·临床研究·

血浆 uPA、uPAR 在乳腺癌分子亚型中的表达及临床意义 *

石 静 鞠 放 清水汪 冯 丹 颜 芳 王 宁 王雅杰△

（上海第二军医大学附属长海医院肿瘤科 上海 200433）

摘要 目的：探讨血浆 uPA、uPAR 在不同分子亚型乳腺癌中的表达水平及其对乳腺癌患者治疗、预后等的临床意义。方法：采用免疫组化 ELISA 方法测定的女性乳腺癌初治患者 86 例的血浆 uPA、uPAR 水平，所有患者均经组织病理学确诊，以患者的临床病理学资料提供的免疫组化结果为基础进行分子分型，结合二者进行分析。结果：血浆 uPA 在乳腺癌不同分子亚型中表达有统计学差异 (P<0.01)，uPAR 在乳腺癌不同分子亚型中表达有统计学差异 (P<0.05)；乳腺癌患者血浆 uPA 和 uPAR 呈显著正相关（P<0.01，Pearson 相关系数 r=0.735）。结论：乳腺癌患者血浆 uPA 和 uPAR 的水平与分子亚型密切相关，他们和分子亚型联合，可能对乳腺癌个体化治疗及判定预后有指导意义。

关键词：乳腺癌；uPA；uPAR；分子亚型

中图分类号：R737.9 文献标识码：A 文章编号：1673-6273（2011）21-4058-03

The Clinical Significance of the Measuring the Plasma Level of uPA, uPAR in the Molecular Subtypes of Breast Carcinoma*

SHI Jing, JU Fang, QING Shui-wang, WANG Ning, FENG Dan, WANG Ya-jie△

(Department of Oncology, Changhai Hospital of the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT Objective: To study the clinical significance of the plasma levels of uPA, uPAR in the molecular subtypes of breast carcinoma. Methods: Using ELISA method. Measuring the plasma levels of uPA, uPAR of 84 female inpatients with breast carcinoma, All patients visited a doctor for the first time. Results: The plasma levels of uPA, uPAR in the molecular subtypes of breast carcinoma are different (P<0.05). The plasma levels of uPA have a hingh relation with uPAR in breast carcinoma (P<0.01,r=0.735.) Conclusion: The plasma levels of uPA, uPAR in the patients with breast carcinoma were corelated with the molecular subtypes. Combined the detection of the plasma levels of uPA, uPAR whith the molecular subtypes may heplefull for the individualized treatment and estimating prognosis.

Key words: Breast carcinoma; uPA; uPAR; Molecular subtypes

Chinese Library Classification(CLC): R737.9 Document code: A

Article ID:1673-6273(2011)21-4058-03

前言

尿激酶型纤溶酶原激活剂与受体(uPA，uPAR)及其抑制剂(PAIs)能激活多种蛋白溶解酶，降解细胞外基质、基底膜促进肿瘤浸润、转移，并认为可能与乳腺癌的治疗及预后有关。众所周知，目前乳腺癌分子亚型尚没有明确的概念，但它在乳腺癌中的意义已得到广泛认同。不同分子亚型的乳腺癌，其侵袭、转移等的分子机制不尽相同，那么血浆 uPA、uPAR 与乳腺癌不同分子亚型是否有相关性?相关研究并不多，仅有激素受体（ER、PR）、Her-2 各自的表达状态与 uPA、PAR 的表达之间的关系。

本研究参照 Perou 和 Carey LA[1]等的研究以免疫组化法为基础将乳腺癌分为四个主要亚型：ER 和（或）PR 阳性且 Her-2 阴性定义为乳腺导管上皮腔内 A 型（luminal A 型),ER 和（或）PR 阳性且 Her-2 阳性定义为乳腺导管上皮腔内 B 型(Luminal B 型)，ER、PR 及 Her-2 均阴性定义为基底细胞型(basal-like 型),Her-2 阳性但 ER、PR 阴性定义为 Her-2 阳性型(Her-2+ / ER- 型）。所有患者 ER、PR、Her-2 表达状态的检测均为病理科采用免疫组化方法而得。通过研究不同分子亚型乳腺癌和不同 ER、PR、Her-2 表达状态下血浆 uPA、uPAR 的表达情况，进一步探讨乳腺癌侵袭和转移的病理机制，以期为乳腺癌个体化治疗提供新的思路。

1 对象和方法

1.1 研究对象

选取 2009 年 7 月 -2010 年 10 月在第二军医大学长海医院经组织病理学确诊的原发性乳腺癌患者 86 例，均为女性，年龄 29-72 岁，平均年龄 50 岁，临床资料齐全，2 周内均未接受抗凝及溶栓治疗。所有患者均未接受放疗、化疗及内分泌治疗。所有入组患者组织学分级参照改良 Bloom 分级标准，TNM 分期参照 AJCC 乳腺癌 TNM 分期标准。

* 基金项目：上海市科学技术委员会科研技划资助项目（06DZ19505）；上海市卫生局科研计划项目（2009113）

作者简介：石静，女，硕士研究生，主要研究方向：乳腺癌

△通讯作者：王雅杰，电子邮箱：yajiewa0459@163.com

(收稿日期：2011-03-16 接受日期：2011-04-10)

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.2 实验方法和试剂

晨间采集入组患者空腹静脉血 5 ml，放人含 0.109 mol / L 枸橼酸钠抗凝管中，混匀，3000 转 / 秒离心 15 分钟，分离血浆，提取上清液置于离心管中，保存于 -80 冰箱，待测。血浆 uPA、uPAR 的检测方法采用免疫组化 ELISA 方法。试剂盒为美国 GBD 公司生产，由恒远公司提供，具体试验操作严格按照说明书进行。

1.3 统计学处理

应用 SPSS13．0 统计软件进行数据处理分析，计量资料以均数± 标准差($\bar{x}$± s)表示。两组间均数比较采用 t 检验；多组均数之间比较采用 ANOVA 方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验，以 P<0.05 为有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌血浆中 uPA 和 uPAR 的浓度与激素受体(ER、PR)及 Her-2 表达状态的关系

ER 表达阳性乳腺癌患者，血浆 uPA、uPAR 浓度值高于 ER 表达阴性者，差异均有统计学意义(P<0.05)。不同 PR 表达状态的乳腺癌患者血浆 uPA、uPAR 水平无统计学差异(P>0.05)。Her-2 阳性的乳腺癌患者，血浆 uPA、uPAR 水平高于 Her-2 阴性患者，差异有统计学差异(P<0.05)。如表 1。

表 1 不同 ER、PR 和 HER-2 状态与血浆 uPA 及 uPAR 水平的关系($\bar{x}$± s) pg/ml

Table1 The relationship between ER/PR/Her-2 and the serum lever of uPA /uPAR ($\bar{x}$± s) ng/ml

组别(Group)	例数(n)	uPA	P	uPAR	P
ERv					
阳性(+)	51	707.70± 143.38		2307.09± 369.57	
阴性(-)	35	631.60± 128.47	<0.05	2172.01± 241.83	<0.05
PR					
阳性(+)	40	706.84± 133.38		2261.76± 300.16	
阴性(-)	46	650.55± 145.12	>0.05	2158.96± 240.68	>0.05
HER-2					
阳性(+)	45	702.54± 137.20		2275.29± 314.47	
阴性(-)	41	628.90± 124.05	<0.05	2146.21± 225.26	<0.05

2.2 乳腺癌血浆中 uPA 和 uPAR 的水平与乳腺癌不同分子亚型的关系

不同分子亚型的乳腺癌，血浆 uPA 水平不同，差异均有统计学意义(P<0.01)，两两比较发现血浆 uPA 水平在 LiminalA 型与有 LiminalB 型有统计学差异（P<0.01），在 LiminalB 与基底型间有统计学差异（P<0.01），余未发现有统计学差异。血浆 uPAR 在不同分子亚型乳腺癌中水平也有统计学差异(F=3.96，P<0.05)。两两比较发现血浆 uPAR 水平在 LiminalA 型与有 LiminalB 型有统计学差异（P<0.05），在 LiminalB 与基底型间有统计学差异（P<0.01），余未发现有统计学差异。如表 2。

表 2 不同分子亚型与血浆 uPA 及 uPAR 水平的关系($\bar{x}$± s) pg/ml

Table2 The relationship between molecule subtypes and the serum lever of uPA /uPAR ($\bar{x}$± s) ng/ml

分子亚型（Molecule subtype）	例数(n)	uPA	P	uPAR	P
LiminalA	27	591.94± 93.85		1915.84± 355.02	
LiminalB	30	667.24± 83.77		2149.38± 462.44	
Basal-like	15	569.71± 90.387		1976.19± 355.02	
Her-2（+）	14	617.39± 71.48	<0.01	1976.19± 226.32	<0.05

2.3 乳腺癌血浆中 uPA 和 uPAR 表达水平的相关性

乳腺癌患者血浆中 uPA 的水平为 641.73± 128.13pg/ml，血浆 uPAR 的水平为 2212.59± 470.82pg/ml，二者浓度水平差异有统计学意义（P<0.01），并且呈显著正相关（Pearson 相关系数 r=0.735）。如表 3

表 3 uPA 和 uPAR 在乳腺癌血浆中相关性($\bar{x}$± s) ng/ml

组别(Group)	水平(Concentration)	r	P
uPA	641.73± 128.13		
uPAR	2212.59± 470.82	0.735	<0.01

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3 讨论

乳腺癌的发生、发展是一个多因素、多步骤的复杂过程，尿激酶型纤溶酶原激活物(Umkinase Plasminnogen Actirator_uPA)系统作为主要的蛋白降解系统在其侵袭、转移过程中起着重要作用。此系统包括：尿激酶型纤溶酶原激活物 UPA，尿激酶纤溶酶原激活物受体 uPAR，及尿激酶纤溶酶原激活物抑制剂 PAI-1、PAI-2，PAI-3 等。肿瘤细胞分泌的无活性尿激酶原(pro-uPA)与 uPAR 结合后转变成有活性的 uPA，后者激活结合在细胞表面的纤溶酶原，使其转化为纤溶酶。另外，uPA 和 uPAR 结合形成的复合体，与玻璃体结合蛋白(VN)结合，调节 uPAR 与整合素间的相互作用，从而激发细胞内信号传导级联，促进前导区粘附，刺激细胞迁移[2]；同时，uPA 在细胞尾部促进纤溶酶原(PG)转化成为纤溶酶(PL)，进而促进迁移细胞尾部 ECM 蛋白和细胞表面粘附受体降解，导致细胞尾部的回缩[3]。研究还发现，uPAR 与 uPA 结合形成的复合物可激发 PL 以及依赖 PL 激活的 MMPs 的产生[4,5]，使肿瘤细胞从迁移发展到侵袭。该过程受到 PAI-1、PAI-2、PAI-3 及一系列生长因子的调节[6]。近年已证实，乳腺癌患者血浆 uPA、uPAR 的水平较正常人明显增高。许多研究发现血浆 uPA、uPAR 高表达与乳腺癌的转移及预后不良正相关，并与乳腺癌化疗和内分泌等特殊治疗疗效相关。

我们的实验利用 ELASI 法对 86 位乳腺癌患者血浆中 uPA、uPAR 的表达与 ER、PR、Her-2、分子亚型的相关性进行研究，发现血浆 uPA、uPAR 表达水平低者，其 ER 表达状态越倾向于阴性，未发现 PR 不同表达状态下 uPA、uPAR 浓度有统计学差异，Her-2 阳性的乳腺癌患者，血浆中 uPA、uPAR 浓度值明显高于 Her2 阴性者，差异有统计学意义，Her-2 阳性的乳腺癌患者，血浆中 uPA、uPAR 浓度值明显高于 Her2 阴性者，差异有统计学意义。我们的研究结果与 Minisini[7]等研究的结果相似，但我们的实验用 ELASI 法测得，具有选择敏感性强、特异性高的优点。新近研究显示[8,9]，uPAR 的高度表达促进晚期乳腺癌的复发和远处转移，是通过引起 HER2 基因的过度扩增／表达从而放大 HER2 的致肿瘤效应的机制，本研究结果也支持这一结论。但我们的实验是在蛋白质水平测定的，简便易行，更适宜在临床推广应用。PR 表达状态与 uPA、uPAR 的关系目前尚不明确，有实验认为 PR 与 UPA 在乳腺癌组织中的表达呈低度相关，而我们未发现 PR 不同表达状态下 uPA、uPAR 浓度有统计学差异，可能是因为本实验的样本量不够，为明确他们之间的关系，尚需进一步大样本的实验研究。

不同分子亚型的乳腺癌，其生物学特征能及预后有很大不同。既往研究发现[10]：HER2 过表达型及 basal-like 型患者预后差，而 luminal A 型预后较好。这可能与三阴乳腺癌较其他类型显示更高的复发和远处转移率有关。我们的研究发现，虽然 uPA、uPAR 浓度在不同分子亚型中两两比较并不是都有统计学差异，可能与样本量不足有关。但就均数而言，血浆 uPA、uPAR 在 luminal B 型中表达最高，在基底细胞型中表达最低，而以往研究认为血浆 uPA、uPAR 高表达与乳腺癌的转移及预后不良正相关，二者存在矛盾。这说明在三阴乳腺癌中，除了 uPAR，还有更重要的因素影响着肿瘤的转移率及预后，三阴乳腺癌复发、转移的机制尚需进一步研究。另外，乳腺癌分子分型可以分析、预测患者内分泌治疗和新辅助化疗的敏感性及疗效，并可以筛选出适合内分泌治疗及化疗可能获益的患者，以避免一部分乳腺癌患者治疗过度，而 uPA 系统对乳腺癌患者的治疗也有一定预测作用，所以我们考虑检测 uPA、uPAR 联合乳腺癌分子亚型有可能对患者的治疗及判断预后有一定意义。目前，分子亚型尚未统一的定义，本研究的分子亚型是以免疫组化为基础而分的，与利用基因芯片技术的分子分型相比，存在精确性低等缺点，所以本研究的结论需进一步扩大样本来证明。

本实验发现血浆 uPA、uPAR 呈显著正相关，说明 uPA、uPAR 存在协同作用，证明了以往研究的正确性，活性的 uPA 的作用不仅受其自身浓度的影响，且与 uPAR 的密度相关，在乳腺癌的发生及进展中 uPA、uPAR 及 PAI-1 相互调节[11]。

目前，uPA、uPAR 在乳腺癌方面的研究，揭示了 uPA 系统在促进癌细胞侵袭、转移方面的作用，并发现 uPA 系统促进乳腺癌的恶性进展。uPA，uPAR 已作为独立的预后因子在临床上被测定，并可以参与乳腺癌预后的评估及治疗方案的制定，而它们联合分子亚型对乳腺癌患者个体化治疗、预测乳腺癌治疗疗效及预后的意义尚需进一步研究。uPA、uPAR 在靶向治疗方面的作用是目前研究的热点，RNA 干扰、甲基化及一些相关抑制因子可能对乳腺癌的治疗有所帮助。该系统成员还可以通过各种酶学机制及细胞信号通道参与乳腺癌的细胞增殖，肿瘤血管生成等过程，对这些复杂机制的研究尚在进行中。

参 考 文 献(References)

[1] Carey LA, Dees EC, Sawyer L,et a1.The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes [J]. Clin Cancer Res, 2007,133(8):2329-2334

[2] Wei Y, Lukashev M, Simon DI, et a1. Regulation of integrin function by the urokinase receptor[J]. Science, 1996，273(5281)：1551-1555

[3] Andreasen PA, Kjoler I, Christen I, et a1. The urokinase-type plasminogen activator system in cancer metastasis：A review [J]. Int J Cancer, 1997:7221

[4] Huang S, New I Pan ZX, et a1. Urokinase plasminogen activator／urokinase-specific surface receptor expression and matrix invasion by breast cancer cells requires constitutive p382 mitogenactivated protein kinase activity[J]. J Biol Chem, 2000, 275:12266

[5] Pepper MS, Sappino AP, Sticklin R, et a1. Upregulation of urokinase receptor expression on migrating endothelial cells [J]. J Cell Biol, 1993, 122:673

[6] Romer J, Nielsen BS,Ploug M.The urokinase receptor as a potential target in cancer therapy[J]. Curr Pharm Des,2004,10(19):2359-2376

[7] Minisini AM,Fabbro D,Di LC,et al.Markers of the uPA system and commom prognostic factors in breast cancer [J].Am J Clin Pathol, 2007,128(1):112-117

[8] Urban P, Vuaroqueaux V, Labuhn M, et a1. Increased expression of urokinase--type plasminogen activator mRNA determines adverse pROgnosis in ErbB2-positive primary breast cancer [J]. J Clin Oncol, 2006, 24(26)：4245-4253

[9] Meng s, Tripathy D, Shete S, et a1. uPAR and HER-2 gene status in individual breast cancer ceUs from blood and tissues [J]. Proc Nail Acad Sci USA，2006，103(46)：17361-17365

[10] Carey LA, Perou CM, Livasy CA, et a1. Race breast cancer sub-types，and survival in the Camlina Breast Cancer Study [J]. JAMA, 2006, 295 (21)：2492 -2502

[11] Sehroeck F, Arroyo de Prada N, Sped S, et a1. Interaction of plasminogen activator inhibitor type -1(PAl-1) with vitronectin(Vn)：mapping the binding sites on PAI-1 and Vn [J]. Biol Chem, 2002, 383(7): 1143-1149

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net