

◇ 临床医学研究 ◇

ER- β 在骨转移为首发的非小细胞肺癌中的表达罗会芹¹, 何义富^{1,2}, 姚艺玮¹, 闫滢², 吴书胜², 胡小秀², 柯丽红², 牛佳郁², 李慧敏², 胡冰¹, 季楚舒¹

摘要 目的 检测分析骨转移为首发的非小细胞肺癌中 ER- β 的表达, 分析其与临床预后相关性。方法 应用免疫组织化学方法检测经病理证实骨转移为首发的非小细胞肺癌肿瘤组织标本中 ER- β 的表达, 利用 χ^2 检验检测组间表达差异, 生存率单因素采用 Kaplan-Meier 法及 Log-rank 方法分析, 多因素采用 COX 回归模型进行分析。结果 46 例骨转移为首发的非小细胞肺癌中 ER- β 总阳性 78.3%, χ^2 检验未见性别、年龄、病理类型、骨转移灶数目、有无骨外其他部位转移、ALK 及 CEA 影响 ER- β 表达, 各组阳性率差异无统计学意义。多因素分析显示 ER- β 为影响该类患者预后的独立影响因素 ($P=0.035$), 单因素分析可见 ER- β 阳性表达组的生存时间明显长于阴性表达组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。另外 ER- β 阳性表达时腺癌、单发骨转移患者能获得较长的生存时间, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 骨转移为首发的非小细胞肺癌 ER- β 表达阳性率高, ER- β 阳性表达的患者预后明显好于阴性患者, 且其可能为影响患者预后的独立影响因素, ER- β 的阳性表达可能与腺癌及单发骨转移患者的预后相关。

关键词 骨转移癌; 非小细胞肺癌; ER- β

中图分类号 R 734.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2015)01-0062-04

乳腺癌是激素依赖性肿瘤, 有研究者提出非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 也是激素依赖性肿瘤, 并发现肺癌组织中存在雌激素受体 (estrogen receptor, ER) [1]。ER 位于核或胞质内, 与雌激素结合即形成二聚体, 通过与靶基因中的雌激素反应元件特异性结合刺激靶基因转录, 从而促进细胞增殖和分化 [2]。进一步文献 [3] 报道肺癌组织中的 ER 包括雌激素受体- α (estrogen receptor- α , ER- α) 和雌激素受体- β (estrogen receptor- β ,

ER- β) 主要为 ER- β 。有报道 [4-5] 显示 NSCLC 组织中 ER- β 阳性表达约 45% ~ 69%, 且其与肺癌患者的预后密切相关。临床发现肿瘤组织雌激素受体阳性表达与骨转移癌之间密切相关 [6]。但目前国内外尚未见骨转移为首发的 NSCLC 中 ER- β 表达及其与预后的相关性报道。该研究收集以骨转移为首表现的 NSCLC 46 例患者资料, 就此类患者的 ER- β 表达及其与患者的预后关系加以分析, 以期为临床治疗以及预后提供一定的参考。

1 材料与方法**1.1 材料**

1.1.1 病例资料 收集 2010 年 8 月 ~ 2012 年 8 月以骨转移为首表现的 NSCLC 57 例患者资料, 来自安徽医科大学附属省立医院 41 例, 安徽省肿瘤医院 16 例, 资料不完整 6 例, 拒绝治疗 5 例, 不计入分析, 故 46 例患者纳入本组分析, 年龄 46 ~ 66 岁, 中位年龄 58 岁, 男女比例 2 : 1 (31 : 15), 腺癌 33 例, 鳞癌 13 例。患者均经肺穿刺活检、骨活检或其他转移部位活检取病理明确诊断。

1.1.2 骨转移癌的诊断 ① 病理诊断: 骨转移部位取组织活检经病理学明确诊断, 共 14 例。② 影像学诊断: 骨扫描提示多发骨转移; 骨扫描阳性同时经 CT、MRI 或 X 线任一证实; 骨扫描阳性同时有临床症状, 如局部疼痛或压痛、病理性骨折、截瘫者; PET-CT 提示骨转移者。符合以上其中 1 条即诊断为骨转移癌, 共 46 例。③ 病理及影像学均支持诊断, 共 14 例。

1.2 治疗 所有患者均接受至少 2 个疗程的铂类药物为基础化疗, 一线化疗方案为: 吉西他滨或紫杉醇或长春瑞滨联合铂类, 分别为 12、17、17 例。其中 3 例患者一线联合使用重组人血管内皮抑素治疗。在化疗基础上所有患者均接受双磷酸盐抗骨破坏治疗至少 1 次, 有疼痛患者, 接受镇痛治疗, 包括药物及局部姑息性放疗镇痛, 部分患者至外科行局部固定术。

1.3 免疫组织化学方法 将石蜡包埋的癌组织切

2014-09-18 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金 (编号: 1408085MH179); 安徽省卫生厅医学科研课题 (编号: 13zc012)

作者单位: ¹安徽医科大学附属省立医院肿瘤科, 合肥 230001

²安徽省肿瘤医院肿瘤内科, 合肥 230001

作者简介: 罗会芹, 女, 硕士研究生;

何义富, 男, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 责任作者,

E-mail: heyifu@csc.org.cn

片,厚4 μm,常规脱蜡 60 °C 烤箱 2 h 修复,利用全自动免疫组化仪进行免疫组织化学染色。ER-β 试剂盒购自北京博奥森生物有限公司,以细胞核或胞质出现典型棕黄色颗粒为阳性,每次试验均设立阳性与阴性对照组,ER-β 采用阳性的卵巢癌切片作为阳性对照组,PBS 代替一抗作为阴性对照组。

1.4 随访方法 采用电话、信件及门诊的形式随访,生存期自确诊肺癌骨转移日期开始计算至死亡日期为止。如出现中途失访、死于其他原因、随访截止则定义为截尾数据。生存时间以天表示,中位随访时间为 24.0 个月(3.0 ~ 36.0 个月)。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 16.0 统计软件进行分析,采用 χ^2 检验检测组间 ER-β 表达的差异,单因素分析采用 Kaplan-Meier 及 Log-rank 方法,多因素分析采用 COX 回归模型。

2 结果

2.1 免疫组织化学结果 ER-β 阳性定位于肿瘤细胞质。见图 1。ER-β 的总阳性率为 78.3%, χ^2 检验未见各组间 ER-β 阳性率表达差异有统计学意义。见表 1。

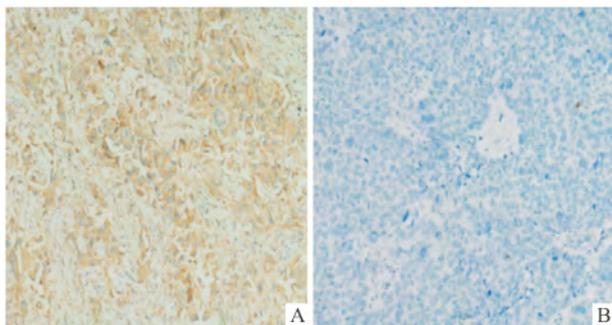


图 1 骨转移为首发症状非小细胞肺癌肿瘤组织中 ER-β 的表达 ×200

A: ER-β 阴性表达; B: ER-β 阳性表达,细胞质内黄色颗粒状染色

2.2 ER-β 的表达与临床特征及预后的关系 多因素分析显示 ER-β 可能为影响该类患者预后的独立影响因素($P < 0.05$),见表 2。单因素分析可见 ER-β 阳性表达组的生存时间明显长于阴性表达组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 2。另外 ER-β 阳性表达可能使腺癌($P < 0.05$)、单发骨转移($P < 0.05$)患者获得较长的生存时间。见表 3。

3 讨论

目前发现的雌激素亚型有 3 种,分别为 ER-α、

表 1 46 例骨转移为首发的 NSCLC 中 ER-β 表达率[n(%)]

临床特点	n	ER-β(+)		P 值	χ^2 值
		n	%		
年龄(岁)					
≥60	19	15	(78.9)	1.000	0.000
<60	27	21	(77.8)		
性别					
男	31	23	(74.2)	0.562	0.337
女	15	13	(86.7)		
吸烟					
是	23	19	(82.6)	0.721	0.128
否	23	17	(73.9)		
病理类型					
腺癌	33	27	(81.8)	0.593	0.286
鳞癌	13	9	(69.2)		
骨转移灶数目					
单发	7	6	(85.7)	0.983	0.000
多发	39	30	(76.9)		
其他部位转移					
无	17	13	(76.4)	1.000	0.000
有	29	23	(79.3)		
ALK(U/L)					
>150	12	11	(91.7)	0.367	0.815
≤150	34	25	(73.5)		
CEA(ng/L)					
>5	34	28	(82.4)	0.468	0.526
≤5	12	8	(66.7)		

表 2 46 例骨转移为首发的 NSCLC 预后多因素分析

预后因素	β 值	χ^2 值	95% CI	RR 值	P 值
病理类型	1.238	5.250	1.196 ~ 9.943	3.449	0.022
骨转移灶数目	1.422	5.802	1.303 ~ 13.186	4.146	0.016
ER-β	-0.925	4.425	0.167 ~ 0.939	0.396	0.035

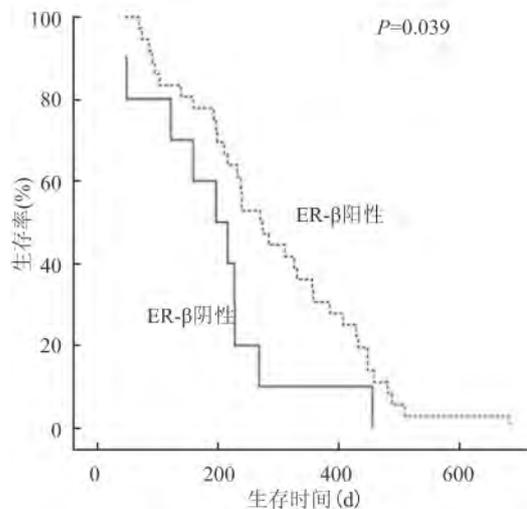


图 2 ER-β 阳性表达与阴性表达组的生存曲线

ER-β、ER-γ,ER-β 主要分布于卵巢、雄性生殖器官、中枢神经系统中,以卵巢表达水平最高。目前研

表3 ER-β 阳性表达的骨转移为首发的 NSCLC 患者 OS 单因素分析

项目	n	中位 OS(d)	95% CI	P 值
性别				
男	23	269	163 ~ 375	0.855
女	13	273	170 ~ 376	
年龄(岁)				
≥60	15	273	162 ~ 384	0.219
<60	21	238	160 ~ 316	
吸烟				
是	19	310	186 ~ 434	0.281
否	17	238	143 ~ 333	
病理类型				
腺癌	27	310	222 ~ 398	0.009
鳞癌	9	138	33 ~ 243	
骨转移灶数目				
单发	6	428	339 ~ 517	0.026
多发	30	237	206 ~ 268	
骨外其他部位转移				
有	23	238	198 ~ 278	0.530
无	13	355	214 ~ 496	
ALK(U/L)				
>150	11	238	214 ~ 262	0.385
≤150	25	283	145 ~ 421	
CEA(ng/L)				
>5	28	273	191 ~ 355	0.207
≤5	8	237	55 ~ 419	

究^[7]已表明 ER-β 在乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌及肺癌的发生、发展中起着重要作用。近些年有研究^[8]显示肺癌组织的 ER-β 有较高的阳性表达,且与预后密切相关。

本研究显示 ER-β 的表达在骨转移为首发的 NSCLC 阳性率高达 78.3%,较既往报道^[5]的肺癌 ER-β 阳性表达 45% ~ 69% 明显高出。由此推测 ER-β 高表达的肺癌患者可能更易发生骨转移。该组分析可见 ER-β 的表达与肺癌患者的年龄、性别、病理类型、骨转移灶数目、有无骨外其他部位转移及血清 ALK、CEA 升高与否无相关性,差异无统计学意义。这与 Navaratnam et al^[9]报道基本一致。

ER 在乳腺癌组织的表达及其预测预后的积极作用已被临床广泛认可。研究^[10]发现 ER-β 高表达的乳腺癌患者预后较差,然而该组分析发现 ER-β 阳性表达组的生存时间明显长于阴性表达组,差异有统计学意义,且 ER-β 与骨转移灶数目及病理类型同为骨转移为首发症状 NSCLC 患者的独立预后影响因素。究其原因可能是 ER-β 和表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor ,EGFR) 的表达呈负相关,而 EGFR 阳性表达是 NSCLC 的不良预后因素^[11-12]。故猜想在骨转移为首发症状 NSCLC 中

ER-β 抑制了 EGFR 的表达,从而决定了较好的预后。但具体仍需试验进一步验证。此外 ER-β 的表达可能与肿瘤分化程度相关,分化程度越高,ER 阳性表达率越高,从而决定了较好的预后。更甚者认为 ER-β 阴性表达 NSCLC 患者即使处于临床早期仍属于高风险人群^[13]。故临床上可利用检测 ER-β 的表达判断骨转移为首发的 NSCLC 治疗效果及预后。

目前乳腺癌的雌激素治疗已广泛应用于临床,且取得了较好的效果。骨转移为首发的 NSCLC 就诊时已处于临床晚期,无手术时机,预后差。该组中位生存时间仅 237 d,传统的治疗多是铂类为基础的化疗联合支持治疗,但疗效均欠佳,主要原因是肿瘤细胞对化疗易产生耐药。内分泌治疗可能通过改变激素依赖性肿瘤生长所需的内分泌微环境,促使肿瘤细胞增殖停滞于 G₀/G₁ 期,从而使疾病得到缓解。同时还可作为化疗的多药耐药调节剂,具有化疗增敏、逆转耐药作用。国际肺癌联盟的一项来自多中心的研究^[14]显示口服避孕药或接受雌激素或雌、孕激素联合治疗的肺癌患者风险显著下降。三苯氧胺是 ER 阳性表达的乳腺癌患者最常见的激素治疗药物,近些年逐渐被应用于 NSCLC 的治疗。其目前主要是通过与传统化疗药物或靶向药物联合治疗肺癌实现抗肿瘤作用,例如三苯氧胺联合盐酸埃克替尼可明显增加 NSCLC 的化疗疗效^[15]。故可认为雌激素受体联合化疗可显著提高化疗疗效,增加患者耐受性,从而延长生存时间。

综上所述,ER-β 在骨转移为首发 NSCLC 中表达率高,且和患者预后密切相关,ER-β 阳性表达患者生存期明显延长,故 ER-β 可作为预后指标指导临床医师评估患者病情。关于 ER-β 的表达及肺癌的内分泌治疗疗效值得临床进一步探索分析。因本组样本量较少,故分析存在局限性,仍需扩大样本进一步研究。

参考文献

[1] Beattie C W , Hansen N W , Thomas P A. Steroid receptors in human lung cancer[J]. Cancer Res , 1985 , 45(9) : 4206 - 14.
 [2] Burek M , Steinberg K , Förster C Y. Mechanisms of transcriptional activation of the mouse claudin-5 promoter by estrogen receptor alpha and beta[J]. Mol Cell Endocrinol , 2014 , 392(1-2) : 144 - 51.
 [3] Siegfried J M , Stabile L P. Estrogenic steroid hormones in lung cancer[C]//Seminars in oncology. WB Saunders , 2014 , 41(1) :

- 5 – 16.
- [4] Atmaca A , AI-Batran S E , Wirtz R M , et al. The validation of estrogen receptor 1 mRNA expression as a predictor of outcome in patients with metastatic non-small cell lung cancer [J]. *Int J Cancer* ,2014 , 134(10) : 2314 – 21.
- [5] Siegfried J M , Hershberger P A , Stabile L P. Estrogen receptor signaling in lung cancer [C]//*Seminars in oncology*. WB Saunders ,2009 , 36(6) : 524 – 31.
- [6] Chen L , Zhang Z , Qiu J , et al. Chaperonin CCT-mediated AIB1 folding promotes the growth of ER α -positive breast cancer cells on hard substrates [J]. *PLoS One* ,2014 , 9(5) : e96085.
- [7] Bogush T A , Dudko E A , Beme A A , et al. Estrogen receptor expression in tumors different from breast cancer [J]. *Antibiot Khimioter* ,2009 , 54(7 – 8) : 41 – 9.
- [8] Monica V , Longo M , Felice B , et al. Role of hormone receptor expression in patients with advanced-stage lung cancer treated with chemotherapy [J]. *Clin Lung Cancer* ,2012 , 13(6) : 416 – 23.
- [9] Navaratnam S , Skliris G , Qing G , et al. Differential role of estrogen receptor beta in early versus metastatic non-small cell lung cancer [J]. *Horm Cancer* ,2012 , 3(3) : 93 – 100.
- [10] Rizza P , Barone I , Zito D , et al. Estrogen receptor beta as a novel target of androgen receptor action in breast cancer cell lines [J]. *Breast Cancer Res* ,2014 , 16(1) : R2.
- [11] Marotti J D , Collins L C , Hu R , et al. Estrogen receptor-beta expression in invasive breast cancer in relation to molecular phenotype: results from the Nurses' Health Study [J]. *Mod Pathol* , 2010 , 23(2) : 197 – 204.
- [12] Kozłowski M , Laudafiski W , Mroczko B , et al. Serum tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1) and vascular endothelial growth factor A(VEGF-A) are associated with prognosis in esophageal cancer patients [J]. *Adv Med Sci* ,2013 , 18: 1 – 8.
- [13] Kawai H , Ishii A , Washiya K , et al. Estrogen receptor alpha and beta are prognostic factors in non-small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res* ,2005 , 11(14) : 5084 – 9.
- [14] Pesatori A C , Carugno M , Consonni D , et al. Hormone use and risk for lung cancer: a pooled analysis from the International Lung Cancer Consortium (ILCCO) [J]. *Br J Cancer* ,2013 , 109(7) : 1954 – 64.
- [15] Ko J C , Chiu H C , Syu J J , et al. Tamoxifen enhances erlotinib-induced cytotoxicity through down-regulating AKT-mediated thymidine phosphorylase expression in human non-small-cell lung cancer cells [J]. *Biochemical pharmacology* ,2014 , 88(1) : 119 – 27.

The expression of ER- β in NSCLC with symptoms of bone metastases at time of diagnosis

Luo Huiqin¹ , He Yifu^{1 2} , Yao Yiwei¹ , et al

(¹Dept of Medical Oncology , The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University , Hefei 230001;

²Dept of Medical Oncology , Anhui Provincial Cancer Hospital , Hefei 230001)

Abstract Objective To analyze the relationship between ER- β and clinical prognosis by detecting its expression in NSCLC with symptoms of bone metastases at the time of diagnosis. **Methods** The expression of ER- β in tissues was investigated by immunohistochemistry. The differences between groups were analyzed by chi-square test. The survival rates were calculated using the Kaplan-Meier method. The log-rank method was used for univariate analysis , and the Cox regression model was used for multivariate analysis. **Results** The positive percentage of ER- β expressed in 46 NSCLC patients with bone metastases at the time of diagnosis was 78.3%. The expression of ER- β had no difference among groups of sex , age , tumor subtype , number of bone metastases , more than one bone metastasis , ALK , CEA. Chi-square test did not find statistical differences of ER- β expression among groups. Multivariate analysis showed that ER- β was an independent predictor of overall survival (OS) ($P=0.035$). Univariate analysis showed that the patients who had ER- β positive expression had longer survival time ($P<0.05$). The patients with lung adenocarcinoma or NSCLC with single bone metastasis who present with ER- β positive expression had a significant superior survival rate to ER- β negative expression patients ($P<0.05$). **Conclusion** Higher expression of ER- β was found in NSCLC patients with bone metastases at time of diagnosis. The patients with ER- β positive expression have a favorable prognosis , and it may be an independent prognosis predictor of these patients. In addition , ER- β positive expression may be closely related with OS of NSCLC patients who have single bone metastasis or adenocarcinoma.

Key words bone metastasis; NSCLC; ER- β