·论 著·

细胞因子信号转导抑制因子 2 在乳腺癌中的表达

朱玉兆[1],张 琼[2],王 洋[1],郑唯强[1*]
(1.第二军医大学长海医院病理科,上海 200433;2.安徽省蚌埠医学院病理学教研室,蚌埠 233030)

[摘要] **目的**:检测细胞因子信号转导抑制因子 2(supressors of cytokine signaling 2,SOCS2)蛋白在乳腺组织中的表达,探讨 SOCS2 的表达与乳腺癌临床病理资料之间的关系。**方法**:构建乳腺癌、癌旁组织及良性病变组织微阵列(tissue microarray);用免疫组织化学 S-P 法检测 171 例乳腺癌、18 例癌旁乳腺组织、20 例乳腺良性病变 SOCS2、ER、PR、cerbB2、p53 和 Ki-67 的表达。**结果**:乳腺癌中 SOCS2 阳性率为 57.89%(99/171),癌旁乳腺组织为 94.44%(17/18),乳腺良性病变为 75%(15/20);乳腺癌组织中 SOCS2 的表达在不同 TNM 分期、不同组织学分级、淋巴结有无转移和 Ki-67 阳性及阴性表达下有显著差异($P<0.05$)。**结论**:SOCS2 的表达降低可能与乳腺癌发生和预后不佳相关。

[关键词] 细胞因子信号转导抑制因子类;乳腺肿瘤;微阵列分析
[中图分类号] R 737.9 [文献标识码] A [文章编号] 0258-879X(2007)04-0393-03

Expression of suppressor of cytokine signaling 2 in breast carcinoma by tissue microarray

ZHU Yu-zhao[1],ZHANG Qiong[2],WANG Yang[1],ZHENG Wei-qiang[1*] (1. Department of Pathology,Changhai Hospital,Second Military Medical University,Shanghai 200433,China; 2. Department of Pathology,Bengbu Medical College,Bengbu 233030)

[**ABSTRACT**] **Objective**: To investigate the expression of suppressor of cytokine signaling 2 (SOCS2) in breast carcinoma tissues and to discuss its relationship with clinical pathological data of breast carcinoma patients. **Methods**: The tissue microarray for 171 cases of breast carcinoma specimens,18 adjacent tissues and 20 breast benign lesions were established. Then the expression of SOCS2, ER, PR, cerbB2, p53 and Ki-67 was detected by tissue microarray technique and S-P immunohistochemistry. **Results**: Positive rates of the SOCS2 protein in the breast carcinoma specimens,adjacent tissues and breast benign lesion were 57.89%(99/171),94.44%(17/18),and 75%(15/20),respectively. The expression of SOCS2 was significantly different in breast carcinoma tissues of different TNM classification, different histological grades, and with or without Ki-67 expression and lymphatic metastasis($P<0.05$). **Conclusion**: The lower expression of SOCS2 might contribute to oncogenesis of breast carcinoma and poor prognosis.

[**KEY WORDS**] supressors of cytokine signaling;breast neoplasms;microarray analysis
[Acad J Sec Mil Med Univ,2007,28(4):393-395]

细胞因子信号转导抑制因子(supressors of cytokine signaling,SOCS)是一类与广泛的细胞因子和生长相关因子信号转导有关的负性调节蛋白家族。它是通过 Janus 激酶/信号转导子和转录激活子(Janus kinase/signal transducer and activate transcription,JAK/STAT)通路激活的信号分子。SOCS 家族有 8 个成员:SOCS1~7 和 CIS(细胞因子诱导的含 SH2 区域的蛋白)[1],其功能涉及诱导机体组织正常分化、器官发育和细胞凋亡等。

SOCS2 在乳腺组织中的表达和作用在国内罕见报道,国外关于其在乳腺中的表达报道不太一致:Raccurt 等[2]发现 SOCS2 在乳腺癌组织中的表达高于正常乳腺组织;而 Sutherland 等[3]发现乳腺癌组织中 SOCS2 低表达,且可能是肿瘤发生的一个因素。研究发现 SOCS2 是其家族中惟一拥有雌二醇(E_2)反应序列的成员[4],并能在 E_2 的刺激下抑制生长激素的表达[5]。本研究利用组织芯片和免疫组化技术检测乳腺癌组织中 SOCS2 的表达,分析其与相关临床病理指标的关系,以进一步了解 SOCS2 在乳腺癌中表达的意义和作用。

1 材料和方法

1.1 组织标本 收集第二军医大学长海医院病理科 2001~2005 年乳腺癌存档石蜡标本 143 例,病理诊断经 2 名以上病理医师确认。171 例乳腺癌、18 例癌旁组织和 20 例乳腺良性病变;肿瘤标本所属患者年龄 29~85 岁,中位年龄为 52 岁。按 WHO 分类标准进行病理分型,其中浸润性导管癌 144 例,浸润性小叶癌 18 例,特殊类型乳腺癌 9 例。对浸润性导管癌进行评分定量分级(Ⅰ~Ⅲ级)。

1.2 组织芯片的构建 依据切片选取存档组织蜡

[作者简介] 朱玉兆,硕士生. E-mail:zhuzyz1978@hotmail.com
* Corresponding author. E-mail:zhengwq@hotmail.com

块，显微镜下观察切片并确定具有代表性的病变部位（癌和癌旁），参照 Kononen 等[6]建立的方法用组织芯片构建仪（Beecher Instruments，Silver Spring 公司）制备组织芯片。以组织芯片构建仪在新的空白蜡块（50 mm×24 mm）上打直径 2 mm 的孔，然后在已标记的组织蜡块中穿取直径 2 mm 的组织，准确放入空白蜡块的小孔中，依次操作，加以记录，直至将所有的组织标本植入空白芯片蜡块中。连续切片，烤片备用。

1.3　SOCS2、雌激素受体（ER）、孕激素受体（PR）、cerbB2、p53 和 Ki-67 的免疫组化检测　兔抗多克隆抗体 SOCS2（sc-9022）购于美国 Santa Cruz 公司；ER、PR、cerbB2、p53 和 Ki-67 购自 DAKO 公司；S-P 二抗试剂盒购自北京中杉公司，免疫组化采用 S-P 三步法，PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照，DAB 显色，苏木精复染。

1.4　免疫组化染色结果判断　阳性染色为黄色或棕黄色。SOCS2 定位于胞核和胞质；ER、PR、p53 和 Ki-67 阳性信号位于胞核，cerbB2 阳性信号位于胞膜或胞质。SOCS2、Ki-67、cerbB2、p53 阳性细胞数＞10％判断为阳性；ER、PR 阳性＞20％判断为阳性。

1.5　统计学处理　采用 SPSS 11.5 统计软件进行 χ^2 检验。

2　结　果

2.1　不同乳腺组织中 SOCS2 的表达　SOCS2 阳性表达为黄色或棕黄色，定位于胞核和胞质，乳腺癌及癌旁组织中均有阳性表达，但癌旁组织染色较癌组织深，不少癌组织表达阴性（图 1）。如表 1 所示，乳腺癌 SOCS2 的阳性表达率明显低于良性增生乳腺组织和癌旁组织，其阳性率差别具有统计意义（$P<0.005$）。

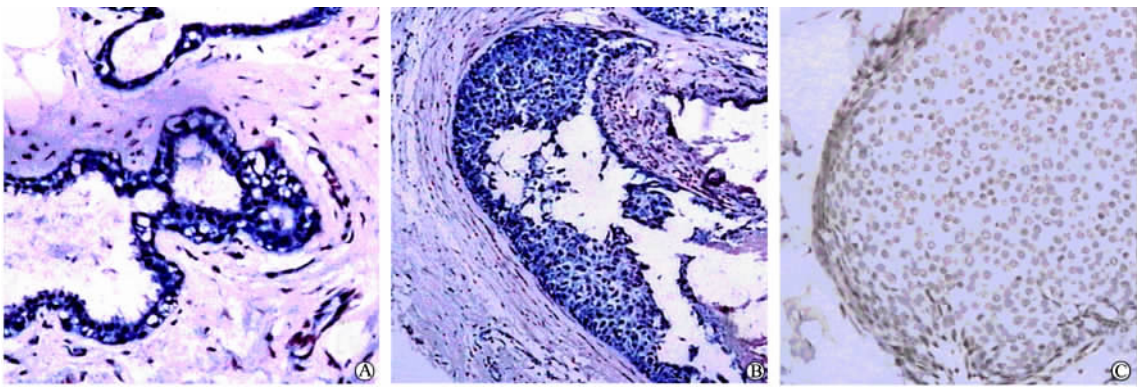

图 1　乳腺癌和癌旁组织中 SOCS2 免疫组化染色结果

Fig 1　Immunohistochemical staining of SOCS2 in breast carcinoma tissues and adjacent tissues（×100）

A：SOCS2（＋）in adjacent tissue；B：SOCS2（＋）in breast carcinoma；C：SOCS2（－）in breast carcinoma

表 1　乳腺组织中 SOCS2 表达情况

Tab 1　SOCS2 expression in mammary tissues

Tissue	n	SOCS2		χ^2	P
		＋	－		
Breast carcinoma tissues	171	99	72	10.736	＜0.005
Adjacent tissues	18	17	1		
Benign lesions	20	15	5		

2.2　不同临床病理因素下乳腺癌组织中 SOCS2 的表达　乳腺癌组织中的 SOCS2 的阳性表达与 ER、PR、cerbB2、p53 的表达以及年龄、肿瘤直径和组织学类型无明显相关性；而与 TNM 分期、组织学分级、淋巴结有无转移和 Ki-67 的表达有关（$P<0.05$）。TNM 分期和组织学分级越高，表达率越低；淋巴结转移组阳性率低于非转移组；与 Ki-67 的表达呈负相关。详见表 2。

3　讨　论

乳腺癌是目前世界上女性恶性肿瘤中主要的高发癌之一，在我国京沪等城市其发病率已居女性恶性肿瘤之首。肿瘤的发生是一个多阶段多步骤的过程，可能与癌基因激活、抑癌基因失活及细胞凋亡异常等有关。细胞因子、激素等又在乳腺上皮细胞的生长、增殖、分化和凋亡免疫监视等过程中起重要调节作用。例如生长素促进乳腺导管上皮增生、分化有重要作用；流行病学证据显示催乳素（PRL）在乳腺癌的发病学和进展方面都有一定作用；靶向去除 PRL 及其受体显示，PRL 基因在乳腺的发育方面发挥着必不可少的作用。生长激素（GH）是乳腺导管细胞增殖进而分化所必须的，它通过自分泌和旁分泌机制促进乳腺癌细胞系的生长。IL-6 的缺乏或减

表 2 免疫组化检测 171 例乳腺癌 SOCS2 表达与临床病理指标的关系

Tab 2 Relationship between SOCS2 expression in 171 breast carcinoma specimens and their clinicopathologic parameters

Clinicopathologic parameter	n	SOCS2		χ^2	P
		+	−		
Age(year)				0.108	0.947
≤40	33	19	14		
40-60	76	45	31		
≥60	62	35	27		
Tumor size (d/cm)				0.353	0.553
>2	134	76	58		
≤2	37	23	14		
TNM				10.761	0.005
Ⅰ	22	16	6		
Ⅱ	108	68	40		
Ⅲ	41	15	26		
Histological types				0.338	0.561
Ductal carcinoma	144	82	62		
Other types	27	17	10		
Lymphnode involvement				12.244	<0.005
(+)	92	42	50		
(−)	79	57	22		
Histological grades				31.615	<0.001
Ⅰ	13	12	1		
Ⅱ	54	42	12		
Ⅲ	71	24	47		
Estrogen receptor				1.782	0.182
(+)	101	54	47		
(−)	69	44	25		
Pregnant receptor				0.082	0.775
(+)	89	52	37		
(−)	80	45	35		
cerbB2				0.061	0.806
(+)	129	74	55		
(−)	42	25	17		
p53				0.471	0.492
(+)	67	41	26		
(−)	95	53	42		
Ki-67				15.077	<0.001
(+)	97	45	52		
(−)	30	26	4		

少将导致乳腺腺体退化及卵巢滤泡的发育延迟。现已发现,SOCS2 基因是 PRL、GH 和 IL-6 等许多细胞因子所介导的信号转导过程中重要的抑制子,提示其激活具有潜在抑瘤作用。包括 GH 和 IL-6 也受 SOCS2 蛋白的调节,并在相应器官中发挥重要作用。已知 SOCS2 和家族中其他成员一样主要是通过反馈抑制 JAK/STAT 通路发挥作用,这个通路又是上述多种细胞因子的主要调节通路。本实验结果显示,癌旁组织中 SOCS2 的表达率极高,明显高于癌组织,也一定程度地高于良性病变。从癌旁组织、良性增生到癌组织 SOCS2 表达率逐渐降低,推测 SOCS2 可能随着乳腺组织分化的不同阶段而变化,从而产生相应的作用。

乳腺癌的 TNM 分期、组织学分级和淋巴结转移情况是决定患者预后的重要因素,分期分级越低,淋巴结转移越少或者没有转移,患者的 5 年生存率都会有大幅度的提高。本研究结果发现 SOCS2 的表达与上述指标呈负相关,提示它对乳腺癌患者来说可能是有益的,具有潜在的抑瘤作用。Ki-67 抗原是 1983 年由 Gerdes 等[7]发现在增殖细胞中表达的一种核抗原,也是目前较为肯定的核增殖标志物,存在于细胞周期中除 G_0 期以外的所有阶段。它开始表达于细胞周期的 G_0 期,在 S 期及 G_2 期表达增加,至 M 期达高峰,在细胞分裂晚期很快消失,是检测肿瘤细胞增殖活性最可靠的指标。其表达与 SOCS2 表达水平呈明显负相关,表明 SOCS2 的表达与肿瘤的低增殖有关。

SOCS2 在干细胞分化、机体炎症反应与免疫反应方面有一些研究报道,但在肿瘤中的具体作用和作用机制有待于进一步深入探讨。总之,本实验结果提示,检测乳腺癌患者 SOCS2 的表达可为寻找乳腺癌发生、发展及转移的特异性分子标志物提供方向,对乳腺癌的预后评估,指导临床治疗有一定的实际意义。

[参 考 文 献]

[1] Hilton D J, Richardson R T, Alexander W S, et al. Twenty proteins containing a C-terminal SOCS box form five structural classes[J]. Proc Natl Acad Sci, 1998, 95: 114-119.

[2] Raccurt M, Tam S P, Lau P, et al. Suppressor of cytokine signalling gene expression is elevated in breast carcinoma[J]. Br J Cancer, 2003, 89: 524-532.

[3] Sutherland K D, Lindeman G J, Choong D Y, et al. Differential hypermethylation of SOCS genes in ovarian and breast carcinomas[J]. Oncogene, 2004, 23: 7726-7733.

[4] Tang S, Han H, Bajic V B. ERGDB: estrogen responsive genes database[J]. Nucleic Acids Res, 2004, 32: D533-D536.

[5] Leung K C, Doyle N, Ballesteros M, et al. Estrogen inhibits GH signaling by suppressing GH-induced JAK2 phosphorylation, an effect mediated by SOCS-2[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100: 1016-1021.

[6] Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens[J]. Nat Med, 1998, 4: 844-847.

[7] Gerdes J, Schwab U, Lemke H, et al. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation[J]. Int J Cancer, 1983, 31: 13-20.

[收稿日期] 2006-12-30 **[修回日期]** 2007-02-11

[本文编辑] 曹 静