文章编号:1000-5404(2007)11-1093-03

论著

ERα和ERβ在不同类型乳腺组织的表达及其意义

徐鹰妮,姜 军,程 鸿,凡庆东,谢 竞,周 艳,唐 鹏 (第三军医大学西南医院乳腺疾病中心,重庆 400038)

提 要:目的 探讨乳腺正常组织经良性病变至癌变过程中雌激素受体(ER)亚型ERα和ERβ表达的变化及其意义。**方法** 用免疫组化EnVision两步法检测94例女性浸润性乳腺癌、乳腺原位癌、良性病变和正常乳腺组织的雌激素受体亚型表达。**结果** ERα局限表达于乳腺腺上皮细胞核,相反ERβ广泛表达于腺上皮细胞、间质细胞、肌上皮细胞、内皮细胞和淋巴细胞,且多见细胞质、细胞核同时表达。正常乳腺组织和乳腺良性病变组织的上皮细胞ERα、ERβ染色结果相似;浸润性乳腺癌和乳腺原位癌的ERα表达明显降低;浸润性乳腺癌ERβ表达明显降低;浸润性乳腺癌和乳腺原位癌ERα、ERβ的共表达明显降低。**结论** ERβ广泛表达于间质细胞可能与其旁分泌作用有关。ERβ可能与乳腺癌的发生有关,而在乳腺癌中ERβ可能减弱对ERα的调节作用。

关键词: 雌激素受体亚型;乳腺肿瘤;免疫组化
中图法分类号: R347.913; R392-33; R737.9 **文献标识码:** A

Expression and significance of estrogen receptor isoforms in different breast tissues

XU Ying-ni, JIANG Jun, CHENG Hong, FAN Qing-dong, XIE Jing, ZHOU Yan, TANG Peng (Breast Disease Center, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the estrogen receptor (ER) isoforms ERα and ERβ expressions and their relationship with clinicopathological parameters in normal breast tissue, benign breast diseases, breast cancer *in situ* and invasive breast cancer tissue. **Methods** Breast tissue samples were obtained, including normal breast tissue (14 cases), benign breast diseases (35 cases), breast cancer *in situ* (8 cases) and invasive breast cancer (37 cases). Immunohistochemistry was used to measure the expressions of ERα and ERβ in the breast tissues. **Results** The profiles of the ERα and ERβ expressions in normal tissues and the tissues of benign breast diseases were similar. Compared with normal breast tissues and benign breast diseases, ERα protein level was down-regulated in the tissues of breast cancer *in situ* and invasive breast cancer significantly ($P < 0.01$); ERβ protein level was down-regulated in the tissues of invasive breast cancer notably ($P < 0.01$); The coexpression of ERα and ERβ was decreased in the tissues of breast cancer *in situ* and invasive breast cancer remarkably ($P < 0.01$). **Conclusion** ERβ may play a role in the human breast cancer probably by modulating ERα activity.

Key words: estrogen receptor isoforms; breast neoplasms; immunohistochemistry

雌激素受体(estrogen receptors,ER)属核受体超家族成员,现已知有ERα、ERβ及ERγ 3种亚型存在,在人类乳腺组织中仅见ERα和ERβ两种ER亚型表达[1]。ERα在乳腺癌中的表达变化及其与预后的关系已有较深入的研究,并已成为乳腺癌内分泌治疗的重要靶点。而雌激素受体亚型ERβ在乳腺癌的表达变化及其规律尚存较大争议。ERα和ERβ的结构、功能存在差异,推测两者在乳腺癌的发生发展及内分泌治疗中发挥不同的作用,然而目前ERα、ERβ间的关系尚无定论。我们通过检测人浸润性乳腺癌、乳腺原位癌、乳腺良性病变及正常乳腺组织中ERα和ERβ的表达,以期探索ERβ与乳腺癌发生及与ERα关系。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源 所有标本系本院乳腺中心手术切除或核心针穿刺活检的女性乳腺标本,共94例。病例入选标准为:①

作者简介:徐鹰妮(1980-),女,福建省漳州市人,硕士研究生,主要从事乳腺癌基础方面的研究。电话:13251476099,E-mail: aounie3@126.com
通讯作者:姜 军,电话:(023)68754160, E-mail: jcbd@medmail.com.cn
收稿日期:2007-03-13;修回日期:2007-03-26

各标本组织类型均经病理检查证实；②乳腺原位癌及浸润性癌标本获取前，患者未接受过任何内分泌治疗或化疗。正常乳腺组织14例，取自乳腺纤维腺瘤旁，年龄16～38岁，平均31.7岁；乳腺良性病变35例，其中包括肿瘤增生性病变（乳腺纤维腺瘤10例，乳腺腺瘤5例）和非肿瘤增生性病变（腺病20例），年龄16～38岁，平均31.7岁；乳腺原位癌8例，其中导管原位癌7例，小叶原位癌1例，年龄36～70岁，平均46.0岁；浸润性乳腺癌37例，其中浸润性导管癌33例，浸润性小叶癌2例，黏液癌1例，浸润性乳头状癌1例，年龄30～71岁，平均48.5岁。据AJCC癌症分期指南第6版的乳腺癌TNM临床分期，浸润性乳腺癌组中包括Ⅰ期1例，Ⅱ期17例，Ⅲ期18例，Ⅳ期1例。

1.1.2 免疫组化所用抗体及免疫试剂盒 检测ERα用抗ERα单克隆抗体1D5（Dako，Denmark），编号GM704702；检测ERβ用抗ERβ单克隆抗体PPG5/10（Serotec，Oxford，UK），编号MCA1974ST，该抗体特异性识别野生型ERβ（ERβwt），即ERβ1；二抗系统用ChemMate EnVision™ + HRP/DAB免疫试剂盒（Dako，Denmark），编号CK500705。其中一抗的特异性均经Western blot验证[2,3]。

1.2 方法

手术切除或核心针穿刺活检的乳腺标本经4%甲醛溶液固定，石蜡包埋，切片5 μm，脱蜡后进行免疫组化染色，严格遵循免疫试剂盒说明书进行操作。一抗的工作浓度ERα 1∶1，ERβ 1∶20。以预试验中已知阳性切片为阳性对照，以PBS代替一抗作为阴性对照。计数染色细胞核，阳性细胞为细胞核内有浅黄到棕褐色颗粒染色，以Allred免疫组化评分系统进行评分，分值0～8分，ERα、ERβ染色评分大于2时均为阳性[3]。

1.3 统计学方法

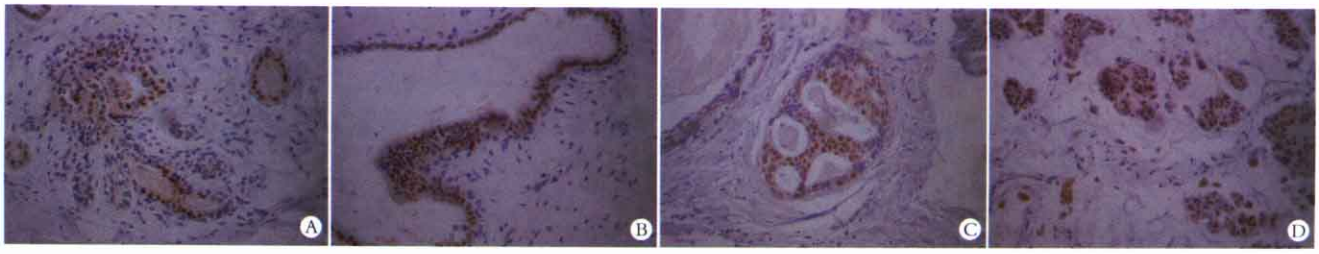
应用SPSS 11.5统计软件进行χ^2检验或Fisher精确概率法。

2 结果

2.1 ERα、ERβ检测结果

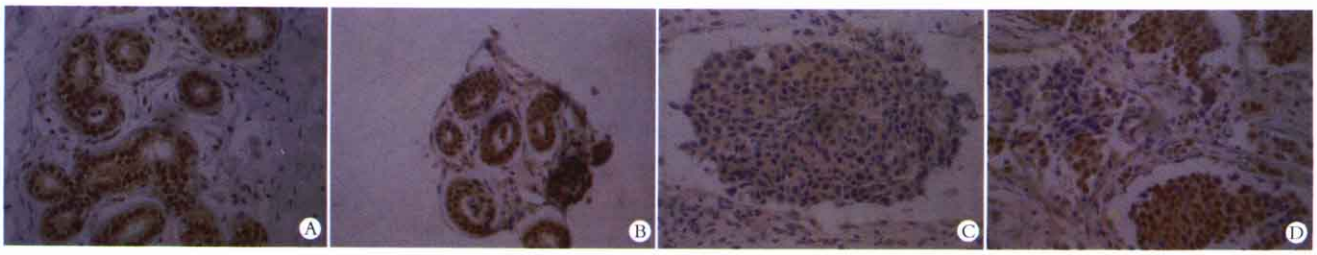
2.1.1 ERα、ERβ的组织、细胞分布 ERα仅表达于腺上皮细胞，未见表达于间质或肌上皮细胞，除偶见表达于细胞质中，多数仅表达于细胞核（图1）。相反ERβ广泛表达于腺上皮细胞、间质细胞、肌上皮细胞、内皮细胞和淋巴细胞，且多见细胞质、细胞核同时表达（图2）。

2.1.2 ERα、ERβ在各组织中的表达 正常乳腺组织14例，12例见ERα染色阳性；乳腺良性增生性病变35例，34例见ERα染色阳性；乳腺原位癌8例，4例见ERα染色阳性；浸润性乳腺癌37例，16例见ERα染色阳性。正常乳腺组织14例，均见ERβ染色阳性；乳腺良性增生性病变34例，均见ERβ染色阳性；乳腺原位癌8例，6例见ERβ染色阳性；浸润性乳腺癌37例，27例见ERβ染色阳性（图1、2）。



A：正常乳腺组织；B：乳腺良性增生性病变；C：乳腺原位癌；D：浸润性乳腺癌

图1 ERα在各乳腺组织类型的阳性表达 （EnVison™二步法 ×200）



A：正常乳腺组织；B：乳腺良性增生性病变；C：乳腺原位癌；D：浸润性乳腺癌

图2 ERβ在各乳腺组织类型的阳性表达 （EnVison™二步法 ×200）

2.2 统计学分析

经统计学分析显示：正常乳腺癌组织和乳腺良性增生性病变组织的ERα、ERβ染色结果相似。分别与正常乳腺癌组织和乳腺良性增生性病变组织比较，浸润性乳腺癌和乳腺原位癌的ERα表达明显降低[表达率分别为86%（12/14）、94%（33/35）、50%（4/8）、43%（16/37），$P<0.01$]；浸润性乳腺癌ERβ表达明显降低[表达率分别为100%（14/14）、97%（34/35）、73%（27/37），$P<0.01$]；浸润性乳腺癌和乳腺原位癌ERα、ERβ共表达率明显降低[表达率分别为86%（12/14）、94%（33/35）、50%（4/8）、38%（14/37），$P<0.01$]。

结合浸润性乳腺癌患者的临床病理参数（肿瘤大小、淋巴结转移情况、临床TNM分期、CerbB-2、p53、PR、年龄、绝经情况）进行分析，ERα、ERβ与各临床病理参数无显著性差异（$P>0.05$）（表1）。

表 1　浸润性乳腺癌中 ERα、ERβ 与各临床病理参数的关系

参数	总例数	ERα		P 值	ERβ		P 值
		阴性例数(%)	阳性例数(%)		阴性例数(%)	阳性例数(%)	
年龄	37						
≤50 岁	18	10(27.0)	8(21.6)	1.000	4(10.8)	14(37.8)	0.714
>50 岁	19	11(29.7)	8(21.6)		6(16.2)	13(35.1)	
绝经	37						
前	18	10(27.0)	8(21.6)	1.000	3(8.1)	15(40.5)	0.269
后	19	11(29.7)	8(21.6)		7(18.9)	12(32.4)	
肿瘤大小	37						
≤2 cm	20	12(32.4)	8(21.6)	0.746	4(10.8)	16(43.2)	0.460
>2 cm	17	9(24.3)	8(21.6)		6(16.2)	11(29.7)	
淋巴结转移情况	37						
无	3	2(5.4)	1(2.7)	1.000	1(2.7)	2(5.4)	1.000
有	34	19(51.4)	15(40.5)		9(24.3)	25(67.6)	
临床 TNM 分期	37						
Ⅰ+Ⅱ	18	10(27.0)	8(21.6)	1.000	4(10.8)	14(37.8)	0.714
Ⅲ+Ⅳ	19	11(29.7)	8(21.6)		6(16.2)	13(35.1)	
CerbB-2	29						
阴性	7	2(6.9)	5(17.2)	0.092	1(3.4)	6(20.7)	0.635
阳性	22	15(51.7)	7(24.1)		7(24.1)	15(51.7)	
P53	29						
阴性	10	6(20.7)	4(13.8)	1.000	2(6.9)	8(27.6)	0.675
阳性	19	11(37.9)	8(27.6)		6(20.7)	13(44.8)	
PR	29						
阴性	17	11(37.9)	6(20.7)	0.471	3(10.3)	14(48.3)	0.218
阳性	12	6(20.7)	6(20.7)		5(17.2)	7(24.1)	

未行手术的 8 例患者未行 CerbB-2、P53、PR 免疫组化检查

3　讨论

乳腺癌是一激素依赖性肿瘤，其发生发展与 ER 的表达密切相关。目前临床预测乳腺癌内分泌治疗疗效时，仍是以 ERα 为检测 ER 状态的主要指标，然而其阳性表达的乳腺癌患者中仅约 2/3 的患者从中受益。因此，ERβ 的相关研究可能进一步完善对乳腺癌中 ER 介导的信号传导的认识。ERβ 和 ERα 在活性功能区 AF-1、AF-2 同源性差[4]，提示在乳腺癌的发生过程中可能发挥不同作用。目前对 ERα 在乳腺癌中的作用已进行了较多研究，并已达成共识，而对 ERβ 在乳腺癌中的作用还存在较大争议。因此，在体内 ERα 和 ERβ 相互作用和乳腺癌的关系尚不明确。因此，本研究通过检测人正常乳腺、乳腺良性病变、乳腺原位癌及浸润性乳腺癌组织 ERα 和 ERβ 的表达，初步探讨 ERβ 与乳腺癌及 ERα 的关系。

研究结果显示与 ERα 局限表达于乳腺腺上皮细胞核，相反 ERβ 广泛表达于腺上皮细胞、间质细胞、肌上皮细胞、内皮细胞和淋巴细胞，且多见细胞质、细胞核同时表达。Manabe 等[5]研究认为癌细胞和间质细胞间的相互作用以影响肿瘤细胞的生长和浸润，由此推测 ERβ 在间质细胞的表达可能与其作用有关，这尚待进一步深入研究。

本研究显示 ERβ 表达在正常乳腺组织、乳腺良性病变、乳腺原位癌及浸润性乳腺癌中递减，且在浸润性乳腺癌中显著降低。Koehler 等[6]在动物实验中发现 ERβ 对正常乳腺具保护作用，这可能提示 ERβ 与乳腺癌的发生有关，其机制有待深入研究。本研究提示浸润性乳腺癌和乳腺原位癌的 ERα 表达明显降低。有学者认为部分乳腺上皮细胞在原位癌阶段已失去对 ERα 的依赖，这是细胞异型性增生中的一种正常结构的丧失[7]。

本研究结果显示，ERα、ERβ 在人乳腺原位癌和浸润性乳腺癌组织的共表达率显著降低。Matthews 等[8]发现在瞬时转染的 T47D 细胞中，ERβ 通过改变 c-Fos 和 c-Jun 在雌激素反应启动子的募集，以调节 ERα 的转录激活作用。由此，本研究结果提示乳腺癌中 ERβ 可能减弱对 ERα 的调节作用。

本研究免疫组化检测结果显示，ERβ 表达在正常乳腺组织、乳腺良性病变、乳腺原位癌及浸润性乳腺癌中递减，且在浸润性乳腺癌中显著降低；ERα、ERβ 在人乳腺原位癌和浸润性乳腺癌组织的共表达率显著降低，提示 ERβ 可能与乳腺癌的发生有关，而在乳腺癌中 ERβ 可能对 ERα 调节作用减弱。本研究结果显示 ERα、ERβ 与临床病理参数无显著性差异，故 ERβ 在乳腺癌中的作用机制尚待进一步研究。本研究为进一步探索 ERβ 在作用机制和信号通路提供了临床研究依据，而深入研究有可能为乳腺癌基因或内分泌治疗提供新的靶点，为早期诊断、判断预后及指导治疗提供依据。

参考文献：

[1] Hawkins M B, Thornton J W, Crews D, *et al*. Identification of a third distinct estrogen receptor and reclassification of estrogen receptors in teleosts[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(20): 10751 - 10756.

[2] Shaaban A M, Jarvis C, Moore F, *et al*. Prognostic significance of estrogen receptor Beta in epithelial hyperplasia of usual type with known outcome[J]. Am J Surg Pathol, 2005, 29(12): 1593 - 1599.

[3] Carder P J, Murphy C E, Dervan P, *et al*. A multi-centre investigation towards reaching a consensus on the immunohistochemical detection of ERbeta in archival formalin-fixed paraffin embedded human breast tissue[J]. Breast Cancer Res Treat, 2005, 92(3): 287 - 293.

[4] Mosselman S, Polman J, Dijkema R. ER beta: identification and characterization of a novel human estrogen receptor[J]. FEBS Lett, 1996, 392(1): 49 - 53.

[5] Manabe Y, Toda S, Miyazaki K, *et al*. Mature adipocytes, but not preadipocytes, promote the growth of breast carcinoma cells in collagen gel matrix culture through cancer-stromal cell interactions[J]. J Pathol, 2003, 201(2): 221 - 228.

[6] Koehler K F, Helguero L A, Haldosen L A, *et al*. Reflections on the discovery and significance of estrogen receptor beta[J]. Endocr Rev, 2005, 26(3): 465 - 478.

[7] 姜　军，陈意生，詹新恩. 乳腺上皮不典型增生和乳腺癌激素受体的变化及其意义[J]. 第三军医大学学报，1997，19(4)：321 - 323.

[8] Matthews J, Wihlen B, Tujague M, *et al*. Estrogen receptor (ER) beta modulates ERalpha-mediated transcriptional activation by altering the recruitment of c-Fos and c-Jun to estrogen-responsive promoters[J]. Mol Endocrinol, 2006, 20(3): 534 - 543.

（编辑　陈聪连）