

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00049

## 乳腺导管内癌和浸润性导管癌中骨桥蛋白的表达及意义

李曦洲, 隋金珂, 谢轶群, 施俊义\*

第二军医大学长海医院甲乳外科, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 探讨正常乳腺组织、乳腺导管内癌和浸润性导管癌中骨桥蛋白(osteopontin, OPN)的表达及临床意义。**方法** 应用免疫组化 S-P 法测定 OPN 在正常乳腺组织、乳腺导管内癌和浸润性导管癌中的表达, 采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。**结果** 正常乳腺组织、乳腺导管内癌、浸润性导管癌 OPN 的阳性表达率分别为 0% (0/20)、20.0% (5/25)、43.1% (25/58), 组间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。有否家族史、不同年龄、不同原发肿瘤大小的浸润性导管癌患者间 OPN 的表达差异无统计学意义, 但不同组织学分级、不同临床 TNM 分期、腋窝淋巴结转移与否患者间 OPN 的表达差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。**结论** OPN 可能参与了乳腺癌的发生、发展和转移, 有利于乳腺癌的预后判断。

**[关键词]** 乳腺肿瘤; 非浸润性导管内癌; 浸润性导管癌; 免疫组织化学; 骨桥蛋白质

**[中图分类号]** R 737.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2011)01-0049-04

### Expression of osteopontin in breast intraductal carcinoma and infiltrating ductal carcinoma and its clinical significance

LI Xi-zhou, SUI Jin-ke, XIE Yi-qun, SHI Jun-yi\*

Department of Thyroid and Breast Surgery, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the expression of osteopontin (OPN) in normal breast epithelium, intraductal carcinoma and infiltrating ductal carcinoma and its clinical significance. **Methods** The expression of OPN was examined by S-P immunohistochemistry in all specimens, and the results were statistically analyzed. **Results** The positive rates of OPN in normal breast epithelium, intraductal carcinoma and infiltrating ductal carcinoma specimens were 0% (0/20), 20.0% (5/25) and 43.1% (25/58), respectively, with significant differences found between the latter two groups ( $P < 0.05$ ). OPN expression in breast infiltrating ductal carcinoma was not correlated with the family history, the sizes of primary tumor or patient ages, and it was correlated with histological types, clinical TNM stages and axillary lymphatic metastasis ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** OPN may participate in the development, progression, metastasis of breast cancer, and it may be used for predicting the prognosis of breast cancer.

**[Key words]** breast neoplasms; noninfiltrating intraductal carcinoma; infiltrating ductal carcinoma; immunohistochemistry; osteopontin

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(1):49-52]

骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是一种磷酸化糖蛋白,可作为某些恶性肿瘤的诊断参考指标,且与肿瘤细胞生长、增殖及侵袭转移关系密切<sup>[1]</sup>。因此,本研究采用免疫组化法测定 OPN 在乳腺导管内癌和浸润性导管癌中的表达,分析其与乳腺癌临床病理特征的关系,并探讨其在乳腺癌诊治及预后判断等方面的可能价值。

### 1 材料和方法

1.1 一般资料 收集第二军医大学长海医院 2000

年 1 月至 2003 年 12 月乳腺组织存档蜡块 103 例。其中乳腺导管内癌 25 例,乳腺浸润性导管癌 58 例,癌旁正常乳腺组织 20 例。年龄 31~71 岁,中位年龄 47 岁,平均年龄(45.4±4.7)岁。全部病例均经手术和病理证实。乳腺浸润性导管癌按 Scarff-Bloom Richardson(SBR)分级标准进行组织学分级: I 级 21 例, II 级 19 例, III 级 18 例;按美国癌症分期联合委员会(AJCC) TNM 分期: I 期 19 例, II 期 21 例, III+IV 期 18 例。

1.2 免疫组化染色 鼠抗人 OPN 单克隆抗体及

[收稿日期] 2010-05-10 [接受日期] 2010-10-20

[作者简介] 李曦洲, 硕士. E-mail: 85858121@qq.com

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-81873364, E-mail: shijunyi666@126.com

S-P免疫组化试剂盒购于 Santa Cruz 公司,二氨基苯胺(DAB)显色试剂盒购于华美生物工程公司上海分公司。按说明书操作如下:组织蜡块 4 μm 连续切片,脱蜡,新配制的 3%过氧化氢灭活内源性过氧化物酶 15 min,微波炉加热 15 min 修复抗原,自然冷却,滴加非免疫性羊血清以阻断组织中的非特异性结合。依次滴加一抗(OPN 鼠抗人单抗)、二抗(羊抗鼠 IgG)、链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶液,DAB 显色 3~5 min,苏木精复染,脱水,透明。中性树脂封片,显微镜下观察。阳性对照为已知阳性反应的乳腺癌组织切片,磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为阴性对照。

1.3 结果判定 显微镜下观察 OPN 免疫组化信号为棕褐色颗粒,定位于肿瘤细胞质及胞膜。OPN 染色阳性结果的判定标准:肿瘤细胞胞质中呈棕黄色至棕褐色为阳性染色,高倍镜下(×200)对每张切片随机选择 5 个视野,每个视野计数 200 个细胞,共计 1 000 个细胞。(1)按切片中阳性细胞数占细胞总数的比例计分:0 分,无阳性细胞;1 分,阳性细

胞<25%;2 分,阳性细胞 25%~50%;3 分,阳性细胞>50%。(2)按切片中细胞显色强度计分:0 分,细胞无显色;1 分,细胞呈浅黄色(弱染色);2 分,细胞呈棕黄色(中等染色);3 分,细胞呈棕褐色(强染色)。两者分数相加之和≥3 分计为阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 软件,用  $\chi^2$  检验对各组实验结果进行统计学分析,检验水平( $\alpha$ )为 0.05。

## 2 结果

2.1 OPN 在乳腺导管内癌和浸润性导管癌中的表达 免疫组化结果(图 1)表明:OPN 主要定位于肿瘤细胞质及胞膜,肿瘤细胞胞质中呈棕黄色至棕褐色为阳性染色。进一步定量分析结果表明:正常乳腺组织、乳腺导管内癌、浸润性导管癌 OPN 阳性表达率分别是 0%(0/20)、20.0%(5/25)、43.1%(25/58),阳性率逐渐升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。乳腺导管内癌组与浸润性导管癌组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

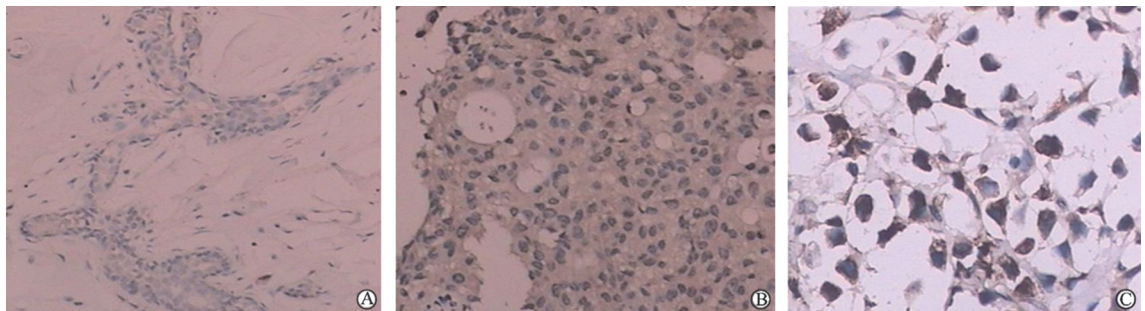


图 1 OPN 在正常乳腺组织、乳腺导管内癌和浸润性导管癌中的表达

Fig 1 Expression of OPN in normal breast epithelium, breast intraductal carcinoma and infiltrating ductal carcinoma(S-P)

A: Negative expression of OPN in normal breast epithelium; B: Positive expression of OPN in breast intraductal carcinoma; C: Positive expression of OPN in breast infiltrating ductal carcinoma. Original magnification: ×100 (A), ×200 (B), ×400(C)

2.2 乳腺浸润性导管癌 OPN 表达与临床病理参数的关系 结果(表 1)表明:浸润性导管癌中 OPN 在有无家族史组、不同年龄组、不同原发肿瘤大小组间阳性表达率差异无统计学意义;但在不同组织学分级、不同临床 TNM 分期、有无腋窝淋巴结转移组间阳性表达率差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

OPN 参与人类多种肿瘤的恶性转化、浸润与转移,如乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、卵巢癌、胃癌和肺癌等,被认为是肿瘤转移相关基因或转移基因,在肿瘤中的过表达与肿瘤细胞转移潜能的增加有关<sup>[2-3]</sup>。

乳腺导管内癌 OPN mRNA 的表达高于正常乳腺组织,差异有统计学意义<sup>[4-5]</sup>。本研究与其结果一致。OPN 在正常乳腺组织中无表达,在恶性肿瘤组织中过表达;且浸润性导管癌组织中 OPN 表达高于导管内癌组织,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),提示 OPN 可能参与了乳腺癌的发生发展过程<sup>[6]</sup>;在腋窝淋巴结转移阳性组表达显著高于阴性组,提示其高表达在乳腺癌浸润及淋巴结转移过程中可能发挥着重要作用。此外,本结果还表明 OPN 高表达与组织学分级、临床 TNM 分期等预后指标有关,提示检测 OPN 可能有利于判定乳腺癌发生、发展及预后,有助于综合判断乳腺癌的恶性程度和浸润转移潜能<sup>[7]</sup>。

Allan 等<sup>[8]</sup>发现 OPN 表达与乳腺的淋巴结转移相关且影响乳腺癌患者预后,OPN 阳性表达患者生存期短,存活率低。本研究也发现 OPN 表达与乳腺浸润性导管癌的临床分期、有无淋巴结转移有关,临床分期越晚,OPN 阳性表达率越高;有淋巴结转

移者,OPN 阳性表达率也越高,OPN 阳性表达的乳腺癌细胞具有更强的侵袭、转移能力。淋巴结转移是预后不良的重要指标,说明 OPN 表达对乳腺浸润性导管癌的发展及预后有重要意义,与 Singhal 等<sup>[9]</sup>研究结果类似。

表 1 OPN 表达与乳腺浸润性导管癌临床病理特征的关系

Tab 1 Association of OPN expression with pathological parameters of breast infiltrating ductal carcinoma

Index	OPN		n	Positive rate(%)	$\chi^2$	P
	-	+				
Family history of breast cancer					1.191	>0.05
Yes	4	1	5	20.0		
No	24	29	53	54.7		
Age at diagnosis (year)					1.016	>0.05
$\leq 50$	12	6	18	33.3		
$> 50$	21	19	40	47.5		
Tumor size d/cm					0.697	>0.05
$\leq 2$	12	6	18	33.3		
$> 2$	22	18	40	45.0		
Histological grade					15.943	<0.05
I	18	3	21	14.3		
II	11	8	19	42.1*		
III	4	14	18	77.8* $\Delta$		
cTNM					14.62	<0.05
I	17	2	19	10.5		
II	11	10	21	47.6*		
III+IV	5	13	18	72.2* $\Delta$		
Nodal status					11.437	<0.05
Negative	24	7	31	22.6		
Positive	9	18	27	66.7 $\blacktriangle$		

\*  $P < 0.05$  vs grade I;  $\Delta P < 0.05$  vs grade II;  $\blacktriangle P < 0.05$  vs negative

OPN 参与了乳腺癌细胞黏附、迁移、浸润、转移各个环节,因此被称为转移基因<sup>[10]</sup>,但确切机制并不清楚。体外研究发现,外源性 OPN 能够通过整合素受体促进肿瘤细胞黏附和迁移,并产生抗凋亡信号,促进肿瘤细胞生长;而体内实验表明 OPN 促进肿瘤组织生长<sup>[11-13]</sup>。新生血管形成是肿瘤细胞生长存活和浸润转移的基础<sup>[14]</sup>。血管内皮细胞生长因子(VEGF)是一种有效的促进血管生成蛋白,而 OPN 能诱导内皮细胞迁移和上调 VEGF 效应<sup>[15]</sup>。OPN 可能通过其分子中凝血酶分裂位点促进血管生成和肿瘤生长<sup>[16]</sup>。

总之,乳腺癌组织中存在 OPN 的表达增高,其参与乳腺癌浸润转移的机制尚未完全清楚,有必要进一步研究 OPN 促进肿瘤转移、侵袭的机制,建立有效的靶向性治疗方法,有助于对乳腺癌患者进行更有效的针对性治疗<sup>[17]</sup>。

**致谢** 本研究得到第二军医大学长海医院病理科郑唯强教授的支持和无私帮助,在此表示衷心感谢!

## [参考文献]

- [1] Tse G M, Tan P H, Cheung H S, Chu W C, Lam W W. Intermediate to highly suspicious calcification in breast lesions: a radio-pathologic correlation[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2008, 110:1-7.
- [2] Soares R, Balogh G, Guo S, Gärtner F, Russo J, Schmitt F. Evidence for the notch signaling pathway on the role of estrogen in angiogenesis[J]. *Mol Endocrinol*, 2004, 18:2333-2343.
- [3] Weber G F. The metastasis gene osteopontin: a candidate target for cancer therapy[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1552: 61-85.
- [4] Reinholz M M, Iturria S J, Ingle J N, Roche P C. Differential gene expression of TGF-beta family members and osteopontin in breast tumor tissue: analysis by real-time quantitative PCR [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2002, 74:255-269.
- [5] Hedley B D, Welch D R, Allan A L, Al-Katib W, Dales D W, Postenka C O, et al. Downregulation of osteopontin contributes to metastasis suppression by breast cancer metastasis suppressor 1[J]. *Int J Cancer*, 2008, 123:526-534.
- [6] Fisher J L, Field C L, Zhou H, Harris T L, Henderson M A, Choong P F. Urokinase plasminogen activator system gene ex-

- pression is increased in human breast carcinoma and its bone metastases—a comparison of normal breast tissue, non-invasive and invasive carcinoma and osseous metastases [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2000, 61: 1-12.
- [7] Dai J, Peng L, Fan K, Wang H, Wei R, Ji G, et al. Osteopontin induces angiogenesis through activation of PI3K/AKT and ERK1/2 in endothelial cells [J]. *Oncogene*, 2009, 28: 3412-3422.
- [8] Allan A L, George R, Vantigham S A, Lee M W, Hodgson N C, Engel C J, et al. Role of the integrin-binding protein osteopontin in lymphatic metastasis of breast cancer [J]. *Am J Pathol*, 2006, 169: 233-246.
- [9] Singhal H, Bautista D S, Tonkin K S, O'Malley F P, Tuck A B, Chambers A F, et al. Elevated plasma osteopontin in metastatic breast cancer associated with increased tumor burden and decreased survival [J]. *Clin Cancer Res*, 1997, 3: 605-611.
- [10] Guarino V, Faviana P, Salvatore G, Castellone M D, Cirafici A M, De Falco V, et al. Osteopontin is overexpressed in human papillary thyroid carcinomas and enhances thyroid carcinoma cell invasiveness [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90: 5270-5278.
- [11] Furger K A, Menon R K, Tuck A B, Bramwell V H, Chambers A F. The functional and clinical roles of osteopontin in cancer and metastasis [J]. *Curr Mol Med*, 2001, 1: 621-632.
- [12] Nobta M, Tsukazaki T, Shibata Y, Xin C, Moriishi T, Sakano S, et al. Critical regulation of bone morphogenetic protein-induced osteoblastic differentiation by Delta1/Jagged1-activated Notch1 signaling [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280: 15842-15848.
- [13] Bramwell V H, Doig G S, Tuck A B, Wilson S M, Tonkin K S, Tomiak A, et al. Serial plasma osteopontin levels have prognostic value in metastatic breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(11 Pt 1): 3337-3343.
- [14] Chakraborty G, Jain S, Kundu G C. Osteopontin promotes vascular endothelial growth factor-dependent breast tumor growth and angiogenesis *via* autocrine and paracrine mechanisms [J]. *Cancer Res*, 2008, 68: 152-161.
- [15] Furger K A, Allan A L, Wilson S M, Hota C, Vantigham S A, Postenka C O, et al. Beta (3) integrin expression increases breast carcinoma cell responsiveness to the malignancy-enhancing effects of osteopontin [J]. *Mol Cancer Res*, 2003, 1: 810-819.
- [16] Shijubo N, Uede T, Kon S, Nagata M, Abe S. Vascular endothelial growth factor and osteopontin in tumor biology [J]. *Crit Rev Oncog*, 2000, 11: 135-146.
- [17] Mazzali M, Kipari T, Ophascharoensuk V, Wesson J A, Johnson R, Hughes J. Osteopontin—a molecule for all seasons [J]. *QJM*, 2002, 95: 3-13.

[本文编辑] 贾泽军

· 消 息 ·

## 《复旦学报(医学版)》2011年征稿、征订启事

《复旦学报(医学版)》(CN 31-1885/R, ISSN 1672-8467)是教育部主管、复旦大学主办的国内外公开发行的综合性医药卫生类学术性核心期刊。主要刊登基础医学、临床医学、药学、预防医学等领域的以原创性研究为主的论文(中英文均可)。对具有新颖性、创新性的优秀论文,将通过中国知网的优先出版数字平台,予以“优先数字出版”。

本刊被下列国内外权威数据库收录:波兰《哥白尼索引》(Index of Copernicus, IC);荷兰爱思唯尔公司《斯高帕斯数据库》(Scopus);美国《乌里希期刊指南》(Ulrich's Periodicals Directory, Ulrich PD);美国《生物学文摘(预评)》(BIOSIS Preview, BAP);美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA);美国《剑桥科学文摘》(ProQuest CSA);WHO西太平洋地区医学索引(The Western Pacific Region Index Medicus, WPRIM);中国科学引文数据库(CSCD)核心库;中国科技论文与引文数据库;中国期刊全文数据库(CNKI)(核心);中文科技期刊数据库;万方数据资源系统(核心);中文核心期刊要目总览等。

本刊开设的栏目有:述评(Editorials)、论著(Papers)、实验研究报道(Experimental Research Reports)、临床经验交流(Clinical Experience Communications)、方法技术(Methods and Techniques)、临床病理(例)讨论(Clinical Pathological/Case Discussion)、讲座(Lectures)、综述(Reviews)、短篇报道(Short Reports)、个案报告(Case Reports)、简讯(Brief News)等。

本刊为双月刊,创刊于1956年,目前只接受网络投稿,大16开本,每期全彩色96页,单月20日正式出版。定价20元,120元/年,全国各地邮局均可订阅(邮发代号4-262),国外向中国国际图书贸易总公司订阅(代号BM199)。

联系地址:上海市医学院路138号285信箱《复旦学报(医学版)》编辑部 邮编:200032

联系电话:021-54237164, 54237314 传 真:021-64180064

网 址: <http://jms.fudan.edu.cn> E-mail: xbyxb@shmu.edu.cn