论著

文章编号:1000-5404(2009)07-0438-03

EphB4在乳腺浸润性导管癌中的表达及意义

杨光伦,涂 刚,姚榛祥,岳俊伊 (重庆医科大学附属第一医院普外科,重庆 400016)

摘 要:目的 探讨EphB4在乳腺浸润性导管癌中的表达及临床意义。**方法** 采用免疫组织化学S-P法检测65例浸润性导管癌以及12例癌旁乳腺组织中的EphB4、ER、PR、CerBb-2、P53的表达。**结果** EphB4在65例乳腺浸润性导管癌中的表达明显高于癌旁乳腺组织($P<0.05$),EphB4的表达与CerBb-2及肿瘤组织学分级呈正相关($P<0.05$);与ER、PR及淋巴结转移无相关性($P>0.05$)。**结论** EphB4在乳腺癌的发展中起着重要作用。

关键词: EphB4;乳腺浸润性导管癌

中图法分类号: R730.21; R730.43; R737.9 **文献标识码:** A

Expression and clinical significance of EphB4 in breast infiltrating ductal carcinoma: report of 65 cases

YANG Guang-lun, TU Gang, YAO Zhen-xiang, YUE Jun-yi (Department of General Surgery, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To study the expression and clinical significance of EphB4 in breast infiltrating ductal carcinoma. **Methods** SP immunohistochemical technique was used to examine the expression of EphB4 in 65 cases of breast infiltrating ductal cancer and 12 matched adjacent tissue samples. **Results** The level of EphB4 in breast infiltrating ductal cancer was significantly higher than that of adjacent normal tissues ($P<0.01$). EphB4 expression had a positive correlation with histological grade and CerBb-2 ($P<0.05$), but not with ER, PR and metastasis ($P>0.05$). **Conclusion** EphB4 plays a crucial role in the occurrence and development of breast cancer.

Key words: EphB4; beast cancer; immunohistochemistry

EphB4是酪氨酸激酶家族成员之一,其在肿瘤中的作用也越来越引起重视,EphB4通过配体Ephrin—B2被激活参与多种肿瘤细胞生物学行为如增殖、迁移、侵袭等,在肿瘤分级分期、治疗、预后等各方面均发挥重要作用。研究显示在不同类型肿瘤中EphB4的作用不完全相同,甚至在某一类型肿瘤中既可以表现出抑制肿瘤作用,又可以表现出促进肿瘤作用[1]。本研究利用免疫组化方法检测EphB4、ER、PR、CerBb-2在乳腺浸润性导管癌组织中的表达,旨在探讨其与乳腺癌发生、发展之间的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

收集重庆医科大学附属第一医院2007年乳腺浸润性导管癌手术切除石蜡标本65例,均经病理学检查证实。患者均为女性,年龄31~69岁,平均年龄53.2岁。病例术前均未经化疗、放疗或免疫治疗。病理分级按照Bloom-Richardson系统Nottingham改良方案组织学分级方法,其中:1级17例,2级37例,3级11例。癌旁乳腺组织:取肿瘤边界10 cm以外的乳腺组织共12例。

1.2 方法

标本取材后福尔马林固定,石蜡包埋,切片厚5 m。采用免疫组化S-P法染色,一抗为EphB4单克隆抗体(工作浓度1∶100,购自Santa Cruz公司);ER、PR及C-erbB2均为单克隆抗体(工作浓度1∶100,购自北京中杉金桥生物技术有限公司),S-P免疫组化试剂盒(S-P-9003)及DAB染色试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司用正常乳腺组织做阳性对照,用PBS分别代替一抗、二抗作阴性对照。

1.3 结果判定

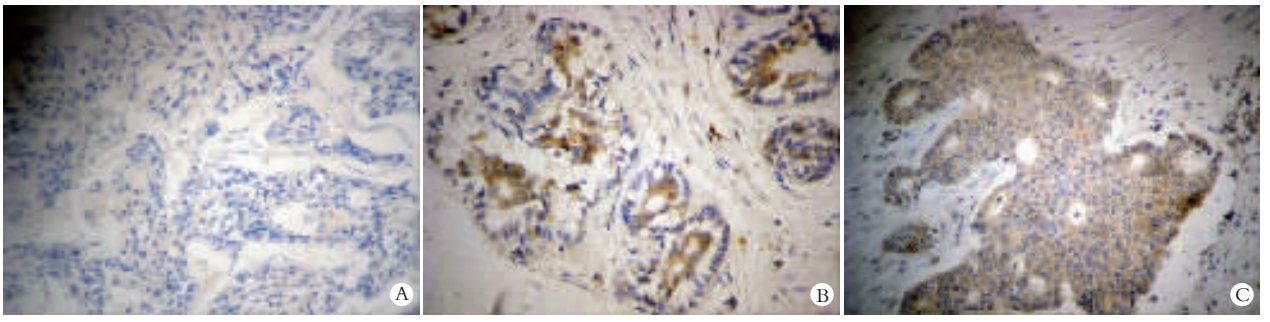
以细胞质及细胞膜染色呈棕黄色为阳性标志。每张切片于200倍光镜下选取10个不重叠的视野,采用半定量积分法,染色结果判定以肿瘤细胞阳性百分数及染色强度进行肿瘤细胞阳性记分,避开肿瘤边缘及坏死区域。根据阳性肿瘤细胞数目所占百分比分为4级:Ⅰ级0分,<10%;Ⅰ/级1分,10%~25%;Ⅲ级2分,25%~50%;Ⅳ级3分,50%以上。按肿瘤细胞着色的深浅计分染色强度:0分:无细胞着色;1分:浅黄色;2分:黄色;3分:棕色。两种积分相加,依照:(-):0;(+):1~2;(++):3~4;(+++):5~6;若两种积分之和>2,则为表达阳性,≤2则为表达阴性。

1.4 统计学处理

EphB4在各组中表达强度的比较,采用秩和检验,相关性检验采用Spearman等级相关分析。

作者简介:杨光伦,男,重庆市人,博士,副教授,主要从事内分泌乳腺外科方面的研究,发表论文12篇。电话:(023)89011191,Email:guangluyang@163.com

收稿日期:2008-08-23;修回日期:2008-11-03



A：弱阳性表达（＋）；B：中等阳性表达（＋＋）；C：强阳性表达（＋＋＋）

图 1　EphB4 蛋白在乳腺癌和癌旁乳腺组织中的表达情况　（S-P ×200）

2　结果

2.1　EphB4 在乳腺癌和癌旁乳腺组织中的表达

EphB4 蛋白主要表达于肿瘤细胞的细胞质，细胞膜未见明确的表达，呈棕黄色颗粒，见图 1。乳腺癌组织中 EphB4 蛋白的表达分别为：阴性（－）14%（9/65）、弱阳性（＋）29%（19/65）、中等阳性（＋＋）23%（15/65）、强阳性（＋＋＋）34%（22/65），阳性率为 57%；癌旁乳腺组织分别为阴性（－）58%（7/12）、弱阳性（＋）25%（3/12）、中等阳性（＋＋）17%（2/12）、强阳性（＋＋＋）0%（0/12），阳性率为 17%。2 组之间比较具有显著性差异（$P<0.01$），见表 1。

表 1　EphB4 在乳腺癌中的表达与乳腺癌临床病理学特征的关系

临床病理	病例	－	＋	＋＋	＋＋＋	P
病理学分级						
Ⅰ	17	3	10	2	2	
Ⅱ	36	5	7	8	16	
Ⅲ	12	1	2	5	4	<0.05
CerBb-2						
阴性	42	9	19	9	5	
阳性	23	0	0	6	17	<0.05
ER						
阴性	27	5	8	6	10	
阳性	38	4	11	9	12	>0.05
PR						
阴性	21	3	6	5	7	
阳性	44	6	13	10	15	>0.05
淋巴结转移						
无	36	7	9	8	12	
有	29	2	10	7	10	>0.05

2.2　EphB4 在乳腺癌中的表达与乳腺癌病理学特征的关系

2.2.1　EphB4 在乳腺癌中的表达与组织学分级的关系　　表 1 显示，不同组织学分级的乳腺癌中 EphB4 的表达不同，组织学分级 1 级 EphB4 阳性表达 24%（4/17）；2 级为 67%（24/36）；3 级为 75%（9/12），随着组织学分级越高 EphB4 的表达越强。

2.2.2　EphB4 在乳腺癌中的表达与 CerBb-2 的表达的关系　　CerBb-2 在乳腺癌组织中阳性表达率为 35%（23/65），在 CerBb-2 表达阳性的病例中 EphB4 也全部表达阳性 100%，CerBb-2 表达阴性的病例中 EphB4 仅表达 33% 阳性，2 组间比较差异有显著性（$P<0.05$），EphB4 与 CerBb-2 的表达有相关性。

2.2.3　EphB4 在乳腺癌中的表达与 ER、PR、腋窝淋巴结转移的关系　　EphB4 在乳腺癌中的表达与 ER 和 PR 阳性或阴性组以及有无腋窝淋巴结转移组之间比较均无显著性差异（$P>0.05$）。

3　讨论

Eph 受体是最大的酪氨酸激酶受体家族，最早在人的肝细胞癌中分离出来。Eph 受体分为 EphA（8 个成员）和 EphB（6 个成员）2 个亚类。EphB 连接到跨膜 ephrin-B 配体形成一个重要的双向信号传导系统在许多生物过程中发挥重要作用，包括血管形成、细胞迁徙、轴突形成等方面，并在指导细胞定位粘附迁移、免疫调节、及神经系统损伤和疾病亦有关系[2]。其调节细胞迁移和促进血管形成的作用似乎对肿瘤进展和转移有作用，而最近的不少研究表明高水平的 EphB4 受体已经在许多类型的肿瘤如乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、间皮瘤中被发现。

EphB4 定位于第 7 号染色体 7q22.1，这一区域在乳腺癌中频繁扩增。提示它可能是一个癌基因[3]。最近一项研究成果显示 EphB4/neuT 转基因小鼠比单独 neuT 转基因小鼠更易形成肿瘤，这显示 EphB4 可能是潜在的肿瘤促进因子。也有报道显示 EphB4 与肿瘤分级分期相关[4]。然而，又不断有证据证明 EphB4 与大多数酪氨酸激酶受体促进肿瘤形成的作用不同，它们扮演的是一个肿瘤抑制因子的效果。如在人的结直肠癌与胃癌中，EphB 受体表达缺失的恶性程度要高一些[5]。在乳腺癌中发现它通过不同途径既有肿瘤抑制效应又有促进效应[6]，EphB4 和 Ephrin-B2 的相互作用经顺向途径可抑制肿瘤生长，而在肿瘤上皮细胞的 EphB4 可以刺激上皮 ephrin-B2 逆向刺激信号促进肿瘤血管形成，从而增加肿瘤生长。

本研究通过免疫组化 S-P 法验证了 EphB4 在 65 例乳腺浸润性导管癌中的表达明显高于癌旁乳腺组织，这一结论与 Wu 等[7]的研究结果类似，但是我们研究显示 EphB4 几乎全部表达于细胞质，细胞膜几乎没有表达，Wu 等[7]的研究却发现 EphB4 在大部分病例

表达于细胞浆,也有少部分强烈表达于细胞,这其中的差异目前还不清楚,可能与研究中涉及的病理类型不同有关。实验还显示 EphB4 的表达与 CerBb-2 及肿瘤组织学分级呈正相关,在 CerBb-2 表达阳性的病例中,EphB4 也全部表达阳性,关于二者的深入联系目前少有文献报道,同时基于 EphB4 的阳性表达与组织学分级的相关性,目前只能推测 EphB4 在乳腺癌发挥着类似癌基因的作用。研究还表明 EphB4 的阳性表达与 ER、PR 及淋巴结是否转移并无相关性。此研究提示 EphB4 不会增加肿瘤的发生率,不影响肿瘤的类型,但能协同 neuT 癌基因导致更早的肿瘤发生和更具侵袭性的肿瘤表型。而 Noren 等[6]的研究则显示在乳腺癌细胞中 EphB4 活化 Abl - Crk 途径,从而抑制乳腺癌细胞生存、增殖、迁移、侵袭。

针对 EphB4 受体和其配体 Ephrin-B2 在乳腺癌发生、发展中的作用机制的深入研究正在有序的开展,目前还没有统一的结论,不过乳腺癌中存在高密度的 EphB4 受体分子,已经得到共识,EphB4 可能成为乳腺癌靶向治疗的一个新的发展方向。

参考文献:

[1] Noren N K, Pasquale E B. Paradoxes of the EphB4 receptor in cancer [J]. Cancer Res, 2007,67(9): 3994 - 3997.

[2] Goldshmit Y, McLenachan S, Turnley A. Roles of Eph receptors and ephrins in the normal and damaged adult CNS[J]. Brain Res Rev, 2006, 52(2):327 - 345.

[3] Kumar S R, Singh J, Xia G, *et al*. Receptor tyrosine kinase EphB4 is a survival factor in breast cancer[J]. Am J Pathol, 2006,169(1): 279 - 293.

[4] Takai N, Ueda T, Nishida M, *et al*. The relationship between oncogene expression and clinical outcome in endometrial carcinoma[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2004,4(6):511 - 520.

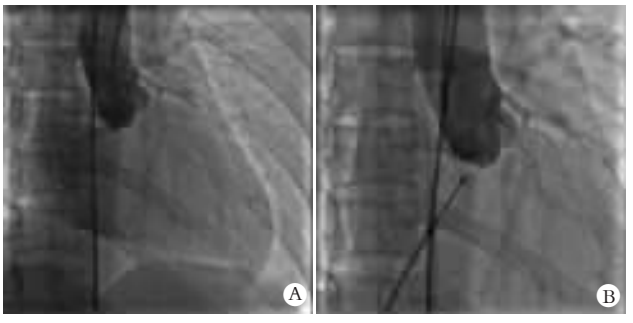
[5] Guo D L, Zhang J, Yuen S T, *et al*. Reduced expression of EphB2 that parallels invasion and metastasis in colorectal tumours[J]. Carcinogenesis, 2006,27(3):454 - 464.

[6] Noren N K, Foos G, Hauser C A, *et al*. The EphB4 receptor suppresses breast cancer cell tumorigenicity through an Abl-Crk pathway[J]. Nat Cell Biol, 2006, 8(8):815 - 825.

[7] Wu Q, Suo Z, Risberg B, *et al*. Expression of Ephb2 and Ephb4 in breast carcinoma[J]. Pathol Oncol Res, 2004, 10(1):26 - 33.

(编辑 汪勤俭)

(上接437页)



A:封堵前;B:封堵后

图2 病例2封堵前后升主动脉造影表现

3 讨论

先天性主动脉窦瘤常合并其他先天性心脏畸形(如室间隔缺损、主动脉瓣关闭不全或二叶主动脉瓣畸形等),主要累及右冠窦和无冠窦。先天性主动脉窦瘤常为单个发生。主动脉窦瘤绝大多数破裂至右心室,部分破裂至右房,形成左向右分流[3]。主动脉窦瘤的基本病变是主动脉窦的局部窦壁中层与邻近主动脉瓣环处的中层相分离。发病原因是由于在胚胎时期主动脉窦部组织发育不全,此处窦壁缺乏正常的弹力纤维和中层,只有血管内膜和与之邻近心腔之间的疏松结缔组织,形成先天性的薄弱区,在主动脉内压力作用下逐渐向外突出,形成主动脉窦瘤。当某种因素引起主动脉内压力突然升高时(如剧烈活动、提举重物、创伤或交通事故等),可使窦瘤破裂形成主动脉-心脏瘘。

根据主动脉窦瘤破裂的形态学特点,经导管封堵主动脉窦瘤破口可以经股动脉或经股静脉途径置入封堵器。经股动脉途径对股动脉损伤大,操作复杂;而建立股动脉-主动脉窦瘤破口-股静脉轨道,再经股静脉途径置入封堵器,这种方法不仅减少了对股动脉的损伤,而且还能在封堵器释放前造影验证封堵效果,其操作安全性和可靠性较高。本组2例患者均采用经股静脉途径,术中均选用比破口直径大2mm的动脉导管封堵器,术中、术后观察封堵器位置良好,无残余分流及主动脉瓣关闭不全。此外,术中经食道超声心动图的实时监测,能准确观察主动脉窦瘤破口和封堵器的位置,降低了主动脉瓣和冠状动脉受损的风险。术后随访应密切注意主动脉瓣功能、冠脉血流量及有无血栓形成等情况。

主动脉窦瘤破裂,尤其合并其他畸形需要外科手术,手术远期效果良好,患者10年实际存活率为63% ~94%[4,5]。经导管主动脉窦瘤破口封堵术为单纯主动脉窦瘤破裂提供了一种新的安全有效的治疗方法,避免手术开胸和体外循环等损伤和风险,其近期疗效良好,但中远期疗效有待进一步观察。

关键词: 主动脉窦瘤;破裂;介入治疗
中图法分类号: R543.16 **文献标识码:** B

参考文献:

[1] 赵世华, 闫朝武, 徐乃勋, 等. 经导管封堵主动脉窦瘤破口的初步临床应用[J]. 中华心血管病杂志, 2006, 34(3): 240 - 242.

[2] Chang C W, Chiu S N, Wu E T, *et al*. Transcatheter closure of a ruptured sinus of valsalva aneurysm[J]. Circ J, 2006, 70(8): 1043 - 1047.

[3] Feldman D N, Roman M J. Aneurysms of the sinuses of valsalva[J]. Cardiology, 2006, 106(2): 73 - 81.

[4] Yan F, Huo Q, Qiao J, *et al*. Surgery for sinus of valsalva aneurysm: 27-year experience with 100 patients[J]. Asian Cardiovasc Thorac Ann, 2008, 16(5): 361 - 365.

[5] Moustafa S, Mookadam F, Cooper L, *et al*. Sinus of valsalva aneurysms—47 years of a single center experience and systematic overview of published reports[J]. Am J Cardiol, 2007, 99(8): 1159 - 1164.

(编辑 张 维)