

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.02.015

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.02.015

## p53, Ki-67及E-钙黏蛋白在三阴性乳腺癌中的表达及预后

雷珍, 钟锡明, 周岐, 范钰

(江苏大学附属人民医院肿瘤科, 江苏 镇江 212002)

**[摘要]** 目的: 探讨p53, Ki-67及E-钙黏蛋白(E-cadherin)在三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)组织中的表达及预后的关系。方法: 采用免疫组织化学法检测52例TNBC和52例非三阴性乳腺癌(non-triple-negative breast cancer, NTNBC)组织中p53, Ki-67及E-cadherin表达情况, 观察3个指标与TNBC患者临床病理学特征及预后的关系。结果: TNBC组织中p53, Ki-67及E-cadherin的阳性表达率分别为67.3%, 80.8%, 26.9%; 而在NTNBC组织中为44.2%, 61.5%, 48.1%(均 $P<0.05$ )。在TNBC组织中, p53表达阳性与肿瘤大小、TNM分期及组织学分级有关(均 $P<0.05$ ); Ki-67表达阳性与TNM分期、淋巴结转移有关(均 $P<0.05$ ); E-cadherin表达阳性与肿瘤大小、TNM分期、淋巴结转移有关(均 $P<0.05$ )。在TNBC患者中, p53, Ki-67及E-cadherin表达阳性者与阴性者总体生存率(overall survival, OS)的差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。Cox回归分析多因素显示: 淋巴结转移、p53、Ki-67及E-cadherin表达是影响TNBC患者总体生存率的独立预后因素(均 $P<0.05$ )。结论: TNBC组织中, p53、Ki-67高表达, 其表达阳性者预后差, E-cadherin低表达, 其表达阳性者预后良好。联合检测p53、Ki-67及E-cadherin表达可为TNBC患者的治疗提供新靶点。

**[关键词]** 三阴性乳腺癌; p53; Ki-67; E-钙黏蛋白; 预后

## Expression and prognosis of p53, Ki-67 and E-cadherin in triple-negative breast cancer

LEI Zhen, ZHONG Ximing, ZHOU Qi, FAN Yu

(Department of Oncology, Affiliated People's Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang Jiangsu 212002, China)

**Abstract** **Objective:** To investigate the expression of p53, Ki-67, E-cadherin and their prognostic value in triple negative breast cancer (TNBC). **Methods:** The expression of p53, Ki-67, E-cadherin was assessed by immunohistochemistry in 52 cases of TNBC and 52 cases of non-triple negative breast cancer (NTNBC). The association of the clinicopathological variables and the prognostic value of p53, Ki-67 and E-cadherin expression were evaluated in TNBC. **Results:** The positive expression rates of p53, Ki-67, E-cadherin in TNBC were 67.3%, 80.8%, 26.9%, while the positive expression rates of those in NTNBC were 44.2%, 61.5%, 48.1% (all  $P<0.05$ ).

收稿日期 (Date of reception): 2016-10-31

通信作者 (Corresponding author): 钟锡明, Email: zxm75698@163.com

基金项目 (Foundation item): 江苏省镇江市社会发展项目 (SH2015064)。This work was supported by Social Development Project of Zhenjiang City, Jiangsu Province (SH2015064), P. R. China.

In TNBC, p53 expression was associated with tumor size, TNM stage and histological grade (all  $P < 0.05$ ), Ki-67 expression was associated with TNM stage and lymph node metastasis (both  $P < 0.05$ ), and E-cadherin expression was correlated with tumor size, TNM stage, and lymph node metastasis (all  $P < 0.05$ ). In TNBC, there was significant difference in overall survival (OS) of the positive and negative p53, Ki-67 and E-cadherin patients (all  $P < 0.05$ ). Cox regression was used for analysis of factors for TNBC patients. Expression of lymph node metastasis, p53, Ki-67, E-cadherin are independent prognostic factor affecting overall survival of TNBC according to Cox regression analysis of multiple factors (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** In TNBC, the high expression of p53, Ki-67 has poor prognosis, while the low expression of E-cadherin has good prognosis. Therefore, our data suggests that the combined examination of p53, Ki-67 and E-cadherin expression might be useful prognostic markers in TNBC and might provide molecular targeting therapy of TNBC treatment.

**Keywords** triple negative breast cancer; p53; Ki-67; E-cadherin; prognosis

乳腺癌是目前女性最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率在世界范围内呈逐年上升趋势, 是女性癌症死亡的首要原因<sup>[1]</sup>。三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)是乳腺癌的一种特殊类型。TNBC是指雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)和人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, Her-2)均为阴性的乳腺癌。临床表现为恶性程度高、侵袭性强、易发生远处转移、对内分泌治疗及靶向治疗效果不佳及预后差。本研究旨在研究p53, Ki-67及E-cadherin在TNBC组织中的表达, 分析它们与临床病理特征和预后的关系, 为其在TNBC的预后判断中提供依据。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

经江苏大学附属人民医院医学伦理委员会批准, 收集江苏大学附属人民医院2007年6月至2011年6月收治、经病理学检查证实的52例TNBC、52例NTNBC患者。患者均为女性, 年龄27~76(平均50)岁。按照美国癌症联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)第七版《癌症分期手册》乳腺癌TNM分期将患者分为I期、II期和III期。其中, 所有患者均接受过手术治疗, 术前未发生远处转移, 术前未行放疗、化疗, 术后均立即接受规范化的辅助治疗, 有较完整的临床资料和随访资料。

### 1.2 方法

鼠抗人p53单克隆抗体、兔抗人Ki-67单克隆抗体及鼠抗人E-cadherin单克隆抗体均购自福州迈新生物技术开发有限公司。SP超敏免疫组织化学试剂盒、DAB显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。将存档的石蜡标本制备4  $\mu\text{m}$ 切片, 采用免疫组织化学二步法(EnVision法)进行检测, 具体步骤按照试剂盒说明书操作。

### 1.3 结果判断

p53, Ki-67表达于细胞核, E-cadherin表达于细胞膜, 阳性物质呈棕黄色颗粒。染色结果判断标准: p53阳性细胞数超过10%判定为阳性; Ki-67阳性细胞数超14%判定为阳性; E-cadherin阳性细胞数超过10%判定为阳性。

### 1.4 随访

TNBC患者随访从确诊之日(穿刺或手术活检)开始计算, 随访截止时间为2016年6月31日。OS定义为术后第1天至患者死亡或末次随访的时间。随访方式包括门诊和电话随访。患者死亡、失访或随访截止仍生存均记为截尾值。

### 1.5 统计学处理

采用SPSS17.0统计软件分析, 计数资料比较采用 $\chi^2$ 检验分析。Kaplan-Meier方法进行生存率分析, Long-rank检验评估组间差异的统计学意义, 采用Cox回归分析进行单因素及多因素分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 p53, E-cadherin 及 Ki-67 蛋白在 TNBC 及 NTNBC 组织中表达

TNBC组织中p53和Ki-67阳性表达率分别为67.3%(图1), 80.8%(图2), 显著高于NTNBC组织中的44.2%, 61.5%; TNBC组织中E-cadherin阳性表达率为26.9%(图3), 低于NTNBC组织中的48.1%, 差异均有统计学意义(表1,  $P<0.05$ )。

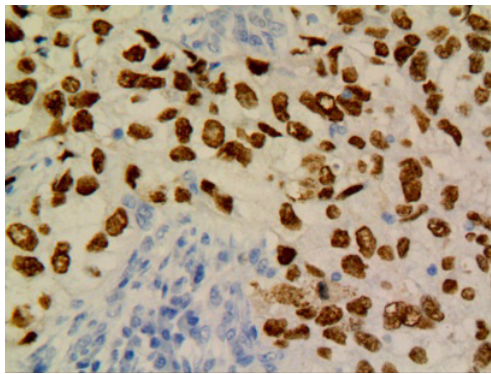


图1 三阴性乳腺癌组织中p53阳性表达(SP, ×400)  
Figure 1 Positive expression of p53 in triple-negative breast cancer (SP, ×400)

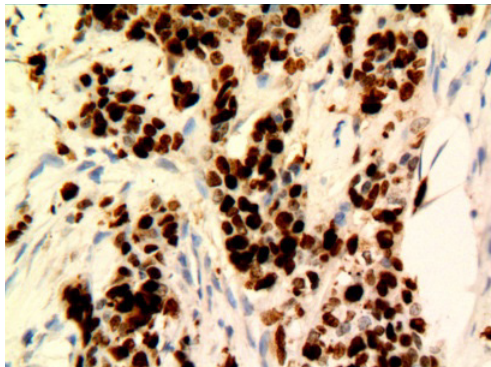


图2 三阴性乳腺癌组织中Ki-67阳性表达(SP, ×400)  
Figure 2 Positive expression of Ki-67 in triple-negative breast cancer (SP, ×400)

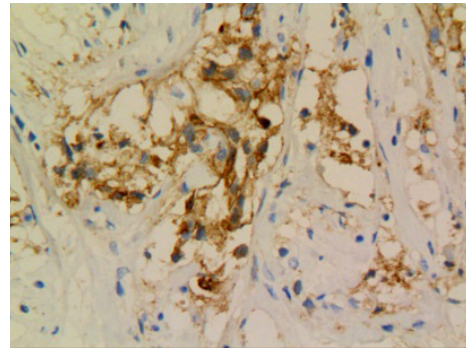


图3 三阴性乳腺癌组织中E-cadherin阳性表达(SP, ×400)  
Figure 3 Positive expression of E-cadherin in triple-negative breast cancer (SP, ×400)

### 2.2 p53, Ki-67 及 E-cadherin 表达与 TNBC 临床病理参数的关系

在TNBC组织中, p53表达阳性与肿瘤大小、TNM分期及组织学分级有关(均 $P<0.05$ ), 但与患者年龄、绝经状态及淋巴结转移无关(均 $P>0.05$ )。Ki-67表达阳性与TNM分期、淋巴结转移有关(均 $P<0.05$ ), 但与患者年龄、绝经状态、肿瘤大小及组织学分级无关(均 $P>0.05$ )。E-cadherin表达阳性与肿瘤大小、TNM分期及淋巴结转移有关(均 $P<0.05$ ), 但与患者年龄、绝经状态及组织学分级无关(均 $P>0.05$ , 表2)。

### 2.3 TNBC 患者中 p53, Ki-67 及 E-cadherin 表达与总体生存率的关系

在TNBC患者中, p53和Ki-67表达阴性者总体生存率显著高于阳性者, 经Long-rank检验, 差异有统计学意义(均 $P<0.05$ , 图4~5)。E-cadherin表达阳性者总体生存率显著高于阴性者( $P<0.05$ , 图6)。p53, Ki-67阴性表达及E-cadherin阳性表达共有患者的总体生存率显著高于p53, Ki-67阳性表达及E-cadherin阴性表达共有患者( $P<0.05$ , 图7)。故认为p53和Ki-67阴性表达患者的预后优于p53和Ki-67阳性表达, E-cadherin阳性表达患者的预后优于E-cadherin阴性表达。

表1 p53, Ki67及E-cadherin蛋白在三阴性乳腺癌和非三阴性乳腺癌组织中的表达( $n=52$ )

Table 1 Expression of p53, Ki-67, and E-cadherin protein in triple-negative breast cancer and non-triple-negative breast cancer ( $n=52$ )

组织	p53				Ki-67				E-cadherin			
	+	-	$\chi^2$	$P$	+	-	$\chi^2$	$P$	+	-	$\chi^2$	$P$
TNBC	35	17	5.613	0.018	42	10	4.685	0.030	14	38	4.964	0.026
NTNBC	23	29			32	20			25	27		

表2 p53, Ki-67及E-cadherin蛋白在三阴性乳腺癌组织中表达与临床病理参数的关系

Table 2 Relationship between expression of p53, Ki-67, E-cadherin and clinicopathological variables in triple-negative breast cancer

临床病理参数	n	p53				Ki-67				E-cadherin			
		+	-	$\chi^2$	P	+	-	$\chi^2$	P	+	-	$\chi^2$	P
年龄/岁				0.818	0.366			0.167	0.683			0.259	0.611
≤50	29	18	11			24	5			7	22		
>50	23	17	6			18	5			7	16		
绝经状态				2.595	0.107			0.271	0.603			0.002	0.961
绝经前	30	17	13			23	7			8	22		
绝经后	22	18	4			19	3			6	16		
肿瘤直径/cm				6.643	0.010			2.229	0.135			6.172	0.013
<2	28	14	14			20	8			12	16		
≥2	24	21	3			22	2			2	22		
TNM分期				9.332	0.002			11.371	0.001			12.371	<0.001
I	16	6	10			8	8			10	6		
II~III	36	29	7			34	2			4	32		
组织学分级				5.127	0.024			0.238	0.626			0.631	0.427
I~II	25	13	12			19	6			8	17		
III	27	22	5			23	4			6	21		
淋巴结转移				1.206	0.272			4.325	0.038			6.361	0.012
无	33	24	9			30	3			5	28		
有	19	11	8			12	7			9	10		

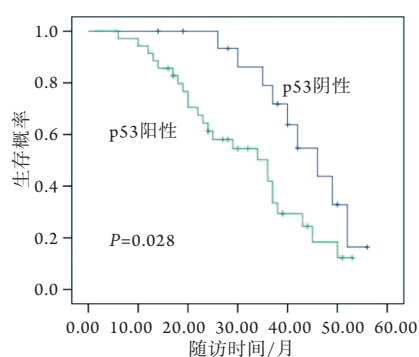


图4 三阴性乳腺癌患者中p53表达阳性与阴性者的总体生存率

Figure 4 Overall survival of p53 positive and negative cases in triple-negative breast cancer

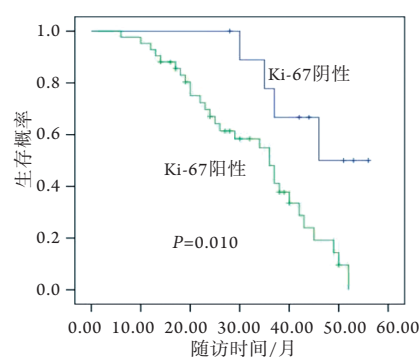


图5 三阴性乳腺癌患者中Ki-67表达阳性与阴性者的总体生存率

Figure 5 Overall survival of Ki-67 positive cases and negative cases in triple-negative breast cancer

## 2.4 影响 TNBC 患者总体生存率的危险因素 Cox 回归分析

采用Cox比例风险模型分析影响TNBC患者总体生存率的指标,包括年龄、绝经状态、肿瘤大小、TNM分期、组织学分级、淋巴结转移、

p53、Ki-67及E-cadherin表达。Cox回归单因素分析显示:肿瘤大小、TNM分期、淋巴结转移、p53、Ki-67及E-cadherin表达是影响TNBC患者总体生存率的显著因素(均 $P<0.05$ )。将以上6个指标纳入COX比例风险模型进行多因素分析。结果

显示: 淋巴结转移、p53、Ki-67及E-cadherin表达是影响TNBC患者总体生存率的独立预后因素(均 $P < 0.05$ , 表3)。

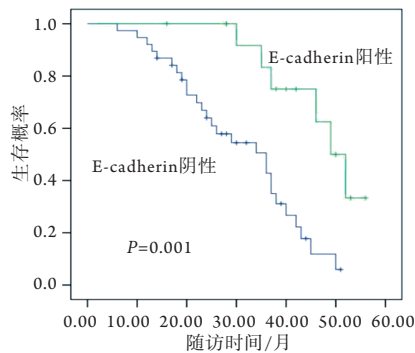


图6 三阴性乳腺癌患者中E-cadherin表达阳性与阴性者的总体生存率

Figure 6 Overall survival of E-cadherin positive and negative cases in triple-negative breast cancer

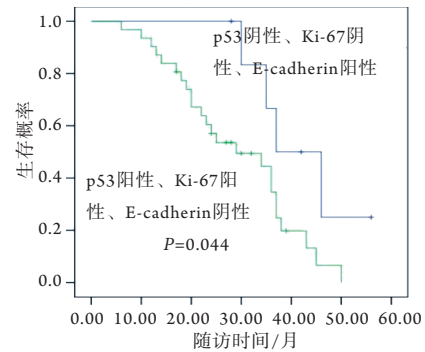


图7 三阴性乳腺癌患者中p53, Ki-67阴性表达及E-cadherin阳性表达共有患者与p53, Ki-67阳性表达及E-cadherin阴性表达共有患者的总体生存率

Figure 7 Overall survival of triple-negative breast cancer patient with negative expression of p53, Ki-67 and positive expression of E-cadherin, and triple-negative breast cancer patient with positive expression of p53, Ki-67 and negative expression of E-cadherin

表3 三阴性乳腺癌患者总体生存率的危险因素Cox回归分析

Table 3 Cox regression analysis of risk factor for overall survival on triple-negative breast cancer

指标	Cox回归单因素分析		Cox回归多因素分析	
	HR (95%CI)	P	HR (95%CI)	P
年龄	0.740 (0.370~1.482)	0.396	—	—
绝经状态	1.039 (0.520~2.075)	0.914	—	—
肿瘤直径	2.451 (1.205~4.982)	0.013	1.113 (0.431~2.875)	0.825
TNM分期	2.535 (1.164~5.525)	0.019	2.589 (0.933~7.187)	0.068
组织学分级	1.581 (0.764~3.273)	0.217	—	—
淋巴结转移	2.140 (1.051~4.356)	0.036	5.320 (1.792~15.788)	0.003
p53	2.325 (1.069~5.055)	0.033	3.013 (1.009~9.001)	0.048
Ki-67	3.674 (1.269,10.635)	0.016	8.348 (2.085~33.425)	0.009
E-cadherin	0.223 (0.084,0.595)	0.003	0.157 (0.050~0.495)	0.002

### 3 讨论

TNBC约占所有乳腺癌的12%~17%<sup>[2]</sup>。与其他亚型相比, 具有特殊的生物学行为、临床病理特征和临床表现, 其对内分泌治疗及靶向治疗不敏感, 远处转移率高, 预后较其他类型乳腺癌差。本研究旨在观察P53, Ki-67及E-cadherin在TNBC中的表达及其临床病理学特征的关系, 为评价TNBC患者预后提供新指标。

p53基因是一种抑癌基因, 是迄今为止发现的与人类肿瘤相关性最高的基因之一, 在进化过

程中呈高度保守性。p53基因分为野生型和突变型2种。野生型p53基因为抑癌基因, 它的表达产物半衰期短, 无法用免疫组织化学法检测。而突变型p53基因则失去抑癌作用, 导致细胞转化和癌变, 促进肿瘤发生; 它的表达产物半衰期长, 因此临床上检测的都是突变型p53蛋白。突变型p53基因在乳腺癌发生、发展及预后评估中起重要作用, 检测其表达情况可作为乳腺癌重要的预后标记物和预测因子<sup>[3-5]</sup>。

本研究结果显示: p53在TNBC组织中的表达明显高于NTNBC, 这与文献[6]报道一致。同时我

们还发现p53表达阳性与肿瘤大小、TNM分期及组织学分级有关(均 $P < 0.05$ ), 说明p53表达阳性的TNBC肿瘤细胞增殖活力强、分化差、侵袭性强。Chae等<sup>[7]</sup>报道过, 在TNBC组织中, p53表达阳性患者的OS显著低于阴性表达, 与本研究一致。此外, Cox回归多因素分析显示: p53是导致TNBC患者死亡的独立危险因素, p53阳性患者死亡风险是p53阴性患者的3.013倍, 提示p53高表达的TNBC患者预后不良。因此, p53在TNBC的进展、浸润和侵袭转移过程中发挥一定作用, 可以作为判断TNBC预后的一个重要因素。

Ki-67是一种增殖细胞相关的核抗原, 是目前临床上应用较为广泛的细胞增殖活性标志物<sup>[8]</sup>。研究<sup>[9]</sup>表明: Ki-67表达能可靠反映恶性肿瘤的增殖率, 与多种恶性肿瘤发生、发展及转归有关。而在2011年St.Gallen国际乳腺癌会议上, 采用了Ki-67进行乳腺癌近似分子分型。

研究<sup>[10-11]</sup>发现: Ki-67在TNBC组织中表达高于NTNBC, 是判断TNBC恶性程度的指标之一, 与本报道一致。本研究结果示: Ki-67表达阳性与TNM分期、淋巴结转移有关(均 $P < 0.05$ ), 提示TNBC肿瘤细胞增殖程度高, 具有更强的侵袭能力, 更易于发生肿瘤转移, 预后差。Ricciardi等<sup>[12]</sup>报道: 在TNBC组织中, Ki-67表达阳性患者的OS显著低于阴性, 与本研究相符。此外, Cox回归多因素分析显示: Ki-67是导致TNBC患者死亡的最主要危险因素, Ki-67阳性患者死亡风险是Ki-67阴性患者的8.348倍。这也进一步说明了Ki-67是一种不良预测因子, 可作为TNBC的预后指标。

E-cadherin是一种跨膜蛋白, 介导细胞之间黏附作用的一类重要分子, 维持上皮细胞间的紧密连接、极性和稳定性。研究<sup>[13]</sup>发现: 约70%的原发性乳腺肿瘤中存在E-cadherin蛋白表达减少。E-cadherin下调促使上皮间质化的发生, 进而引起肿瘤转移<sup>[14]</sup>。研究<sup>[15]</sup>表明: E-cadherin在肿瘤转移过程中发挥重要作用, 其表达下调会使肿瘤细胞不受控制的增殖和去分化, 从而促使肿瘤细胞转移, 与不良预后明显相关。

本文结果显示: TNBC组织中E-cadherin存在较高的缺失表达, 这与Mahler-Araujo等<sup>[16]</sup>文献相符。此外, TNBC组织中E-cadherin表达阳性与肿瘤大小、TNM分期及淋巴结转移有关(均 $P < 0.05$ ), 说明E-cadherin低表达会使肿瘤细胞接触抑制, 使肿瘤细胞迁移和运动能力增强, 从而表现出了较强的侵袭和转移能力, 预后较差。本研究还发现TNBC组织中E-cadherin表达阳性患者

的预后明显较阴性患者好, 这与Tang等<sup>[17]</sup>文献相符。Cox回归多因素分析显示: E-cadherin的率比(HR)值为0.157( $< 1$ ), E-cadherin是TNBC患者的保护因素, 说明E-cadherin表达减少与TNBC预后差相关, 进一步证实E-cadherin有望成为TNBC预后因子。

综上所述, p53, Ki-67在TNBC中高表达, 其表达阳性者预后差, E-cadherin在TNBC中低表达, 表达阳性者预后良好。联合检测p53, Ki-67和E-cadherin预后相关变量在TNBC中的表达, 对判断TNBC患者的预后具有重要意义。

## 参考文献

1. Forouzanfar MH, Foreman KJ, Delossantos AM, et al. Breast and cervical cancer in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis[J]. *Lancet*, 2011, 378(9801): 1461-1484.
2. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(20): 1938-1948.
3. Jin M S, Park IA, Ji YK, et al. New insight on the biological role of p53 protein as a tumor suppressor: re-evaluation of its clinical significance in triple-negative breast cancer[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(8): 11017-11024.
4. Payandeh M, Sadeghi M, Sadeghi E, et al. Expression of p53 breast cancer in Kurdish women in the west of Iran: a reverse correlation with lymph node metastasis[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(3): 1261-1264.
5. Pires MM, Hopkins BD, Saal LH, et al. Alterations of EGFR, p53 and PTEN that mimic changes found in basal-like breast cancer promote transformation of human mammary epithelial cells[J]. *Cancer Biol Ther*, 2013, 14(3): 246-253.
6. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, et al. Prognostic markers in triple-negative breast cancer[J]. *Cancer*, 2007, 109(1): 25-32.
7. Chae BJ, Bae JS, Lee A, et al. p53 as a specific prognostic factor in triple-negative breast cancer[J]. *Jpn J Clin Oncol* 2009, 39(4): 217-224.
8. Peng G, Wang Y, Liu G, et al. New insight into Ki67 expression at the invasive front in breast cancer[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e54912.
9. Wang W, Wu J, Zhang P, et al. Prognostic and predictive value of Ki-67 in triple-negative breast cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(21): 31079-31087.
10. Han JS, Cao D, Molberg KH, et al. Hormone receptor status rather than HER2 status is significantly associated with increased Ki-67 and p53 expression in triple-negative breast carcinomas, and high expression of Ki-67 but not p53 is significantly associated with axillary nodal metastasis in triple-negative and high-grade non-triple-negative breast carcinomas[J]. *Am J Clin Pathol*, 2011, 135(2): 230-237.

11. Li H, Han X, Liu Y, et al. Ki67 as a predictor of poor prognosis in patients with triple-negative breast cancer[J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(1): 149-152.
12. Ricciardi GR, Adamo B, Ieni A, et al. Androgen receptor (AR), E-cadherin, and Ki-67 as emerging targets and novel prognostic markers in triple-negative breast cancer (TNBC) patients[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0128368.
13. Rajeev S, Patil VW, Jaiswal SR, et al. E-Cadherin as a diagnostic biomarker in breast cancer[J]. *N Am J Med Sci*, 2011, 3(5): 227-233.
14. Chao YL, Shepard CR, Wells A. Breast carcinoma cells re-express E-cadherin during mesenchymal to epithelial reverting transition[J]. *Mol Cancer*, 2010, 9: 179.
15. Heerboth S, Housman G, Leary M, et al. EMT and tumor metastasis[J]. *Clin Transl Med*, 2015, 4: 6.
16. Mahler-Araujo B, Savage K, Parry S, et al. Reduction of E-cadherin expression is associated with non-lobular breast carcinomas of basal-like and triple negative phenotype[J]. *J Clin Pathol*, 2008, 61(5): 615-620.
17. Tang D, Xu S, Zhang Q, et al. The expression and clinical significance of the androgen receptor and E-cadherin in triple-negative breast cancer[J]. *Med Oncol*, 2012, 29(2): 526-533.

**本文引用:** 雷珍, 钟锡明, 周岐, 范钰. p53, Ki-67及E-钙黏蛋白在三阴性乳腺癌中的表达及预后[J]. *临床与病理杂志*, 2017, 37(2): 308-314. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.02.015

**Cite this article as:** LEI Zhen, ZHONG Ximing, ZHOU Qi, FAN Yu. Expression and prognosis of p53, Ki-67 and E-cadherin in triple negative breast cancer[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2017, 37(2): 308-314. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.02.015