DOI: 10.16016/j.1000-5404.1999.04.014

c-myc癌基因蛋白在乳腺囊性增生病和乳腺癌中的表达*

姜 军** 张 毅 韩晓蓉 詹新恩 柳凤轩*** (第三军医大学附属西南医院普通外科)重庆,400038

提 要 目的:探讨 c-myc基因产物在乳腺不典型增生和乳腺癌中的变化及其意义。方法:用 ABC免疫组化法检测正常乳腺、乳腺囊性增生病不典型增生和乳腺癌细胞 c-myc基因产物表达。结果:正常乳腺上皮细胞和乳腺囊性增生病上皮增生Ⅰ级者均无 c-myc癌基因蛋白表达。不典型增生和乳腺癌组织分化Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级中 c-myc癌基因蛋白染色阳性率分别为 15.0%、38.5%、64.3%和 69.2%。结论:c-myc基因的异常改变可能是部分不典型增生细胞异常增生的原因或促进因素,是乳腺上皮细胞向恶性转化的标志之一。

关键词 癌基因蛋白;乳腺不典型增生;乳腺囊性增生病;乳腺癌

中图法分类号 R394.3;R655.8;R737.9

在人类乳腺肿瘤中常见原癌基因 c-myc扩增和过度表达,体内和体外乳癌模型均证实 c-myc在乳腺组织中具有潜在致癌性[1]。临床上乳腺良性疾病经上皮不典型增生癌变是乳腺癌发生的重要原因之一。本研究检测乳腺囊性增生病不典型增生和乳腺癌组织中 c-myc基因蛋白表达,旨在探讨 c-myc基因蛋白在乳腺不典型增生癌变中的意义。

1 材料与方法

1.1 材料来源

所有标本均系本院手术切除的女性乳腺标本。经 10%甲醛固定,常规石蜡包埋切片、HE染色、光镜观察,进行病理组织学诊断、分级、分类。其中正常乳腺组织 5例,取自乳腺纤维腺瘤旁,经病理检查证实为正常乳腺组织,病人年龄 19~35岁,平均 24.2岁;乳腺囊性增生病 30例,病人年龄 20~52岁,平均 35.8岁;其中一般性增生 10例,不典型增生 20例;乳腺癌 40例,病人年龄 35~64岁,平均 46.8岁。

1.2 组织学观察方法及分级标准

1.2.1 乳腺囊性增生病上皮细胞不典型增生程度分级 根据 Page的分级标准略加修改[2],将乳腺导管或腺泡上皮细胞增生程度分为 3级:Ⅰ级,导管或腺泡上皮细胞增生多于 2层而少于 4层,分化良好;Ⅱ级,上皮细胞增生超过 4层,突向管腔内相互桥接或充满管腔,但极性存在,伴有轻度异型性;Ⅲ级,导管扩张,细胞簇集成乳头状或完全充满管腔,排列紧密,有明显异型性。其中Ⅰ级为一般性增生,Ⅱ、Ⅲ级为不典型增生。

1.2.2 乳腺癌的组织学类型和分化程度评定标准 根据“中国常见恶性肿瘤诊治规范第八分册乳腺癌”中规定的标准[3],浸润性非特殊性乳腺癌分为浸润性导管癌、硬癌、髓样癌和单纯癌;除外浸润性小叶癌和腺癌。

1.3 免疫组化染色方法阳性评定标准

标本经 10%甲醛固定,石蜡包埋,切片厚 5μm,脱蜡后浸入 0.3%双氧水/甲醇液置室温下 30 min,3%小牛血清液作用 30 min,滴加第一抗体(抗 c-myc单克隆抗体 C-33为 Santa Cruz Biotechnology Inc产品,购自北京中山生物技术有限公司,工作浓度 1∶20),(用 PBS代替第一抗体作为阴性对照,用已知阳性标本作为阳性对照)湿盒内 37℃孵育 3h;加生物素标记的马抗鼠抗体,室温孵育 30 min,加 ABC液(Vector Laboratory)室温孵育 30 min。以上各步骤间均用 PBS液洗 3次,每次 5 min。重蒸馏水洗 5 min,DAB过氧化氢显色液反应 10~20 min后 PBS液终止反应。重蒸馏水冲洗,苏木精衬染。经脱水、透明、封片后光镜观察,细胞膜、细胞浆或细胞核呈黄色至棕色染色为阳性;细胞膜、细胞浆无色仅细胞核蓝染为阴性。计数在 10倍物镜下染色阳性视野,按百分比计算,凡染色阳性细胞在 5%以上者为阳性病例。

1.4 统计方法

计数资料用单因素方差分析和 Welch t检验(用本校数学教研室的数理统计程序包)。计量资料用 χ^2检验。

2 结果

在正常乳腺组织和乳腺囊性增生病上皮一般性增生标本无 c-myc癌基因蛋白表达,免疫组化染色阴性。不典型增生中有 3/20例 c-myc癌基因蛋白表达阳性。乳腺癌标本中阳性率为 57.5%,明显高于乳腺囊性增生病各组($P<0.05$)。按组织分化程度分级,Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级乳腺癌中 c-myc癌基因蛋白表达阳

* 重庆市中青年专家基金资助项目

** 姜 军,男,43岁,副主任医师,副教授,博士 *** 病理科

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

性率分别为 38.5%、64.3%和 69.2%,见表 1 不同组织学类型的乳腺癌 c-myc 癌基因蛋白表达阳性率差别不显著 ($P>0.05$),见表 2

表 1　不同乳腺组织 c-myc癌基因蛋白表达结果

Tab 1　Expression of the c-myc oncogene protein in different breast tissues

Group	n	Positive	%
Normal breast	5	0	0.0
Epithelial proliferation	10	0	0.0
Atypical hyperplasia	20	3	15.0*
Breast carcinoma gradeⅠ	13	5	38.5
Breast carcinoma gradeⅡ	14	9	64.3
Breast carcinoma gradeⅢ	13	9	69.2

*: $P<0.05$

表 2　不同组织学类型乳腺癌 c-myc癌基因蛋白表达结果

Tab 2　Expression of the c-myc oncogene protein in different histological classification of breast cancer

Histological type	n	Positive	%
Infiltrating ductal carcinoma	12	7	58.3
Medullary carcinoma	10	5	50.0
Simple carcinoma	10	6	60.0
Scirrhous carcinoma	8	5	62.5

免疫组化染色所见,抗 c-myc 癌基因蛋白单克隆抗体的阳性染色主要定位在细胞核,部分胞浆呈弱阳性染色,但在乳腺囊性增生病不典型增生病灶中则表现为部分增生细胞核和胞浆呈阳性染色,见图 1;在乳腺癌免疫组化染色阳性的标本中肿瘤细胞核及细胞浆中普遍呈阳性,见图 2

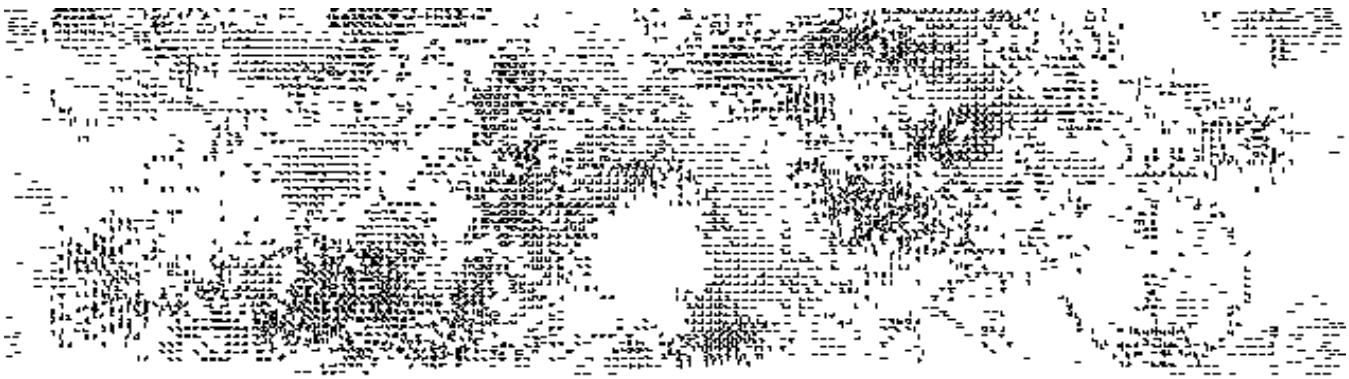


图 1　乳腺囊性增生病上皮不典型增生Ⅱ级细胞 c-myc癌基因蛋白表达阳性　(ABC×100)

Fig 1　Positive expression of c-myc oncogene protein in cystic hyperplasia disease of breast with atypical hyperplasia gradeⅠ　(ABC×100)

图 2　乳腺单纯癌,癌细胞 c-myc癌基因蛋白表达阳性　(ABC×200)

Fig 2　Positive expression of c-myc oncogene protein in simple carcinoma of breast　(ABC×200)

3　讨论

人类良性疾病经不典型增生癌变过程中,细胞从一般性增生经不典型增生发展到癌变,细胞发生了一系列变化,包括细胞结构、功能及表型的各种改变。这些改变的基础是细胞核 DNA 含量的异常及基因改变导致某些癌基因和突变型抑癌基因表达产物增加,其结果使部分异常细胞具有癌变倾向的表型变化不断积累,可能使其在内外促进因素的参与下最终发生癌变。在这一过程中有丝分裂信号传导异常促使细胞异常增生在肿瘤发生发展中具有重要作用。c-myc 癌基因的编码产物是 P62核结合蛋白,控制与细胞的生长和分化有关的基因表达,是细胞内生长信号传导系统中的一种调节蛋白[4]。有研究表明 c-myc蛋白过度表达与细胞周期的调控有关,可诱导静止期细胞进入细胞分裂周期,从而促进细胞有丝分裂和细胞增生。c-myc 癌基因蛋白的过度表达使细胞脱离正常的有丝分裂轨道、增殖加快,在癌前病变和癌发展中的作用已受到重视。

本组材料观测发现,在乳腺癌标本中 c-myc癌基因蛋白表达阳性率达 57.5%,提示在乳腺癌细胞中确有 c-myc癌基因的活化并有基因产物的过度表达。c-myc基因改变与乳腺癌发生关系密切。Spaventi[5]在乳腺癌中 c-myc基因扩增与肿瘤增殖特性、恶性程度、淋巴转移、雌激素受体阴性表达、细胞核 DNA 非整倍体多等癌细胞生物学行为有关。c-myc基因活化及高表达者肿瘤细胞的侵袭性高、预后不良。本组观察亦显示,在乳腺癌中恶性程度较高者 c-myc癌基因蛋白表

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

达阳率增高。

c-myc基因蛋白在良性疾病中的表达变化及其与癌发生的关系已有部分报道。Lee等[6]分析胃和结肠粘膜病变中 p62 c-myc表达,发现在慢性炎症、肠化和异型增生粘膜中表达增高,表达强度与炎症程度相关。提示 c-myc癌基因蛋白表达可作为胃肠粘膜高增殖状态和恶性潜能的相关标志。本研究在乳腺囊性增生病不典型增生中有 3/20(15%)见 c-myc癌基因蛋白的阳性表达,表达部位在近基底膜的不典型增生细胞群中。而无不典型增生的乳腺囊性增生病标本中无 c-myc癌基因蛋白的表达。在乳腺不典型增生中虽然 c-myc基因蛋白表达比 p21 ras和 c-erb B-2癌基因蛋白等表达的阳性率低[7,8],但仍提示在部分不典型增生细胞中存在 c-myc癌基因活化及其产物的过度表达。这种变化发生在乳腺癌前的不典型增生阶段,对乳腺癌发生过程中的细胞生物学变化的研究同样具有重要意义。

体外细胞转化实验证实,由 c-myc诱导的正常细胞的转化需要其它癌基因如 ras、bcl-2等的共同激活和过度表达来实现。转基因动物实验表明,转基因鼠直接在乳腺组织表达 c-myc时,有 c-myc癌基因的扩增,并对于相关肿瘤的基因型和表型有一定的启动和促进作用[6]。但需与其它活化癌基因如 ras协同作用,导致细胞恶性转化。

在人体乳腺良性疾病癌变过程中,已有的研究表明乳腺上皮细胞在癌变前的不典型增生阶段可能有多种癌基因和抑癌基因表达的变化[9],提示研究多种癌基因和抑癌基因在乳腺不典型增生中的变化、相互作用及其规律与乳腺癌发生的关系具有重要的意义。

参考文献

1 Nass S J, Dickson R B. Defining a role for c-myc in breast tumorigenesis. Breast Cancer Res Treat, 1997, 44(1): 1

2 姜 军,詹新恩,柳凤轩. 乳腺导管不典型增生与癌变的关系. 肿瘤防治研究, 1990, 17(3): 518

3 李树玲. 乳腺癌. 见中华人民共和国卫生部医政司编. 中国常见恶性肿瘤诊治规范,第八分册. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1991. 25-58

4 Ryan K M, Birmie G D. Myc oncogenes: the enigmatic family. Biochem J, 1996, 314(3): 713

5 Spaventi R. Immunohistochemical detection of TGF-alpha, EGFR, c-erb B-2, c-H-ras, c-myc, estrogen and progesterone in benign and malignant human breast lesions: a concomitant expression. *In Vivo*, 1994, 8(2): 183

6 Lee L A, Dolde C, Barrett J, *et al*. A link between c-myc-mediated transcriptional repression and neoplastic transformation. J Clin Invest, 1996, 97(7): 1687

7 姜 军,陈意生,马宏敏,等. 乳腺不典型增生细胞 c-erb B-2基因产物表达与乳腺癌发生的关系. 中国普外基础与临床杂志, 1998, 5(5): 257

8 姜 军,陈意生,柳凤轩,等. 乳腺不典型增生组织中 ras基因产物表达的意义. 第三军医大学学报, 1996, 18(3): 202

9 姜 军,詹新恩,陈意生,等. 乳腺囊性增生病不典型增生细胞中基因产物变化与乳腺癌发生的关系. 中华外科杂志, 1997, 35(10): 639

(收稿: 1998-08-18;修回: 1998-10-26)

(编辑 王 红)

Expression of c-myc oncogene protein in cystic hyperplasia of breast and breast cancer

Jiang Jun, Zhang Yi, Han Xiaorong, Zhan Xinen, Liu Fengxun (Department of General Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To observe the changes of c-myc oncogene protein in atypical hyperplasia of the breast and breast cancer and explore their significance. Methods: The expression of c-myc protein in the normal tissue of the breast and the tissues of atypical hyperplasia, cystic hyperplasia and cancer of the breast was determined with immunohistochemistry. Results: No expression of c-myc protein was found in the tissues of normal breast and cystic hyperplasia of the breast with epithelial proliferation grade I. The positive rates of the expression of c-myc protein in the tissues of atypical hyperplasia and cancer of the breast with histological classification grades I, II and III were 15.0%, 38.5%, 64.3% and 69.2% respectively. Conclusion: The abnormal changes of c-myc protein might be the result or promoting factor of abnormal proliferation of atypical hyperplasia of the breast and is one of the markers of malignant transformation of the breast epithelium.

Key words oncogene protein; atypical hyperplasia; breast neoplasm

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net