

雌激素受体 α 、 β 在非小细胞肺癌患者中的表达及其临床意义

Expressions of ER α and ER β in Non-small Cell Lung Cancer and Their Clinical Significance
YANG Qin, GAN Ya-ping, ZHANG Ming

杨 琴¹, 甘亚平¹, 张 明²

(1. 湖北科技学院基础医学院病理教研室, 湖北 咸宁 437100;

2. 烟台市烟台山医院, 山东 烟台 264001)

摘要: [目的] 探讨雌激素受体 α 、 β (ER α 、ER β) 在非小细胞肺癌 (NSCLC) 组织中的表达。[方法] 采用 MaxVision 免疫组织化学技术检测 133 例 NSCLC 石蜡包埋组织和 60 例正常肺组织中 ER α 、ER β 的表达。[结果] ① ER α 在正常肺组织和 NSCLC 组织中的阳性表达率分别为 15.0% 和 15.8%, 两者差异无统计学意义 ($P>0.05$); ER β 在正常肺组织和 NSCLC 组织中的阳性表达率分别为 65.0% 和 65.4%, 差异亦无统计学意义 ($P>0.05$); 但在正常肺组织和 NSCLC 组织中 ER β 表达均高于 ER α ($P<0.05$)。② ER α 和 ER β 表达呈负相关 ($P<0.05$)。[结论] 雌激素信号途径可能并未参与 NSCLC 发生发展过程, 两者没有必然联系。

关键词: 癌, 非小细胞肺; 雌激素受体; 免疫组化

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X (2013) 03-0206-04

肺癌作为一种常见的恶性肿瘤, 其发病率和死亡率在许多发达国家及我国京沪津等城市已跃居首位, 且有逐年上升趋势, 而非小细胞肺癌 (NSCLC) 约占 80%^[1]。自 1982 年 Chandhuri 在肺癌组织中发现存在雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 以来, 对于雌激素在 NSCLC 中是促癌还是抑癌作用说法不一, 有研究表明 ER 阳性肺癌患者较 ER 阴性患者预后好^[2], 证明雌激素通过 ER 信号途径有抑癌作用; 也有体外细胞系研究表明雌激素可促进 NSCLC 细胞增殖, 即促癌作用^[3,4]。目前认为 ER 有两种亚型, 即 ER α 与 ER β ^[5], 我们通过采用免疫组化法检测正常肺组织和 NSCLC 组织中 ER α 与 ER β 的表达, 在已有相关研究基础上探讨雌激素信号途径是否在 NSCLC 发生发展中起作用以及作用机制, 为临床上 NSCLC 的病理诊断、预后诊断以及是否能通过针对 ER 的靶向分子治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

本研究所用 133 例实验材料取自华中科技大学

同济医院病理科 2004 年 9 月至 2009 年 8 月手术切除的原发性 NSCLC 的新鲜组织标本, 经中性福尔马林固定, 石蜡包埋切片用作病理诊断及免疫组化染色, 临床资料通过病历记录获得, 其中男性 83 例, 女性 50 例, 年龄 35~70 岁。组织学分型: 鳞癌 85 例, 腺癌 48 例; 高分化 43 例, 中分化 56 例, 低分化 34 例; TNM 分期: I~II 期 69 例, III~IV 期 64 例; 有淋巴结转移 87 例, 无淋巴结转移 46 例; 肿瘤大小 < 3cm 62 例, ≥ 3 cm 71 例。所有入选病例均无慢性肝肾和内分泌疾患, 术前未行放疗或化疗, 术前 1 个月内未使用过激素类药物。

1.2 试剂、方法与步骤

免疫组化采用 MaxVision 法。一抗兔抗人 ER α 多克隆抗体购自武汉博士德公司, 一抗兔抗人 ER β 单克隆抗体购自 Abcam 公司。

切片常规脱蜡水化后, 3% H₂O₂ 灭活内源性过氧化物酶 10min。将切片浸入 0.01mol/L 枸橼酸盐缓冲液 (pH6.0) 90℃微波抗原修复, 加一抗 4℃过夜, 滴加即用型 MaxVision 试剂, 室温下孵育 15min; 滴加 DAB 液显色 3min, 苏木精复染, 梯度乙醇脱水干燥, 中性树胶封固, 光镜观察。

1.3 结果判定

ER α 在正常肺组织和 NSCLC 组织的表达主要

收稿日期: 2012-08-06; 修回日期: 2012-09-19

定位细胞浆中。ER β 在正常肺组织和 NSCLC 组织的表达主要定位于细胞核，部分见于细胞浆中。ER α 和 ER β 表达的判断：阳性染色为细胞内具有清晰可见和定位准确的棕黄色颗粒(Figure 1~4)。镜下观察阳性细胞的比例>20%为阳性，<20%为阴性。同时用乳腺癌标本作阳性对照，以 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.4 统计学处理

实验结果用 SPSS13.0 软件进行分析，两个样本率之间的差异用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ER α 和 ER β 在正常肺组织和 NSCLC 组织中的表达

ER α 和 ER β 在正常肺组织中阳性表达率分别为 15.0%和 65.0%；在 NSCLC 组织阳性表达率分别为 15.8%和 65.4%。NSCLC 组织和正常肺组织 ER α 和 ER β 表达差异无统计学意义 ($P>0.05$)(Table 1)。但是在正常肺组织和 NSCLC 组织中 ER β 表达均高于 ER α 表达($P<0.05$)。

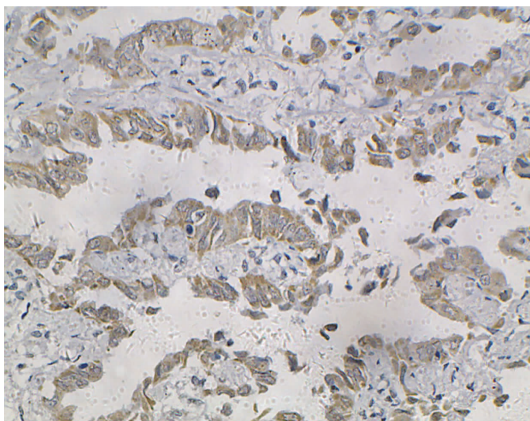


Figure 1 Positive expression of ER α in adenocarcinoma (SP×200)

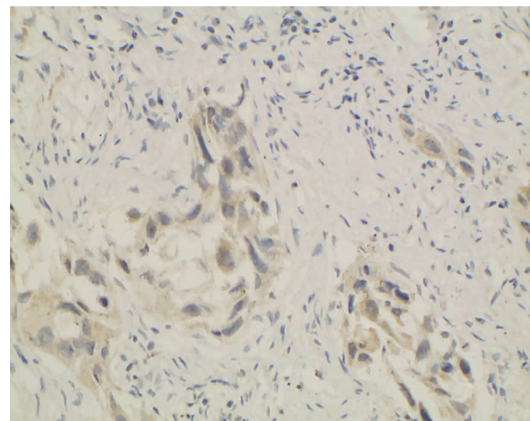


Figure 2 Positive expression of ER α in squamous cell carcinoma (SP×200)

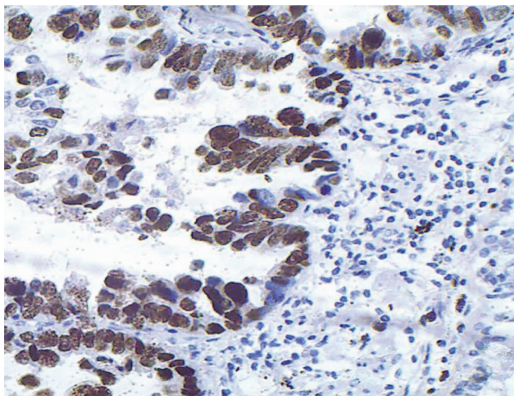


Figure 3 Positive expression of ER β in adenocarcinoma (SP×200)

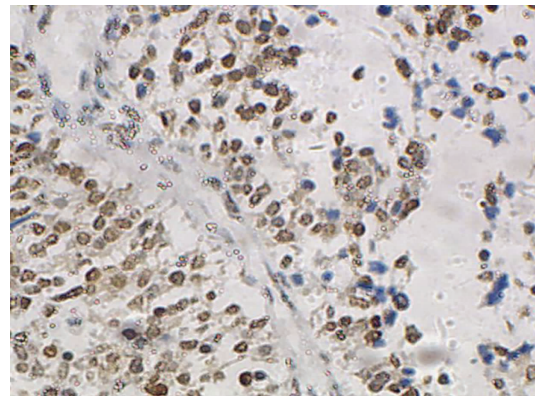


Figure 4 Positive expression of ER β in squamous cell carcinoma (SP×200)

Table 1 Expressions of ER α and ER β in NSCLC and normal lung tissues

Lung tissues	ER α				ER β			
	+	-	χ^2	P	+	-	χ^2	P
Normal	9	51	0.0196	0.889	39	21	0.0031	0.955
NSCLC	21	112			87	46		

2.2 ERβ 在 NSCLC 中的表达及其与临床病理特征之间的关系

ERβ 蛋白表达在 NSCLC 患者不同年龄、性别、TNM 分期、吸烟与否、肿瘤病理类型、分化程度、肿瘤大小和是否淋巴结转移中差异均无统计学意义 ($P>0.05$)(Table 2)。

Table 2 Relationship between expression of ERβ and clinicopathologic features					
Parameters	n	ERβ		χ^2	P
		-	+		
Gender					
Male	83	28	55	0.0708	0.790
Female	50	18	32		
Age(years)					
<56	71	24	47	0.0413	0.839
≥56	62	22	40		
Histologic type					
Squamous cell carcinoma	85	34	51	3.0508	0.081
Adenocarcinoma	48	12	36		
Differentiation degree					
Well differentiation	43	18	34	0.0136	0.993
Moderate differentiation	56	16	31		
Poor differentiation	34	12	22		
Smoking history					
Yes	92	31	61	0.1047	0.746
No	41	15	26		
Size of tumor(cm)					
<3	62	22	40	0.0413	0.839
≥3	71	24	47		
TNM Staging					
I ~ II	69	24	45	0.0024	0.961
III ~ IV	64	22	42		
Lymph node metastasis					
Yes	87	29	58	0.1746	0.676
No	46	17	29		

2.3 ERα 和 ERβ 表达的相关性分析

133 例 NSCLC 切片中 ERα 阳性表达者 21 例, ERβ 阳性表达 87 例, ERα 阴性表达者 112 例, ERβ 阴性表达者 46 例,两者同时表达者为 9 例,均不表达者 34 例。二者呈负相关($t=-0.516, P<0.05$)(Table 3)。

Table 3 Correlation between expression of ERα and ERβ				
	ERα(+)	ERα(-)	χ^2	P
ERβ(+)	9	78	48.4	0.018
ERβ(-)	12	34		

3 讨论

尽管肺脏不是雌激素作用的经典靶器官,但是近年来有不少研究表明女性发生肺腺癌的概率是男性的 2.5 倍^[5]。因此有人认为是雌激素参与了女性肺腺癌的发生发展过程,提出内分泌治疗肺腺癌的设想^[6,7]。在经典的 ER(现命名为 ERα)被克隆后 10 年,第 2 种 ER 即 ERβ 相继在啮齿动物和人类组织中被发现^[5];ERα 和 ERβ 为 ER 的两种不同亚型,ERα 和 ERβ 的氨基酸序列均含 6 个功能区,依次分别命名为 A~F,包括 3 个主要功能域:即 N 末端区、DNA 结合区和 C 末端区。ERα 与 ERβ 在 DNA 结合区(C 区)的同源性高达 96%,在配体结合域(E 区)的同源性为 58%,在氨基末端(A/B 区,铰链区 D 区及 F 区)差异显著。ERα 基因位于染色体 6q24 区段,而 ERβ 基因则位于 14q22~24 区段,两者均为甾体激素核受体家族配体依赖性反式转录调节蛋白,具有相似的受体结合活性和相同的激素应答元件,但在各组织中的分布和配体结合能力却不尽相同,在中枢神经系统、心血管系统、免疫系统、泌尿生殖系统、胃肠道、肾及肺等性激素作用的非经典靶器官都可检测到 ERβ 表达,虽然 ERβ 在乳腺组织也有表达,但在乳腺组织、子宫等性激素作用的经典靶器官中以 ERα 的表达更为显著和重要^[8]。我们的免疫组化结果显示,NSCLC 及正常肺组织细胞均有 ERα 和 ERβ 的表达,ERα 主要定位于细胞质,ERβ 主要定位于细胞核,部分位于胞浆内^[9]。与其他研究结果基本相符合,无论是在正常肺组织还是在 NSCLC 组织中,ERβ 的表达都高于 ERα 的表达。两种 ER 亚型均可通过两种方式介导基因转录:①通过经典的雌激素反应元件(ERE)进行信号传递,此时二者都可各自激活相应的雌激素信号途径促进转录^[5]。②通过 API 增强子元件进行信号传递。此种方式介导基因转录时,ERα 和 ERβ 蛋白的表达二者则呈拮抗作用,因此二者的表达往往不会同时进行而呈负相关。

然而,与前人研究不符的是,无论是 ERα 还是 ERβ,在正常肺组织和 NSCLC 中的表达并无显著差异 ($P>0.05$),亦与 NSCLC 的发生发展、临床表现、性别、年龄、吸烟史、雌激素浓度或病理组织类型和预后均无显著相关 ($P>0.05$),提示雌激素信号途径可

能并未参与 NSCLC 发生发展过程,两者没有必然联系,因此 ER 两种亚型的表达能否作为 NSCLC 的预测因子和针对雌激素信号途径的靶向治疗还缺乏一定的理论依据。或者说,目前对肺癌组织中 ER 的阳性表达机制尚不十分明确,推测可能是肿瘤细胞在癌变过程中启动了雌激素受体蛋白的合成基因,使其阳性表达,此时肺癌组织的生长可能需要雌激素环境的维持,因此内分泌治疗可能有效;而对于雌激素受体蛋白表达阴性的 NSCLC 患者,内分泌靶向治疗尚缺乏依据。

参考文献:

- [1] Shao DH, Wang XW. Expression and their clinical significance of ER α and ER β in non-small cell lung cancer[J]. China Practical Medical, 2010, 5(7):13-14.[邵东晖,王秀问. 雌激素受体在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J]. 中国实用医药, 2010, 5(7):13-14.]
- [2] Márquez-Garbán DC, Chen HW, Goodglick L, et al. Targeting aromatase and estrogen signaling in human non-small cell lung cancer[J]. Ann N Y Acad Sci, 2009, 1155:194-205.
- [3] Wang RJ, Zhang JZ, Wang P. Expression of ER and EGFR in non-small cell lung cancer and its significance[J]. Journal of Chinese Oncology, 2010, 16(8):620-623.[王瑞娟, 张建中, 王萍. ER 与 EGFR 在非小细胞肺癌组织

中的表达及其意义[J]. 肿瘤学杂志, 2010, 16(8):620-623.]

- [4] Yuan Y, Shu YQ. Antiproliferative effects on non-small cell lung cancer cells by combining Tamoxifen and Gefitinib[J]. Acta Universitatis Medicinalis Nanjing, 2008, 28(4):467-471.[袁渊, 束永前. 联合应用三苯氧胺和吉非替尼对 NSCLC 细胞的抗增殖效应[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2008, 28(4):467-471.]
- [5] Shao DH, Wang XW. Roles of estrogen receptor-alpha and beta in non-small cell lung cancer [J]. Chinese Journal of Cancer Biotherapy, 2010, 17(2):237-241.[邵东晖, 王秀问. ER α 和 ER β 在非小细胞肺癌中作用的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2010, 17(2):237-241.]
- [6] de Perrot M, Licker M, Bouchardy C, et al. Sex differences in presentation, management, and prognosis of patients with non-small cell lung carcinoma[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2000, 119(1): 21-26.
- [7] Stabile LP, Davis AL, Gubish CT, et al. Human non-small cell lung tumors and cells derived from normal lung express both estrogen receptor alpha and beta and show biological responses to estrogen [J]. Cancer Res, 2002, 62(7): 2141-2150.
- [8] Sica G, Wagner PL, Altorki N, et al. Immunohistochemical expression of estrogen and progesterone receptors in primary pulmonary neuroendocrine tumors[J]. Arch Pathol Lab Med, 2008, 132(12): 1889-1895.
- [9] Ivanova MM, Mazhawidza W, Dougherty SM, et al. Activity and intracellular location of estrogen receptors alpha and beta in human bronchial epithelial cells [J]. Mol Cell Endocrinol, 2009, 305(1-2): 12-21.

2013 华东胸部肿瘤论坛第一轮通知及征文启事

2013 华东胸部肿瘤论坛将于 2013 年 6 月 28~30 日在杭州召开,由浙江省肿瘤医院、浙江省胸部肿瘤诊治技术研究重点实验室、浙江省癌症中心胸部肿瘤研究指导中心、浙江省抗癌协会主办,浙江省肿瘤诊治质控中心、浙江省肿瘤防治办公室、肿瘤学杂志社协办。

论坛主题为“规范治疗 区域合作”,将邀请国内外著名胸部肿瘤专家作前沿性的大会报告,传递今年上半年的国际研究成果和创新技术;作为庆祝浙江省肿瘤医院建院 50 周年系列学术活动,还将展示浙江省肿瘤医院 50 年的学术积淀。同时将开展专题病例讨论,由学员提供案例,嘉宾现场解答、点评,并对所讨论病例进行评比、颁奖。

本次大会将介绍胸部肿瘤(肺、食管、乳腺等)领域的新进展、新技术,总结和交流临床诊断与治疗中存在的问题,重点探讨胸部肿瘤辅助治疗的规范化,以及胸部肿瘤的基础研究、诊断学探索、手术技巧和靶向治疗等热点问题。对全程参会者将按规定授予国家级 I 类继续教育 8 学分【2013-04-08-072(国)】。

征文内容:1)胸部肿瘤诊断与治疗的临床总结与评价;2)胸部肿瘤相关基础、转化性研究;3)胸部肿瘤流行病学、预防研究及筛查、实验室检查新技术;4)胸部肿瘤临床、康复护理、随访管理等。欢迎胸部肿瘤领域的临床医师、预防和科研工作者、研究生、护理人员踊跃报名和投稿。

征文要求:1)胸部肿瘤专业相关学术论文均可投稿,务请注重科学性、先进性和实用性,要求文字精炼、数据可靠。2)投稿一律通过电子邮件提交,文稿以附件形式发送至 hdxzbllt@163.com,提交全文的同时必须有 500~800 字以内的中文摘要。主页上请注明第一作者的姓名、单位、科室、地址、邮编、联系电话、手机号码等,邮件主题请标注“华东胸部肿瘤论坛投稿”。3)所有投稿论文均将编入大会论文集,大会学术委员会将组织专家对论文进行同行评议,择优组织专题报道,刊登于《中国肿瘤》和《肿瘤学杂志》。4)截稿日期为 2013 年 5 月 20 日,请作者自留底稿。