

中文摘要

磨玻璃影型肺腺癌中雌激素、雌激素受体及芳香化酶 与患者临床病理特征的关系

目的:

肺癌是世界范围内导致癌症死亡的首要原因。在我国，肺癌的发病率及死亡率均位于各癌种首位。随着高分辨率 CT 的普及以及大众健康意识的提高，越来越多的以磨玻璃影（Ground glass opacity, GGO）为影像学表现的肺腺癌患者在健康筛查中被发现，成为肺癌外科就诊的主要群体。GGO 型肺腺癌患者表现出一定的特征性：多为早期肺癌，术后病理绝大多数为肺腺癌，主要的病理亚型为贴壁型及腺泡型，EGFR 阳性突变率更高，且在非吸烟女性患者中更为常见。磨玻璃结节在早期即可表现为多灶性发展即多发磨玻璃结节（multiple ground glass nodules, mGGNs），mGGNs 在女性患者中更加常见，其原因尚不明确。越来越多的研究表明，雌激素及其通路在肺癌的发生与发展中发挥着重要作用。本研究比较了磨玻璃影型肺腺癌患者血清雌二醇（Estrogen, E2）水平、肿瘤组织中雌激素受体 β （Estrogen receptor β , ER β ）及芳香化酶（Aromatase, ARO）的表达水平在患者各临床病理特征之间的差异来探究雌激素及其受体以及 ARO 与 GGO 型肺腺癌的临床病理特征及多灶性发展的关系。

方法:

回顾在 2020 年 7 月至 2022 年 3 月于我科手术治疗并于术前预留血液样本的 302 例患者信息，根据纳排标准最终筛选出 96 例患者纳入后续研究。统计患者的性别、年龄、吸烟史、单发/多发磨玻璃结节情况、病理分期、病理亚型、病理分级、Ki-67，病灶实性成分比例（Consolidation tumor ratio, CTR）及平均 CT 值。对于多发磨玻璃结节患者，病理及影像学指标均选取主病灶进行测量。患者术前血清使用电化学发光法测定血清 E2 含量，使用免疫组织化学染色测定肿瘤组织中 ARO 及 ER β 的表达情况，并用 Image J 软件测量平均光密度（Average opacity density, AOD）值作为评价肿瘤组织中两种蛋白表达水平的半定量指标。比较血清 E2、ARO 及 ER β 在各临床病理资料分组间的差异。

结果:

1. 多发磨玻璃结节主病灶肿瘤组织中 ARO 表达水平显著高于单发磨玻璃结节 ($p=0.008$)。

2. 贴壁型、腺泡型及乳头型这三种病理亚型之间肿瘤组织中 ER β 表达水平存在差异 ($p<0.05$), 以乳头型为主的肿瘤组织中 ER β 表达水平显著高于以贴壁型为主的病灶 ($p<0.05$)。

3 病理分级 Grade 2 级较 Grade 1 级 ER β 表达水平高, 差异存在统计学意义 ($p<0.05$)。

4. 在 Ki-67 的各个分组中 ER β 的表达水平存在差异 ($p<0.05$)。对其进行两两比较, Ki-67 (10%~20%) 组比 Ki-67 (<5%) ER β 表达显著降低 ($p<0.01$)。使用 Spearman 相关性检验, 二者呈负相关关系 ($r=-0.306$, $p<0.01$)。

5. 在男性亚组中, 高、低血清 E2 水平组在吸烟史上差异存在统计学意义 ($p<0.05$)。

结论:

1. 单发及多发磨玻璃结节患者病灶中 ARO 表达水平存在显著差异, 高 ARO 水平导致局部雌激素水平升高可能是导致磨玻璃结节多灶性发展的原因之一。

2. 肿瘤组织中 ER β 表达水平与更差的病理亚型、更高的病理分级以及更低的 Ki-67 水平有关。

3. 在男性患者中, 吸烟史与较高的血清 E2 水平有关。

关键词:

肺腺癌, 磨玻璃影, 雌激素, 雌激素受体, 芳香化酶

Abstract

Expression of estrogen, estrogen receptor and aromatase in ground glass opacity featured lung adenocarcinoma and its relationship with clinicopathological features

Objectives:

Lung cancer is the leading cause of cancer deaths worldwide. In China, the incidence and mortality rate of lung cancer is the highest among all cancer types. With the popularity of high-resolution CT and increased public health awareness, more and more lung adenocarcinoma patients with Ground glass opacity (GGO) are being detected during health screening, becoming the main group of lung cancer surgical consultations. The predominant pathological subtypes are lepidic and acinar, with a higher rate of EGFR-positive mutations, and are more common in non-smoking women. GGO featured lung adenocarcinoma can develop early in life as multifocal ground glass nodules (mGGNs). mGGNs are more common in women and their cause is not known. A growing body of research suggests that estrogen and its pathways play an important role in the development and progression of lung cancer. In this study, we compared serum estradiol (E2) levels, estrogen receptor β (ER β) and aromatase (ARO) expression levels in tumor tissues of patients with GGO featured lung adenocarcinoma to investigate their differences between clinicopathological characteristics and the relationships with multifocal development.

Methods:

Information on 302 patients who were treated surgically in our department from July 2020 to March 2022 and had blood samples preoperatively was reviewed. 96 patients were finally selected for inclusion in the follow-up study based on the nadir criteria. Patients' gender, age, smoking history, single/multiple ground glass nodules, pathological stage, pathological subtype, pathological grade, Ki-67, consolidation tumor ratio (CTR) and mean CT value were counted. For patients with multiple ground glass nodules, pathological and imaging indices were selected from the primary lesion for measurement. The expression of ARO and ER β in the tumor tissue was measured using immunohistochemical staining, and the average opacity density (AOD) value was

measured using Image J software as a semi-quantitative indicator of the expression levels of the two proteins in the tumor tissue. The differences in serum E2, ARO and ER β were compared between the clinicopathological data groups.

Results:

1. The level of ARO expression in the tumor tissue of the main lesion of multiple ground glass nodules was significantly higher than that of single ground glass nodules ($p=0.008$).

2. ER β expression levels in tumor tissue differed between the three pathological subtypes: lipidic, acinar and papillary ($p<0.05$), with ER β expression levels significantly higher in tumor tissue with a papillary subtype than in lesions with an lipidic subtype ($p<0.05$).

3 Pathological grading Grade 2 had higher ER β expression levels than Grade 1, and the difference was statistically significant ($p<0.05$).

4 There was a difference in ER β expression levels in each subgroup of Ki-67 ($p < 0.05$). When compared between two, ER β expression was significantly lower in the Ki-67 (10%-20%) group than in Ki-67 (<5%) ($p<0.01$). Using the Spearman correlation test, there was a negative correlation ($r = -0.306, p < 0.01$).

5. In the male subgroup, there was a statistically significant difference between the high and low serum E2 level groups in terms of smoking history ($p < 0.05$).

Conclusion:

1. There was a significant difference in ARO expression levels in tumor tissues of patients with single and multiple ground glass nodules, and high ARO levels leading to elevated local E2 levels may contribute to the multifocal development of ground glass nodules.

2. ER β expression levels in tumor tissues were associated with worse pathological subtypes, higher pathological grade, and lower Ki-67.

3. In male patients, a history of smoking is associated with higher serum E2 levels.

Keywords:

Lung adenocarcinoma, GGO, Estrogen, Estrogen receptor, Aromatase

关于学位论文使用授权的声明

本人完全了解吉林大学有关保留、使用学位论文的规定，同意吉林大学保留或向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅；本人授权吉林大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或其他复制手段保存论文和汇编本学位论文。

（保密论文在解密后应遵守此规定）

论文级别： 硕士 博士

学科专业：临床医学硕士（外科学）

论文题目：磨玻璃影型肺腺癌中雌激素、雌激素受体及芳香化酶与患者临床病理特征的关系

作者签名：马健尊

指导教师签名：刘伟

2023 年 5 月 30 日

目 录

第 1 章 绪 论.....	1
第 2 章 文献综述.....	3
2.1 雌激素概述	3
2.2 雌激素与 NSCLC.....	3
2.3 雌激素受体概述	4
2.4 雌激素受体与 NSCLC	4
2.5 G 蛋白偶联雌激素受体与 NSCLC.....	5
2.6 芳香化酶与 NSCLC.....	5
2.7 雌激素通路在 NSCLC 中的促肿瘤作用.....	6
2.8 抗雌激素联合治疗在 NSCLC 中的应用.....	7
第 3 章 材料与方法.....	10
3.1 实验器材及试剂	10
3.1.1 实验器材	10
3.1.2 实验试剂	10
3.2 标本来源.....	11
3.2.1 纳入标准	11
3.2.2 排除标准	11
3.3 血清 E2 检测	11
3.4 免疫组织化学染色	12
3.5 免疫组化结果判读	12
3.6 影像学指标测量	13
3.7 统计学方法	13
第 4 章 研究结果.....	14

4.1 患者临床病理特征概述	14
4.2 患者血清 E2 水平与临床病理特征间的关系	15
4.3 血清 E2 高、低水平组间临床病理资料的差异	18
4.4 肿瘤组织中 ER β 及 ARO 的免疫组织化学染色结果	20
4.5 肿瘤组织中 ARO 表达水平与各临床病理资料的关系	21
4.6 肿瘤组织中 ER β 表达水平与各临床病理资料的关系	23
第 5 章 讨 论.....	25
第 6 章 结 论.....	29
参考文献.....	30
作者简介及在校期所取得的科研成果	39
致 谢.....	40

英文缩略词对照表

缩略词	英文全称	中文全称
GGO	Ground glass opacity	磨玻璃影
CT	Computed tomography	计算机断层扫描
CTR	Consolidation tumor ratio	实性成分肿瘤比
EGFR	Epidermal growth factor receptor	表皮生长因子受体
ARO	Aromatase	芳香化酶
E1	Estrone	雌酮
E2	Estrogen	雌二醇
E3	Estriol	雌三醇
NSCLC	Non-small cell lung cancer	非小细胞肺癌
GPER	G protein coupled estrogen receptor	G 蛋白偶联雌激素受体
ERE	Estrogen response element	雌激素反应元件
EGFR-TKI	Epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor	表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂
DAB	Diaminobenzidine	二氨基联苯胺
OD	Opacity density	光密度
IOD	Integrated opacity density	累积光密度
AOD	Average opacity density	平均光密度
IASLC	International association for the study of lung cancer	国际肺癌研究协会
mGGNs	Multiple ground glass nodules	多发磨玻璃结节

第1章 绪论

肺癌是世界范围内导致癌症死亡的首要原因。2019年全球疾病负担研究显示,气管、支气管及肺癌的发生率和死亡率均位于各癌种的首位。据统计,2019年气管、支气管及肺癌死亡人数和新发人数分别为204万及226万^[1]。根据美国癌症协会2023年的数据,在男性及女性群体中肺癌发生率均为第二位,死亡率均占首位,2023年预计肺癌死亡人数为127,070,约占癌症总体死亡人数的1/5^[2]。在我国,肺癌发病率及死亡率均位于首位,据统计,2022年有870,982人死于肺癌^[3]。随着禁烟运动的发展,美国肺癌发病率有所下降,但男性肺癌发病率的下降速度是女性的两倍。在欧洲和北美的几个国家,女性的发病率正在接近或等于男性的发病率。有研究表明,在美国^[4]以及加拿大、丹麦、德国、新西兰、荷兰等国家^[5],在更年轻的出生队列研究中,由于女性发病率的上升及男性发病率的急剧下降,女性相对男性发病率之比更高。然而男女肺癌发病率上的差异性变化并不能单纯用“吸烟”这一因素解释。在挪威进行的一项研究发现与男性相比,在相同的终生吸烟量下,女性对肺癌的易感性更高,女性的特殊因素也会影响肺癌的发展^[6]。越来越多的研究表明,雌激素及其通路在肺癌的发生与发展中发挥着重要作用^[7]。随着人们健康意识的提高以及肺癌检查方式的改进,尤其是高分辨率CT的普及,越来越多的磨玻璃结节患者在体检或者筛查中被检出,成为肺癌外科就诊的主要群体。一项对中国医院员工进行低剂量肺CT筛查的研究显示,95.5%筛检发现肺癌的患者表现为磨玻璃结节^[8]。随着对于磨玻璃结节认识的逐渐深入,我们发现磨玻璃结节表现出一定的特征性:磨玻璃结节多为早期肺癌,术后病理绝大多数为肺腺癌^[9],主要的病理亚型为贴壁型及腺泡型^[10],EGFR阳性突变率更高^[11],且在非吸烟女性患者中更为常见^[12]。与传统的肺癌晚期发生肺内转移这一理解不同,磨玻璃结节在早期即可表现为多灶性发展即多发磨玻璃结节(multiple ground glass nodules, mGGNs),mGGNs在女性患者中更加常见^[13],其原因尚不明确。有研究者通过比较绝经后女性表现为多发磨玻璃结节的同時性多发肺腺癌患者与单发肺腺癌患者非肿瘤肺组织中雌激素的浓度,发现多发磨玻璃结节患者肺组织内雌激素

含量更高，这也提示雌激素可能是影响磨玻璃结节多灶性发展的原因之一^[14]。本研究测定了 96 例以磨玻璃影（Ground glass opacity, GGO）为特征的浸润性肺腺癌患者血清雌二醇（Estrogen, E2）水平及肿瘤组织中雌激素受体 β （Estrogen receptor β , ER β ）和芳香化酶（Aromatase, ARO）的表达并分析了其与患者临床及病理特征之间的关系。通过比较 GGO 型肺腺癌患者血清 E2 水平、肺癌组织中 ER β 及 ARO 的表达水平在患者各临床病理特征之间的差异来初步探讨 E2、ER β 及 ARO 对 GGO 型肺腺癌的影响。

第2章 文献综述

雌激素通路在非小细胞肺癌发生发展中的作用及 抗雌激素疗法的应用

2.1 雌激素概述

雌激素是一组具有多种生理作用的类固醇激素，在促进及维持女性第二性征、调节男性生殖系统发育以及机体其他系统的多种生理活动中发挥着广泛的作用。在正常生理条件下，女性卵巢内的颗粒细胞表达高水平的 ARO，ARO 催化睾酮转化为雌激素。因此，女性体内含有大量雌激素，而睾酮水平则相对较低。在男性睾丸组织中也有 ARO 的表达，由于 ARO 的活性较弱，睾丸间质细胞（雄性）合成的雌激素水平较低^[15-17]。雌激素除了主要在性腺中合成外，低水平的 ARO 也在非性腺组织中局部表达，并在包括肺等多种组织内局部产生低水平的雌激素^[18]，这些是绝经后女性体内雌激素的主要来源。胆固醇是合成雌激素的原料，胆固醇在一系列酶的作用下转变为孕烯醇酮，再经由 17 α -羟化酶等催化成雄烯二酮并经 17 β -羟基甾体脱氢酶催化后生成睾酮，睾酮及雄烯二酮在 ARO 的催化下生成 E2。E2 是女性血液循环中雌激素的主要形式，半衰期约为 3 小时，随后通过肝脏中存在的特定酶将其快速且不可逆地氧化为雌激素代谢产物雌酮（Estrone, E1）和雌三醇（Estriol, E3），最终由尿液排出体外^[19]。

2.2 雌激素与 NSCLC

E2 不仅在正常条件下介导生物反应并保持内环境稳定，而且影响恶性肿瘤的发展和扩散。除了乳腺癌、前列腺癌以及妇科肿瘤这些激素依赖性的肿瘤受到雌激素的影响，越来越多的研究显示非小细胞肺癌（Non-small cell lung cancer, NSCLC）也受到雌激素的影响^[20]。一项日本的研究显示，在从未吸烟的女性肺癌患者中，绝经前的患者病情更晚，生存期更短^[21]。我国的一项基于人口的病例对照研究评估了月经/生殖因素对肺癌风险的主要影响，研究显示较晚绝经、更少的怀孕次数以及排卵周期数的增加与肺癌发病风险增加有关，而这些因素

无疑都增加了患者雌激素的暴露时间。有研究者使用液相色谱/电喷雾串联质谱法测定了 NSCLC 肿瘤组织及非肿瘤正常肺组织中 E2 的含量,发现肿瘤组织中 E2 水平明显升高。在体外研究中, E2 显著增加了肺癌 A549 ER α 或 ER β 阳性细胞株的细胞增殖,选择性 ER 调节剂他莫昔芬或雷洛昔芬显著抑制了这种增殖,这些结果表明, E2 主要通过 ARO 在 NSCLC 中产生,并在 ER α 或 ER β 阳性 NSCLC 的生长中起重要作用^[22]。

2.3 雌激素受体概述

雌激素受体(Estrogen receptor, ER)在雌激素敏感器官的正常发育以及各种类型癌症的发生和进展中发挥着重要作用。ER 主要有两种亚型: ER α 和 ER β , 它们的编码基因位于不同的染色体, DNA 结合域和 c 端配体结合域分别有 95% 和 55% 的同源性。ER α 在 20 世纪 50 年代由 Jensen 发现, 而 ER β 最早在 1996 年从大鼠前列腺和卵巢组织中克隆出来^[23-25]。ER α 作为被发现的第一种雌激素受体, 一直是大多数癌症研究的焦点, 特别是在乳腺癌领域。然而, ER β 在癌症病理生理中也起着重要作用。

2.4 雌激素受体与 NSCLC

NSCLC 是一种 ER 表达阳性的肿瘤, 在患者肿瘤组织及 NSCLC 细胞系中均可以检测到 ER 表达^[26]。ER β 是肺癌中 ER 的主要亚型, 在近 90% 的 NSCLC 人类肿瘤样本和来自女性和男性的细胞系中高表达^[27]。由于缺乏标准化的方法和评分标准, ER 在肿瘤内的表达对肺癌患者生存预后的影响仍有争议。一些研究表明, 肿瘤细胞核内 ER β 的表达是一个积极的生存预后指标。然而这种现象只在男性患者或有 EGFR 突变的肿瘤患者中观察到^[28-31]。相反, 较高的细胞质 ER β 表达与肺癌分期更晚相关, 而 ER α 没有观察到这种影响^[32,33]。细胞质 ER β 过表达也与男性和女性肺癌患者的预后不良相关, 也是肿瘤更有侵袭性的指标^[32,34,35]。ER α 对肺癌预后影响的现有数据也是矛盾的。例如, 一些研究发现, ER α 与良好的预后有关, 特别是在晚期患者中^[36-38], 而另一些研究表明, 在没有细胞核内 ER β 表达的情况下, 细胞质的 ER α 表达与较差的生存率有关^[30]。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/657025122156006046>