

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.10.019

免疫组织化学检测 p63、 α -SMA 对乳腺癌的临床诊断价值

邸 静,王 力[△]

商洛国际医学中心医院病理科,陕西商洛 726000

摘 要:**目的** 探讨免疫组织化学(免疫组化)检测 p63、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)对乳腺癌的诊断价值,并进行预后分析。**方法** 乳腺癌组织及癌旁组织标本来自 2017 年 1 月至 2019 年 5 月在该院行乳腺癌根治术的 80 例患者,采用免疫组化检测乳腺癌组织及癌旁组织 p63、 α -SMA 的表达情况,采用 Log-rank 检验比较不同 p63/ α -SMA 表达情况乳腺癌患者的生存率,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析诊断价值。**结果** 免疫组化结果显示,乳腺癌组织 p63 阳性表达率[17.50%(14/80)]低于癌旁组织[81.25%(65/80)],差异有统计学意义($P<0.05$),乳腺癌组织 α -SMA 阳性表达率[92.50%(74/80)]高于 α -SMA[6.25%(5/80)],差异有统计学意义($P<0.05$);不同年龄、肿瘤大小、TNM 分期及组织学类型乳腺癌患者 p63 及 α -SMA 阳性表达率比较,差异无统计学意义($P>0.05$),有淋巴结转移与无淋巴结转移患者 p63 及 α -SMA 阳性表达率比较,差异有统计学意义($P<0.05$);Log-rank 检验显示,p63 阳性与阴性患者生存率比较,差异有统计学意义($P<0.05$), α -SMA 阳性与阴性患者生存率比较,差异无统计学意义($P>0.05$);p63 诊断乳腺癌的曲线下面积(AUC)为 0.778(95%CI:0.683~0.871), α -SMA 诊断乳腺癌的 AUC 为 0.731(95%CI:0.622~0.838),p63 联合 α -SMA 诊断乳腺癌的 AUC 为 0.872(95%CI:0.794~0.951)。**结论** 免疫组化检测 p63、 α -SMA 表达与乳腺癌患者淋巴结转移有关,p63 表达与患者 2 年预后有关,p63、 α -SMA 单独及二者联合检测均对乳腺癌有一定诊断价值。

关键词:乳腺癌; p63; α -平滑肌肌动蛋白; 淋巴结转移

中图法分类号:R737.9

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)10-1369-04

Clinical diagnostic value of p63/ α -SMA detected by immunohistochemistry in breast cancer

DI Jing, WANG Li[△]

Department of Pathology, Shangluo International Medical Center Hospital,
Shangluo, Shaanxi 726000, China

Abstract: Objective To investigate the clinical diagnostic value and prognosis of p63 and α -smooth muscle actin(α -SMA) detected by immunohistochemistry in breast cancer. **Methods** Breast cancer tissue and adjacent tissue samples were collected from 80 patients who underwent radical mastectomy in this hospital from January 2017 to May 2019. Immunohistochemistry was used to detect the expression of p63 and α -SMA in breast cancer tissues and adjacent tissues. Log-rank test was used to compare the survival rate of breast cancer patients with different p63 and α -SMA, and receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the diagnosis effect. **Results** Immunohistochemical results showed that the positive expression rate of p63 in breast cancer tissues [17.50%(14/80)] was lower than that in adjacent tissues [81.25%(65/80)], the difference was statistically significant ($P<0.05$). The positive expression rate of α -SMA in breast cancer tissues [92.50%(74/80)] was higher than that of α -SMA[6.25%(5/80)], and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no significant difference on the positive expression rates of p63 and α -SMA among breast cancer patients with different age, tumor size, TNM stage and histological type ($P>0.05$), but there was significant difference on the positive expression rates of p63 and α -SMA between patients with and without lymph node metastasis ($P<0.05$). Log-rank test showed that there was significant difference on survival rate between p63 positive and negative patients ($P<0.05$), but there was no significant difference on survival rate between α -SMA positive and negative patients ($P>0.05$). The AUC of p63 for breast cancer diagnosis was 0.778 (95%CI:0.683—0.871), α -SMA for breast cancer diagnosis was 0.731 (95%CI:0.622—0.838), and p63 combined with α -SMA for breast cancer diagnosis was 0.872 (95%CI:0.794—0.951). **Conclusion** Immunohistochemical detection of p63 and α -SMA expression is associated with lymph node metastasis in breast cancer patients, and p63 expression is associated with 2-year prognosis of patients. P63, α -SMA and the combined de-

tection of the two indicators have certain value in the diagnosis of breast cancer.

Key words:breast cancer; p63; α-smooth muscle actin; lymph node metastasis

乳腺癌是女性常见的妇科肿瘤之一,在过去的 50 年乳腺癌的发病率逐年升高,已占据女性恶性肿瘤发病率的 31%,死亡率排列第三,仅次于胃癌及肺癌,已经严重威胁患者生命安全^[1]。在乳腺癌的早期诊断中,病理学证据具有关键作用。乳腺导管是乳房重要组织成分之一,肌上皮细胞主要分布在乳腺导管外层,与肌细胞作用相似,具有收缩潜能。α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)由 377 个氨基酸残基组成,是细胞中 6 种肌动蛋白之一,也是肌上皮细胞中表达的一种细胞骨架蛋白。肌上皮细胞在乳腺良性病变中可以被检测到,但是当发生乳腺恶性上皮病变时几乎找不到肌上皮细胞,因此肌上皮细胞是否存在是区别乳腺良性病变和恶性病变的重要依据^[2]。a-SMA 属于肌纤维母细胞的标志蛋白,能够参与细胞增殖、迁移等运动。肌纤维母细胞是肿瘤间质的重要组成部分,可参与乳腺癌疾病的发生、发展。p63 基因是 1997 年被发现的一种新基因,因与 p53 具有较强的同源性而被认为是 p53 家族的新成员。p63 蛋白可激活 p53 相关基因而诱发细胞凋亡,故被称为肿瘤抑制基因^[3]。相关研究显示,病理学标志物能够明显提高乳腺癌疾病诊断效能,其表达水平在一定程度上对患者预后有较高的预测价值^[4]。本研究收集 2017 年 1 月至 2019 年 5 月在本院行乳腺癌根治术的 80 例患者肿瘤组织及癌旁组织,观察 p63、SMA 表达对乳腺癌诊断及预后的影响,以期对乳腺癌病理诊断提供新的指标。

1 资料与方法

1.1 一般资料 80 例乳腺癌组织及癌旁组织标本均来自 2017 年 1 月至 2019 年 5 月在本院行乳腺癌根治术的患者。所有组织标本经 10% 的甲醛固定包埋处理。所有患者均为女性,术前均未进行化疗,平均年龄(56.42±11.23)岁,均为单侧癌。组织病理学检查显示:浸润性导管癌 68 例,黏液腺癌 7 例,乳腺导管原位癌(DCIS) 3 例,实性乳头状癌 2 例;组织学分级Ⅰ级 36 例,Ⅱ级 44 例;有淋巴结转移 28 例,无淋巴结转移 52 例。纳入标准:(1)接受手术治疗的原发性乳腺癌;(2)非双侧病灶;(3)初次手术;(4)可进行随访。排出标准:(1)继发性乳腺癌患者;(2)非单侧病灶患者;(3)放化疗及免疫治疗者;(5)无法进行随访者;(6)临床资料不齐全者;(7)参与其他临床项目研究者。本研究已经获得患者同意,签署知情同意书,并经本院伦理委员会批准同意。

1.2 主要试剂 小鼠抗人 p63 单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司,α-SMA 抗体购自圣克鲁斯生物技术(上海)有限公司,SP9002 免疫组织化学(免疫组化)试剂购自中国上海鼎杰生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化检测 将乳腺癌组织及癌旁组织剪切成小块,脱水、包埋后,采用 10% 甲醛固定,水化后,37.5℃ 静置 0.5 h 后,加入 1% 的乙二胺四乙酸(EDTA)溶液,山羊血清封闭。加入 1 抗(1:500),加入 α-SMA 及 p63 抗体,加入二抗 0.5 h 后,复染,封闭。选择不交叉的 10 个视野,以淡黄色至棕褐色为阳性,计算阳性率。判断标准:苏木精-伊红(HE)染色,染色结果经过本科室 2 位高年资医师复诊,参考世界卫生组织(WHO)乳腺癌分类形态学(2019 年第 5 版)^[5]判定。免疫组化结果判断参考表 1。

表 1 免疫组化判断标准			
阳性细胞占比	分值①(分)	染色强度	分值②(分)
<15%	0	无颜色	0
15%~25%	1	浅黄	1
>25%~50%	2	黄色	2
>50%	3	棕黄色	3

注:以①+②≤1 分为阴性,以①+②≥2 分为阳性。

1.3.2 随访 对 80 例患者进行 2 年时间的随访,随访方式为电话随访及门诊复查,随访截止日期为 2021 年 5 月 31 日,观察患者 2 年生存率。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 软件进行数据分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法,采用 Log-rank 检验比较生存率,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者乳腺癌组织及癌旁组织 p63、α-SMA 阳性表达情况 免疫组化结果显示,p63、α-SMA 阳性表达呈棕黄色颗粒,乳腺癌组织 p63 阳性表达率低于癌旁组织,α-SMA 阳性表达率高于癌旁组织,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2 及图 1。

表 2 乳腺癌组织及癌旁组织 p63 及 α-SMA 阳性表达率比较[n(%)]			
项目	n	p63 阳性	α-SMA 阳性
乳腺癌组织	80	14(17.50)	74(92.50)
癌旁组织	80	65(81.25)	5(6.25)
χ^2		65.040	141.200
P		<0.001	<0.001

2.2 不同临床特征乳腺癌患者 p63 及 α-SMA 阳性情况比较 不同年龄、肿瘤大小、TNM 分期及组织学类型乳腺癌患者 p63 及 α-SMA 阳性表达率比较,差异无统计学意义($P>0.05$),有淋巴结转移与无淋巴

结转移乳腺癌患者 p63 及 α -SMA 阳性表达率比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.3 乳腺癌患者预后分析 80 例乳腺癌患者 2 年生存率为 59 例(73.75%), p63 阳性患者 2 年生存人数为 13 例, 存活率为 92.85%(13/14), p63 阴性患者 2 年生存人数为 46 例, 生存率为 69.70%(46/66), Log-rank 检验显示, p63 阳性与阴性患者生存率比较, 差异有统计学意义($P<0.05$); α -SMA 阳性患者 2 年生存人数为 54 例, 生存率为 72.97%(54/74), α -SMA 阴性患者生存人数为 5 例, 生存率为 83.33%(5/6), Log-rank 检验 α -SMA 阳性与阴性患者生存率比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 2。

2.4 p63 及 α -SMA 对乳腺癌的诊断价值 p63 检测乳腺癌的 AUC 为 0.778(95%CI: 0.683~0.871), 灵敏度为 78.54%, 特异度为 75.16%; α -SMA 检测 AUC 为 0.731(95%CI: 0.622~0.838), 灵敏度为

76.30%, 特异度为 70.82%; p63 联合 α -SMA 检测 AUC 为 0.872(95%CI: 0.794~0.951), 灵敏度为 82.46%, 特异度为 78.17%。p63、 α -SMA 及二者联合检测对乳腺癌诊断均有一定价值。见图 3。

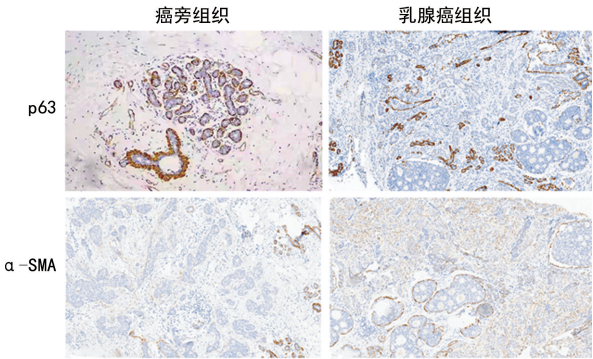


图 1 乳腺癌组织及癌旁组织中 p63 及 α -SMA 阳性表达情况($\times 200$)

表 3 不同临床特征乳腺癌患者 p63 及 α -SMA 阳性情况比较[n(%)]

参数	n	p63			α -SMA		
		阳性	χ^2	P	阳性	χ^2	P
年龄(岁)			0.236	0.627		0.004	0.949
<60	41	8(19.51)			38(92.68)		
≥ 60	39	6(15.38)			36(92.31)		
肿瘤大小(mm)			0.445	0.505		0.286	0.534
<2	35	5(14.29)			33(94.29)		
≥ 2	45	9(20.00)			41(91.11)		
TNM 分期			—	—		0.357	0.550
I 期	36	7(19.44)			34(94.44)		
II 期	44	7(15.91)			40(90.91)		
淋巴结转移			6.415	0.011		12.050	0.005
无	28	10(35.71)			22(78.57)		
有	52	4(7.69)			52(100.00)		
组织学类型			1.164	0.559		1.041	0.791
浸润性导管癌	68	11(16.18)			64(94.18)		
黏液腺癌	7	2(28.57)			6(85.71)		
乳腺导管原位癌	3	1(33.33)			3(100.00)		
实性乳头状癌	2	—			1(50.00)		

注:—表示数据未统计。

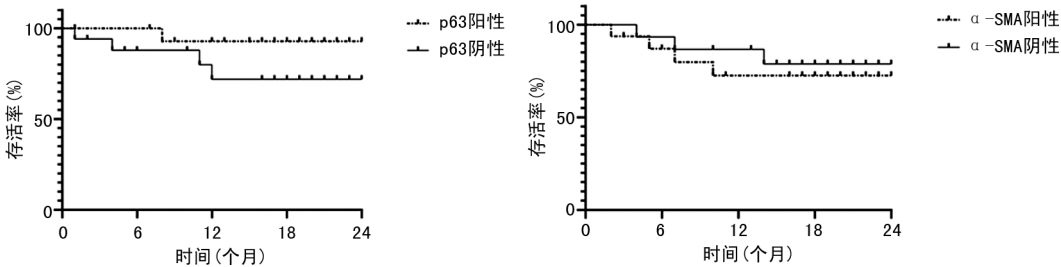


图 2 预后分析

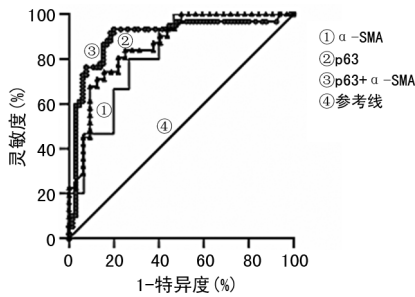


图 3 p63、 α -SMA 及联合检测对乳腺癌的诊断价值

3 讨 论

因乳腺癌早期无明显症状,故多数患者确诊时已经为中晚期,严重影响患者生存预后,因此早期诊断对提高乳腺癌患者预后具有重要意义^[5]。本研究结果显示,p63 在乳腺癌组织中的阳性表达低于癌旁组织, α -SMA 在乳腺癌组织中阳性表达高于癌旁组织,p63 及 α -SMA 表达阳性水平与患者淋巴结转移相关,与患者年龄、肿瘤大小、TNM 分期及病理组织类型均无相关性,说明 p63 及 α -SMA 表达水平参与乳腺癌的发生、发展。

p63 属于 p53 家族成员之一,主要在正常乳腺肌上皮细胞核中特异性表达。近年研究发现,p63 能够应用于乳腺癌的诊断,效果较理想^[6]。侍朋举等^[7]研究显示,p63 在正常肌组织及乳腺良性疾病中的肌上皮细胞中呈阳性表达,而 p63 在乳腺癌中呈阴性表达,提示肌上皮细胞较少甚至消失。苗洋洋等^[8]研究发现,在乳腺癌患者中 p63 几乎无表达,但是在无淋巴结转移的乳腺癌患者癌组织中 p63 的阳性表达率高于有淋巴结转移乳腺癌患者,说明 p63 缺失与乳腺癌发展及转移有关。 α -SMA 是肌上皮细胞中表达的一种细胞骨架蛋白,具有较高的平滑肌特异性,可作为良性肿瘤与恶性肿瘤鉴别的指标。有研究显示,正常乳腺细胞 α -SMA 表达较少甚至无表达,在乳腺癌组织中 α -SMA 呈强阳性表达,说明其活性升高能够促进乳腺癌发生、发展^[9]。张哲琨等^[10]研究显示,肌成纤维细胞能够分泌大量胰岛素生长因子及 α -SMA,从而加快乳腺癌细胞淋巴结转移,增加乳腺癌患者复发风险,预后较差。

p63 及 α -SMA 均对肌上皮细胞检测具有较高的灵敏度,可以用于乳腺癌临床诊断。但是相关研究证实,乳腺癌患者采用单一 p63 或单一 α -SMA 进行检测的检出率一般,尤其是对乳腺癌上皮细胞增生活跃时,诊断难度加大,在同一标本组织采用免疫组化检测 p63 及 α -SMA,能够更好鉴别乳腺良恶性疾病,避免误诊或漏诊^[11-12]。

本研究结果显示,p63 阳性与阴性患者生存率比较,差异有统计学意义($P<0.05$),而 α -SMA 阳性与阴性患者生存率比较,差异无统计学意义($P>0.05$),p63、 α -SMA 及二者联合检测对乳腺癌诊断均有一定

价值。 α -SMA 水平与患者预后相关性较小的原因可能与样本量较小及随访时间较短等因素有关,在后期研究中考考虑将增加样本量、延长随访时间。

综上所述,免疫组化检测 p63、 α -SMA 表达与乳腺癌患者淋巴结转移相关,p63 表达与患者 2 年预后存在相关性,p63、 α -SMA 及二者联合检测均对乳腺癌有一定诊断价值。

参考文献

[1] FOUKAKIS T,VON MINCKWITZ G,BENGTTSSON N O,et al. Cyclin E1(CCNE1)and E2(CCNE2) as prognostic and predictive markers for endocrine therapy(ET) in early breast cancer[J]. JAMA,2020,316(18):1888.

[2] FU J J,LI C W,LIU Y,et al. The microneedles carrying cisplatin and IR820 to perform synergistic chemo-photo-dynamic therapy against breast cancer[J]. J Nanobiotechnol,2020,18(1):146.

[3] H V,TITUS A S,COWLING R T,et al. Collagen receptor cross-talk determines α -smooth muscle actin-dependent collagen gene expression in angiotensin II-stimulated cardiac fibroblasts[J]. J Biol Chem,2019,294(51):19723-19739.

[4] 涂金花,陈培琼,白冬雨,等. p63/calponin 和 CK 鸡尾酒双染对诊断乳腺导管原位癌伴微浸润的价值[J]. 诊断病理学杂志,2018,25(9):644-648.

[5] 乔伊娜,文思阳,孙可馨,等. 微 RNA-374c-5p 通过靶向 LIMK1 增强人乳腺癌 MDA-MB-231/DDP 细胞对顺铂的敏感性[J]. 肿瘤,2020,40(2):81-91.

[6] LI Y,XIA J,KHENATA R,et al. First-principle investigation of all types of topological nodal lines in a realistic P63/mmc type titanium selenide [J]. J Phys Condens Matter,2021,33(28):33412521.

[7] 侍朋举,蔡海峰,牛凤玲,等. CD109、HMW-CK、Vimentin、p63 和 AR 在基底细胞样乳腺癌中的表达及其临床意义[J]. 临床肿瘤学杂志,2012,17(10):884-888.

[8] 苗洋洋,程书亚,曹渝珊,等. 免疫组织化学三抗体鸡尾酒双染法对乳腺微浸润癌的诊断价值[J]. 中华病理学杂志,2020,49(10):1061-1063.

[9] MAMMOTO A,HENDEE K,MUYLEART M,et al. Endothelial twist 1-PDGFB signaling mediates hypoxia-induced proliferation and migration of α SMA-positive cells[J]. Sci Rep,2020,10(1):7563.

[10] 张哲琨,陆元志,钟雪云. 乳腺癌中 Tenascin C、 α -SMA 和 PDGFR α 的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志,2019,35(9):1013-1017.

[11] 王永军,吕菲,王肖肖,等. 病变组织细胞免疫组织化学 P63/SMA 双标记对乳腺癌的诊断效能[J]. 山东医药,2015,55(15):14-16.

[12] 潘磊,邵庆红,朱建秋,等. 乳腺导管内乳头状肿瘤冷冻切片诊断中 P63、SMA、CK5/6 的应用[J]. 中国基层医药,2012,19(16):2519-2520.