研究结果显示 AR 表达在 luminal A 型中最常见,而在 basal-like 亚型中,仅 39.0% 是 AR 阳性的。同样与 basal-like “相同”的三阴性表型,normal-like 乳腺癌缺乏 CK5/6、CK14 表达,AR 阳性率则是 72.0%,较 basal-like 表现出不同的激素受体表达特点。由此可见,AR 和 CK 5/6、CK14 可能存在着某种关系,使 basal-like 和 normal-like 乳腺癌表现出不同的生物学行为,具体作用途径尚需进一步探讨。通过随访发现,AR 阳性较 AR 阴性的 basal-like 型乳腺癌出现复发、转移或死亡的比例低,提示 AR 阳性者预后较好。在 luminal A, luminal B, normal-like 亚型中,亦显示有同样的趋势。有趣的是 HER-2 过表达型未显示出类似结果,甚至 AR 阴性组出现复发、转移或死亡率较 AR 阳性组稍低,但差异无统计学意义,是否 AR、HER-2 两者之间有一定关系,还是两条途径相互影响作用,具体机制还需要进一步研究探讨。从本实验看出,除 HER-2 过表达型外, luminal A 型、luminal B 型、normal-like 型、basal-like 亚型,AR 阳性者均显示出较好的预后。basal-like 亚型 AR 表达率低,提示预后较差。

由此可见,AR 研究结果将有助于进一步改进和细化乳腺癌的分子分型,并为靶向治疗确定新的靶点。美国 Pommier 等已经报告,脱氢表雄酮(DHEA)对乳腺癌细胞的作用与该癌细胞是否表达 ER 和 AR 相关^[9]。本研究通过分析 AR 在各分子

亚型乳腺癌中表达的特点,将进一步为乳腺癌的雄激素受体途径治疗提供依据,尤其有助于改善三阴性乳腺癌的疗效和预后。

参考文献:

- [1] 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 USA*, 2003, 100(14):8418-8423.
- [2] Tang P, Skinner KA, Hicks DG. Molecular classification of breast carcinomas by immunohistochemical analysis: are we ready? [J]. *Diagn Mol Pathol*, 2009, 18(3):125-132.
- [3] Peters AA, Buchanan G, Ricciardelli C, et al. Androgen receptor inhibits estrogen receptor-alpha activity and is prognostic in breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(15):6131-6140.
- [4] Doane AS, Danso M, Lal P, et al. An estrogen receptor-negative breast cancer subset characterized by a hormonally regulated transcriptional program and response to androgen [J]. *Oncogene*, 2006, 25(28):3994-4008.
- [5] Nahleh Z. Androgen receptor as a target for the treatment of hormone receptor-negative breast cancer: an uncharted territory [J]. *Future Oncol*, 2008, 4(1):15-21.
- [6] Rakha EA, El-Rehim DA, Paish C, et al. Basal phenotype identifies a poor prognostic subgroup of breast cancer of clinical importance [J]. *Eur J Cancer*, 2006, 42(18):3149-3156.
- [7] Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2007, 131(1):18-43.
- [8] Aubé M, Larochelle C, Ayotte P. 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene (p,p'-DDE) disrupts the estrogen-androgen balance regulating the growth of hormone-dependent breast cancer cells [J]. *Breast Cancer Res*, 2008, 10(1):R16.
- [9] Toth-Fejel S, Cheek J, Calhoun K, et al. Estrogen and androgen receptors as comediators of breast cancer cell proliferation: providing a new therapeutic tool [J]. *Arch Surg*, 2004, 139(1):50-54.

[编辑:安 凤;校对:贺 文]