

IMP3 蛋白在乳腺癌中的表达及其临床意义

邓再兴, 陈莉萍, 赖世平, 朱 凯, 纪存丽
(湖州市妇幼保健院, 浙江 湖州 313000)

摘要: [目的] 研究胰岛素样生长因子 II mRNA 结合蛋白 3 (IMP3) 在浸润性乳腺癌及其各分子亚型中的表达及其临床意义。 [方法] 收集 189 例浸润性乳腺癌组织标本, 采用免疫组织化学法检测 ER、PR 和 Her-2 的表达情况, 并据此将乳腺癌患者分为腺腔 A 型、腺腔 B 型、Her-2 过表达型和基底细胞样型。用免疫组织化学法测定 4 种分子亚型乳腺癌组织中 IMP3 的表达情况, 并分析 IMP3 表达与乳腺癌患者临床病理特征的关系。 [结果] 18.5% 浸润性乳腺癌组织中有 IMP3 表达。IMP3 的表达与组织学分级、Ki-67 指数有关 ($P < 0.01$), 组织学分级越高及 Ki-67 指数高者 IMP3 表达越高。IMP3 在腺腔 A 型、腺腔 B 型、Her-2 过表达型和基底细胞样型中表达率分别为 5.3%、10.0%、21.4% 和 58.3%。Her-2 过表达型的 IMP3 表达率高于腺腔 A 型, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。基底细胞样型表达率高于腺腔 A 型、腺腔 B 型及 Her-2 过表达型, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。IMP3 阳性表达者生存率显著低于阴性表达者 ($P < 0.001$)。 [结论] IMP3 在基底细胞样型乳腺癌组织中高表达, 其表达可作为乳腺癌预后的评估指标之一, 并有可能成为基底细胞样型乳腺癌靶向治疗的一个新靶点。

关键词: 乳腺肿瘤; 分子亚型; IMP3; 免疫组织化学

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2012)09-0670-04

Expression of IMP3 in Breast Cancer and Its Clinical Significance

DENG Zai-xing, CHEN Li-ping, LAI Shi-ping, et al.

(Huzhou Maternity & Child Health Hospital, Huzhou 313000, China)

Abstract: [Purpose] To study the expression of insulin-like growth II mRNA-binding protein 3 (IMP3) in invasive breast cancer and in different molecular subtypes cancer and its clinical significance. [Methods] A total of 189 invasive breast cancer samples were collected. Expression of ER, PR and Her-2 were detected by immunohistochemical method, and the samples were categorized as follows: luminal A, luminal B, Her-2 over-expression and basal-like subtypes. The expression of IMP3 in all molecular subtypes was detected by immunohistochemical method, and the correlation of IMP3 expression with patients' clinicopathological feature was analyzed. [Results] The positive expression rate of IMP3 in invasive breast cancer was 18.5%. The expression of IMP3 correlated to histological grade and Ki-67 index, with significant difference ($P < 0.01$). The positive rates were higher in those patients with higher histological grade or higher Ki-67 index. The positive rates of IMP3 in luminal A, luminal B, Her-2 over-expression and basal-like subtypes were 5.3%, 10.0%, 21.4% and 58.3%, respectively. The positive rate of IMP3 in Her-2 over-expression subtype was remarkably higher than that in luminal A subtype, with significant difference ($P < 0.05$). The positive rate of IMP3 in basal-like subtype was remarkably higher than those in luminal A, luminal B and Her-2 over-expression subtypes ($P < 0.001$). The survival rate of patients with IMP3 positive-expression was significantly lower than that with negative-expression ($P < 0.001$). [Conclusion] IMP3 is highly expressed in basal-like subtype of breast cancer and may be a useful indicator for evaluating the prognosis of breast cancer, and it may be a new target for targeted therapy.

Subject words: breast neoplasmas; molecular subtype; IMP3; immunohistochemistry

研究者根据乳腺癌分子标志的不同表达情况, 将乳腺癌分为腺腔 A 型、腺腔 B 型、Her-2 过表达型和基底细胞样型 4 种分子亚型, 这 4 种分子亚型乳腺癌有不同的临床及病理特征, 相应地对化疗的

反应也不同, 从而为乳腺癌的分子学分型和个体化治疗提供了科学基础^[1]。IMP3 (insulin-like growth II mRNA-binding protein 3) 是胰岛素样生长因子 II mRNA 结合蛋白家族的一员。已有研究证明, IMP3 在肺癌、胰腺癌、肾癌、宫颈原位腺癌、肝癌、骨肉瘤、膀胱癌和子宫内膜浆液性癌等呈高表达^[2-4]。在肾

基金项目: 浙江省医药卫生一般研究计划(2011KYA152); 湖州市自然科学基金项目(2011Y203)

收稿日期: 2012-04-06; **修回日期:** 2012-06-11

癌、膀胱癌和子宫内膜浆液性癌中 IMP3 的表达与肿瘤的侵蚀性的生物学行为、进展、转移和预后不良相关^[2,4]。本课题用免疫组化技术检测 IMP3 在乳腺癌及各分子亚型中的表达特点,并分析其临床意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集湖州市妇幼保健院 2007 年 1 月至 2011 年 12 月术前未行化疗的非特殊型浸润性乳腺癌 189 例,所有标本经 4%甲醛固定,石蜡包埋。诊断、分级及分期标准参照 2003 年的《WHO 乳腺和女性生殖系统肿瘤病理学和遗传学》^[5]。患者年龄 29~81 岁,平均年龄 50.2 岁。≤50 岁者 109 例,>50 岁者 80 例。其中 I 级 23 例,II 级 106 例,III 级 60 例。TNM 分期, I 期 58 例, II 期 89 例, III 期 42 例。肿瘤最大径 ≤2cm 者 90 例,>2cm 者 99 例。其中 88 例淋巴结转移。随访至 2012 年 3 月 31 日,随访时间为 1~60 个月,平均(25.68±16.95)个月,死亡 1 例,局部复发及远处转移 6 例。

1.2 试剂及方法

所有标本均行 ER、PR、Her-2、Ki-67、IMP3 染色。ER、PR、Her-2、Ki-67 工作液试剂均为福州迈新公司产品,IMP3 原液试剂购自 Abcam 香港公司。采用 EnVision 二步法进行免疫组织化学染色。免疫组化操作如下:组织蜡块 4μm 连续切片,脱蜡,新配制的 3% H₂O₂ 灭活内源性酶 15min,微波炉加热 15min,修复抗原,自然冷却;然后滴加非免疫羊血清以阻断组织中的非特异性结合,接着依次滴加一抗(鼠抗人 IMP3 单抗,稀释度 1:50)、二抗(羊抗鼠 IgG)、DAB 显色 3~5min;苏木精复染,脱水,透明,中性树胶封片,显微镜下观察。用 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3 阳性结果判断

ER、PR 阳性为细胞核中出现阳性着色;Her-2 阳性判断以乳腺癌 Her-2 检测指南(2009 版)为标准^[6],0 及(+)为阴性,(++)及(+++)为阳性;Ki-67 阳性为细胞核内出现黄褐色颗粒;IMP3 阳性为肿瘤细胞的胞质内出现黄褐色颗粒。0:无肿瘤细胞的胞质染色;(+):至少 10%肿瘤细胞的胞质弱染色;(++):至少 10%肿瘤细胞的胞质中等强度染色;(+++):至少

10%肿瘤细胞的胞质强染色。切片由 2 位高年资医生单独阅片。

1.4 乳腺癌分子分型标准

根据 Carey 等^[1]的标准,以免疫组化结果将乳腺癌分成 4 种分子亚型:腺腔 A 型[ER(+)或 PR(+)且 Her-2(-)],腺腔 B 型[ER(+)或 PR(+)且 Her-2(+)],HER-2 过表达型[ER(-),PR(-)且 Her-2(+)]和基底细胞样型[ER(-),PR(-)且 Her-2(-)]。

1.5 统计学处理

应用 SPSS12.0 统计软件进行处理。计数资料采用 χ^2 检验,Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IMP3 在乳腺癌中的表达

35 例(18.5%)浸润性乳腺癌组织中有 IMP3 表达,阳性颗粒定位于胞质,着色不均(图 1)。在 IMP3 阳性表达病例中,(+)9 例,(++)12 例,(+++)14 例。癌旁正常组织只有 2 例呈弱阳性表达。IMP3 的表达与患者年龄、肿瘤大小、临床分期及淋巴结转移均无关($P>0.05$),与组织学分级、Ki-67 指数有关($P<0.05$),组织学分级越高及 Ki-67 指数高者 IMP3 的表达越高。见表 1。

2.2 IMP3 在乳腺癌不同分子亚型中的表达

189 例乳腺癌中,腺腔 A 型 95 例,腺腔 B 型 30 例,Her-2 过表达型 28 例,基底细胞样型 36 例。IMP3 在腺腔 A 型、腺腔 B 型、Her-2 过表达型和基

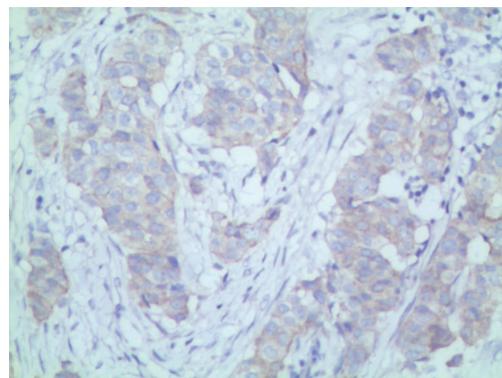


图 1 IMP3 在乳腺癌组织中的阳性表达($\times 400$)

表 1 IMP3 与乳腺癌临床病理特征的关系

临床病理参数	例数	IMP3		χ^2 值	P 值
		+	-		
年龄(岁)					
≤50	109	24	85	2.090	0.148
>50	80	11	69		
肿瘤大小(cm)					
≤2	90	20	70	1.247	0.264
>2	99	15	84		
组织学分级					
I	23	1	22	16.610	0.000
II	106	13	93		
III	60	21	39		
TNM 分期					
I	58	7	51	2.307	0.316
II	89	19	70		
III	42	9	33		
淋巴结转移					
无	101	19	82	0.012	0.911
有	88	16	72		
Ki-67 指数					
≤25	83	7	76	9.975	0.002
>25	106	28	78		
分子亚型					
腺腔 A 型	95	5	90	50.483	0.000
腺腔 B 型	30	3	27		
HER-2 过表达型	28	6	22		
基底细胞样型	36	21	15		

基底细胞样型中表达率分别为 5.3%、10.0%、21.4%及 58.3%。Her-2 过表达型的 IMP3 表达率高于腺腔 A 型,差异有统计学意义($P<0.05$)。基底细胞样型表达率高于腺腔 A 型、腺腔 B 型及 Her-2 过表达型,差异有统计学意义($P<0.001$)。见表 1。

2.3 生存率分析

按 IMP3 表达的不同将乳腺癌患者分为阳性组(+)和阴性组(-),Kaplan-Meier 生存分析绘出乳腺癌患者整体生存曲线(图 2),IMP3 阳性表达组平均生存时间为(51±4)个月,阴性表达组平均生存时间为(59±1)个月,Log-Rank 检验表明 IMP3 阳性表达者生存率显著低于阴性表达者 ($\chi^2=11.09, P=0.0009$)。

3 讨论

IMP3 基因于 1996 年首先在胰腺癌中被发现^[7],随后在 1999 年被分离成功^[8]。IMP3 与 IMP1、IMP2

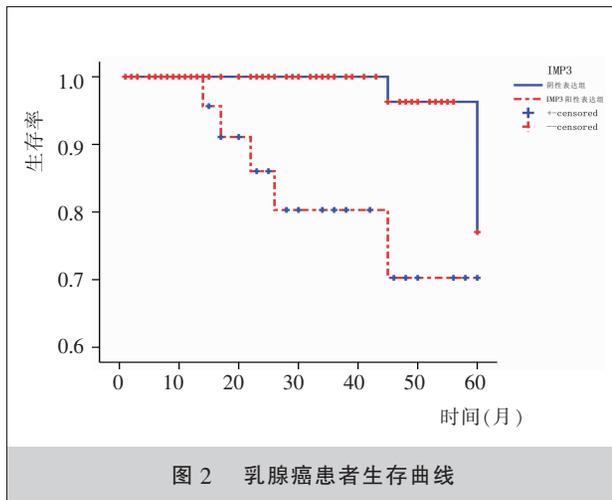


图 2 乳腺癌患者生存曲线

均是胰岛素样生长因子 II (IGF II)mRNA 结合蛋白家族的一员,1999 年首先从人类的横纹肌肉瘤细胞株中被分离出来。该家族成员在胚胎形成早期的 RNA 运输、稳定、细胞生长和迁移中起着重要作用。IGF II 的表达是间接通过 IMP3 蛋白和其他 IMP 家族成员蛋白调控的。IGF II 过表达与多个器官系统的肿瘤的发病机制有关,如 Beckwith-Wiedemann 综合征,也与转基因小鼠模型乳腺癌、肝癌以及在病毒性肝炎小鼠模型的肝细胞癌发展有关。因此,认为 IMP 家族成员蛋白通过稳定 IGF II mRNA 而与致癌作用有关。然而,IMP 家族成员蛋白结合并影响其他 mRNAs,这也可影响细胞的恶性潜能^[9]。Vikesaa 等^[10]研究表明,IMP 家族成员蛋白在肿瘤侵犯中起着非常重要的作用,它们通过调节其他黏附分子包括 CD24、CD44、细胞黏附分子 (ALCAM、SynCAM、MCAM)和基质金属蛋白酶 1 促进癌细胞黏附,形成树突状伪足,而出现侵犯作用。IMP3 在人和鼠胚胎形成过程中,可在发育中的上皮组织、肌肉和胎盘表达,但在成人组织,它的表达水平极低而难以检测^[8]。

Walter 等^[11]采用免疫组织化学方法检测 138 例乳腺癌患者肿瘤组织中 IMP3 的表达,发现 IMP3 表达与乳腺癌的组织学分级、有无坏死、是否为三阴性乳腺癌明显相关。IMP3 在高级别乳腺癌、三阴性乳腺癌中表达率高,认为 IMP3 可以作为三阴性乳腺癌的一种新的标志物。本研究中的 189 例乳腺癌病例,IMP3 的表达率为 18.5%,低于 Walter 等^[11]的 33%,可能与本研究中高级别的乳腺癌的比例低有关。多数研究表明^[2-4,11],IMP3 的高表达与肿瘤的增

殖和高侵袭性相关。本研究中,IMP3 表达与组织学分级、Ki-67 指数有关,组织学分级越高及 Ki-67 指数高者 IMP3 的表达越高,因组织学分级及 Ki-67 指数与预后有关,另外结果还表明 IMP3 阳性表达与生存曲线负相关,IMP3 阳性乳腺癌更容易局部复发与远处转移,提示 IMP3 阳性表达者预后不良。在不同的分子分型中,基底细胞样型即三阴性乳腺癌中 IMP3 表达率最高,与 Walter 等^[11]的研究结果一致,认为 IMP3 可作为三阴性乳腺癌的一种新的标志物。

基底细胞样型乳腺癌占全部乳腺癌的 10.0%~17.0%,常见于较为年轻的(<50 岁)绝经前妇女,以侵袭性的临床表现为特征,与其他类型相比,有着较差的总生存率和无病生存期^[12]。基底细胞样型乳腺癌对内分泌治疗和曲妥珠单抗的靶向治疗无效。本研究表明,该型乳腺癌高表达 IMP3 蛋白,提示它有可能成为基底细胞样型乳腺癌靶向治疗的一个新靶点。伴随乳腺癌的分子病理和基因分型的推广和应用,基底细胞样型乳腺癌越来越被关注,这类乳腺癌具有自身独特的临床病理和分子生物学特征,我们期待着这些临床研究能够为我们寻找更好的治疗方案,从而改善基底细胞样型乳腺癌患者的治疗疗效和预后。

参考文献:

- [1] Carey LA, Perou CM, Livasy CA, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the carolina breast cancer study [J]. *JAMA*, 2006, 295 (21): 2492-2502.
- [2] Sitnikova L, Mendese G, Liu Q, et al. IMP3 predicts aggressive superficial urothelial carcinoma of the bladder [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(6):1701-1706.
- [3] Jiang Z. Prognostic biomarkers in renal cell carcinoma [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2007, 7(3):293-307.
- [4] Zheng W, Yi X, Fadare O, et al. The oncofetal protein IMP3: a novel biomarker for endometrial serous carcinoma [J]. *Am J Surg Pathol*, 2008, 32(2):304-315.
- [5] Tavassoli FA, Devilee P. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of breast and female genital organs [M]. Lyon: IARC Press, 2003.10-23.
- [6] 《乳腺癌 HER2 检测指南 (2009 版)》编写组. 乳腺癌 HER2 检测指南 (2009 版)[J]. *中华病理学杂志*, 2009, 38 (12):836-840.
- [7] Nielsen J, Christiansen J, Lykke-Andersen J, et al. A family of insulin-like growth factor II mRNA-binding proteins represses translation in late development [J]. *Mol Cell Biol*, 1999, 19(2): 1262-1270.
- [8] Li C, Rock KL, Woda BA, et al. IMP3 is a novel biomarker for adenocarcinoma in situ of the uterine cervix: an immunohistochemical study in comparison with p16 (INK4a) expression [J]. *Mod Pathol*, 2007, 20(2):242-247.
- [9] Li HG, Han JJ, Huang ZQ, et al. IMP3 is a novel biomarker to predict metastasis and prognosis of tongue squamous cell carcinoma [J]. *J Craniofac Surg*, 2011, 22 (6): 2022-2025.
- [10] Vikesaa J, Hansen TV, Jonson L, et al. RNA-binding IMPs promote cell adhesion and invadopodia formation [J]. *Embo J*, 2006, 25(7):1456-1468.
- [11] Walter O, Prasad M, Lu S, et al. IMP3 is a novel biomarker for triple negative invasive mammary carcinoma associated with a more aggressive phenotype [J]. *Hum Pathol*, 2009, 40(11):1528-1533.
- [12] de Ruijter TC, Veeck J, de Hoon JP, et al. Characteristics of triple-negative breast cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137(2):183-192.