

## 乳腺癌组织 HER-2/neu 和 RECK 蛋白的表达及其意义

沈 波<sup>1</sup>, 韦 达<sup>1</sup>, 徐新宇<sup>1</sup>, 陈 嘉<sup>1</sup>, 郑马庆<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>南京医科大学附属江苏省肿瘤医院肿瘤内科, 江苏 南京 210009; <sup>2</sup>南京工业大学药学院, 江苏 南京 211816)

**[摘要]** 目的:探讨 HER-2/neu 和 RECK 蛋白在乳腺癌组织中的表达及其临床意义。方法:采用 SP 法,对 76 例乳腺癌组织标本及 30 例正常乳腺组织标本进行免疫组化检测,观察乳腺癌组织及正常乳腺组织中 HER-2/neu 和 RECK 蛋白表达情况,并比较不同 TNM 分期、病理分化程度乳腺癌组织 HER-2/neu 和 RECK 蛋白表达强度及阳性率差异,分析其两者之间的关系。结果:乳腺癌组织 HER-2/neu 表达强度及阳性率高于正常乳腺组织,RECK 表达强度及阳性率低于正常乳腺组织,乳腺癌组织中 HER-2/neu 和 RECK 表达强度及阳性率同 TNM 分期及肿瘤组织分化具有相关性,乳腺癌组织 HER-2/neu 和 RECK 表达呈负相关。结论:乳腺癌组织中 HER-2/neu 过度表达、RECK 表达减弱或缺失的现象,可能是乳腺癌发生、发展的生物学机制之一。

**[关键词]** 乳腺癌;HER-2/neu;RECK;肿瘤分期;肿瘤分化

**[中图分类号]** R737.9

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2012)09-1237-04

## Expression and clinical significance of HER-2/neu and RECK in breast carcinoma tissue

SHEN Bo<sup>1</sup>, WEI Da<sup>1</sup>, XU Xin-yu<sup>1</sup>, CHEN Jia<sup>1</sup>, ZHENG Ma-qing<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Medical Oncology, the Affiliated Jiangsu Cancer Hospital of NJMU, Nanjing 210009; <sup>2</sup>College of Pharmacy, Nanjing University of Technology, Nanjing 211816, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression and clinical significance of HER-2/neu and RECK in breast carcinoma tissue.

**Methods:** A total of 76 cases of breast carcinoma tissue and 30 cases of normal breast tissue were selected and stained with SP immunohistochemical method to detect the expression of HER-2/neu and RECK, positive rate and intensity were compared among cases with different TNM stage and differentiation of breast carcinoma, correlation between HER-2/neu and RECK was analyzed in breast carcinoma tissue. **Results:** Positive rate and intensity of HER-2/neu were higher and RECK were lower in breast carcinoma tissue than those in normal breast tissue, which were correlative with TNM stage and differentiation of breast carcinoma, the expression of HER-2/neu was negatively correlated with RECK in breast carcinoma tissue. **Conclusion:** HER-2/neu was over expressed while RECK was not expressed or at a low level in breast carcinoma tissue, these might be a biological mechanism for the occurrence and progression of breast carcinoma.

**[Key words]** breast carcinoma; HER-2/neu; RECK; tumor differentiation; tumor stage

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(9): 1237-1240]

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤之一。乳腺癌的发生、发展同乳腺组织特异性受体、癌胚相关蛋白表达等密切相关。临床上,对癌胚相关蛋白的检测能够指导患者治疗方式的选择及预后预测。HER-2/neu 与 RECK 蛋白是与恶性肿瘤发生、发展密切相关的细胞因子<sup>[1-2]</sup>,临床上大多数恶性肿瘤呈异常表

达现象。研究结果显示<sup>[3]</sup>,乳腺癌组织 HER-2/neu 蛋白表达水平同乳腺癌的生物学行为密切相关,其表达水平能够为临床治疗方案的选择提供依据。RECK 在恶性肿瘤的表达缺失是肿瘤转移、侵袭的机制之一<sup>[4]</sup>,对预后有明显的影响。目前在乳腺癌组织中 HER-2/neu 与 RECK 蛋白表达的相关性及其相互作用机制尚缺乏深入的研究,本文就 HER-2/neu 和 RECK 在乳腺癌组织中的表达及其临床意义进行研究,为乳腺癌临床治疗及预后评估提供参考。

**[基金项目]** 南京医科大学附属江苏省肿瘤医院科研基金(ZM200802)

\*通讯作者, E-mail: qingm109@qq.com

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

乳腺癌组织标本 76 例及正常乳腺组织标本 30 例均为本院乳腺外科 2008 年 12 月~2010 年 12 月切除送检的组织标本。乳腺癌组织标本来自乳腺癌患者,年龄 34~67 岁,平均(49.0 ± 11.6)岁,低分化乳腺癌 26 例,中分化乳腺癌 29 例,高分化乳腺癌 21 例。按 TNM 分期,其中 I 期 14 例,II 期 43 例,III 期 19 例。正常乳腺组织标本来自乳腺良性病变切除患者,年龄 32~64 岁,平均(48.0 ± 10.2)岁,所有患者均未接受化疗或合并其它恶性肿瘤治疗,两组患者年龄无显著差异,具有可比性。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 免疫组化染色

组织标本采用常规 10%福尔马林固定,石蜡包埋,4 μm 厚度连续切片,展片、烘干后加入 200 ml pH6.0 的枸橼酸缓冲液浸泡,微波加热修复抗原,3%双氧水阻断内源性过氧化氢酶,非免疫山羊血清(南京建成生物工程研究所)去除杂质抗原,分别滴加工作浓度(1:1 000)一抗(鼠抗人 HER-2/neu 单克隆抗体、鼠抗人 RECK 单克隆抗体,丹麦 DAKO 公司),4℃,过夜孵育 12 h,PBS 冲洗,滴加二抗充分反应后 PBS 缓冲液冲洗,DAB 显色,苏木素复染,干燥、透明,中性树胶封片。

#### 1.2.2 切片观察及评价

每张切片在 400 倍显微镜下随机选择 10 个高

倍视野进行观察,计数肿瘤细胞数和阳性细胞数,每个视野计数 100 个肿瘤细胞,计算 HER-2/neu、RECK 阳性表达细胞百分率。根据染色细胞百分率进行评分:<10%为阴性(-);10%~25%为弱阳性(+);26%~50%为中度阳性(++);>50%为强阳性(+++)。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS10.0 统计学软件,等级资料及率的比较采用 Wilcoxon 秩和检验与卡方检验,相关性分析采用 Spearman 检验, $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 乳腺癌组织 HER-2/neu 与 RECK 蛋白表达情况

HER-2/neu 和 RECK 蛋白在乳腺癌及正常乳腺组织中均有表达,主要位于细胞膜上,呈现大小不一的棕色或棕褐色颗粒。HER-2/neu 在乳腺癌组织多为阳性表达,而正常乳腺组织表达偏弱或缺失;RECK 在乳腺癌组织多为弱阳性或表达缺失,在正常乳腺组织多为中等强度表达,RECK 在乳腺癌组织表达强度低于正常乳腺组织(表 1)。

### 2.2 乳腺癌组织不同 TNM 分期 HER-2/neu、RECK 表达情况

不同 TNM 分期乳腺癌组织 HER-2/neu 和 RECK 表达阳性强度表现出明显差异,HER-2/neu 伴随乳腺癌 TNM 分期增高而增强,RECK 伴随乳腺癌组织 TNM 分期增高表达强度减弱(表 2)。

表 1 HER-2/neu 和 RECK 在乳腺癌组织及正常乳腺组织表达比较

Table 1 Comparison of HER-2/neu and RECK expression between breast cancer tissue and normal breast tissue (n)

组织类型	n	HER-2/neu 表达强度				RECK 表达强度			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++
乳腺癌	76	10	32	29	5	34	35	7	0
正常乳腺组织	30	15	12	3	0	5	7	15	3
P 值		< 0.001				< 0.001			

表 2 HER-2/neu 和 RECK 在不同 TNM 分期乳腺癌组织的表达情况

Table 2 The expression of HER-2/neu and RECK in breast cancer tissue of different TNM stages (n)

TNM 分期	n	HER-2/neu				RECK			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++
I	14	3	7	4	0	4	7	3	0
II	43	5	20	17	1	27	12	4	0
III	19	2	5	8	4	13	6	0	0
$\chi^2$ 值		5.12				4.46			
P 值		0.010				0.012			

2.3 不同分化程度乳腺癌组织 HER-2/neu、RECK 表达情况

不同分化程度的乳腺癌组织 HER-2/neu 和 RECK 表达存在明显差异。低分化组织标本中,可见 HER-2/neu 蛋白大量表达,并伴随乳腺癌组织分化程度降低,HER-2/neu 表达强度增高,RECK 表达强

度相对降低或缺失(表 3)。

2.4 乳腺癌组织 HER-2/neu 和 RECK 表达相互关系

相关分析结果显示,乳腺癌组织标本中 HER-2/neu 和 RECK 表达存在负相关关系( $r = 0.397, P = 0.002$ ,表 4)。

表 3 不同分化程度乳腺癌组织 HER-2/neu 与 RECK 表达比较

肿瘤分化	n	HER-2/neu				RECK			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++
高分化	21	5	14	2	0	5	12	4	0
中分化	29	4	9	14	2	14	13	2	0
低分化	26	1	9	13	3	15	10	1	0
$\chi^2$ 值		4.72				6.25			
P 值		0.013				0.008			

表 4 HER-2/neu 和 RECK 在乳腺癌组织表达的相关性分析  
Table 4 Correlation of HER-2/neu and RECK expression in breast cancer tissue (n)

HER-2/neu	RECK		合计
	+	-	
+	38	28	66
-	4	6	10
合计	42	34	76

3 讨 论

研究表明,恶性肿瘤的发生、发展过程同细胞分化相关的细胞因子表达关系密切。在大部分恶性肿瘤中都存在促进细胞增殖的细胞因子过度表达,而与细胞凋亡相关的细胞因子表达降低或缺失的现象,并与肿瘤的侵袭、转移能力密切相关。乳腺癌是生物学行为极其复杂的恶性肿瘤,癌相关基因及细胞增殖相关基因、激素受体等表达情况与患者的预后关系密切<sup>[5]</sup>,甚至能够指导临床治疗方案的选择,如雌激素受体(ER)受体的表达状况对患者术后治疗方案的选择具有指导意义。

临床上,乳腺癌的生物学行为受肿瘤本身抑癌及促癌因子影响较为明显。HER-2/neu 与 RECK 是与肿瘤细胞恶变及凋亡密切相关的细胞因子,在正常细胞中均有表达。HER-2/neu 蛋白是染色体 21q 位置基因片段编码的跨膜蛋白,其胞内区及胞外区分别执行不同的生理功能,胞外区具有相应配体的结合区域,能够结合配体获得激活信号,而胞内区具有酪氨酸激酶活性和 ATP 结合位点,参与细胞内磷

酸化、DNA 合成等代谢的调节,能够通过 PI3K-Akt 激酶途径降解抑癌因子 P53 的表达,激活核转录因子,而且能够对细胞周期中 M 期的调控进行抑制,促进细胞的增殖活性<sup>[6-7]</sup>,导致乳腺癌的发生。RECK 是 9p13~9p12 染色体编码的蛋白,对肿瘤细胞的增殖及侵袭具有抑制作用,研究发现<sup>[8-9]</sup>,RECK 能够抑制肿瘤组织基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9 和 MMP-14 的表达,减少肿瘤组织周围基质的降解能力,抑制肿瘤组织的侵袭及转移。

研究中发现,乳腺癌组织 HER-2/neu 蛋白的表达强度高于正常乳腺组织,RECK 蛋白表达强度低于乳腺正常组织,进一步分析发现,HER-2/neu 和 RECK 蛋白的表达强度同乳腺癌的生物学行为密切相关,在低分化及分期较晚的乳腺癌组织,HER-2/neu 的蛋白表达强度较高而 RECK 表达强度降低,说明 HER-2/neu 和 RECK 不仅在乳腺癌的发生过程中具有重要的作用,而且能够影响肿瘤恶性程度及侵袭转移等生物学特征。在相关性分析中发现,在乳腺癌组织中 HER-2/neu 和 RECK 表达存在负相关性,说明乳腺癌的发生是多因素作用的结果,而且在这些与组织恶变相关因素中,存在相互制约作用。既往的研究结果显示,RECK 的表达受 Ras 及多种癌基因的调控,而对 Ras-Raf-Mek-MAP 途径的激活是 HER-2/neu 蛋白实现对细胞周期调控的机制之一<sup>[10]</sup>,它可能通过 Ras 的表达调控进而影响 RECK 的表达,研究结果还显示,在乳腺癌组织中 HER-2/neu 过度表达、RECK 表达降低或缺失,与肿瘤生物学行为密切相关,并且 HER-2/neu 和 RECK 存在相互调控的关系,共同参与乳腺癌的发

生及进展。

[参考文献]

- [1] Tanner M, Hollmén M, Junttila TT, et al. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma; association with topoisomerase II  $\alpha$  gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab [J]. *Ann Oncol*, 2004, 16(2): 273-278
- [2] Masui T, Doi R, Koshiba T, et al. RECK expression in pancreatic cancer; its correlation with lower invasiveness and better prognosis [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(5): 1779-1784
- [3] 李骏白, 黄瑞燕. HER-2 基因过表达的乳腺癌病人内分泌治疗探讨[J]. *江西医药*, 2007, 42(4): 362-363
- [4] Omura A, Matsuzaki T, Mio K, et al. RECK forms cowbell-shaped dimers and inhibits matrix metalloproteinase-catalyzed cleavage of fibronectin[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(6): 3461-3469
- [5] 康丽花, 赵杨祉, 王 策, 等. 青年与老年乳腺癌患者 ER、PR、HER2 基因表达及预后的对比分析[J]. *中国老年学杂志*, 2011, 12(31): 4705-4707
- [6] Xiong HH, Yu SY. Expression of surviving, mutant p53 and C-erbB-2 in breast cancer and its clinical significance[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 4(4): 229-231
- [7] Kunter E, Cermik H, Isitmangil T, et al. Prevalence and prognostic value of c-erbB-2 expression in non-small cell lung cancer[J]. *Neoplasma*, 2003, 50(4): 257-259
- [8] Chang CK, Hung WC, Chang HC. The kazal motifs of RECKp rotein inhibit MMP-9 secretion and activity and reduce metastasis of lung cancer cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Cell Mol Med*, 2008; 12(6): 2781-2789
- [9] Oh J, Takahashi R, Kondo S, et al. The membrane anchored MMP-2 inhibitor RECK is a key regulator of extracellular matrix integrity and angiogenesis [J]. *Cell*, 2001, 107(6): 789-800
- [10] Shackney SE, Smith CA, Pollice A, et al. Intracellular patterns of Her-2/neu, ras, and ploidy abnormalities in primary human breast cancers predict postoperative clinical disease-free survival [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(9): 3042-3052

[收稿日期] 2012-05-10

## 科技出版物中数字的用法

1. 凡是可以用阿拉伯数字且很得体的地方, 均应使用阿拉伯数字。
2. 日期和时刻的表示。需注意年份不能简写, 如 1997 年不能写成 97 年。
3. 计量或计数单位前的数字应采用阿拉伯数字; 多位阿拉伯数字不能拆开转行; 小数点前或后超过 4 位数(含 4 位)的应从小数点起向左或向右每 3 位空出适当间隙, 不用千分撇“,”; 数值的有效数字应全部写出, 如“1.50、1.75、2.00”, 不能写成“1.5、1.75、2”。
4. 参数与偏差范围的表示:
  - (1) 数值范围: 5~10; 注意  $3 \times 10^3 \sim 8 \times 10^3$ , 不能写成  $3 \sim 8 \times 10^3$ ;
  - (2) 百分数范围: 20%~30%, 不能写成 20~30%;
  - (3) 具有相同单位的量值范围: 1.5~3.6 mA 不必写成 1.5 mA~3.6 mA;
  - (4) 偏差范围:  $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$  不写成  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $(85 \pm 2)\%$  不能写成  $85 \pm 2\%$ ;
5. 附带尺寸单位的量值相乘写为: 50 cm  $\times$  80 cm  $\times$  100 cm, 不能写成 50  $\times$  80  $\times$  100 cm, 或 50  $\times$  80  $\times$  100 cm<sup>3</sup>。

(本刊编辑: 接雅俐)