

AR在不同ER状态乳腺癌中的表达及临床病理意义*

张 静 牛 昀 于 琦 肖绪祺 王亚红 刘子瑜

摘要 目的:探讨雄激素受体(AR)在不同雌激素受体(ER)状态乳腺癌中的表达与临床病理特征间的关系及预后。方法:从乳腺浸润性导管癌ER阳性和阴性病例中分别随机选取111例(ER+组)与113例(ER-组),共计224例。采用免疫组化方法检测AR、ER、PR、HER-2、Ki-67、P53表达,对不同ER状态乳腺癌中AR表达与临床病理资料及预后因素进行分析。结果:AR在浸润性导管癌中的阳性表达率为67.9%(152/224),ER+组和ER-组分别为80.2%(89/111)、55.8%(63/113)。ER+组中AR的表达与肿瘤大小、组织学分级、pTNM分期和有无淋巴结转移相关($P<0.05$);在ER-组中AR的表达与组织学分级、HER-2表达、绝经状态相关($P<0.05$)。单因素生存分析显示在ER+组和ER-组AR阳性者均具有较好的预后($P<0.001$, $P=0.046$),Cox多因素回归分析显示在ER+组AR表达可作为影响无瘤生存的独立因素。结论:AR可以作为指导临床内分泌治疗新的靶标,为不同ER状态乳腺癌激素治疗提供依据。

关键词 乳腺浸润性导管癌 雄激素受体 雌激素受体 临床病理特征 靶标

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2012.03.003

Expression and Clinicopathologic Significance of AR in Breast Cancer with Different ER Status

Jing ZHANG, Yun NIU, Qi YU, Xu-qi XIAO, Ya-hong WANG, Zi-yu LIU
Correspondence to: Yun NIU, E-mail: yunniu2000@126.com
Department of Breast Cancer Pathology and Research Laboratory, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 300060, China
Key Laboratory of Breast Cancer Prevention and Therapy, Ministry of Education, Tianjin 300070, China
Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin 300060, China
This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81172532), the Funds of Scientific Development (No.09JCYBJC10100) of Tianjin Science and Technology Committee, Program for Chang-jiang Scholars, and Innovative Research Team in University (No.TRT0743)

Abstract Objective: To investigate the correlation between the expression of androgen receptor (AR) and the clinicopathologic characteristics and prognosis of the breast invasive ductal carcinoma (IDC) of various estrogen receptor (ER) statuses. **Methods:** From January to December 2004, 111 cases from ER+ cases and 113 cases from ER- cases were randomly allocated into two IDC groups: ER+ group and ER- group. The protein expression of AR, ER, PR, HER-2, Ki-67, and P53 from the 224 IDC cases were assayed using immunohistochemistry. The current study focused on the assessment of protein expressions in the groups (ER+/AR+, ER+/AR-, ER-/AR+, and ER-/AR-) and their main characteristics. The prognostic differences in the cases of different AR and ER status were also evaluated. **Results:** The positive rate of AR was 67.9% (152/224), and the rate of AR expression was 80.2% (89/111) and 55.8% (63/113) in the ER-positive and ER-negative cases, respectively. The AR expression in the ER-positive tumors was associated with tumor size, histological grade, pTNM, and endocrine therapy ($P < 0.05$). The AR expression in the ER-negative tumors was associated with the histological grade of the tumor, HER2 over-expression, and postmenopausal status ($P < 0.05$). The univariate analysis showed that the patients with AR-positive tumors in the ER+ and ER- groups had significantly better disease-free survival than those with AR-negative tumors ($P < 0.001$, $P = 0.046$). The Cox regression analysis revealed that AR expression is an independent prognostic factor in the ER+ group. **Conclusion:** AR is expressed in a great number of breast cancers of various ER status and it shows significant correlation with clinical hormone therapy and pathologic prognostic factors. Especially, AR plays a potential role in the clinical management of women patients with ER-negative breast cancer.

Keywords Invasive ductal carcinoma; Androgen receptor; Estrogen receptor; Clinicopathologic characteristics; Target

作者单位:天津医科大学附属肿瘤医院乳腺病理研究室,乳腺癌防治教育部重点实验室,天津市肿瘤防治重点实验室(天津市300060)
*本文课题受国家自然科学基金项目(编号:81172532)、教育部长江学者和创新团队发展计划项目(编号:IRT0743)和天津市应用基础及前沿技术研究计划项目(编号:09JCYBJC10100)资助
通信作者:牛昀 yunniu2000@126.com

乳腺癌是一种激素依赖性肿瘤,乳腺癌患者雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)水平的检测已成为临床常规检测项目,而雄激素、雄激素受体(androgen receptor, AR)在乳腺癌生物学中的作用仍然是临床和基础研究中一个被忽略的领域^[1]。近年来有研究报告AR常可和ER在乳腺癌中共表达,而且AR也可存在于通常被认为对性激素不敏感的ER阴性乳腺癌中^[2-3]。对AR阳性乳腺癌,尤其是对ER阴性AR阳性的乳腺癌是否也可采取针对性的内分泌治疗是一个值得关注的重要问题。本研究回顾分析了224例乳腺癌临床病理资料,分析AR蛋白在不同雌激素受体状态乳腺癌中的表达特点及其预后意义。

1 材料与方法

1.1 临床病例资料

取自天津医科大学附属肿瘤医院乳腺病理研究室2004年1月至12月间经病理证实的乳腺浸润性导管癌(invasive ductal carcinoma, IDC)224例,均为女性,中位年龄49(37~79)岁。从ER阳性病例中随机选取111例(ER+组),从ER阴性病例中随机选取113例(ER-组)。组织学分级:I级21例,II级148例,III级55例;pTNM分期:I期56例,II期127例,III+IV期41例;肿物最大直径 ≤ 2 cm 92例,2~5 cm 113例,>5 cm 19例;绝经前108例,绝经后116例;腋窝淋巴结转移107例,无转移117例。根据本研究中AR检测的表达情况将ER+组分为ER+/AR+和ER+/AR-两个亚组,将ER-组分为ER-/AR+和ER-/AR-两个亚组。符合伦理委员会认可。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化染色 采用免疫组化链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶(SP)法。鼠抗人AR、ER、PR、HER-2、Ki-67、P53单克隆抗体,即用型SP免疫组化染色试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术公司。用已知阳性切片作阳性对照,PBS代替一抗作为阴性对照。

1.2.2 结果判定 乳腺癌组织切片经免疫组化染色后,AR、ER、PR呈深棕色颗粒,位于细胞核,HER-2呈完整的胞膜着色。AR、ER、PR阳性细胞 $\geq 1\%$ 为阳性^[4];Ki-67、P53阳性细胞 $\geq 10\%$ 为阳性;HER-2阳性判定标准为切片中>30%浸润性肿瘤细胞呈完整的胞膜着色(图1)。

1.2.3 随访 全部病例随访日期截至2010年4月。随访时间以月为单位,患者的生存状态通过查阅病历、电话和信访方式获得。无瘤生存时间为手术日

期至首次局部复发或远处转移确诊日期。

1.3 统计学方法

采用SPSS 13.0统计软件包进行统计分析。采用 χ^2 检验进行各组间AR蛋白表达情况的比较。用Kaplan-Meier方法绘制生存曲线,生存时间的比较应用Log-rank检验,多因素预后分析采用Cox风险比例模型, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AR蛋白表达与各临床病理特征的关系

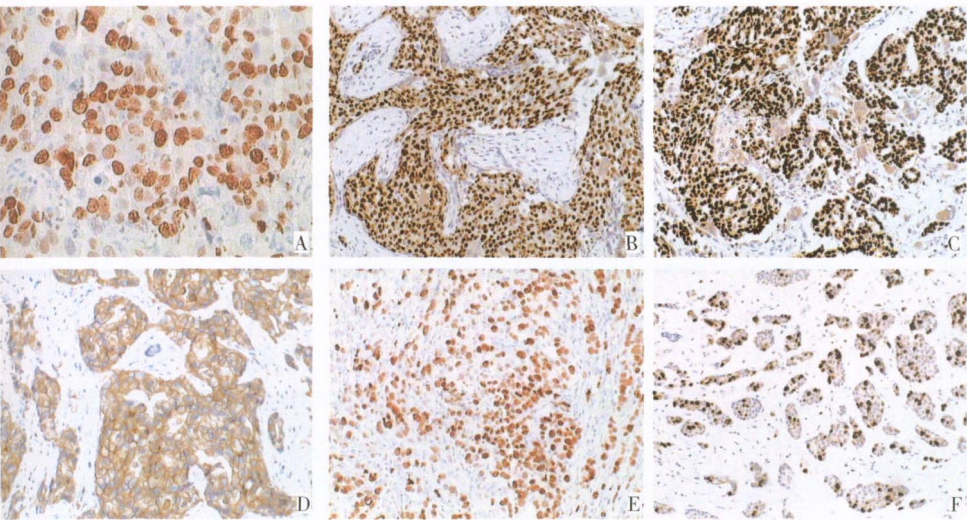
224例乳腺癌中,AR阳性152例(67.9%)。AR表达与ER表达、肿瘤大小、组织学分级、pTNM分期、接受内分泌治疗情况相关($P<0.05$),而与HER-2、Ki-67、P53、年龄、淋巴结转移无相关性($P>0.05$)。虽然AR表达与绝经状态差异无统计学意义($P>0.05$),但是在绝经后乳腺癌病例中,AR的表达率(73.3%)高于绝经前病例(62.0%)(表1)。

2.2 不同ER状态乳腺癌中AR与临床病理特征的关系

ER+组111例中AR阳性89例(80.2%),ER-组113例中AR阳性63例(55.8%)。在ER+组,AR表达与肿瘤大小($P=0.015$)、组织学分级($P=0.033$)、pTNM分期($P=0.002$)、有无淋巴结转移($P=0.001$)、接受内分泌治疗情况($P=0.007$)相关,与其他临床病理特征无关($P>0.05$)。在ER-组,AR+表达者组织学分级较低($P=0.039$),其中组织学II级者所占比例较高;AR表达与HER-2表达($P=0.039$)和绝经状态($P=0.016$)相关。虽然AR表达与Ki-67表达差异无统计学意义($P=0.157$),但在Ki-67高表达者中AR的阳性表达率较低(表2)。

2.3 预后分析

全组病例随访时间7~76个月,中位随访60个月,其中无瘤生存者177例(79.0%),局部复发11例(4.9%),远处转移21例(9.4%),死亡15例(6.7%)。乳腺癌AR阳性者无瘤生存率高于AR阴性者($P<0.001$,图2)。在ER+组和ER-组,AR阳性也显示出较好的预后($P<0.001$, $P=0.046$,图3,4)。在ER+/AR+的89例患者中,无瘤生存80例(89.9%),局部复发3例(3.4%),远处转移2例(2.2%),死亡4例(4.5%);在ER-/AR+的63例患者中,无瘤生存57例(90.5%),局部复发3例(4.8%),远处转移3例(4.8%),无死亡病例。对224例患者和ER+组患者分别进行Cox多因素分析,结果显示AR状态是影响无瘤生存的独立因素(95%CI 0.040~0.054, $P=0.003$; 95%CI 0.030~0.512, $P=0.004$)。



► A: AR 表达(SP × 200) ; B: ER 表达 (SP × 100) ; C: PR 表达 (SP × 100) ; D: HER-2 表达 (SP × 200) ; E: Ki-67 表达 (SP × 100) ; F: P53 表达 (SP × 100)

图1 乳腺浸润性导管癌
Figure 1 Infiltrating ductal carcinoma

表1 AR表达与患者临床病理特征之间的关系
Table 1 Relationship between the AR expression and clinical features

临床病理特征		例数	AR		χ^2	P
			阳性例数	阴性例数		
ER	阳性	111	89(80.2)	22(19.8)	15.320	*
	阴性	113	63(55.8)	50(44.2)		
HER-2	阳性	62	41(66.1)	21(33.9)	0.117	0.732
	阴性	162	111(68.5)	51(31.5)		
Ki-67	阳性	183	120(65.6)	63(34.4)	2.390	0.122
	阴性	41	32(78.0)	9(22.0)		
P53	阳性	57	37(64.9)	20(35.1)	0.304	0.581
	阴性	167	115(68.9)	52(31.1)		
组织学分级	I	21	16(76.2)	5(23.8)	14.191	0.001
	II	148	110(74.3)	38(25.7)		
	III	55	26(47.3)	29(52.7)		
pTNM分期	I	56	45(80.4)	11(19.6)	10.877	0.004
	II	127	87(68.5)	40(31.5)		
	III+IV	41	20(48.8)	21(51.2)		
淋巴结转移	阴性	117	86(73.5)	31(26.5)	3.581	0.058
	阳性	107	66(61.7)	41(38.3)		
肿瘤大小/cm	≤2	92	68(73.9)	24(26.1)	9.931	0.007
	2~5	113	77(68.1)	36(31.9)		
	>5	19	7(36.8)	12(63.2)		
绝经状态	绝经前	108	67(62.0)	41(38.0)	3.239	0.072
	绝经后	116	85(73.3)	31(26.7)		
内分泌治疗	未接受	122	68(55.7)	54(44.3)	18.042	*
	接受	102	84(82.4)	18(17.6)		

*P<0.001;()内为%

表2 不同ER状态乳腺癌中AR与临床病理特征的关系
Table 2 Relationship between the AR expression and the clinical features of breast cancer with different ER status

临床病理特征	113例ER-组			111例ER+组		
	50例AR-	63例AR+	P	22例AR-	89例AR+	P
年龄/岁	<50	27(51.9)	0.129	8(16.3)	41(83.7)	0.412
	≥50	23(37.7)		14(22.6)	48(77.4)	

(续表2)

临床病理特征		113例ER-组			111例ER+组		
		50例AR-	63例AR+	P	22例AR-	89例AR+	P
绝经状态	绝经前	32(55.2)	26(44.8)	0.016	9(18.0)	41(82.0)	0.663
	绝经后	18(32.7)	37(67.3)		13(21.3)	48(78.7)	
内分泌治疗	接受	4(40.0)	6(60.0)	0.207	14(15.2)	78(84.8)	0.007
	未接受	46(44.7)	57(55.3)		8(42.1)	11(57.9)	
肿瘤大小/cm	≤2	18(38.3)	29(61.7)	0.186	6(13.3)	39(86.7)	0.015
	2~5	25(44.6)	31(55.4)		11(19.3)	46(80.7)	
	>5	7(70.0)	3(30.0)		5(55.6)	4(44.4)	
组织学分级	I	3(50.0)	3(50.0)	0.039	2(13.3)	13(86.7)	0.033
	II	27(36.0)	48(64.0)		11(15.1)	62(84.9)	
	III	20(62.5)	12(37.5)		9(39.1)	14(60.9)	
pTNM分期	I	10(33.3)	20(66.7)	0.236	1(3.8)	25(96.2)	0.002
	II	28(45.2)	34(54.8)		12(18.5)	53(81.5)	
	III+IV	12(57.1)	9(42.9)		9(45.0)	11(55.0)	
淋巴结转移	阳性	23(46.0)	27(54.0)	0.738	18(31.6)	39(68.4)	0.001
	阴性	27(42.9)	36(57.1)		4(7.4)	50(92.6)	
HER-2	阳性	15(32.6)	31(67.4)	0.039	6(37.5)	10(62.5)	0.055
	阴性	35(52.2)	32(47.8)		16(16.8)	79(83.2)	
Ki-67	阳性	44(47.3)	49(52.7)	0.157	19(21.1)	71(78.9)	0.480
	阴性	6(30.0)	14(70.0)		3(14.3)	18(85.7)	
P53	阳性	14(45.2)	17(54.8)	0.904	6(23.1)	20(76.9)	0.634
	阴性	36(43.9)	46(56.1)		16(18.8)	69(81.2)	

()内为%

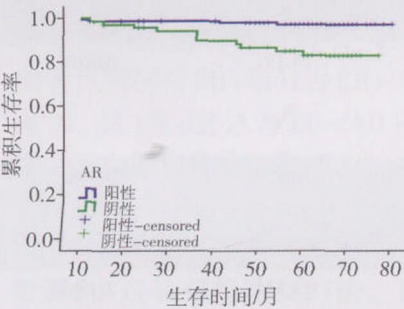


图2 224例乳腺癌患者AR表达的无瘤生存曲线
Figure 2 Disease-free survival curves of 224 patients with IDC of the breast

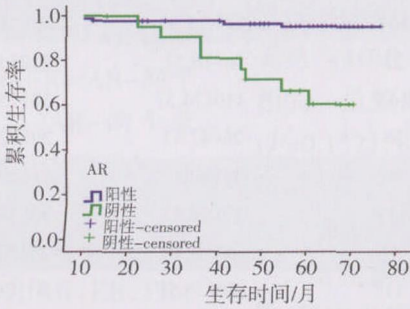


图3 不同AR表达的ER阳性病例无瘤生存曲线
Figure 3 Disease-free survival curves of patients with ER+ tumors stratified according to AR

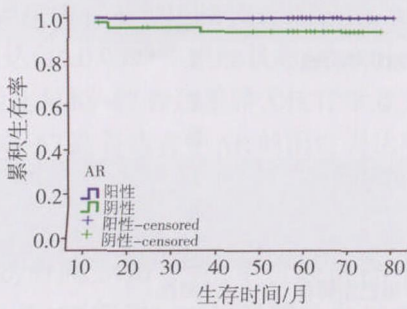


图4 不同AR表达的ER阴性病例无瘤生存曲线
Figure 4 Disease-free survival curves of patients with ER- tumors stratified according to AR

3 讨论

近年来研究显示,AR的阳性检出率为66%~80%,AR可通过生长因子MAPK-ER/PR信号通路参与乳腺的发育,并调节乳腺癌细胞的增殖⁵。本研究显示AR阳性表达率为67.9%(152/224),在ER+组中为80.2%(89/111);AR阳性表达者肿物体积小,组织学分级及分期低,细胞增殖活性差。Cox多因素分析显示在全组和ER+组病例中,AR表达是影响无瘤生存的独立因素。以上结果提示雄激素通过雄激素受体途径可以抑制乳腺癌细胞的生长,对乳腺癌的发

生有保护作用。雄激素对乳腺癌细胞的抑制作用不仅是通过雌激素水平及作用的下降,Mecedo等⁶研究发现雄激素可以通过AR直接抑制肿瘤细胞的生长。AR在不同激素状态的乳腺癌中所起的作用是不同的,雄激素一方面能直接与雌激素协同刺激乳腺癌细胞的生长和增生,另一方面也可通过间接地转化为雌激素的途径而发挥其作用。Peters等⁷在乳腺癌细胞系研究中发现AR可通过抑制ER-α信号通路降低ER-α的活性起到抑制乳腺上皮细胞增殖的作用,而且在ER阳性乳腺癌细胞系中是一个独立的

预后因子。

众所周知,HER-2在乳腺癌生物学行为和临床病理方面是一个重要的预测和预后因素,其在20%~30%的浸润性乳腺癌中过表达^[8]。目前,对于AR和HER-2之间是否相关有着不同的结论,有研究认为二者之间无相关性^[9],而Micello等^[10]发现在ER/PR阴性,组织学分级Ⅲ级的病例中HER-2表达与AR明显相关($P<0.005$)。本实验结果也进一步证实了以上的观点,在ER阴性乳腺癌中AR表达与HER-2相关($P=0.039$),提示AR与HER-2在ER阴性乳腺癌的发病机理和临床治疗方面有重要意义,HER-2可以调控AR的转录活性。在前列腺癌细胞系中已证实HER-2是通过MAP激酶途径诱导AR转录活化,在HER-2过表达的情况下,抗雄激素治疗不能抑制AR的表达^[11]。AR与HER-2之间是否相关,还是两条途径相互影响,其作用有待进一步研究。

内分泌治疗与肿瘤细胞的分化及激素受体状况有关。激素受体状况是在选择治疗方案时推荐使用的不可或缺的重要分子生物学标记物。雄激素是绝经后女性乳腺癌发病的高发因素,雄激素大多通过雄激素受体发挥作用。ER阳性者内分泌治疗敏感性高于阴性者,ER水平越高,内分泌治疗效果越明显,目前在临床应用中,对于ER阳性者主要采用三苯氧胺或芳香化酶抑制剂进行内分泌治疗,但仍有30%~40%的患者无效^[12]。本实验显示在绝经后的病例中,AR阳性表达率(73.3%),ER阴性组AR表达与绝经状态相关。AR的表达与乳腺癌预后之间的关系依赖于ER的表达状态,可以作为绝经后乳腺癌预后和治疗的新靶标^[13]。

激素治疗是乳腺癌术后主要的治疗方式,部分ER阳性的乳腺癌病例用内分泌治疗无效,而部分ER阴性的乳腺癌病例用内分泌治疗仍有效^[14]。本研究发现ER阴性患者中,AR表达与组织学分级较低、Ki-67细胞增殖活性低、无瘤生存相关。Toth-Feiel等^[15]发现DHEAS可通过细胞凋亡途径对ER/PR阴性细胞系产生细胞毒性从而抑制细胞生长。Hardin等^[15]报告了硫酸脱氢表雄酮可通过AR途径抑制ER-/AR+乳腺癌细胞增殖,DHEA可与芳香酶抑制剂配伍用于治疗ER-/AR+的乳腺癌。以上结果提示ER阴性乳腺癌对雄激素刺激有应答,研究者通过实验为ER阴性乳腺癌的激素疗法提供了一个新的思路。因此在ER阴性乳腺癌中AR蛋白可作为新的靶标用于指导临床内分泌治疗。

总之,在不同激素状态乳腺癌中检测AR表达可作为有意义的指标来估测预后,为选择性指导临床内分泌治疗和个体化治疗提供理论依据。除了ER、

PR、HER-2在乳腺癌中表达,AR蛋白也应成为乳腺癌常规检测项目之一,在ER阴性乳腺癌发病机理和个体化激素治疗的研究中具有较为重要的价值。

参考文献

- 1 Moe RE, Anderson BO. Androgens and androgen receptors: a clinically neglected sector in breast cancer biology[J]. *Surg Oncol*, 2007, 95(6): 437-439.
- 2 Moinfar F, Okcu M, Tsybrovskyy O, et al. Androgen receptors frequently are expressed in breast carcinomas: Potential relevance to new therapeutic strategies[J]. *Cancer*, 2003, 98(4): 703-711.
- 3 Nahleh Z. Androgen receptor as a target for the treatment of hormone receptor-negative breast cancer: an uncharted territory[J]. *Future Oncol*, 2008, 4(1): 15-21.
- 4 Castellano I, Allia E, Accortanzo V, et al. Androgen receptor expression is a significant prognostic factor in estrogen receptor positive breast cancers[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 124(3): 607-617.
- 5 Hardin C, Pommier R, Calhoun K, et al. A new hormonal therapy for estrogen receptor-negative breast cancer[J]. *World J Surg*, 2007, 31(5): 1041-1046.
- 6 Macedo LF, Guo Z, Tilghman SL, et al. Role of androgens on MCF-7 breast cancer cell growth and on the inhibitory effect of letrozole[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(15): 7775-7782.
- 7 Peters AA, Buchanan G, Ricciardelli C, et al. Androgen receptor inhibits estrogen receptor- α activity and is prognostic in breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(15): 6131-6140.
- 8 Agrawal AK, Jeleń M, Grzebieniak Z, et al. Androgen receptors as a prognostic and predictive factor in breast cancer[J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2008, 46(3): 269-276.
- 9 Narita D, Raica M, Suciuc C, et al. Immunohistochemical expression of androgen receptor and prostate-specific breast cancer[J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2006, 44(3): 165-172.
- 10 Micello D, Marando A, Sahnane N, et al. Androgen receptor is frequently expressed in HER2-positive, ER/PR-negative breast cancers[J]. *Virchows Arch*, 2010, 457(4): 467-476.
- 11 Liu Y, Majumder S, McCall W, et al. Inhibition of HER-2/neu kinase impairs androgen responsive enhancer[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(8): 3404-3409.
- 12 Gnant M, Mlineritsch B, Schipfinger W, et al. Endocrine therapy plus zoledronic acid in premenopausal breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(7): 679-691.
- 13 Hu R, Dawood S, Holmes MD, et al. Androgen receptor expression and breast cancer survival in postmenopausal women[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(7): 1867-1874.
- 14 Garreau JR, Muller P, Pommier R, et al. Transgenic introduction of androgen receptor into estrogen-receptor-, progesterone-receptor-, and androgen-receptor-negative breast cancer cells renders them responsive to hormonal manipulation[J]. *Am J Surg*, 2006, 191(5): 576-580.
- 15 Toth-Feiel S, Cheek J, Calhoun K, et al. Estrogen and androgen receptors as comediators of breast cancer cell proliferation: providing a new therapeutic tool[J]. *Arch Surg*, 2004, 139(1): 50-54.

(2011-11-15收稿)(2011-12-23修回)

(邢颖校对)