维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253 - 3626(2005)04 - 0522 - 03

P73α 在乳腺癌中的表达及其意义

周 鑫,孙治君

(重庆医科大学附属第一医院普外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究 p73α 在乳腺癌组织中的表达及与乳腺癌临床病理特征的关系及其临床意义。方法:应用免疫组织化学方法检测 41 例乳腺癌组织,13 例乳腺纤维腺瘤组织和 8 例正常乳腺组织中 p73α、p53、p21 的表达情况。结果:41 例乳腺癌组织中有 20 例(48.8%)p73α 呈阳性表达,阳性检出率显著高于乳腺纤维腺瘤组织(7.7%)和正常乳腺组织(0)($P<0.05$)。41 例乳腺癌组织中 p53 蛋白阳性表达的有 20 例(48.8%),p21 蛋白阳性表达有 32 例(78.0%);乳腺癌中 p73α 的阳性表达与 p53 蛋白的表达具有正相关关系($P<0.05$),而与 p21 蛋白的表达无明显相关($P>0.05$)。乳腺癌中 p73α 的阳性表达与 TNM 分期、淋巴结转移有明显关系($P<0.05$)。结论:p73α 在乳腺癌中表达水平上调,p73α 的表达上调可能与乳腺癌的发生、发展有关,p73α 的阳性表达可作为乳腺癌临床 TNM 分期的一个指标。

【关键词】乳腺癌;p73α;p53 蛋白;p21 蛋白

【中国图书分类法分类号】R737.9 【文献标识码】A 【收稿日期】2004 - 03 - 18

Expression and clinical significance of p73α in breast carcinoma tissues

ZHOU Xin, et al

(*Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the expression of p73α and its clinical significance in breast carcinoma. *Methods*: The expression of p73α was detected by immunohistochemistry in 41 breast carcinoma tissues, 13 benign breast tumor tissues and 8 normal breast tissues. *Results*: The positive expression of p73α was found in 20/41(48.8%) of breast carcinoma tissues, 1/13(7.7%)of benign breast tumor tissues, 0/8(0)of normal breast tissues. The positive expression rate of p73α in breast carcinoma tissues was significantly higher than that in benign breast tumor tissues or normal breast tissues($P<0.05$). P53 positive expression rate in breast carcinoma group was 48.8%(20/41); p21 positive expression rate was 78%(32/41); p73α expression displayed a positive correlation with p53 instead of p21. Significant associations were observed among the positive expression of p73α and tumor with lymph node metastases, TNM stages of the cancer($P<0.05$). *Conclusion*: These results suggest that there is up - regulation of p73α in breast carcinoma tissues and up - regulation of p73α may be implicated in the tumorigenesis of breast carcinoma as a molecular alteration.

【Key words】Breast cancer; p73α; p53 protein; p21 protein

P73 基因作为 p53 基因家族的新成员之一,其编码的蛋白质在结构、功能上与 p53 相似,具有通过转录激活 p21WAF1/CIP1 等 p53 靶基因抑制细胞生长,诱导细胞凋亡的功能[1]。近来的研究[2,3]显示 p73 与 p53 基因之间存在较大的差异,p73 基因在多种人类肿瘤中均未发现突变,却有高水平表达的现象,国内外学者研究[4,5]提示 p73 基因与多种肿瘤的发生、发展和预后有一定相关性。作者采用免疫组织化学方法检测乳腺癌组织中 p73α 的表达水平,探讨 p73 基因在乳腺癌发生、发展过程中的作用。

作者介绍:周 鑫(1975-),男,住院医师,硕士,主要研究方向:乳腺肿瘤。

1 材料和方法

1.1 一般资料

(1)乳腺癌组:选取我院 2000~2002 年间因乳腺癌行根治术或改良根治术的病理标本 41 例,均为女性,年龄 30~73 岁,平均年龄 51 岁。病理类型:浸润性导管癌 35 例,非浸润性导管癌 6 例。TNM 临床分期为Ⅰ期 3 例,Ⅱ期 18 例,Ⅲ期 14 例,Ⅳ期 6 例。(2)乳腺纤维腺瘤组:选取我院经病理确诊为乳腺纤维腺瘤的组织标本 13 例,均为女性,年龄 28~52 岁,平均年龄 40 岁。(3)正常乳腺组:选取乳腺纤维腺瘤旁经病理确诊为正常乳腺组织的标本 8 例,均为女性,年龄 18~42 岁,平均年龄 30 岁。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.2 主要试剂

p73α 兔抗人多克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司；p53、p21 鼠抗人单克隆抗体，免疫组化 SP 试剂盒均购于北京中山生物技术有限公司。

1.3 方法

5μm 连续切片用于免疫组化染色，采用 SP 法分别作 p73α、p53、p21 等染色。已知阳性切片作阳性对照，PBS 液代替一抗作为阴性对照。SP 法基本步骤：石蜡切片脱蜡至水；加过氧化物酶阻断液（试剂 A）；用微波和抗原修复液 I 做抗原修复；加非免疫性动物血清（试剂 B）；加 p73α、p53、p21 抗体，p73α 抗体工作浓度为 1:200；加生物素标记第二抗体（试剂 C）；加链霉素抗生物素蛋白－过氧化物酶溶液（试剂 D）；DAB 溶液显色；苏木素复染；盐酸酒精分化，饱和碳酸锂返蓝；酒精逐级脱水，二甲苯透明；中性树胶封固。每步骤间 PBS 液冲洗 3 次，每次 5min。

1.4 结果判断

细胞浆内出现棕色颗粒为 p73α 阳性细胞；细胞核出现棕黄色颗粒为 p53 阳性细胞；细胞核出现棕黄色颗粒为 p21 阳性细胞。参照国外学者[6]评判标准：无阳性细胞或阳性细胞数＜10％为（－）；阳性细胞数为 10～50％记为（＋）；阳性细胞数为 51～75％记为（＋＋）；阳性细胞数＞75％记为（＋＋＋）。阳性细胞数≥10％的病例均视为阳性表达。

1.5 统计学处理

采用 χ^2 检验、Fisher 精确概率检验法和 Spearman 等级相关进行统计学处理。$P<0.05$ 为有显著性差异。

2 结 果

2.1 乳腺癌、乳腺纤维腺瘤、正常乳腺组织中 p73α 表达情况

41 例乳腺癌组织中有 20 例（48.8％）p73α 阳性表达，13 例乳腺纤维腺瘤有 1 例（7.7％）p73α 弱阳性（＋）表达，而 8 例正常乳腺组织中未发现 p73α 阳性表达。乳腺癌组织中 p73α 阳性检出率较乳腺纤维腺瘤组织、正常乳腺组织均具有显著性差异（$\chi^2=7.01$，$P<0.01$，$\chi^2=4.73$，$P<0.05$）；乳腺纤维腺瘤组织中 p73α 阳性检出率与正常乳腺组织比较差异无显著性意义（$P>0.05$）（表 1）。

表 1 p73α 在乳腺癌、乳腺纤维腺瘤、正常乳腺组织中的表达

	例数	p73α				阳性率
		－	＋	＋＋	＋＋＋	
乳腺癌组	41	21	5	8	7	48.8％
乳腺纤维腺瘤组	13	12	1	0	0	7.7％*
正常乳腺组	8	8	0	0	0	0％*

注：* 与乳腺癌组比较，$P<0.05$

2.2 乳腺癌中 p73α 阳性表达与 p53、p21 蛋白表达之间的关系

41 例乳腺癌组织中 p53 蛋白阳性表达的有 20 例（48.8％），p73α（＋）p53（＋）的有 14 例，p73α（－）p53（－）的有 13 例，p73α（＋）p53（－）、p73α（－）p53（＋）的均为 6 例，两者具有正相关关系（$\chi^2=7.04$，$P<0.01$；$r_s'=0.597$，$P<0.001$）；41 例乳腺癌组织中 p21 蛋白阳性表达有 32 例（78.0％），p73α 阳性表达与 p21 蛋白表达无明显相关（$\chi^2=2.04$，$P>0.05$；$r_s'=0.101$，$P>0.05$）。

2.3 p73α 在乳腺癌中的表达与乳腺癌临床病理特征之间的关系

乳腺癌中 p73α 阳性检出率与乳腺癌有 3 个以上的淋巴结转移显著相关（$\chi^2=4.11$，$P<0.05$）；Ⅰ、Ⅱ期和Ⅲ、Ⅳ期乳腺癌中 p73α 的阳性表达也具有显著性差异（$\chi^2=4.11$，$P<0.05$）；但 p73α 的阳性检出率与年龄、肿瘤类型、肿瘤大小等无明显关系（$P>0.05$）（表 2）。

表 2 p73α 在乳腺癌中的表达与乳腺癌临床病理特征之间的关系

临床病理特征	例数	p73α（＋）	p73α（－）	阳性率
乳腺癌分类				
浸润性导管癌	35	17	18	48.6％
非浸润性导管癌	6	3	3	50％
年龄				
≤50 岁	20	11	9	55％
＞50 岁	21	9	12	42.9％
肿瘤大小				
≤2cm	6	3	3	50％
＞2cm	35	17	18	48.6％
淋巴结转移				
≤3 个	21	7	14	33.3％★
＞3 个	20	13	7	65％
TNM 分期				
Ⅰ＋Ⅱ	21	7	14	33.3％▲
Ⅲ＋Ⅳ	20	13	7	65％

注：★与＞3 个组比较，$P<0.05$；▲与Ⅲ＋Ⅳ期组比较，$P<0.05$

3 讨 论

近来发现的 p73 基因由于其特殊的定位，且所编码的蛋白在结构和功能上均与 p53 基因相似，被视为一个极有希望的抑癌基因[1]，但其在多种人类肿瘤中极少突变且有高水平表达[2,3]，使之又不同

维普资讯 http://www.cqvip.com

于经典的抑癌基因。不少国外学者[4,5]研究显示 p73 基因表达与多种人类肿瘤的发生、发展、生物学行为和预后密切相关。P73α 是 p73 基因的一种羧基末端切状异构体,有 636 个氨基酸,以全长形式表达,能诱导 p21 蛋白的生成,抑制正常和转化细胞的生长,促进凋亡[1];还能通过其他途径促进凋亡[7,8]。

本组结果显示乳腺癌组织中 p73α 阳性检出率显著高于乳腺纤维腺瘤组织与正常乳腺组织($P<0.05$);乳腺癌组织中 p73α 阳性表达与 p53 蛋白的表达具有正相关关系($P<0.05$),而与 p21 蛋白的表达无明显关系($P>0.05$);p73α 阳性表达的病例大多具有 3 个以上的淋巴结转移,且 p73α 的表达在Ⅰ+Ⅱ期和Ⅲ+Ⅳ期之间差异具有显著性意义($P<0.05$)。说明乳腺癌中存在 p73α 的表达上调,p73α 的表达上调与乳腺癌的发生、发展及临床行为较恶性相关,p73α 的阳性表达也许能作为乳腺癌临床 TNM 分期的一个指标。p21 基因编码一个富含精氨酸的 164 个氨基酸的蛋白质,通过与 CDK2 或 PCNA 结合,抑制细胞周期停滞 G1 期;p73α 能诱导 p21 蛋白的生成,抑制正常和转化细胞的生长,促进凋亡[1];本组结果未能显示出 p73α 与 p21 具有相关性($P>0.05$),可能与 p73α 能通过其他途径促进凋亡及其他基因也能诱导 p21 蛋白的产生有关。

野生型 p53 基因突变是乳腺癌发生的早期信号,并贯穿乳腺癌发展演变的整个过程。Tannapfel 等[5]认为 p73 基因的表达上调可能是对野生型 p53 基因功能丧失的一种补偿。Zwahlen 等[9]研究发现卵巢癌较卵巢良性肿瘤有 p73α 的高水平表达,且 p73α 的表达与 p53 蛋白的表达有相关性;因为 p73α 有促进凋亡的作用,而突变型 p53 蛋白与 p73α 结合能抑制 p73α 促进凋亡的能力,因此 p73α 以反馈的机制表达上调来代偿 p73 基因功能的丧失。在本组研究也发现 p73α 的阳性表达与 p53 蛋白阳性表达有正相关关系($P<0.05$),因此推测可能是由于野生型 p53 基因的突变或其他基因的异常导致 p73α 的表达上调,参与了乳腺癌的发生、发展过程。

参 考 文 献

[1] Kaghad M, Bonnet H, Yang A, et al. Monoallelically expressed gene related to p53 at 1p36, a region frequently deleted in neuroblastoma and other human cancers[J]. Cell, 1997; 90(4): 809-819.

[2] Zaika AI, Kovalev S, Marchenko ND, et al. Overexpressed of the wild type p73 gene in breast cancer tissues and cell lines [J]. Cancer Res, 1999; 59(13): 3257-3263.

[3] Tokuchi Y, Hashimoto T, Kobayashi Y, et al. The expression of p73 is increased in lung cancer, independent of p53 gene alteration[J]. Br J Cancer, 1999; 80(10): 1623-1629.

[4] Sun XF. P73 overexpression is a prognostic factor in patients with colorectal adenocarcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2002; 8(1): 165-170.

[5] Tannapfel A, Wasner M, Krause K, et al. Expression of p73 and its relation to histopathology and prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. J Natl Cancer Inst, 1999; 91(13): 1154-1158.

[6] Weber A, Bellmann U, Bootz F, et al. Expression of p53 and its homologues in primary and recurrent squamous cell carcinomas of the head and neck[J]. Int J Cancer, 2002; 99(1): 22-28.

[7] Agami R, Blandino G, Oren M, et al. Interaction of c-Abl and p73α and their collaboration to induce apoptosis[J]. Nature, 1999; 399(6738): 809-813.

[8] Irwin M, Marin MC, Phillips AC, et al. Role for the p53 homologue p73 in E_2F-1-induced apoptosis [J]. Nature, 2000; 407(6804): 645-648.

[9] Zwahlen D, Tschan MP, Grob TJ, et al. Differential expression of p73 splice variants and protein in benign and malignant ovarian tumours[J]. Int J Cancer, 2000; 88(1): 66-70.

(上接第 504 页)

[9] Esaki T, Hayashi T, Muto E, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase and Fas/Fas ligand correlates with the incidence of apoptotic cell death in atheromatous plaques of human coronary arteries[J]. Nitric Oxide, 2000; 4(6): 561-571.

[10] Cardillo C, Kilcoyne CM, Cannon RO 3rd, et al. Increased activity of endogenous endothelin in patients with hypercholesterolemia[J]. J Am Coll Cardiol, 2000; 36(5): 1483-1488.

[11] Iwasa S, Fan J, Shimokama T, et al. Increased immunoreactivity of endothelin-1 and endothelin B receptor in human atherosclerotic lesions. A possible role in atherogenesis [J]. Atherosclerosis, 1999; 146(1): 93-100.