

· 临床研究 ·

## 雄激素受体在不同分子分型乳腺癌中的表达及临床病理意义

任晓燕<sup>1,2</sup>,陶玉梅<sup>2</sup>,金晓霞<sup>1</sup>,卫颖泽<sup>1</sup>,袁明明<sup>2</sup>,何松<sup>1\*</sup><sup>1</sup>南通市肿瘤医院病理科,江苏 南通 226361;<sup>2</sup>南通市妇幼保健院病理科,江苏 南通 226018

**[摘要]** 目的:探讨雄激素受体(androgen receptor, AR)在不同分子分型的浸润性乳腺癌中的表达情况及相关性。方法:采用免疫组化方法检测635例浸润性乳腺癌标本中AR、雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)、人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-type2, HER2)、Ki67蛋白的表达情况,分析AR在不同分子分型、组织学类型中的表达情况及相关分子之间的关系。结果:AR在Luminal A型、Luminal B型HER2阴性型、Luminal B型HER2阳性型、HER2过表达型及三阴性浸润性乳腺癌中的阳性率分别为74.5%(137/184)、56.1%(96/171)、67.8%(40/59)、56.0%(56/100)、32.2%(39/121),差异具有统计学意义( $P<0.05$ );癌旁组织中AR阳性率为29.2%(158/542),明显低于癌组织中的表达,差异有统计学意义( $P<0.05$ );AR蛋白表达在年龄分组及组织学分级中差异无统计学意义( $P>0.05$ );AR阳性与ER、PR蛋白的阳性表达呈正相关( $P<0.05$ ),而与Ki-67的表达呈负相关( $P<0.05$ )。结论:AR在不同分子分型乳腺癌中均有一定的表达,联合检测AR和ER、PR、HER2及Ki-67对判断乳腺癌的预后和选择治疗方案有一定价值。

**[关键词]** 乳腺癌;雄激素受体;分子分型**[中图分类号]** R737.9**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2020)01-062-05**doi:** 10.7655/NYDXBNS20200112

### Significance of AR expression in different molecular classification of invasive breast cancer

REN Xiaoyan<sup>1,2</sup>,TAO Yumei<sup>2</sup>,JIN Xiaoxia<sup>1</sup>,WEI Yingze<sup>1</sup>,YUAN Mingming<sup>2</sup>,HE Song<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Department of Pathology, Nantong Cancer Hospital, Nantong 226361; <sup>2</sup>Department of Pathology, Nantong Women and Children's Care Hospital, Nantong 226018, China

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression of androgen receptor (AR) and its correlation with molecular classifications in invasive breast cancer. **Methods:** The expressions of AR, estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), human epidermal growth factor receptor - type2 (HER2) and Ki67 in 635 cases of invasive breast cancer were detected with immunohistochemistry. The expression of AR and its correlation with molecular classifications, histologic grades and expressions of other related proteins was investigated and analyzed. **Results:** The positive rates of AR in luminal subtype A, luminal subtype B with negative HER2, luminal subtype B with positive HER2, HER2 over-expressing subtype, and triple negative subtype were 74.5% (137/184), 56.1% (96/171), 67.8% (40/59), 56.0% (56/100), and 32.2% (39/121), respectively. The expression level of AR was lower in triple negative subtype than that in other subtypes ( $P<0.05$ ). The expression of AR was significantly lower in adjacent tissues compared with invasive breast cancer tissues ( $P<0.05$ ). There were no statistical difference in the expressions of AR with different age and different histologic grades ( $P>0.05$ ). The expression of AR positively correlated with the expression of ER and PR ( $P<0.05$ ), while negatively correlated with the expression of Ki-67 ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** AR is expressed in different molecular classification of invasive breast cancer. Combined detection of AR and ER, PR, HER-2 may play an important role in predicting clinical outcomes of breast cancer.

**[Key words]** breast cancer; androgen receptor; molecular classification

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(01):062-066]

**[基金项目]** 南通市科技项目(HS2015003)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: ntzlyyhesong515@ntu.edu.cn

随着乳腺癌发病率的上升,以及对乳腺癌研究的不断深入,乳腺癌的分子分型应运而生。2011年St. Gallen国际乳腺癌会议<sup>[1]</sup>将乳腺癌分为5种类型:Luminal A型、Luminal B型HER2阴性型、Luminal B型HER2阳性型、HER2过表达型、三阴性。2017年进一步完善,并根据不同分子类型推荐不同的治疗方案<sup>[2]</sup>,为临床提供了治疗指南和预后评估的标准。对于雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)作为激素依赖受体在乳腺癌的发生、发展及治疗预后中作用的研究较多,但同样作为激素依赖受体的雄激素受体(androgen receptor, AR)在乳腺癌中发生、发展及预后治疗中的作用尚不十分明确,且AR的阳性表达与其他分子标志物ER、PR、Ki-67的关系研究甚少。本研究通过免疫组化方法,检测AR蛋白在不同分子分型乳腺癌中的表达,探讨AR在浸润性乳腺癌发展中的作用及临床价值。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

收集南通市肿瘤医院病理科2015年1月—2017年12月浸润性乳腺癌标本635例,所有病例均为女性,年龄29~89岁,中位年龄55岁,术前均未行放疗、化疗等任何治疗。所有标本经10%中性福尔马林固定,石蜡包埋,4 μm厚切片,HE染色。由2名有经验的病理科医生双盲法全部重新阅片,组织学分型标准及组织学分级参照2012年乳腺肿瘤WHO分类,分子分型标准参照2017年St. Gallen国际乳腺癌会议共识<sup>[2]</sup>采用免疫组织化学替代分型。635例浸润性乳腺癌中浸润性导管癌545例、浸润性小叶癌22例、伴髓样特征的癌21例、黏液性癌12例、其他类型35例。545例浸润性导管癌中I级42例、II级320例、III级183例。635例浸润性乳腺癌中Luminal A型184例、Luminal B型HER2阴性型171例、Luminal B型HER2阳性型59例、HER2过表达型100例、三阴性121例。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 免疫组织化学染色

一抗ER(EP1/兔单克隆抗体,稀释度1:400)、PR(EP2/兔单克隆抗体,稀释度1:1200)、AR(AR441/鼠单克隆抗体,即用型)购自福州迈新生物技术开发有限公司,HER2(A0485/兔多克隆抗体,稀释度1:800)、Ki67(MIB-1/鼠单克隆抗体,稀释度1:600)及EnVision试剂盒购自美国DAKO公司。

AR、ER、PR、HER2及Ki67均采用EnVision(二步法)完成,Ki67使用柠檬酸盐修复液修复抗原,其余指标均采用EDTA修复。所有病例均设阳性和阴性对照。AR以前列腺做阳性对照,ER、PR以子宫内膜做阳性对照,HER2以已知HER2阳性乳腺癌做阳性对照,Ki67以阑尾做阳性对照,PBS代替一抗做阴性对照。

#### 1.2.2 结果判定

所有病例在浸润性乳腺癌区域出现定位明确的棕黄色或棕褐色颗粒判定为特异性阳性反应。AR、ER、PR、Ki67阳性定位在细胞核,HER2阳性定位在细胞膜。AR判定标准<sup>[3]</sup>:以阳性细胞数≤10%为阴性(-),>10%为阳性(+)。Ki-67染色结果判定:核内出现棕黄色颗粒细胞为阳性细胞,计数10个高倍视野肿瘤细胞中阳性细胞数,并计算阳性比率:≤30%为低指数表达,>30%为高指数表达。ER、PR的免疫组化染色评分参照2010年美国临床肿瘤学会(ASCO)/美国病理学家学会(CAP)推荐的ER、PR指南<sup>[4]</sup>:以1%作为阳性表达的临界值。HER2的免疫组化染色评分参照2013年ASCO/CAP推荐的HER2评估的更新指南<sup>[5]</sup>:>10%肿瘤细胞呈现完整的细胞膜环周强着色定义为阳性(3+);>10%肿瘤细胞呈现完整的细胞膜弱至中等程度着色定义为不确定(2+);>10%肿瘤细胞呈现微弱或几乎察觉不到的不完整的细胞膜着色定义阴性(1+);无着色或<10%的肿瘤细胞呈现不完整的、微弱的细胞膜着色定义为0。0和1+都定义为阴性反应,3+定义为阳性反应,HER2免疫组化评分为2+的病例均行荧光原位杂交(FISH)检测观察有无HER2基因扩增,再分别纳入HER2阳性组和阴性组。

#### 1.3 统计学方法

采用SPSS19.0对实验数据进行统计分析。计数等级资料多组间比较采用Kruskal-Wallis秩和检验,两变量相关采用Pearson等级相关检验,均做双侧检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 AR、ER、PR、HER2及Ki67在乳腺癌中的表达

635例浸润性乳腺癌中AR阳性率为58.0%(368/635),ER阳性率为60.4%(384/635),PR阳性率为54.0%(343/635),HER2阳性率为25.3%(161/635),Ki67低指数表达为70.9%(450/635),高指数表达为29.1%(185/635)(图1)。

### 2.2 AR在不同分子分型乳腺癌及癌旁组织中的表达

AR阳性表达率在Luminal A型中为74.5%(137/

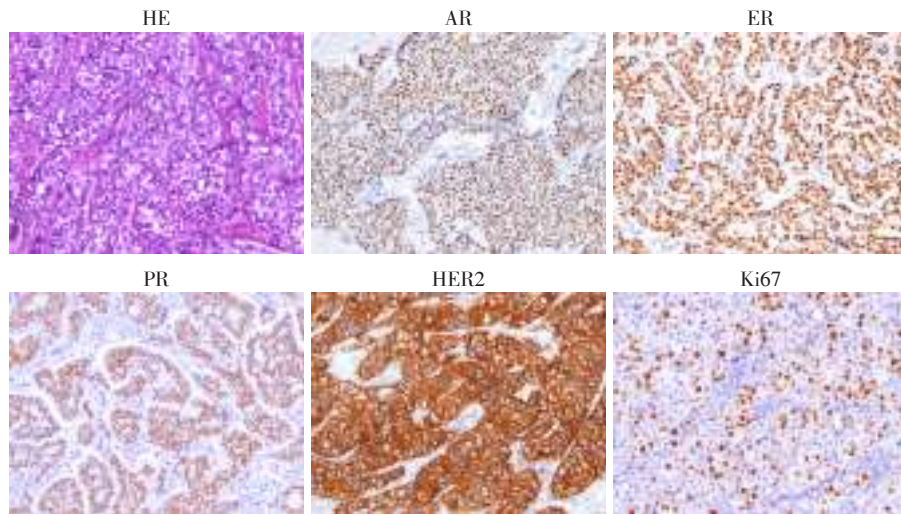


图1 浸润性乳腺癌中AR、ER、PR、HER2、Ki67的阳性表达(×200)

Figure 1 Expression of AR, ER, PR, HER2, Ki67 in invasive breast cancer(×200)

184), 在 Luminal B 型 HER2 阴性型中为 56.1% (96/171), 在 Luminal B 型 HER2 阳性型中为 67.8% (40/59), 在 HER2 阳性型中为 56.0% (56/100), 在三阴型中为 32.2% (39/121)。结果显示 AR 的表达在 Luminal A 型中最高, 而在三阴型中最低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 表1)。635 例乳腺癌中发现 542 例癌旁有正常乳腺组织, 以 10% 作为临界值, 542 例浸润

性乳腺癌癌旁组织中 AR 阳性率为 29.2% (158/542), 明显低于癌组织中的表达, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

### 2.3 AR 与各临床病理特征的关系

AR 蛋白在浸润性导管癌中表达率为 60.0% (327/545), 浸润性小叶癌中为 59.1% (13/22), 伴有髓样特征的癌中为 19.0% (4/21), 黏液性癌中为

表1 AR 表达与相关参数之间的关系

Table 1 Relationship between AR expression and related parameters

参数	例数	AR 表达[n(%)]		$\chi^2$ 值	P 值
		阴性	阳性		
年龄(岁)				1.896	0.387
≤50	221	106(48.0)	115(52.0)		
> 50	414	161(38.9)	253(61.1)		
分子分型				46.563	< 0.001
Luminal A 型	184	47(25.5)	137(74.5)		
Luminal B 型 HER2 阴性	171	75(43.9)	96(56.1)		
Luminal B 型 HER2 阳性	59	19(32.2)	40(67.8)		
HER2 阳性型	100	44(44.0)	56(56.0)		
三阴型	121	82(67.8)	39(32.2)		
组织学类型				6.460	0.040
浸润性导管癌	545	218(40.0)	327(60.0)		
浸润性小叶癌	22	9(40.9)	13(59.1)		
伴髓样特征的癌	21	17(81.0)	4(19.0)		
黏液性癌	12	6(50.0)	6(50.0)		
其他	35	17(48.6)	18(51.4)		
组织学分级 <sup>a</sup>				1.688	0.430
I	42	20(47.7)	22(52.3)		
II	320	115(36.0)	205(64.0)		
III	183	83(45.4)	100(54.6)		

<sup>a</sup>: 545 例浸润性导管癌的组织学分级。

50.0%(6/12),其他类型中为51.4%(18/35),差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。AR蛋白阳性表达在年龄 $\leq 50$ 岁组和 $> 50$ 岁组中分别为52.0%(115/221)、61.1%(253/414),差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。AR蛋白阳性表达率在浸润性导管癌组织学分级I、II、III中分别为52.3%(22/42)、64.0%(205/320)、54.6%(100/183),差异无统计学意义( $P > 0.05$ ,表1)。

#### 2.4 AR和ER、PR及Ki67的关系

AR在ER阳性的乳腺癌中阳性率为66.7%(256/384);在ER阴性的乳腺癌中阳性率下降为44.6%(112/251);AR在PR阳性的乳腺癌中阳性率为69.0%(237/343);AR在PR阴性的乳腺癌中阳性率为44.8%(131/292)。Spearman相关性分析显示,AR在各型乳腺癌中的表达与ER、PR的表达呈正相关,AR和Ki-67在各型乳腺癌中的表达呈负相关,AR的表达与HER2表达没有相关性(表2)。

表2 AR表达与ER、PR、HER2、Ki67之间的关系  
Table 2 Relationship between AR expression and ER, PR, HER2, Ki67 (n)

蛋白表达	例数	AR表达		r值	P值
		-	+		
ER				0.251	<0.001
阴性	251	139	112		
阳性	384	128	256		
PR				0.244	<0.001
阴性	292	161	131		
阳性	343	106	237		
HER2				-0.059	0.637
阴性	474	203	271		
阳性	161	64	97		
Ki67				-0.203	<0.001
阳性( $\leq 30\%$ )	450	162	288		
阳性( $> 30\%$ )	185	105	80		

### 3 讨论

AR是由位于X染色体长臂(Xq11~12)上的一段核受体,含有8个外显子和7个内含子,AR广泛存在人体的各个器官,在男性第二性征器官中广泛分布,在乳腺正常上皮中也有着广泛的表达。AR的活性受多种因素调节,雄激素是AR的主要调节因子。AR在正常乳腺导管的导管上皮中均有不同程度的表达,在乳腺癌组织中导管上皮AR的表达明显上调。

随着乳腺癌基因和分子生物学的研究进展,人们发现乳腺癌具有高度的异质性。St. Gallen国际

乳腺癌会议提出采用ER、PR、HER2及Ki67免疫组化的表达结果来代替其分子分型系统,经过多年完善和逐渐推广,不同分子分型在判断预后和选择治疗方案上具有重要的意义。本组中,AR蛋白的表达在Luminal A型中最高(74.5%),其次是Luminal B型HER2阳性表达为56.1%,Luminal B型HER2阴性表达为67.8%,HER2阳性型中表达为56.0%,而在三阴型中表达最低为32.2%。与国内外研究结果基本一致:Kono等<sup>[6]</sup>研究报道浸润性乳腺癌中AR的阳性表达率为60%~80%,三阴型乳腺癌中AR的阳性表达率为10%~35%。Park等<sup>[7]</sup>研究报道,AR在72.9%的原发性乳腺癌中表达。Luo等<sup>[8]</sup>研究报道非三阴型乳腺癌AR阳性率为83.3%,三阴型乳腺癌中AR的阳性表达率为27.7%。Grogg等<sup>[9]</sup>报道356例浸润性乳腺癌AR蛋白表达在Luminal A型、Luminal B型、HER2过表达型、三阴型中阳性率分别为98.5%、93.3%、80.0%及11.4%。孙向洁等<sup>[10]</sup>研究显示870例浸润性乳腺癌AR的总体阳性率为82.0%,AR在Luminal A型、Luminal B型、HER2过表达型、三阴型中阳性率分别为98.5%、89.8%、82.4%、37.1%。之所以研究报道数据有所差异,认为可能是因为实验条件不尽相同,而且对AR、ER、PR等阳性判断标准的掌握也不甚一致,本研究中AR采用10%,ER、PR采用1%作为临界值。之前的研究多数观察的是组织芯片中AR的表达,本研究635例浸润性乳腺癌都是挑选癌灶典型的区域进行各项标志物的染色,准确性更高。大部分研究结果都表明AR在各型乳腺癌中有不同程度的表达,在三阴型乳腺癌中表达明显低于其他分子类型的乳腺癌。

在本组中,AR阳性与患者的年龄及Ki67指数相关性不大,与组织学类型有一定的关系,高侵袭者AR蛋白表达更低。本研究还发现AR表达和ER、PR表达呈正相关。AR在ER阳性肿瘤中表达比在ER阴性肿瘤中更多见,但是AR表达与Ki67高表达呈负相关,即AR阳性的乳腺癌的增殖活性低,提示AR阳性表达是较好的乳腺癌预后分子标志物。有研究认为,AR状态与乳腺癌存活的关键取决于ER表达<sup>[11]</sup>,在ER阳性肿瘤患者中,AR表达与生存率显著改善相关;在ER阴性的乳腺癌中,AR表达与预后的关系在各报道中不一<sup>[6,12]</sup>。新近研究表明<sup>[13]</sup>,AR并非通过独立的AR信号通路诱发乳腺癌,AR途径与其他几个关键信号通路(包括PI3K/Akt/mTOR和MAPK通路)以及与其他受体(包括ER和HER2)相互交叉。各种不同分子分型乳腺癌的

预后不尽相同,除了肿瘤大小、淋巴结转移等因素外,也许与AR在不同分子分型中的表达情况有关。本研究因病例治疗后随访时间尚短,待以后进一步观察分析。

目前随着乳腺癌综合治疗手段的不断完善,其预后也获得较大改善<sup>[14]</sup>。Cochrane等<sup>[15]</sup>研究发现,在ER<sup>+</sup>/AR<sup>+</sup>、ER<sup>-</sup>/AR<sup>+</sup>中AR拮抗剂恩佐鲁胺都可以同时抑制雄激素和雌激素介导的肿瘤的增殖。Pietri等<sup>[16]</sup>临床试验发现AR激动剂在治疗ER<sup>+</sup>/AR<sup>+</sup>的转移性乳腺癌有一定的效果,同时在ER<sup>-</sup>/AR<sup>+</sup>/HER2<sup>+</sup>乳腺癌患者中可以采取AR拮抗剂和HER2靶向治疗或其他PI3K/MYC/ERK信号通路的靶向治疗。目前,三阴性患者没有针对性的治疗方案,AR的检测为这些患者提供了新型靶向治疗的潜在机会。比卡鲁胺是用于治疗转移性前列腺癌的非甾体抗雄激素疗法,比卡鲁胺Ⅱ期临床试验目前正在招募ER<sup>+</sup>/PR<sup>+</sup>/AR<sup>+</sup>乳腺癌患者(ClinicalTrials.gov, Identifier NCT00468715)。尽管目前还没有关于AR靶向治疗生存时间的已发表研究,但综合起来看,这些数据表明AR状态可能对三阴性乳腺癌患者的预后和治疗具有重要作用。

综上所述,AR的免疫组织化学测定可提供关于乳腺癌预后的额外信息,常规检测AR或至少对三阴性乳腺癌进行检测<sup>[17]</sup>,可为临床选择治疗方案提供重要线索。

#### [参考文献]

- [1] GOLDHIRSCH A, WOOD W C, COATES A S, et al. Strategies for subtypes -- dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011[J]. *Ann Oncol*, 2011, 22(8): 1736-1747
- [2] CURIGLIANO G, BURSTEIN H J, WINER E P, et al. De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017[J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(8): 1700-1712
- [3] PARK S, KOO J S, KIM M S, et al. Androgen receptor expression is significantly associated with better outcomes in estrogen receptor-positive breast cancers[J]. *Ann Oncol*, 2011, 22(8): 1755-1762
- [4] HAMMOND M E, HAYES D F, DOWSETT M A, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(16): 2784-2795
- [5] WOLFF A C, HAMMOND M, HICKS D G, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American society of clinical oncology/college of American pathologists clinical practice guideline update[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(31): 3997
- [6] KONO M, FUJII T, LIM B, et al. Androgen receptor function and androgen Receptor-Targeted therapies in breast cancer: a review[J]. *JAMA Oncol*, 2017, 3(9): 1266-1273
- [7] PARK S, KOO J, PARK H S, et al. Expression of the androgen receptors in primary breast cancer[J]. *Ann Oncol*, 2010, 21(3): 488-492
- [8] LUO X, SHI Y X, LI Z M, et al. Expression and clinical significance of androgen receptor in triple negative breast cancer[J]. *Chin J Cancer*, 2010, 29(6): 585-590
- [9] GROGG A, TRIPPEL M, PFALTZ K, et al. Androgen receptor status is highly conserved during tumor progression of breast cancer[J]. *BMC Cancer*, 2015, 15(期缺失): 872
- [10] 孙向洁, 杨文涛, 左珂, 等. 雄激素受体在浸润性乳腺癌中的表达及其与乳腺癌分子分型的关系[J]. *中华病理学杂志*, 2017, 46(7): 476-480
- [11] HU R, DAWOOD S, HOLMES M D, et al. Androgen receptor expression and breast cancer survival in postmenopausal women[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(7): 1867-1874
- [12] 吴晶晶, 陈曦. 乳腺癌相关雄激素受体的研究进展[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2014, 19(3): 280-283
- [13] PETERS A A, BUCHANAN G, RICCIARDELLI C, et al. Androgen receptor inhibits estrogen receptor-alpha activity and is prognostic in breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(15): 6131-6140
- [14] 陈锐, 王珏, 印梓楠, 等. 肿瘤异常蛋白及血清肿瘤标记物评估乳腺癌新辅助化疗效果的意义[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(8): 1019-1022
- [15] COCHRANE D R, BERNALES S, JACOBSEN B M, et al. Role of the androgen receptor in breast cancer and pre-clinical analysis of enzalutamide[J]. *Breast Cancer Res*, 2014, 16(1): R7
- [16] PIETRI E, CONTEDECA V, ANDREIS D, et al. Androgen receptor signaling pathways as a target for breast cancer treatment[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2016, 23(10): R485-R498
- [17] SAFARPOUR D, PAKNESHAN S, TAVASSOLI F A. Androgen receptor (AR) expression in 400 breast carcinomas: is routine AR assessment justified? [J]. *Am J Cancer Res*, 2014, 4(4): U61-353

[收稿日期] 2018-10-29