

乳腺具有微乳头状结构黏液癌的免疫表型及预后研究*

李晓艳 刘芳芳 李振华 钱晓龙 杨壹玲 郭晓静 付丽

摘要 目的:探讨乳腺具有微乳头状结构黏液癌(mucinous micropapillary carcinomas, MUMPC)的免疫表型及预后。**方法:**回顾性分析天津医科大学肿瘤医院乳腺病理研究室 2003 年 1 月至 2012 年 12 月 531 例确诊为乳腺单纯型黏液癌(pure mucinous carcinoma, pMC)的病例,筛选出其中的 MUMPC 及非微乳头状结构的 pMC 病例(对照组 pMC)。以 134 例 MUMPC 为研究组,397 例对照组 pMC 及 281 例同期诊断为浸润性微乳头状癌(invasive micropapillary carcinoma, IMPC)为对照组,3 组行临床病理学特征和生存与预后关系的分析比较,从以上病例中随机选取 32 例 MUMPC、89 例对照组 pMC、44 例 IMPC,行分泌型黏蛋白(MUC2、MUC5AC、MUC6)及神经内分泌指标 Syn 的免疫组织化学染色,比较分析 3 组的免疫表型特征。**结果:**MUMPC 的 HER-2 阳性率为 12.5%(4/32),低于 IMPC 的 27.3%(12/44),但高于对照组 pMC 的 4.5%(4/89),3 者之间有显著性差异($P=0.001$);MUC2、MUC5AC 和 MUC6 表达在 MUMPC 与对照组 pMC 中无显著性差异($P>0.05$),仅 MUC2 表达在 MUMPC 与 IMPC 比较中有显著性差异($P<0.001$);神经内分泌相关指标 Syn 表达在 MUMPC 与对照组 pMC 比较中有显著性差异($P=0.003$),而 MUMPC 与 IMPC 相比无显著性差异($P>0.05$)。Kaplan-Meier 生存分析显示,MUMPC 的无病生存期(DFS)与总生存期(OS)低于对照组 pMC($P<0.001$ 与 $P=0.004$),但要高于 IMPC。**结论:**MUMPC 的免疫表型、临床生物学行为及预后与单纯型黏液癌和 IMPC 既有区别又有联系,临床诊疗中应对该类型给予足够的认识和正确归类,以避免治疗不足或过度。

关键词 乳腺黏液癌 微乳头状结构 免疫表型 预后

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.20150063

Immunophenotyping and prognosis of mucinous micropapillary carcinomas of the breast

Xiaoyan LI, Fangfang LIU, Zhenhua LI, Xiaolong QIAN, Yiling YANG, Xiaojing GUO, Li FU

Correspondence to: Li FU; E-mail: fuli@tjmu.edu.cn

Department of Breast Cancer Pathology and Research Laboratory, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, National Clinical Research Center for Cancer, Ministry of Education Tianjin Medical University Key Laboratory of Breast Cancer Prevention and Therapy, Tianjin Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin 300060, China

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30930038) and the Youth Science Funds of the National Natural Science Foundation of China (No. 81202101)

Abstract Objective: To investigate immunophenotyping and prognosis of mucinous micropapillary carcinomas (MUMPC) of breast. **Methods:** Retrospective evaluation was performed on 531 cases with final diagnosis of pure mucinous carcinoma (pMC) of the breast in Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital from January 2003 to December 2012, cases with MUMPC and conventional pMC without micropapillary patterns were selected. A total of 134 patients with MUMPC were selected as research group, 397 cases of conventional pMC and homochronous 281 cases of invasive micropapillary carcinomas (IMPC) were selected as control groups. Clinicopathologic characteristics, survival analysis and prognosis were compared among three groups. The expression of secreted mucins (MUC2, MUC5AC, and MUC6) and neuroendocrine indicators synaptophysin (Syn) were detected through immunohistochemistry in 32 MUMPC cases, 89 conventional pMC cases and 44 IMPC cases which randomly selected from the above cases, to identify discriminating immunophenotyping among the three groups. **Results:** The positive rate of HER-2 in MUMPC was lower than that in IMPC, but higher than that in conventional pMC ($P=0.001$). Similar MUC phenotypes of MUC2, MUC5AC, and MUC6 were observed between MUMPC and conventional pMC. Different phenotypes of MUC2 were observed between MUMPC and IMPC ($P<0.001$), no difference was found in MUC5AC and MUC6. In terms of neuroendocrine differentiation, similar synaptophysin phenotypes were detected in MUMPC and IMPC. The positive rate of synaptophysin was higher in MUMPC than in conventional pMC ($P=0.003$).

作者单位:天津医科大学肿瘤医院乳腺病理研究室,国家肿瘤临床医学研究中心,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(天津市 300060)

*本文课题受国家自然科学基金重点项目(编号:30930038)与国家自然科学基金青年科学基金项目(编号:81202101)资助

通信作者:付丽 fuli@tjmu.edu.cn

Kaplan-Meier analysis results indicated that patients with MUMPC had poorer disease-free survival (DFS) and overall survival (OS) than those with conventional pMC; by contrast, patients with MUMPC had higher survival than patients with IMPC (log-rank for DFS=0.000; log-rank for OS=0.004). **Conclusion:** The patterns of immunophenotyping, clinical biological behavior and prognosis indicated that MUMPC exhibit dual phenotypes; these phenotypes displayed similarities and differences compared with conventional pMC and IMPC. Therefore, further studies on therapies for MUMPC should be conducted to avoid insufficient or excessive treatment, and to correctly classify this type of tumor in clinical practice.

Keywords: breast mucinous carcinoma, micropapillary, immunophenotyping, prognosis

乳腺黏液癌(mucinous carcinoma, MC)与浸润性微乳头状癌(invasive micropapillary carcinoma, IMPC)是两种不同病理组织学类型的特殊类型乳腺癌。IMPC具有特征性的微乳头状结构,生物学行为相对较差^[1],而MC尤其是单纯型黏液癌(pure mucinous carcinoma, pMC),除肿瘤细胞分泌大量黏液特征外生物学行为大多相对惰性,但即使是单纯型MC,其形态特征、生物学行为和预后等也存在异质性。2002年Ng^[2]报道了5例具有微乳头状结构的黏液癌(mucinous micropapillary carcinoma, MUMPC),因其具有与IMPC相同的组织形态而引起了人们的关注。目前仅有少量文献报道了MUMPC,因病例数和随访时间有限,多以临床病理学特征推断其预后,尚无明确归类,应归类为黏液癌的微乳头状亚型还是IMPC的黏液亚型,抑或是介于二者之间的独立类型尚无定论^[3]。为此,本研究将MUMPC与IMPC及对照组pMC进行对比,研究探讨MUMPC的临床病理学特征及免疫表型,为病理诊断和临床治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

回顾性分析531例天津医科大学肿瘤医院乳腺病理研究室2003年1月至2012年12月病理诊断为乳腺单纯型MC的切片,分别筛选出其中的MUMPC及非微乳头状结构的pMC病例(对照组pMC),以筛选的134例MUMPC作为研究组,397例对照组pMC及同期诊断为IMPC的281例作为对照组。行临床病理学特征和生存与预后关系的分析比较后,从以上病例中随机选取32例MUMPC、89例对照组pMC、44例IMPC分别进行分泌型黏蛋白(MUC2、MUC5AC、MUC6)及神经内分泌指标Syn的免疫组织化学染色。本研究得到了天津医科大学肿瘤医院伦理委员会的认可,且患者均签署了知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色 将经10%中性甲醛溶液固定,常规脱水、石蜡包埋的蜡块切成4 μm切片,柠檬酸盐缓冲液抗原修复,常规免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)S-P法检测上皮细胞膜抗原(epithelial membrane antigen, EMA)、分泌型黏蛋白(MUC2、MUC5AC、MUC6)及神经内分泌指标Syn。

所有抗体均购自北京中杉金桥生物技术有限公司,均为即用型,实验步骤按试剂盒说明书进行,DAB显色,苏木精复染,透明封固。设置已知阳性对照片,PBS替代一抗作为阴性对照。所有雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、HER-2的IHC结果均来自于天津医科大学肿瘤医院乳腺病理研究室。

1.2.2 MUMPC的诊断标准 MUMPC的诊断需同时符合:1)依据2012年WHO乳腺肿瘤分类中IMPC诊断标准判断MUMPC肿瘤细胞形态结构,即肿瘤细胞排列呈微乳头或/和假腺管状^[1];2)EMA阳性表达于微乳头或假腺管的外表面。以下可作为辅助诊断:1)靴钉样细胞形态,微乳头状的细胞团漂浮在黏液湖中,伴有腺腔面胞质增多的靴钉样细胞;2)沙砾体样钙化的特征性结构与IMPC中常见的钙化形态特征一致。

1.2.3 结果判定 1)ER、PR及HER-2的评定按照美国临床肿瘤学会与美国病理医师学会(ASCO/CAP)指南进行^[4]。2)分泌型黏蛋白MUC2、MUC5AC、MUC6及神经内分泌指标Syn均为细胞质着色,着色细胞≥10%判断为阳性病例^[5]。

1.3 随访

随访时间为2~112个月,中位随访时间为60个月。总生存期(overall survival, OS)是指手术日开始至患者死亡的时间;无病生存期(disease-free survival, DFS)是指手术日开始至疾病复发、转移或由疾病进展导致患者死亡的时间。

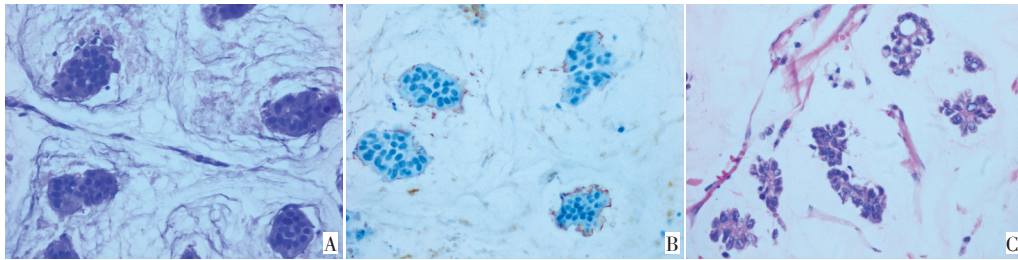
1.4 统计学分析

应用SPSS 20.0软件进行统计学分析。生存分析采用Kaplan-Meier法和Log rank检验,采用 χ^2 检验进行免疫表型之间的组间比较。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 MUMPC的形态特征

531例单纯型MC中MUMPC为134例,占25.2%(134/531),镜下可见微乳头状或假腺泡结构的肿瘤细胞漂浮在黏液湖中(图1A),EMA染色时微乳头结构的外缘着色(图1B),并可以观察到呈靴钉样形态的肿瘤细胞(图1C)。



A: H & E staining; B: Peripheral border of the micropapillary cluster is stained by EMA; C: Hobnail cells

图1 具有微乳头状结构的乳腺黏液癌形态特征(S-P×400)

Figure 1 Histological features of mucinous micropapillary carcinomas (S-P×400)

2.2 临床病理学特征

MUMPC、对照组 pMC 及 IMPC 3 组患者均为女性,中位年龄分别为 46、57、54 岁,淋巴结转移率分别为 35.1% (47/134)、3.8% (15/397)、80.8% (227/281),且两者在 3 组之间均具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.3 激素受体和 HER-2 表达

MUMPC 的 ER 与 PR 阳性率分别为 93.8% (30/32) 与 87.5% (28/32),与对照组 pMC 及 IMPC 的激素受体相比无显著性差异 ($P > 0.05$);MUMPC 的 HER-2 阳性率为 12.5% (4/32),高于对照组 pMC 的 4.5% (4/89),但低于 IMPC 的 27.3% (12/44),MUMPC、对照组 pMC 与 IMPC 的 HER-2 表达率有显著性差异 ($P = 0.001$,表 1)。

2.4 分泌型黏蛋白 MUC2、MUC5AC、MUC6 以及神经内分泌指标 Syn 表达特点

分泌型黏蛋白以及 Syn 在 MUMPC、对照组 pMC

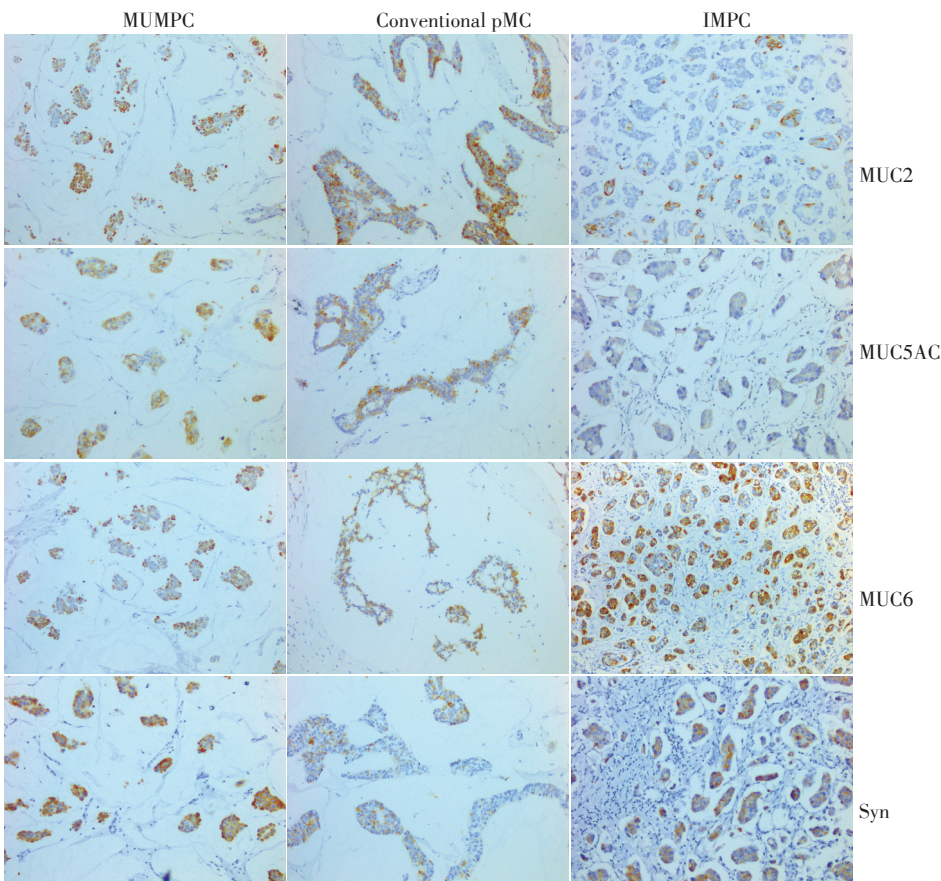
及 IMPC 的表达特点如图 2 所示。分泌型黏蛋白 MUC2、MUC5AC 和 MUC6 表达在 MUMPC 与对照组 pMC 中无显著性差异 ($P > 0.05$),仅 MUC2 表达在 MUMPC 与 IMPC 比较中有显著性差异 ($\chi^2 = 40.884, P < 0.001$);神经内分泌相关指标 Syn 表达在 MUMPC 与对照组 pMC 比较中有显著性差异 ($\chi^2 = 8.786, P = 0.003$),而 MUMPC 与 IMPC 相比无显著性差异(表 2)。

表 1 ER、PR、HER-2 免疫表型

Table 1 Basic immune phenotypes of ER, PR, and HER-2

Type of tumor	MUMPC (n=32)	Conventional pMC (n=89)	IMPC (n=44)	P
ER	30 (93.8)	80 (89.9)	37 (84.1)	0.386
PR	28 (87.5)	76 (85.4)	34 (77.3)	0.396
HER-2	4 (12.5)	4 (4.5)	12 (27.3)	0.001

Note: numerals in parentheses signify the percentage



► 图 2 MUC2、MUC5AC、MUC6 及 Syn 在 MUMPC、对照组 pMC 及 IMPC 的表达(S-P×200)

Figure 2 MUC2, MUC5AC, MUC6, and Syn expression in MUMPC, conventional pMC, and IMPC (S-P×200)

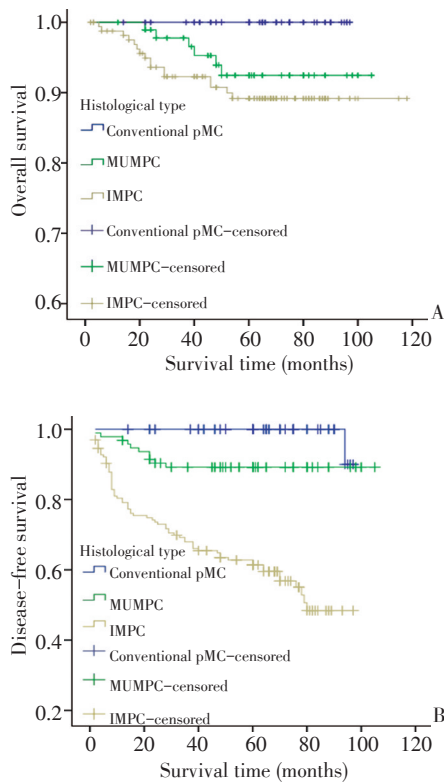
表 2 MUC2、MUC5AC、MUC6 以及 Syn 表达

Type of tumor	MUMPC (n=32)	Conventional pMC (n=89)	P	MUMPC (n=32)	IMPC (n=44)	P
MUC2	28 (87.5)	80 (89.9)	0.708	28 (87.5)	6 (13.6)	0.000
MUC5AC	4 (12.5)	10 (11.2)	0.848	4 (12.5)	8 (18.2)	0.505
MUC6	12 (37.5)	23 (25.8)	0.212	12 (37.5)	13 (29.5)	0.469
Syn	11 (34.4)	10 (11.2)	0.003	11 (34.4)	14 (31.8)	0.816

Note: numerals in parentheses signify the percentage

2.5 生存分析

MUMPC 的无病生存期(DFS)及总生存期(OS)均低于对照组 pMC,但高于 IMPC($P < 0.001$ 与 $P = 0.004$, 图 3)。



A: Overall survival curves, B: Disease-free survival curves

图 3 MUMPC、对照组 pMC 及 IMPC 的生存与预后关系

Figure 3 Survival analysis and prognosis of MUMPC, conventional pMC, and IMPC

3 讨论

MUMPC 约占乳腺单纯型黏液癌的 12%~35%^[6], Shet 等^[7]报道约为 86%,本研究为 25.2%,造成这种差异可能是由于病例数有限以及 MUMPC 诊断标准不同等因素。先前的研究大多依据形态结构辅以 EMA 染色极性倒置区分 MUMPC,而 EMA 染色时对照组 pMC 同样出现极性倒置^[6,8],提示极性倒置并不是 MUMPC 特异性的诊断标准。单纯型黏液癌的细胞核分级通常较低,而 Barbashina 及 Madur 等的结果表

明 MUMPC 的细胞核大多为中、高级别^[6,9],因此 Barbashina 等^[6]提出将细胞核分级作为 MUMPC 的诊断标准之一,而本研究发现细胞核分级较低的 MUMPC 同样具有较高的淋巴结转移率,提示细胞核分级亦不能作为 MUMPC 的诊断标准。17%~53% MUMPC、42%~62% IMPC 伴有沙砾体样钙化^[6],而其他类型的乳腺癌通常不伴有,这一特点进一步增加了 MUMPC 与 IMPC 的联系。因此,MUMPC 的诊断除形态结构和 EMA 染色极性倒置外,可结合癌细胞的靴钉样形态以及沙砾体样钙化,增加诊断的准确性。

通常认为含有微乳头状结构的乳腺癌生物学行为较差^[1],MUMPC 的组织排列模式与 IMPC 相同,而形态的一致性提示二者生物学行为之间的潜在相关性。刘芳芳等^[3]综述了有限的相关文献,大多研究表明 MUMPC 发病年龄较对照组 pMC 年轻,侵袭性也较高。本研究中 MUMPC 的发病年龄亦较对照组 pMC 年轻,淋巴结转移率也较高,Kaplan-Meier 生存分析显示 MUMPC 的 DFS 和 OS 均低于对照组 pMC,但高于 IMPC。由上所述,MUMPC 较 IMPC 的生物学行为相对惰性,与对照组 pMC 相比则表现较差的生物学行为,因此在分类上将其归入对照组 pMC 可能会造成对部分该类患者的治疗不足,而将其归入 IMPC 又可能导致治疗过度。

MUMPC、对照组 pMC 及 IMPC 的雌激素受体均高表达,三者的多数病例均属于 Luminal 型乳腺癌。受病例数限制,MUMPC 的 HER-2 阳性率的报道并不一致,有报道其 HER-2 表达阴性^[6],亦有报道其 HER-2 阳性率约 20%^[6],而相关研究报道乳腺单纯型黏液癌的 HER-2 阳性率通常 <5%^[10],本研究中 MUMPC、对照组 pMC 的 HER-2 阳性率分别为 12.5%、4.5%,这可能是 MUMPC 较对照组 pMC 侵袭性强的原因之一,而且 MUMPC、对照组 pMC 及 IMPC 的 HER-2 阳性率的显著差异符合三者生物学行为以及预后特征上的差异,即预后越差的 HER-2 阳性率越高。

乳腺黏液癌最重要的特征是癌细胞分泌大量黏液,约 14% IMPC 亦伴有黏液分化^[11],而黏液的主要成分为黏蛋白,但目前关于乳腺 MUMPC 中 MUC 家族蛋白的表达特征更类似于 MC 还是 IMPC 尚无报道^[3]。本研究结果显示,分泌型黏蛋白 MUC2、MUC5AC 及 MUC6 表达在 MUMPC 与对照组 pMC 中无显著性差异,仅 MUC2 表达在 MUMPC 与 IMPC 比较中有显著性差异,提示 MUC2 可能作为屏障防止肿瘤细胞的侵袭和转移^[12],这可能是 MUMPC 相对 IMPC 生物学行为较为惰性的原因之一。

研究表明乳腺黏液癌及浸润性导管癌均伴有神

经内分泌分化且与预后相关^[13-14], MUMPC 及 IMPC 亦伴有神经内分泌分化^[7, 15]。本研究结果显示 MUMPC、对照组 pMC 及 IMPC 均伴有神经内分泌分化, 且 Syn 表达率在 MUMPC 与 IMPC 中无显著性差异, 但在 MUMPC 与对照组 pMC 中的比较有显著性差异, 同时行神经内分泌分化与预后分析时并未发现相关性, 可能是因本研究病例数有限, 未来将通过增加含有微乳头状结构的乳腺癌研究病例以及对多种神经内分泌指标研究, 分析神经内分泌分化对该类乳腺癌的预后意义。

综上所述, MUMPC 相对于对照组 pMC 表现不良的生物学行为, 与对照组 pMC 及 IMPC 的免疫表型既有区别又有联系, 临床诊疗中应对 MUMPC 给予足够的认识, 但是否需要单独提出以区别于普通单纯型黏液癌和 IMPC, 或者作为其中某一类型的亚型还需进一步在基因水平进行分析和比较, 为病理学分类提供依据。

参考文献

[1] Guo XJ, Chen L, Lang RG, et al. Relationship between lymph node metastasis and pathologic features of invasive micropapillary carcinoma of breast[J]. Chin J Pathol, 2006, 35(1):8-12. [郭晓静, 陈凌, 郎荣刚, 等. 乳腺浸润性微乳头状癌的病理学特征与淋巴结转移的关系[J]. 中华病理学杂志, 2006, 35(1):8-12.]

[2] Ng WK. Fine-needle aspiration cytology findings of an uncommon micropapillary variant of pure mucinous carcinoma of the breast: review of patients over an 8-year period[J]. Cancer, 2002, 96(5):280-288.

[3] Liu FF, Fu Li. The current status and clinical pathological features of micropapillary mucinous breast cancer[J]. J Clin Exp Pathol, 2013, 28(8):703-705. [刘芳芳, 付丽. 具有微乳头状结构的乳腺黏液癌的临床病理学特征及研究现状[J]. 临床与实验病理学杂志, 2013, 28(8):703-705.]

[4] Hammond ME, Hayes DF, Wolff AC, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer[J]. J Oncol Pract, 2010, 6(4):195-197.

[5] Kim D, Jung WH, Koo JS. Expression of MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC5B in mucinous lesions of the breast[J]. Pathobiology, 2012, 79(3):144-153.

[6] Barbashina V, Corben AD, Akram M, et al. Mucinous micropapil-

lary carcinoma of the breast: an aggressive counterpart to conventional pure mucinous tumors[J]. Hum Pathol, 2013, 44(8):1577-1585.

[7] Shet T, Chinoy R. Presence of a micropapillary pattern in mucinous carcinomas of the breast and its impact on the clinical behavior[J]. Breast J, 2008, 14(5):412-420.

[8] Bal A, Joshi K, Sharma SC, et al. Prognostic significance of micropapillary pattern in pure mucinous carcinoma of the breast[J]. Int J Surg Pathol, 2008, 16(3):251-256.

[9] Madur B, Shet T, Chinoy R. Cytologic findings in infiltrating micropapillary carcinoma and mucinous carcinomas with micropapillary pattern[J]. Acta Cytol, 2007, 51(1):25-32.

[10] Ranade A, Batra R, Sandhu G, et al. Clinicopathological evaluation of 100 cases of mucinous carcinoma of breast with emphasis on axillary staging and special reference to a micropapillary pattern[J]. J Clin Pathol, 2010, 63(12):1043-1047.

[11] Walsh MM, Bleiweiss IJ. Invasive micropapillary carcinoma of the breast: eighty cases of an underrecognized entity[J]. Hum Pathol, 2001, 32(6):583-589.

[12] Rakha EA, Boyce RW, Abd El-Rehim D, et al. Expression of mucins (MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC and MUC6) and their prognostic significance in human breast cancer[J]. Mod Pathol, 2005, 18(10):1295-1304.

[13] Tse GM, Ma TK, Chu WC, et al. Neuroendocrine differentiation in pure type mammary mucinous carcinoma is associated with favorable histologic and immunohistochemical parameters[J]. Mod Pathol, 2004, 17(5):568-572.

[14] Kwon SY, Bae YK, Gu MJ, et al. Neuroendocrine differentiation correlates with hormone receptor expression and decreased survival in patients with invasive breast carcinoma[J]. Histopathology, 2014, 64(5):647-659.

[15] Lin HY, Gao LX, Jin ML, et al. Clinicopathologic features of micropapillary variant of pure mucinous carcinoma of breast[J]. Chin J Pathol, 2012, 41(9):613-617. [蔺会云, 皋岚湘, 金木兰, 等. 以微乳头状结构为特点的乳腺单纯型黏液癌临床病理观察[J]. 中华病理学杂志, 2012, 41(9):613-617.]

(2015-01-13 收稿)

(2015-03-09 修回)

(编辑:张侃)

作者简介



李晓艳 专业方向为乳腺癌发生、发展、侵袭及转移机制。

E-mail: lxy140646@163.com