

MEME KARSİNOMLARINDA c-erbB-2 VE p53'ÜN ÖNEMİ

Dr. Necmettin ÖZDEMİR, Dr. Taner AKALIN, Dr. Özden ÖZ ERSOY, Dr. Metin ÇİRİŞ, Dr. Yıldız ERHAN

ÖZET: Bu çalışmada, aksiller lenf nodu diseksiyonu yapılmış 65 invaziv duktal karsinom (İDK) ve 15 invaziv lobüler karsinom (İLK) olgusunda immunhistokimyasal olarak östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR), p53 ve c-erbB-2 uygulandı. İDK olgularında İLK olgularına göre daha yüksek oranda p53 ($p=0.019$) ve c-erbB-2 ($p=0.003$) pozitifliği saptandı. Lenf nodu metastazı ile ER, PR, p53 ve c-erbB-2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir ilişki saptanmadı. İDK olgularında nükleer derece ile p53 ($>10\%$) ($p=0.023$) ve damar invazyonu ile c-erbB-2 ($>50\%$) ($p=0.029$) arasında ilişki saptandı. Ancak, immunhistokimyasal olarak, p53 ve c-erbB-2'nin prognostik öneminden bahsedebilmek için özellikle uzun süreli hasta takibi olan geniş serilere ihtiyaç vardır. Bir ön çalışma niteliğindeki bu grupta, İDK olguları içinde yüksek oranda c-erbB-2 ($>50\%$) pozitifliği olan olguların uzak metastaz açısından, yüksek riskli bir grup olabileceği düşünüldü.

ANAHTAR KELİMELEER: Meme karsinomu, immunhistokimya, p53, c-erbB-2.

SUMMARY: THE SIGNIFICANCE OF c-erbB-2 AND p53 IN BREAST CARCINOMA: In this study, we performed immunohistochemical staining of estrogen receptors (ER), progesterone receptors (PR), p53 and c-erbB-2 on 65 invasive ductal carcinoma (IDC) and 15 invasive lobular carcinoma (ILC) cases which had axillary lymph node dissection. IDC cases showed more p53 ($p=0.019$) and c-erbB-2 ($p=0.003$) positivity than ILC cases. The relation between lymph node metastases and ER, PR, p53, c-erbB-2 positivity was not statistically significant. In IDC cases there was relation between nuclear grade and p53 positivity ($>10\%$) ($p=0.023$) and between vascular invasion and c-erbB-2 positivity ($>50\%$) ($p=0.029$). But, immunohistochemically, in order to evaluate the prognostic significance of p53 and c-erbB-2, large series with a long follow-up are needed. In this preliminary study group, for IDC cases, high grade c-erbB-2 positive ($>50\%$) cases could carry high risk for distant metastases.

KEY WORDS: Breast carcinoma, immunohistochemistry, p53, c-erbB-2

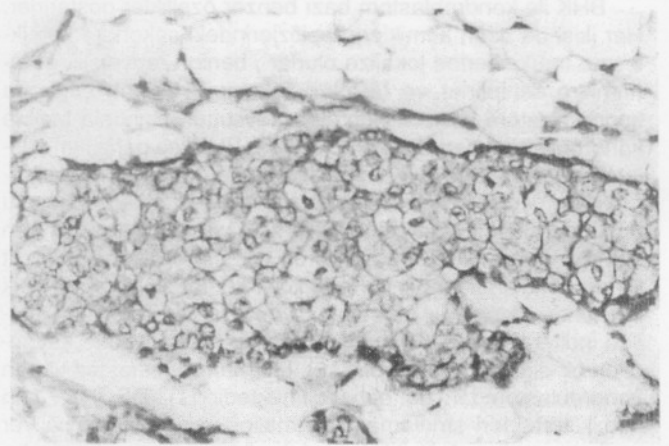
GİRİŞ

Meme kanseri, gelişmiş ülkelerdeki kadınlarda kansere bağlı ölümlerin başlıca sebebidir. Klinik evre ve lenf nodu metastazı (LNM), en önemli prognostik faktörlerdir. Lenf nodu pozitif olguların nüks etme olasılığı % 70 iken lenf nodu negatif olgularda bu oran % 30'dur (1-2). Lenf nodu metastazı olan veya olmayan olgulardaki nüks olasılığını belirlemeye yardımcı, immunhistokimyasal çalışmalar yapılmaktadır. Bunlar arasında daha çok tedaviyi yönlendirmede kullanılan ve büyük oranda rutine girmiş östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR) yanısıra, p53 ve c-erbB-2 gibi onkogenler yer almaktadır (3,4).

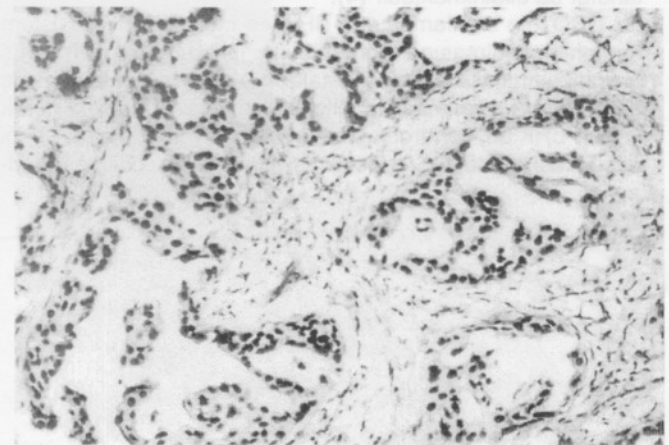
Bu çalışmada, bir grup meme karsinomunda histolojik derece (HD), nükleer derece (ND), damar invazyonu (Dİ) gibi konvansiyonel yöntemler ile immunhistokimyasal olarak ER, PR, p53 ve c-erbB-2 varlığının birbirleri ile ilişkisi ve özellikle lenf nodu metastazı (LNM) ile korelasyonu olup olmadığı araştırıldı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, aksiller lenf nodu diseksiyonu yapılmış 65 invaziv duktal karsinom (İDK) ve 15 invaziv lobüler karsinom (İLK) olgusu alındı. İDK olguları histolojik olarak Bloom Richardson'un, nükleer açıdan Lash ve arkadaşlarının önerdiği sisteme göre derecelendirildi. Derece I ve II olgular düşük dereceli, derece III olgular yüksek dereceli olarak ele alındı. Immunhistokimyasal olarak olguların tümüne peroksidaz-anti-peroksidaz yöntemi ile ER, PR, c-erbB-2 ve p53 (clone: DO-7), (Dako- hazır dilusyonlar) uygulandı. ER ve PR tümör hücrelerinin % 10'undan fazlasında saptandığında, pozitif olarak değerlendirildi. c-erbB-2 ile membranöz boyanma $< 50\%$ ise 1+, $> 50\%$ ise 2+, p53 ile nükleer boyanma $< 10\%$ ise 1+,



Resim 1: İnvaziv duktal karsinomda $> 50\%$ membranöz c-erbB-2 pozitifliği, X400.



Resim 2: İnvaziv duktal karsinomda $> 50\%$ nükleer p53 pozitifliği, X200.

TABLO 1: İDK OLGULARININ HİSTOLOJİK VE NÜKLEER DERECELERİNE GÖRE LENF NODU METASTAZI (LNM), DAMAR İNVAZYONU (Dİ), ER, PR, p53, c-erbB-2 POZİTİFLİĞİ

	LNM		Dİ		ER		PR		c-erbB-2			p53			
	-	+	-	+	-	+	-	+	-	1+	2+	-	1+	2+	3+
HD I+II (36 olgu)	20	16	24	12	25	11	24	12	7	14	15	17	10	7	2
HD III (29 olgu)	8	21	16	13	25	4	25	4	7	9	13	16	3	8	2
ND I+II (51 olgu)	23	28	28	23	37	14	36	15	13	17	21	27	13	8	3
ND III (14 olgu)	5	9	12	2	13	1	13	1	1	6	7	6	0	7	1

*/**Nükleer derece ile p53 (- ve 1+ ile 2+ ve 3+ kıyaslaması) arasındaki ilişki p=0.023

*** Histolojik derece ile LNM arasındaki ilişki p=0.024

% 10- 50 arası 2+, >% 50 ise 3+ olarak değerlendirildi. Parametrelerin istatistiksel analizi için chi-square testi uygulandı.

BULGULAR

İnvaziv duktal karsinom olgularının 29'unda histolojik derece yüksek (derece III), 36'sında düşük (derece I-II), nükleer derece 14 olguda yüksek (derece III), 51 olguda düşük (derece I-II) idi. Bu olguların histolojik ve nükleer derecelerine göre LNM, Dİ, ER, PR, c-erbB-2 ve p53 durumları incelendi (Tablo 1). İnvaziv duktal karsinom olgularında histolojik derece ile LNM arasında (p=0,024), nükleer derece ile %10'dan fazla p53 pozitifliği arasında (p=0,023) istatistiksel

olarak anlamlı bir ilişki saptandı.

İDK ve İLK olgularında ER, PR, p53 ve c-erbB-2 değerleri Tablo 2 ve 3'te verildi. İDK olgularında İLK olgularına göre lenf nodu metastazı olsun veya olmasın daha yüksek oranda p53 (p=0,016) ve c-erbB-2 (p=0,003) pozitifliği saptandı (Resim 1-2). Bir diğer ifadeyle İDK olgularında tümör supresör gen ve onkogenlerin daha fazla saptanması istatistiksel olarak anlamlı bulundu. İLK olgularında İDK olgularına göre daha fazla ER (p=0.019) ve PR (p=0.028) pozitifliği saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi (Resim 3).

Lenf nodu metastazı (LNM) 65 İDK olgusunun 37'sinde (%57), 15 İLK olgusunun 9'unda (%60) saptandı ve immunhistokimyasal özellikleri Tablo 4'te verildi. İDK ve İLK olgularında LNM ile ER, PR, p53, c-erbB-2 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Damar invazyonu İDK olgularının 25'inde (%37), İLK olgularının 8'inde (%53) pozitif saptandı ve c-erbB-2 değerleri Tablo 5'te verildi. Damar invazyonu olan İDK olgularında %50'den fazla c-erbB-2 pozitifliği damar invazyonu olmayan İDK olgularına göre daha fazla idi ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0.029).

TARTIŞMA

Meme kanserli olgularda, prognozu ve tedavi şekillerini belirlemeye yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. Histolojik tip, tümör boyutu, histolojik ve nükleer derece, mitotik aktivite, damar invazyonu gibi konvansiyonel yöntemlere ek olarak ER, PR, p53, c-erbB-2 gibi immunhistokimyasal yöntemler kullanılmaktadır.

Östrojen reseptörünün çalışıldığı ilk yıllarda prognoza ilişkili olduğu yönünde yayınlar (5) mevcut iken, son yıllarda uzun süreli hasta takibinin yapıldığı geniş serilerde ER ve PR'nün prognozu belirleyen bağımsız faktörler olmadığı ortaya konmuştur (4). Çalışmamızda prognoza yönelik kullanılabilecek, lenf nodu metastazı olan İDK ve İLK olguları ile lenf nodu metastazı olmayan olgular karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Ancak, İLK olgularında İDK olgularına göre daha yüksek oranda ER (p=0.019) ve PR (p=0.028) pozitifliği saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi.

TABLO 2: İDK VE İLK OLGULARINDA p53 ve c-erb B-2 DAĞILIMLARI

	p53(-)	p53 <%10	p53 %10-50	p53 >%50	c-erbB-2 (-)	c-erbB-2 < %50	c-erbB-2 > %50
		+	+	+		+	+
İDK	33	13	15	4	14	23	28
İLK	13	2	0	0	9	3	3

TABLO 3: İDK VE İLK OLGULARINDA ER, PR, p53, c-erbB-2 DAĞILIMLARI

	ER (+)	PR (+)	p53 (+)	c-erbB-2 (+)
İDK (65 olgu)	15 (%23)	16 (%24)	32 (%49)	51 (%78)
	*p=0.019	*p=0.028	**p=0.016	**p=0.003
İLK (15 olgu)	8 (%53)	8 (%53)	2 (%13)	6 (%40)

* ER ve PR pozitifliği İLK olgularında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı.

** p53 ve c-erbB-2 pozitifliği İDK olgularında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek idi.

TABLO 4: LENF NODU METASTAZ DURUMU İLE İDK VE İLK OLGULARINDAKİ ER, PR, p53 VE c-erbB-2 DEĞERLERİNİN İLİŞKİSİ

	ER (+)	PR (+)	p53 (+)	c-erbB-2 (+)
İDK (LNM +) (37 olgu, %57)	10 (%27)	9 (%24)	19 (%51)	27 (%73)
İLK (LNM +) (9 olgu, %60)	5 (%55)	4 (%44)	2 (%22)	3 (%33)
İDK (LNM -) (28 olgu, %43)	5 (%18)	7 (%25)	13 (%46)	24 (%85)
İLK (LNM -) (6 olgu, %40)	3 (%50)	4 (%66)	0 (%0)	3 (%50)

*Lenf nodu metastaz durumu ile İDK ve İLK olgularında östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR), p53 ve c-erbB-2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Tümör süpresyonundan sorumlu p53 geni mutasyona uğradığında hem tümör süpresyon aktivitesini kaybeder, hem de hücre çoğalmasını uyarak tümör gelişimine ve progresyonuna neden olur (6). Meme kansinomlarında immunhistokimyasal yöntemle p53 saptanmasının kötü prognostik bir gösterge olduğunu belirten yayınların (7-8) yanı sıra, prognozu belirleyici özelliğinin ve dolayısı ile klinik değerinin zayıf olduğunu belirten yazarlar (9) hatta son yıllarda p53 aşırı ekspresyonunun rekürrens ve yaşam süresini belirlemede yararlı bir yöntem olmadığını belirten yayınlar mevcuttur (10). Domagala ve arkadaşları tümör hücrelerinin %10'undan fazlasında nükleer p53 boyanması saptadıklarında olguyu pozitif kabul etmişler ve buna göre İDK olgularında %28 (173 olgunun 49'unda) İLK olgularında %4 (47 olgunun ikisinde) oranında pozitiflik saptamışlar. Bu sonuçlara göre meme kansinomlarında nükleer p53 overekspresyonunun özellikle tümör hücre proliferasyon oranı ve morfolojik fenotip ile ilişkili olduğunu ancak tümörün biyolojik davranışını yansıtmadığını belirtmişlerdir (11). Çalışmamızda p53 (>%10) İDK'lu olguların %29'unda pozitif iken, İLK'lu olguların tümünde negatifti. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi

TABLO 5: İDK VE İLK OLGULARINDA DAMAR İNVAZYONU İLE c-erbB-2 İLİŞKİSİ

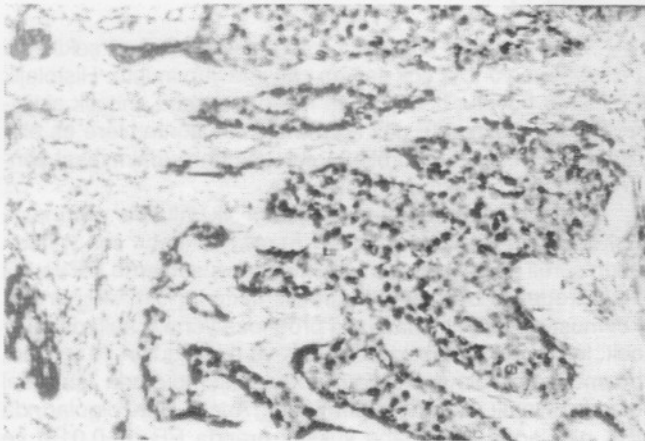
	Damar c-erbB-2 (-) invazyonu	c-erbB-2 < %50 +	c-erbB-2 > %50 +
İDK (25 olgu, %37)	+	5	5
İDK (40 olgu, %63)	-	10	17
İLK (8 olgu, %53)	+	5	1
İLK (7 olgu, %47)	-	5	1

İDK olgularında %50'den fazla c-erbB-2 ile %50'den az ve (-) olgular arasında damar invazyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0.029).

(p=0,016) ve Domagala ve ark. gözlemi ile paralellik gösteriyordu (11). Davidoff ve ark. nadir nükleer p53 pozitifliği gösteren olgularda p53 gen mutasyonunu gösterememişlerdir (12). Isoba ve ark. meme kansinomlarında %20'den az nükleer p53 boyanması gösteren olgularda prognoz ile ilişki bulamamıştır (13). Çalışmamızda nükleer p53 pozitifliği (%10'dan fazla olgular ele alındığında) nükleer derecesi yüksek İDK olgularında nükleer derecesi düşük olanlara göre daha fazla oranda saptandı. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0,023) ve bu bulgu da Dabbs'ın gözlemi ile paraleldi (14). Meme kansinomlarında p53'ün immunhistokimyasal olarak saptanmasının prognoz ile ilişkisinden bahsedebilmek için özellikle uzun süreli hasta takibi olan geniş serilere ihtiyaç vardır. Ancak mevcut bulgular immunhistokimyasal olarak p53 saptanmasının daha çok morfolojik fenotip ve nükleer derece ile ilişkili olduğu şeklindedir. Ayrıca meme kansinomlarında immunhistokimyasal olarak p53 pozitifliğinden bahsetmek için %10'dan fazla nükleer boyanmayı gözlemek gerektiği düşünüldü.

Bir protoonkogen olan c-erbB-2 (HER/neu) normalde 17. kromozomda lokalize bir gen dir ve epidermal büyüme faktörü reseptörü ile ilişkili bir proteini kodlar (15). Değişik çalışmalarda c-erbB-2 amplifikasyonunun meme kansinomlarında lenf nodu metastazı ve kötü prognoz ile korelasyonu olduğu belirtilmiştir (16-18). Immunhistokimyasal yöntemle saptanan c-erbB-2 aşırı ekspresyonunun c-erbB-2 gen amplifikasyonu ile korele olduğunu belirten çalışmalar vardır (16,19). Bu çalışmada, c-erbB-2 İDK olguların %78'inde (65 olgunun 51'inde), İLK'lu olguların %40'ında (15 olgunun 6'sında) pozitif saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p = 0.003). İnvaziv duktal kansinom olgularında İLK olgularına göre daha fazla oranda c-erbB-2 pozitifliği görüldüğü bildirilmektedir (20,21). Damar invazyonu olan ve olmayan İDK olgularındaki c-erbB-2 değerleri (>%50 ile <%50 ve negatif) kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı (p=0.029).

Sonuç olarak meme kansinomlarında, ER, PR, p53 ve c-erbB-2 değerleri ile lenf nodu metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. İDK olgularında İLK olgularına göre daha yüksek oranda p53 ve c-erbB-2 pozitifliği saptandı. Bir ön çalışma niteliğindeki bu grupta, yüksek c-erbB-2 (>%50) boyanma paterni gösteren olguların sistemik metastaz gelişimi açısından daha riskli bir grup olabileceği ancak bu gözlemin daha sağlıklı değerlendirilebilmesi için uzun süreli hasta takibi yapılması gerektiği düşünüldü.



Resim 3: İnvaziv duktal kansinomda >% 10 nükleer östrojen reseptör pozitifliği, X200.

KAYNAKLAR

- Bloom HJG, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer. A study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer* 1957; 11: 39-77.
- Lash RH, Bauer TW, Hermann RE, Esselstyn CB. Partial mastectomy: pathologic findings and prognosis. *Hum Pathol* 1986; 17: 813-822.
- Elledge RM, Mc Guire WL, Osborne CK. Prognostic factors in breast cancer. *Semin Oncol*. 1992; 19: 244-253.
- Hayes DF. Tumor markers for breast cancer. *Annals of Oncology* 1993; 4 : 807-819.
- Knight W, Livingston R, Gregory E, Mc Guire W. Estrogen reseptor as an independent prognostic factor for early recurrence in breast cancer. *Cancer Res* 1977; 37: 4669-4671.
- Levine AJ, Momand J and Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene. *Nature* 1991; 351: 453-456.
- Barnes DM, Dublin EA, Fisher CJ, et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in mammary carcinoma an important new independent indicator of prognosis? *Hum Pathol* 1993; 24 469-476.
- Allred DC, Clark GM, Elledge R et al. Association of p53 protein expression with tumor cell proliferation rate and clinical outcome in node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85 : 200-206.
- Ostrowski JL, SawanA et al. p53 expression in human breast cancer related to survival and prognostic factors: An immunohistochemical study. *J Pathol* 1991; 164: 75-81.
- Kato A, Breier S, Stemmler N et al. p53 protein expression in human breast carcinoma: Lack of prognostic potential for recurrence at the disease. *Anticancer Res* 1996; 16: 1301-1304.
- Domagala W, Harezga B, Szadowska A et al. Nuclear p53 protein accumulates preferentially in medullary and high-grade ductal but rarely in lobular breast carcinomas. *Am J Pathol* 1993; 142: 669-674.
- Davidoff AM, Humphrey PA, Iglehart JD, Marks JR. Genetic basis for p53 overexpression in human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 5006-5010.
- Isola J, Visakorpi T, Holli K, Kallioniemi OP. Association of overexpression of tumor suppressor protein with rapid cell proliferation and poor prognosis in node negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1109-1114.
- Dabbs DJ. Correlations of morphology, proliferation indices and oncogene activation in ductal breast carcinoma; nuclear grade. S-phase proliferating cell nuclear antigen p53, epidermal growth factor receptor and c-erbB-2. *Mod Pathol* 1995; 8 (6): 637-642.
- Bargman CI, hHung MC and Weinberg RA. The neu oncogene encodes an epidermal growth factor related protein. *Nature* 1986; 319; 226.
- Berger MS, Locher GW, Saurer S et al. Correlation of c-erbB-2 gene amplification and protein expression in human breast carcinoma with nodal status and nuclear grading. *Cancer Res* 1988; 48: 1238-1243.
- Slamon DJ, Clark GM, Wong SG et al. Human breast cancer correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2 / neu oncogene. *Science* 1987; 235: 177-182.
- Winstanley J, Cooke T, Murry GD. The long term prognostic significance of c-erbB-2 in primary breast cancer. *Br J Cancer* 1991; 63: 447-450.
- Venter D, Tuzi NL, Kumar S, Gullick WJ. Overexpression of the c-erbB-2 oncoprotein in human breast carcinomas: immunohistological assessment correlates with gene amplification. *Lancet* 1987; 2: 69-72.
- Somerville JE, Clarke LA, Biggart JD. C-erbB-2 overexpression and histological type of in situ and invasive breast carcinoma. *J Clin Pathol* 1992; 45: 16-20.
- Ioachim E, Kamina S, Athanassiadou S, Agnantis NJ. The prognostic significance of epidermal growth factor receptor (EGFR), c-erbB-2, Ki-67 and PCNA expression in breast cancer. *Anticancer Res* 1996; 16:5B, 3141-3147