

乳腺癌组织中 EZH2 及 p53 蛋白表达及其临床意义

张雪云, 王晓武, 王丰梅

(青海大学附属医院乳腺甲状腺外科, 青海 西宁 810001)

【摘要】 目的 研究乳腺癌组织中果蝇 *zeste* 基因增强子同源物 2 (EZH2) 及 p53 蛋白的表达及临床意义。方法 选择从 2016 年 1~10 月在青海大学附属医院诊治的乳腺癌患者 40 例纳入本次研究, 将 40 例患者术中取出的乳腺癌组织记为观察组, 另取同期在医院治疗的 40 例纤维瘤患者的手术切除组织记为对照组, 比较乳腺癌不同组织中 EZH2 及 p53 蛋白的表达, 分析乳腺癌组织中 EZH2 及 p53 蛋白的表达与其病理情况的关系, 以及乳腺癌组织中 EZH2 与 p5 蛋白表达的相关性。结果 乳腺癌组织中 EZH2 及 p53 蛋白的阳性率分别为 52.50%、47.50%, 均明显高于纤维瘤组织的 20.00% 和 15.00%, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。乳腺癌组织中 EZH2 及 p53 蛋白的阳性表达与有淋巴结转移及分子亚型为 Basal-like 型有关, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 根据 Spearman 法对相关性分析后发现, 乳腺癌组织中 EZH2 与 p5 蛋白的阳性表达之间呈正相关 ($r = 0.66, P < 0.05$)。结论 乳腺癌组织中的 EZH2 及 p53 蛋白均存在较强的阳性表达, 且两者之间的表达呈正相关。

【关键词】 乳腺癌组织; EZH2; p53 蛋白; 表达; 作用机制

【中图分类号】 R737.9 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2017)20-3303-04

Expression and clinical significance of EZH2 and p53 protein in breast cancer. ZHANG Xue-yun, WANG Xiao-wu, WANG Feng-mei. Department of Breast and Thyroid Surgery, the Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810001, Qinghai, CHINA

【Abstract】 Objective To study the expression and clinical significance of enhancer of *zeste* homolog 2 (EZH2) and p53 protein in breast cancer. **Methods** A total of 40 patients with breast cancer, who admitted to Qinghai University Affiliated Hospital from January 2016 to October 2016, were enrolled in this study. The breast cancer tissues collected from 40 patients were selected as the observation group, and another 40 patients with tumor resection in the same period were treated as the control group. EZH2 and p53 protein expression in different tissues of breast were compared, and the relationship between the expression of EZH2 and p53 protein in breast cancer tissues and the pathological changes, and the relationship between the expression of EZH2 and p53 protein in breast cancer tissues were analyzed. **Results** The positive rates of EZH2 and p53 protein in breast cancer tissues were 52.50% and 47.50%, respectively, which were significantly higher than 20.00% and 15.00% in fibroma tissue (all $P < 0.05$). The positive expression of EZH2 and p53 protein in breast cancer tissues was correlated with lymph node metastasis and molecular subtypes of Basal-like (all $P < 0.05$). According to the correlation analysis of Spearman, it was found that there was a positive correlation between the positive expression of EZH2 and p53 protein in breast cancer tissues ($r = 0.66, P < 0.05$). **Conclusion** The expression of EZH2 and p53 protein in breast cancer tissues is positive, and the expression of the two proteins is positively correlated with each other.

【Key words】 Breast cancer; Enhancer of *zeste* homolog 2 (EZH2); p53 protein; Expression; Mechanism

伴随医学科技的迅猛发展, 当前临床对于乳腺癌的诊断及治疗均获得了长足的进步。乳腺癌患者的病情也逐渐倾向于凭借病理组织学和免疫组织化学, 以及分子遗传学等指标的综合评判以进行诊断^[1]。但是, 目前, 关于肿瘤复发和转移, 以及耐药等问题依旧是制约着乳腺癌诊治的难题, 强化对于乳腺癌在分子水平表达方面的研究十分必要。EZH2 是调控基因, p53 属于抑癌基因, 两者均为近年来较为突出的基因研究热点^[2]。为更好地掌握乳腺癌组织在蛋白水平的表达情况, 并了解疾病的发

生和发展机制, 从而找到相关指标靶点, 本文通过分析 EZH2 及 p53 蛋白在乳腺癌组织当中的表达意义和作用机制, 旨在为临床治疗提供理论依据, 现报道如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择从 2016 年 1~10 月在青海大学附属医院诊治的乳腺癌患者 40 例纳入本次研究, 均为女性, 年龄 29~78 岁, 平均 (54.32±2.19) 岁。纳入标准: (1) 所有患者均符合乳腺癌的诊断标准, 并由术后病理学的检测证实; (2) 年龄 ≥ 29 岁; (3) 预计生存时间

基金项目: 青海大学附属医院中青年科研基金一般项目 (编号: ASRF-2015-YB-09)

通讯作者: 张雪云。E-mail: 406979540@qq.com

>3 个月。排除标准:(1)其他类的恶性肿瘤;(2)病历资料缺失者;(3)无手术指征者。将 40 例患者术区所取的乳腺癌组织记为观察组,另取同期在医院治疗的 40 例

纤维瘤患者的手术切除组织记为对照组,两组患者的基线资料差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 1。本研究经医院伦理委员会批准。

表 1 两组患者一般资料的比较(例, $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	年龄(岁)		肿瘤直径(cm)		肿瘤分期			淋巴结转移		组织学类型		分子亚型				
		<60	≥60	平均年龄	≤2	>2	I 期	II 期	III 期	无	有	ILC	IDC	Luminal A	Luminal B	HER-2 (+)	Basal-like
观察组	40	18	22	53.97±2.18	19	21	9	11	20	19	21	21	19	10	14	3	13
对照组	40	20	20	54.28±2.20	22	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Z/t 值		1.249	0.633		2.017	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P 值		0.187	0.529		0.109	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1.2 研究方法 检测涉及的免疫组化染色方式选择 MaxVision 法,其中兔抗人 EZH2 型多克隆抗体和通用两步法试剂盒及 p53 等试剂盒均购于上海劲马+上海恒远公司。将两组组织制成石蜡切片后,给予抗原修复,利用过氧化物酶相关阻断剂在室温下孵育约 10 min。使一抗在 4℃ 下过夜,将二抗在室温下孵育约 15 min。再用 DAB 显色 5 min,经苏木精染色约 2 min,全部过程应用磷酸盐缓冲液(PBS)进行冲洗,以 PBS 代替一抗用于阴性对照。

1.3 结果评判 EZH2 蛋白以显微镜下的高倍视野中细胞核呈黄色亦或是棕黄色颗粒记为阳性,对每张切片均观察 5 个视野。通过半定量评分法进行统计:(1)未着色记为 0 分,淡黄色记为 1 分,棕黄色记为 2 分,棕褐色记为 3 分。(2)对阳性细胞的百分比进行计分,阴性记为 0 分,阳性细胞的数目 <25% 记为 1 分,25%~50% 记为 2 分,50%~75% 记为 3 分,>75% 记为 4 分。使(1)和(2)相乘,结果 >3 分记为阳性。p53 则将细胞核中有棕黄色颗粒记为阳性,取 5 个高倍视野,其中阳性细胞的比例 <10% 记为阴性,≥10% 记为阳性。

1.4 观察指标 比较乳腺不同组织中 EZH2 及 p53 蛋白的表达,分析乳腺癌组织中 EZH2 及 p53 蛋白的表达与其病理情况的关系,以及乳腺癌组织中 EZH2 与 P5 蛋白表达的相关性。

1.5 统计学方法 应用 SPSS21.0 软件进行数据分析,计数资料采用 χ^2 检验,等级资料的比较选择秩和检验,计算 Z 值;计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验,相关性分析使用 Spearman 法进行评价, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺不同组织中 EZH2 及 p53 蛋白的表达比较 乳腺癌组织中 EZH2 阳性定位在细胞核,阳性率为 52.50%,p53 蛋白也定位在细胞核,阳性率为 47.50%,均明显高于纤维瘤组织的 20.00%和 15.00%,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2、图 1 和图 2。

2.2 乳腺癌组织中 EZH2 及 p53 蛋白的表达与其

表 2 乳腺不同组织中 EZH2 及 p53 蛋白的表达比较[例(%)]

组别	例数	EZH2 阳性	p53 阳性
观察组	40	21 (52.50)	19 (47.50)
对照组	40	8 (20.00)	6 (15.00)
χ^2 值		9.141	9.833
P 值		0.002	0.002

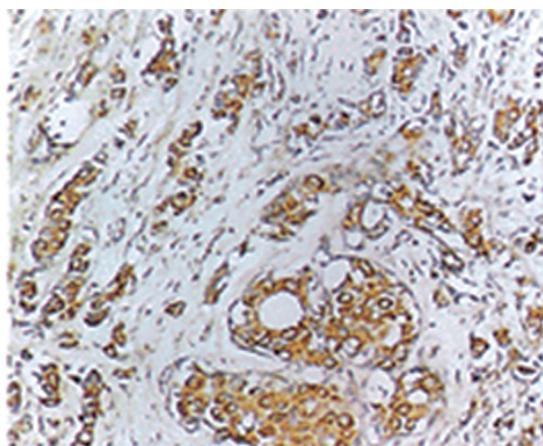


图 1 EZH2 阳性免疫组化图(HE 染色, ×400)

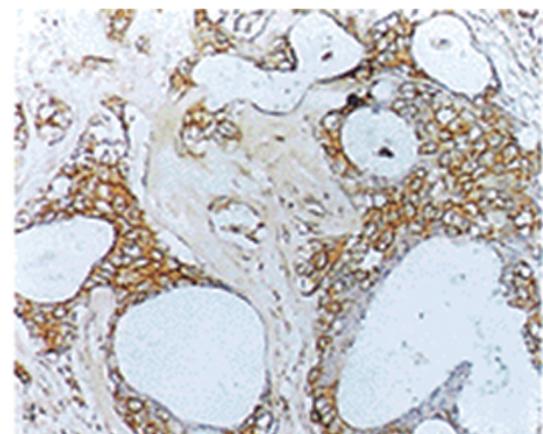


图 2 P53 阳性免疫组化图(HE 染色, ×400)

病理情况的关系 乳腺癌组织中 EZH2 及 p53 蛋白的阳性表达与有淋巴结转移及分子亚型为 Basal-like 型有关,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

2.3 乳腺癌组织中 EZH2 与 p5 蛋白表达的相关性 根据 Spearman 法对相关性分析后发现,乳腺癌组织中 EZH2 与 p5 蛋白的阳性表达之间呈正相关,见表 4。

表 3 乳腺癌组织中 EZH2 及 p53 蛋白的表达与其病理情况的关系(例, $\bar{x} \pm s$)

病理情况	例数	EZH2 阳性	χ^2 值	P 值	p53 阳性	χ^2 值	P 值
年龄(岁)			0.123	0.726		0.082	0.775
<60	18	10 (55.56)			9 (50.00)		
≥ 60	22	11 (50.00)			10 (45.45)		
肿瘤直径(cm)			0.382	0.536		0.422	0.516
≤ 2	19	9 (47.37)			8 (42.11)		
>2	21	12 (57.14)			11 (52.38)		
肿瘤分期			2.506	0.113		2.506	0.113
I	9	6 (66.67)			6 (66.67)		
II 期	11	7 (63.64)			6 (54.55)		
III 期	20	8 (40.00)			7 (35.00)		
淋巴结转移			19.558	0.000		6.513	0.011
无	19	3 (15.79)			5 (26.32)		
有	21	18 (85.71)			14 (66.67)		
组织学类型			0.382	0.536		0.000	0.987
ILC	21	12 (57.14)			10 (47.62)		
IDC	19	9 (47.37)			9 (47.37)		
分子亚型			6.583	0.000		6.274	0.000
Luminal A 型	10	2 (20.00)			3 (30.00)		
Luminal B 型	14	4 (28.57)			4 (28.57)		
HER-2 (+) 型	3	1 (33.33)			1 (33.33)		
Basal-like 型	13	12 (92.31)			11 (84.62)		

表 4 乳腺癌组织中 EZH2 与 p53 蛋白表达的相关性分析

EZH2	例数	p53		r 值	P 值
		+	-		
+	21	16	5	0.668	0.000
-	19	3	16		

3 讨论

近年来的统计数据显示,全球每年因乳腺癌死亡的患者大约为 46 万,在所有因恶性肿瘤致死病例中占比约 14%,对患者的生命安全造成了极大的威胁^[3]。在我国,乳腺癌的发病率长期位居女性恶性肿瘤排行的首位,且有着逐渐上升的相关趋势。目前临床上关于引起乳腺癌的主要作用机制仍未明晰,但经基因组学实验研究结果显示,诸多原癌基因和抑癌基因,以及与之相关的蛋白质在编码上也产生了变化^[4]。因此,监测上述基因在乳腺癌组织当中的表达,对于辅助临床诊治具有不容忽视的作用。

本研究结果显示,乳腺癌组织中 EZH2 及 p53 蛋白的阳性率均分别显著高于纤维瘤组织,这符合 Jiang 等^[5]和程维刚等^[6]的报道结果,提示 EZH2 及 p53 蛋白在乳腺癌组织中的阳性表达明显上升。究其原因,主要是与两者的表达机制有关。具体而言, EZH2 基因是在 1996 年时由 Hobert 通过酵母双杂交手段分析原癌基因——Vav 蛋白的产物时首次发现的,其属于组蛋白发生甲基化时的一种重要工具酶,是 PcG 基因家族的成员^[7]。其主要定位在人染色体 7q35 中,长度为 40 kb,已被认为是候选癌基因。p53 基因属于人类肿瘤当中的一类最易突变的重要抑癌基因,其包括野生型以及突变型等亚型,与乳腺癌的关系比较紧密。简言之, EZH2 可参与针对细胞周期所进行的调控过程中,其

阳性表达可使细胞迅速进至 S 期,致使转录机制在一定程度上失调,从而加速细胞增殖,对肿瘤的生长具有一定的促进作用^[8-9]。 EZH2 基因处在 pRB-E2F 信号通路下游,属于下游靶基因。通常 pRB 在去磷酸化之后可同 E2F 相结合而产生 pRB-E2F 复合物,从而抑制了基因转录。本文 EZH2 蛋白在乳腺癌组织当中的阳性表达可能是因为 pRB-E2F 通路的异常而导致的。p53 基因在突变之后可能致使 p53 编码蛋白具有的正常功能基本丧失,同时也失去了抑制细胞周期的正常运行以及触发细胞凋亡的作用机制^[10-11]。因此, p53 蛋白在高表达时往往预示着乳腺癌组织存在较强增殖能力。本文根据 Spearman 法对相关分析后发现,乳腺癌组织中 EZH2 与 p53 蛋白的阳性表达之间呈正相关,这表明了 EZH2 与 p53 蛋白的表达之间存在着协同关联。分析原因,笔者认为主要是因为野生型的 p53 在激活之后,能够通过 EZH2 的启动子相结合,进而抑制 EZH2 的表达,而当 p53 基因在突变之后逐渐丧失相关抑制作用,从而使 EZH2 的表达上升。这也说明了 EZH2 蛋白在乳腺癌组织当中的表达可能受到 p53 的调控^[12-13]。

此外,本文还发现,乳腺癌组织中 EZH2 及 p53 蛋白的阳性表达与有淋巴结转移及分子亚型为 Basal-like 型有关,这提示发生淋巴结转移,以及分子亚型是 Basal-like 型的患者具有更高的 EZH2 及 p53 蛋白的阳性表达率^[14-15]。原因可能在与此类患者的病情相对较重或者分子亚型与调控蛋白的关系更为紧密等因素有关,与研究报道结论相符^[16-18]。

综上所述,乳腺癌组织中的 EZH2 及 p53 蛋白均存在较强的阳性表达,且两者之间的表达呈正相关,值得临床重视。

内镜下十二指肠乳头小切开联合球囊扩张治疗难治性胆总管结石近期疗效观察

何国筛¹, 陈小雪², 谭海扬¹

(阳江市人民医院普外科¹、手术室², 广东 阳江 529500)

【摘要】 目的 观察内镜下十二指肠乳头小切开(SEST)联合球囊扩张术(EPLBD)治疗难治性胆总管结石近期疗效。方法 选择阳江市人民医院普外科2015年1~12月收治的难治性胆总管结石患者162例,采用随机数表法分为EST组和联合组,每组81例,EST组采用乳头括约肌切开法,联合组采用SEST联合EPLBD治疗,比较两组患者的取石成功率、平均手术时间、机械碎石使用率,同时记录出血、高淀粉酶血症及急性胰腺炎等并发症发生率。患者术后均随访12个月,记录复发情况。结果 联合组患者的平均手术时间为(39.28±8.71) min,明显短于EST组的(50.36±10.82) min,差异有统计学意义(P<0.05);联合组患者的一次取石成功率为90.12%,高于EST组的71.60%,机械碎石使用率、12个月复发率分别为11.11%、4.94%,低于EST组的41.98%、13.58%,差异均有统计学意义(P<0.05);两组患者的总取石成功率比较差异无统计学意义(P>0.05);联合组患者术后并发症发生率为12.35%,明显低于EST组的28.40%,差异有统计学意义(P<0.05)。结论 EST联合EPLBD治疗难治性胆总管结石取石成功率高,结石复发率和并发症发生率低,近期疗效好。

【关键词】 内镜;十二指肠乳头小切开;球囊扩张;难治性胆总管结石;近期疗效

【中图分类号】 R657.4² **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2017)20-3306-03

Short-term curative effect of small endoscopic sphincterotomy combined with endoscopic papillary large balloon dilation in the treatment of refractory large common bile duct stones. HE Guo-shai¹, CHEN Xiao-xue², TAN Hai-yang¹. Department of General Surgery¹, Operation Room², the People's Hospital of Yangjiang City, Yangjiang 529500, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Objective To observe the short-term curative effect of small endoscopic sphincterotomy (EST) combined with endoscopic papillary large balloon dilation (EPLBD) in the treatment of refractory large common bile duct stones. **Methods** A total of 162 patients with refractory large common bile duct stones, who admitted to Department of

通讯作者:何国筛。E-mail:chen05885@163.com

参考文献

[1] 李雯, 冯彦林. SUVmax、Ki-67、p53、EGFR 对三阴性乳腺癌新辅助化疗疗效的预测价值[J]. 肿瘤防治研究, 2016, 43(1): 45-47.

[2] 宋魏, 于庆凯. 三阴性乳腺癌组织中 Ki67、p53、CD117 的表达及临床价值[J]. 中国卫生标准管理, 2016, 7(4): 168-169.

[3] 赵京阳, 顾梅, 朱长雨, 等. 23 例年轻女性乳腺癌病理特征及临床治疗效果分析[J]. 中国医药导刊, 2016, 18(11): 1120-1121.

[4] 沙聪, 杨峻峰, 胡伟, 等. EZH2 在乳腺癌中的表达及与患者临床病例特征关系[J]. 河南外科学杂志, 2016, 22(4): 31-32.

[5] Jiang T, Wang Y, Zhou F, et al. Prognostic value of high EZH2 expression in patients with different types of cancer: a systematic review with meta-analysis [J]. Oncotarget, 2016, 7(4): 4584-4597.

[6] 程维刚, 刘九洲, 靳梦琳, 等. 三阴性乳腺癌中 p53 蛋白产物的表达及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2016, 33(4): 939-941.

[7] 杨月亮, 徐元成, 周杏元. 乳腺癌组织中转录抑制因子增强子和 p53 蛋白表达与临床病理特征及预后的关系[J]. 全科医学临床与教育, 2015, 13(6): 619-622.

[8] 宋金莲, 马中良, 迟晓伟, 等. 天然活性分子 isatin 经 p53 介导的线粒体途径诱导乳腺癌细胞 MCF-7 凋亡[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(6): 773-778.

[9] 扬帆, 钟源, 江学庆, 等. 微小 RNA-339-5p 通过靶向鼠双微体基因调节乳腺癌 MCF-7 细胞 p53 肿瘤抑制通路的研究[J]. 中华实验外科杂志, 2016, 33(5): 1213-1217.

[10] Jang SH, Lee JE, Oh MH, et al. High EZH2 protein expression is associated with poor overall survival in patients with luminal a breast cancer [J]. J Breast Cancer, 2016, 19(1): 53-60.

[11] 汪小霞, 孟刚, 李丽, 等. 乳腺癌中 EZH2 和 p53 蛋白表达及其临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2015, 31(3): 273-276.

[12] 迪力夏提·金斯汗, 吐鲁洪·沙列尔, 赵倩. EZH2 抑制剂 DZNeP 对人乳腺癌细胞增殖、凋亡及相关信号通路的影响[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(16): 3877-3879.

[13] 董桂兰, 张小楠, 袁文棋. EZH2 和 p53 在乳腺癌中的表达及相关性探讨[J]. 中国肿瘤临床, 2007, 34(16): 931-933.

[14] 陈伟, 张怡, 朱颖, 等. p53 靶基因结合区遗传变异与中国人乳腺癌遗传易感性的关联研究[J]. 中华流行病学杂志, 2016, 37(8): 1063-1068.

[15] 袁领勤, 张蓉, 高学忠. 多梳蛋白抑制复合体 2 蛋白复合物核心蛋白 EZH2 与三阴性乳腺癌相关性研究[J]. 中华普通外科学文献(电子版), 2015, 9(4): 13-15.

[16] Nicolopoulou-Stamati P, Tsipis A, Chelidonis G, et al. Prognostic value of COX-2, p53, and EZH-2 evaluated by quantitative image analysis in premalignant and malignant breast lesions [J]. Diagn Cytopathol, 2015, 43(4): 294-300.

[17] Fu HL, Ma Y, Lu LG, et al. TET1 exerts its tumor suppressor function by interacting with p53-EZH2 pathway in gastric cancer [J]. J Biomed Nanotechnol, 2014, 10(7): 1217-1230.

[18] Shigama S, Yoshida S, Soga D, et al. Aberrant expression of EZH2 is associated with pathological findings and p53 alteration [J]. Anticancer Res, 2013, 33(10): 4309-4317.

(收稿日期:2017-02-25)