

# 老年三阴性乳腺癌 PTEN、DJ-1 表达及其与临床病理的相关性研究

周立荣<sup>1</sup>, 刘彧<sup>2</sup>

1.浙江省诸暨市中心医院普外科,浙江 诸暨 311800;2. 浙江大学附属第一医院乳腺疾病诊治中心, 浙江诸暨 310002

**摘要:****目的:** 探讨老年三阴性乳腺癌(TNBC)中PTEN、DJ-1的表达及其临床意义。**方法:** 收集我院行手术切除治疗的年龄 $\geq 60$ 岁TNBC患者85例,另选择同期年龄 $\geq 60$ 岁的正常乳腺组织50例为对照组,采用SP免疫组织化学法检测PTEN、DJ-1蛋白的表达,并分析两者表达的相互作用及其与老年TNBC临床病理特征的关系。**结果:** PTEN、DJ-1在85例老年TNBC组织中的阳性表达率分别为28.2%(24/85)和74.1%(63/85),在50例正常乳腺组织中的阳性表达率分别为100%(50/50)和6.0%(3/50),老年TNBC组织中DJ-1阳性表达率明显高于正常乳腺组织( $P<0.05$ ),而PTEN阳性表达率明显低于正常乳腺组织( $P<0.05$ )。在老年TNBC组织中,TNM分期(III-IV)、伴有腋窝淋巴结转移、伴有脉管癌栓者的PTEN阳性表达率明显低于TNM分期(I-II)、无腋窝淋巴结转移、无脉管癌栓者( $P<0.05$ );病理分级(III-IV)、TNM分期(III-IV)、伴有腋窝淋巴结转移、伴有脉管癌栓者的DJ-1阳性表达率明显高于病理分级(I-II)、TNM分期(I-II)、无腋窝淋巴结转移、无脉管癌栓者( $P<0.05$ )。**结论:** 老年TNBC组织中存在PTEN的表达缺失,DJ高表达,且两者均对TNBC患者的淋巴结转移、侵袭性强和容易远处转移的临床病理特征有重要影响。

**关键词:** 三阴性乳腺癌;老年;免疫组织化学;PTEN;DJ-1

三阴性乳腺(triple-negative breast cancer, TNBC)是指分子标志物ER、PR、Her-2三者均为阴性表达的特殊亚型乳腺癌。TNBC的免疫表型、生物学行为及治疗反应有别于普通型乳腺癌,具有倾向于远处转移、早期复发、预后差及特有的靶向治疗药物缺乏的特点<sup>[1-2]</sup>。近年来老年人乳腺癌的发病率呈增长趋势,但国内外对老年人三阴乳腺癌的相关研究仍不多见。磷酸化肿瘤抑制基因(PTEN)是一种具有调控细胞生长及细胞调亡、阻止基因突变的新肿瘤抑制基因,参与多种肿瘤发生发展、生物学行为、预后,一直是最活跃的肿瘤发生发展机制研究领域之一<sup>[3]</sup>。研究发现,DJ-1基因是一种参与机体多种病理生理过程的丝裂原依赖性癌基因,其与肿瘤发生发展的关系日益受到关注,近年来发现DJ-1具有抑制PTEN抑癌基因的作用,这可能是DJ-1涉及肿瘤的发生发展的病理机制之一<sup>[4]</sup>。本研究应用免疫组织化学方法检测PTEN、DJ-1在老年TNBC组织中的表达,探讨两者表达的相互作用及其与老年TNBC临床病理特征的关系。

## 1 对象和方法

**1.1 研究对象** 选择2008-01/2013-09行手术切除治疗的年龄 $\geq 60$ 岁TNBC患者85例,均经术后病理诊断证实,均为女性,年龄60~75(65.6 $\pm$ 4.5)岁。另选择同期年龄 $\geq 60$ 岁的正常乳腺组织50例为对照组(取自乳腺纤维腺瘤切除手术),均经病理镜下诊断为正常乳腺组织,均为女性,年龄60~72(63.7 $\pm$ 3.5)岁。

**1.2 方法** 老年TNBC组织及正常乳腺组织中PTEN、DJ-1蛋白的表达采用免疫组织化学SP法进行检测,SP试剂盒购自福建迈新生物技术有限公司,PTEN兔抗人多克隆抗体和DJ-1鼠抗人单克隆抗体均购自美国PTG公司。操作程序按说明书进行。结果判断:PTEN表达阳性为细胞核呈现棕黄或棕褐色颗粒,DJ-1表达阳性为细胞浆或细胞核呈现棕黄或棕褐色颗粒。按阳性细胞数占同类计数细胞的百分比,将染色结果分为: $<5\%$ (-), $5\% \sim 25\%$ (+), $25\% \sim 50\%$ (++), $>50\%$ (+++).

### 1.3 统计学方法

采用SPSS 13.0版统计软件进行数据分析。计数资料比较采用 $\chi^2$ 检验。

## 2 结果

**2.1 PTEN、DJ-1在老年TNBC组织和正常乳腺组织中的表达比较** PTEN、DJ-1在85例老年TNBC组织中的阳性表达率分别为28.2%(24/85)和74.1%(63/85)，在50例正常乳腺组织中的阳性表达率分别为100%(50/50)和6.0%(3/50)，老年TNBC组织中DJ-1阳性表达率明显高于正常乳腺组织( $P<0.05$ )，而PTEN阳性表达率明显低于正常乳腺组织( $P<0.05$ )。

**2.2 PTEN、DJ-1的表达与老年TNBC患者临床病理特征的相关性** 在85例老年TNBC组织中，TNM分期(III-IV)、伴有腋窝淋巴结转移、伴有脉管癌栓者的PTEN阳性表达率明显低于TNM分期(I-II)、无腋窝淋巴结转移、无脉管癌栓者( $P<0.05$ )；病理分级(III-IV)、TNM分期(III-IV)、伴有腋窝淋巴结转移、伴有脉管癌栓者的DJ-1阳性表达率明显高于病理分级(I-II)、TNM分期(I-II)、无腋窝淋巴结转移、无脉管癌栓者( $P<0.05$ )，见表1。

表1 老年TNBC组织中PTEN、DJ-1表达与临床病理特征的关系 [n(%)]

临床病理	例数 n	PTEN阳性表达	DJ-1阳性表达
绝经年龄(岁)			
≤45	9	2(22.2)	7(77.8)
46~55	59	17(28.8)	44(74.6)
>55	17	5(29.4)	12(70.6)
肿瘤大小(cm)			
≤2	19	5(26.3)	14(73.7)
2~5	32	9(28.1)	24(75.0)
>5	34	10(29.4)	25(73.5)
TNM 分期			
I-II	45	21(46.7)	26(57.8)
III-IV	40	3(7.5) <sup>a</sup>	37(92.5) <sup>a</sup>
病理分级			
I-II	46	13(28.3)	28(60.9) <sup>a</sup>
III-IV	39	11(28.2)	35(89.7)

腋窝淋巴结转移			
有	41	4(9.8) <sup>a</sup>	38(92.7) <sup>a</sup>
无	44	20(45.5)	25(56.8)
脉管癌栓			
有	34	5(14.7) <sup>a</sup>	31(91.2) <sup>a</sup>
无	51	19(37.3)	32(62.7)

<sup>a</sup> $P<0.05$ .

**2.3 老年TNBC组织中PTEN、DJ-1表达的关系** 85例老年TNBC组织中, PTEN和DJ-1蛋白的表达之间呈负相关( $r=-0.541$ ,  $P<0.05$ )。

### 3 讨论

随着我国人口年龄结构日趋老化, 老年TNBC已逐渐引起临床的关注。由于老年人系统功能有所退化, 原发病多, 且不能耐受手术放化疗, 同时TNBC治疗缺乏明确的治疗靶点, 致使老年TNBC的预后更差。因此探索老年TNBC的发生发展机制探讨及寻找新的分子治疗靶标已成为近几年的一个研究热点。

近年来抑癌基因PTEN在肿瘤发生发展过程中的作用机制研究已取得了一定进展, 现已发现PTEN的基因缺失或(和)突变存在于多种恶性肿瘤组织和肿瘤细胞系中[5-7]。目前认为PTEN可能通过其脂质磷酸酶活性对PI3K途径起负性调节作用, 且可诱导细胞停止G<sub>0</sub>期, 抑制细胞周期进程, 从而抑制细胞生长增殖; 并可通过其蛋白磷酸酶活性抑制有丝分裂原激活蛋白激酶(MAPK)途径, 从而抑制肿瘤细胞粘连、转移和浸润等过程。因此PTEN表达失活被认为是肿瘤的发生、浸润及转移等过程中至关重要的一步。本研究结果发现, PTEN蛋白在老年TNBC组织中也存在表达缺失, 明显低于正常乳腺组织中的表达阳性率, 说明PTEN的表达下降或缺失参与了老年TNBC的发生过程。本研究进一步观察PTEN蛋白的表达与老年TNBC患者临床病理特征的关系, 结果发现在85例老年TNBC组织中, TNM分期(III-IV)、伴有腋窝淋巴结转移、伴有脉管癌栓者的PTEN阳性表达率明显低于TNM分期(I-II)、无腋窝淋巴结转移、无脉管癌栓者( $P<0.05$ ), 而PTEN蛋白的表达与绝经年龄、肿瘤大小、病理分级无关。提示PTEN的表达下降或缺失不仅参与了老年TNBC的发生过程, 更对老年TNBC患者的淋巴结转移、恶性发展进程和容易远处转移的临床病理特征有重要的影响。但相关作用机制仍有待进一步深入研究。

DJ-1是Nagakubo等发现的一种新的丝裂原依赖性癌基因, 目前对DJ-1蛋白在机体内具有的功能和调控作用机制仍不十分清楚, 但已经证实了DJ-1蛋白参与了调节转录、增殖、蛋白水解和氧化应激等多种生理病理活动。随着对DJ-1在肿瘤形成、演变过程中的机制探讨得到进一步的重视, 国内外研究结果发现, DJ-1在乳腺癌、眼葡萄膜恶性黑色素瘤、宫颈癌、卵巢癌、食管鳞状细胞癌、肝癌、前列腺癌、髓母细胞瘤等多种肿瘤组织中呈过度表达, 且推测DJ-1基因通过调节细胞凋亡、促进细胞增殖和转录水平而参与恶性肿瘤的发生、侵袭、转移等过程, 可能是一种有应用前景的肿瘤治疗靶点[8-9]。本研究结果发现, DJ-1在老年TNBC组织中的表达明显高于正常乳腺组织( $P<0.05$ ), 证明DJ-1的高表达在老年

TNBC发生过程中起着重要作用。同时发现在85例老年TNBC组织中,病理分级(III-IV)、TNM分期(III-IV)、伴有腋窝淋巴结转移、伴有脉管癌栓者的DJ-1阳性表达率明显高于病理分级(I-II)、TNM分期(I-II)、无腋窝淋巴结转移、无脉管癌栓者( $P<0.05$ )。证明DJ-1是促进癌组织恶性发展进程的一个重要的调节分子,DJ-1高表达者,具有转移、侵袭及恶性增殖、恶性发展的临床病理特征,预后更差,可成为判断老年TNBC患者侵袭转移潜能的新分子指标和靶向治疗的潜在靶点。

研究发现DJ-1蛋白是一种关键的PTEN负性调节蛋白,可通过抑制PTEN 表达,促进PI3K-Akt通路的活化,进而促进细胞生长、增殖<sup>[10]</sup>。本研究对老年TNBC组织中PTEN、DJ-1表达关系进行了分析,结果显示85例老年TNBC组织中,PTEN和DJ-1蛋白的表达之间呈负相关( $r=-0.541$ ,  $P<0.05$ ),提示两者在参与老年TNBC形成、转移、侵袭及恶性增殖、恶性发展过程中存在一定相互作用的关系,推测DJ-1有可能通过抑制PTEN表达及活性,从而促进TNBC的发生发展,但两者之间的作用机制仍不清楚。因此,探讨PTEN、DJ-1蛋白参与老年TNBC的发生发展的作用机理以及两者之间的相互作用机制,可能为学者们探索新的分子靶点提供新的思路。

### 参考文献

- [1]Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer[J]. N Engl J Med 2010,363(6):1938-48.
- [2]Amir E, Ocana A, Freedman O, et al. Chemotherapy: dose-dense treatment for triple-negative breast cancer[J]. Nat Rev Clin Oncol 2010, 7(11):79-80.
- [3]刘飞, 彭鄂军, 李有元, 等. EZH2和PTEN在膀胱癌的表达及预后分析[J]. 中国肿瘤临床, 2010, 27(21): 1220-1223
- [4] Liu H, Wang M, Li M, et al. Expression and role of DJ-1 in leukemia[J]. Biochem Biophys Res Commun. 2008, 375(3): 477-483.
- [5]薛伟明, 王占祥, 马永会, 等. EGFL7和PTEN 在人脑胶质瘤中的表达[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2011, 10(6): 489-493.
- [6]李海波, 王禾, 武国军, 等. EZH2和PTEN蛋白联合检测与肾透明细胞癌的相关性研究[J]. 山西医科大学学报, 2009, 40(3): 199-201.
- [7] 陆军,陈运立,邱前程,等.乳腺癌组织 PTEN 和 nm23 蛋白表达与乳腺癌生物学特性相关性的探讨[J]. 国际医药卫生导报,2011,17(13):1543-1547.
- [8]吴芳, 梁瑛琦, 黄智铭. DJ-1基因在肝细胞癌中的表达及其与肝癌侵袭和转移的关系[J]. 中华肝病杂志. 2009, 17(3): 203-206
- [9]Kahle PJ, Waak J, Gasser T. DJ-1 and prevention of oxidative stress in Parkinson's disease and other age-related disorders[J]. FreeRadic Biol Med, 2009, 47(10):1354-1361
- [10] Kim YC, Kitaura H, Taira T, et al. Oxidation of DJ-1-dependent cell transformation through direct binding of DJ-1 to PTEN [J]. Int J Oncol, 2009, 35 (6) : 1331-1341.