

بررسی بروز رسپتور اندروژنی و اثر آن بر بقاء یک گروه از بیماران مبتلا به سرطان پستان با پیگیری طولانی در انستیتو کانسر

دکتر فرشته انسانی*، دکتر زهره نوزریان**، دکتر پیمان حداد***، دکتر نرگس ایزدی مود****

چکیده:

زمینه و هدف: مطالعات زیادی جهت بررسی بروز رسپتورهای هورمونی از جمله ER و PR و اهمیت درمانی آنها صورت گرفته است ولی در مورد رسپتور آندروژن (AR) مطالعات کافی نمی‌باشد. در این مطالعه، هدف ما تعیین بروز AR و ارتباط آن با بقاء و سایر فاکتورهای پیش‌آگهی دهنده مورد مطالعه می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه بر روی ۶۶ بیمار با کانسر مهاجم پستان انجام شد. همگی حداقل به مدت ۵ سال بعد از تشخیص پیگیری داشتند. بررسی به روش ایمونوهیستوشیمی (IHC) بر روی بلوک‌های پارافینه جهت تعیین AR صورت گرفت و ارتباط آن با سایر فاکتورهای پروگنوستیک از جمله درجه بدخیمی، اندازه تومور، تهاجم به غدد لنفاوی، ER و PR و بقای بیماران صورت گرفت.

یافته‌ها: ۷۳/۹٪ از تومورهایی با درجه بدخیمی یک و ۶۶/۷٪ از تومورهایی با درجه بدخیمی دو رسپتور اندروژنی (AR) را بروز دادند درحالی که در تومورهای گرید سه هیچ مورد از بروز رسپتور اندروژنی را نداشتیم ($P < 0.05$).

۷۴/۴٪ تومورهایی با رسپتور استروژنی مثبت (ER) و ۸۱/۸٪ از تومورهایی با رسپتور پروژسترونی مثبت (PR) همزمان بروز رسپتور اندروژنی داشتند ($P < 0.05$).

ارتباط آماری معنی‌داری بین بروز رسپتور اندروژنی با سایر متغیرها از جمله بقای بدون بیماری، بقای کلی، عود و متاستاز، اندازه تومور، سن بیمار و تهاجم به غدد لنفاوی به دست نیامد ($P > 0.05$).

نتیجه‌گیری: AR به میزان بالاتری در تومورهایی با گرید پائین بروز می‌کند همچنین بروز AR با بروز ER و PR ارتباط دارد. اگر چه از نظر آماری ارتباط معنی‌داری بین بروز AR با بقاء و درگیری غدد لنفاوی به دست نیامد ولی بیماران با غدد لنفاوی درگیر به میزان کمتر از ۴ عدد بروز بالاتری از AR دارند. همچنین بروز AR مثبت در تعداد بیشتری از بیماران با بقای کلی و بقای بدون بیماری مشهود است.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، رسپتور اندروژنی

نویسنده پاسخگو: دکتر فرشته انسانی

تلفن: ۸۸۹۵۸۶۰۰

Email: Fereshteh.Ensani@Homail.com

* دانشیار گروه آسیب‌شناسی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، بیمارستان امام خمینی، انستیتو کانسر، بخش سیتولوژی

** دستیار گروه آسیب‌شناسی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، بیمارستان امام خمینی، بخش آسیب‌شناسی

*** دانشیار گروه رادیوتراپی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، بیمارستان امام خمینی، بخش رادیوتراپی

**** دانشیار گروه آسیب‌شناسی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، بیمارستان، بیمارستان میرزا کوچک‌خان

تاریخ وصول: ۱۳۸۴/۱۱/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۵/۰۲/۰۳

www.SID.ir

زمینه و هدف

جمع‌آوری اطلاعات به کمک بازخوانی پرونده‌ها، تماس تلفنی، گردآوری بلوک‌های پارافینه از آزمایشگاه مرجع و نهایتاً بررسی به روش آزمایش IHC جهت تعیین گیرنده‌های هورمونی شامل ER، PR، AR و بررسی مجدد اسلایدها جهت بررسی نوع هیستولوژی، درجه بدخیمی و درگیری غدد لنفاوی انجام شد.

به علت مشکلات در تهیه بلوک‌های پارافینه از آزمایشگاه‌های مختلف، عدم پیگیری مناسب و مفقود شدن پرونده‌های بیماران نهایتاً فقط ۶۶ بیمار واجد شرایط کامل جهت بررسی باقی ماندند.

برای بررسی مارکرهای بیولوژیک از جمله ER، PR و AR انجام آزمایش ایمونوهیستوشیمی روی بلوک پارافینه در نظر گرفته شد و بعد از مشاهده اسلایدهای رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین - اتوزین بلوک مناسب انتخاب شد و جهت انجام آزمایش ایمونوهیستوشیمی از هر بلوک پارافینه سه برش ۳ میکرومتری به عمل آمد و با آنتی‌بادی منوکلونال به شرح زیر رنگ‌آمیزی شد:

1. Monoclonal Mouse Anti-ER, Clone: ID5, Isotype IgG-Kappa

2. Monoclonal Mouse Anti-PR, Clone DR-2cs Isotype IgG-Kappa

3. Monoclonal Mouse Anti-AR Clone: AR27, Prediluted

تمامی فرآورده‌های فوق از شرکت Zymed lab INC تهیه شدند. در کلیه موارد از روش Heat induced Ag retrieval به وسیله Microwave استفاده شد در هر جلسه رنگ‌آمیزی از شاهد کنترل مثبت استفاده گردید و نهایتاً اسلایدهای مورد نظر توسط یک پاتولوژیست با میکروسکوپ نوری، Score گردید. مطابق با فرانس‌ها موارد مثبت برای ER، PR و AR به مواردی اطلاق می‌شود که بیش از ۱۰٪ سلول‌های تومورال رنگ‌پذیری هسته‌ای داشته باشند رنگ‌پذیری سیتوپلاسمی و غشایی مورد قبول نمی‌باشند. جهت بررسی درجه بدخیمی از روش Medifed Bloom-Richardson استفاده گردید.

سایر فاکتورها اعم از سن بیمار، وضعیت قاعدگی، نوع درمان، وضعیت غدد لنفاوی از پرونده‌های بایگانی شده در مؤسسه سرطان امام خمینی استخراج گردید.

امروزه نقش پیش‌آگهی دهنده رسپتورهای هورمونی شامل استروژن (ER) و پروژسترون (PR) در سرطان پستان و اهمیت آن در هورمون درمانی شناخته شده است ولی مطالعات کمی بر روی بروز رسپتور آندروژن (AR) صورت گرفته است. سرطان پستان شایعترین علت مرگ ناشی از سرطان در زنان تشخیص داده شده است. امروزه به واسطه پیشرفت در ارتقای روش‌های تشخیصی و درمانی کاهش مرگ و میر امکان‌پذیر شده است. در واقع بسیاری از تصمیمات کلیدی در روش‌های فعلی درمان سرطان پستان منوط به دانستن دقیق پروگنوز مورد انتظار برای بیمار و انتخاب صحیح درمان بر مبنای شاخص‌های بیولوژیک می‌باشد. اهمیت شاخص‌های بیولوژیک متعددی در سرطان پستان بررسی و اثبات شده است، از این شاخص‌ها می‌توان به نقش رسپتورهای هورمونی (ER و PR) و اهمیت آن در هورمون درمانی اشاره کرد.^۱ به علت این که مطالعات بر روی AR کم می‌باشد هدف از این مطالعه، بررسی اهمیت AR، ارتباط آن با بقاء به عنوان یک یافته پروگنوستیک و ارتباط آن با سایر یافته‌های پروگنوستیک می‌باشد.

به طور کلی رسپتور آندروژنی در ۳۵-۷۰٪ سرطان‌های پستان بروز می‌کند.^۱ اثر این گیرنده در ایجاد سرطان پستان ناشناخته است ولی به نظر می‌رسد آندروژن در بافت پستان تغییرات پرولیفراتیو ایجاد می‌کند.^۲ در بررسی‌های صورت گرفته بروز AR در مواردی با درجه بدخیمی و اندازه تومور مرتبط می‌باشد^۴ و به نظر می‌رسد تومورهای AR مثبت بدون توجه به نتایج ER، پروگنوز بهتری داشته باشند. لازم به ذکر است که در مطالعات دیگر AR بیشتر یک مارکر تهاجم در نظر گرفته می‌شود تا یک فاکتور خبری یا پیش‌گویی کننده.^۳

مواد و روش‌ها

جمعیت مورد مطالعه از بین آن دسته از بیماران مبتلا به سرطان پستان انتخاب شدند که بعد از جراحی اولیه جهت درمان‌های تکمیلی در فاصله بین سال‌های ۷۰-۱۳۷۷ به مؤسسه سرطان مجتمع بیمارستانی امام خمینی مراجعه کرده و به طور متوسط مدت ۵ سال جهت بررسی مشکلات بعدی از جمله عود موضعی، متاستاز دور دست و یا بروز مرگ پیگیری مداوم داشتند. این گروه مشتمل بر ۱۱۰ بیمار شد.

نفر فوت کردند، میانگین بقای بدون بیماری ۷۰/۶۷ ماه و میانگین بقای کلی ۷۵/۹۳ ماه بود.

جدول یک رابطه بین رسپتور اندروژنی با سایر متغیرها را برحسب آزمون کای - دو نشان می‌دهد.

طبق اطلاعات ارائه شده رابطه معنی‌داری بین سن و نسبت موارد مثبت AR وجود ندارد در واقع توزیع موارد مثبت این شاخص در هر دو گروه سنی بالاتر و کمتر از ۵۰ سال به یک نسبت می‌باشد ($P=0/586$) همچنین رابطه معنی‌داری بین اندازه تومور و AR به دست نیامد ($P=0/431$) ولی بین درجه بدخیمی و بروز اندروژن رسپتور رابطه معنی‌داری وجود داشت. به این ترتیب که ۷۳/۹٪ تومور گرید یک و ۶۶/۷٪ تومور گرید دو AR مثبت و ۱۰٪ تومور گرید سه AR منفی بودند ($P=0.016$).

اگرچه ارتباط آماری تعداد غدد لنفاوی درگیر با AR معنی‌دار نگردید ($P=0.69$) ولی نمودار و جدول ۱ ارتباط مثبت بین بروز AR و تعداد غدد لنفاوی کمتر از ۴ عدد را نشان می‌دهد. ارتباط آماری معنی‌داری بین بروز AR با PR ($P=0.004$) و ER ($P=0.044$) مشخص گردید در واقع ۸۱/۸٪ تومور PR+ مثبت و ۷۴/۴٪ تومور ER مثبت از نظر AR مثبت بوده‌اند (جدول ۱ و نمودار ۱).

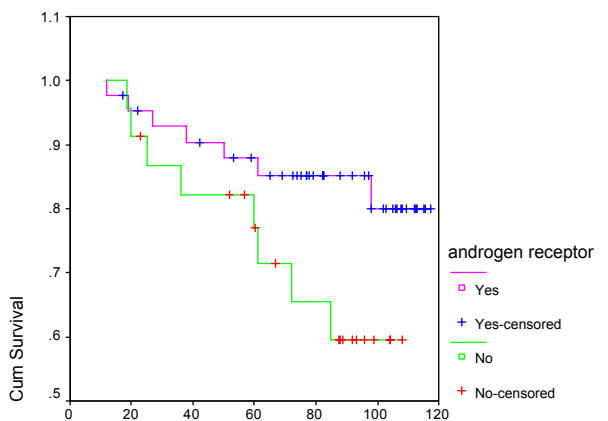
جدول ۱- ارتباط رسپتور اندروژنی با سایر فاکتورهای پیش‌آگهی دهنده

P-Valve	(Negative) AR	(Positive) AR	مشخصات
			سن
	۳۷٪	۶۳٪	< ۵۰
۰/۵۸۶	۳۰٪	۷۰٪	> ۵۰
			اندازه تومور
	۴۲/۱٪	۵۷/۹٪	< ۲Cm
۰/۴۳۱	۳۱/۹٪	۶۸/۱٪	> ۲Cm
			درجه بدخیمی
	۲۶/۱٪	۷۳/۹٪	۱
۰/۰۱۶	۳۳/۳٪	۶۶/۷٪	۲
		۰٪	۳
			غدد لنفاوی مثبت
	۲۹/۵٪	۷۲/۵٪	< ۴
۰/۶۹	۵۰٪	۵۰٪	> ۴
			عود و متاستاز
	۲۳/۳٪	۷۶/۷٪	مثبت
۰/۵۲۵	۳۰/۴٪	۶۹/۹٪	منفی
			PR
	۱۸/۲٪	۸۱/۸٪	مثبت
۰/۰۰۴	۵۱/۵٪	۴۸/۵٪	منفی
			ER
	۲۵/۶٪	۷۴/۴٪	مثبت
۰/۰۴۴	۵۰٪	۵۰٪	منفی

برای محاسبه اثر AR بر روی زمان بقای کلی و بقای بدون بیماری و اثر متقابل با سایر فاکتورهای بیولوژیک، داده‌ها در نرم افزار آماری SPSS وارد شده و سپس از طریق روش‌های توصیفی نظیر محاسبه شاخص‌ها و تهیه توزیع فراوانی و روش‌های آماری تحلیلی مانند آزمون کای - دو و آزمون دقیق Fisher در تحلیل بقاء (روش کاپلان مایر و ...) آنالیز شد. مقدار $P\text{-value} < 0.05$ به عنوان رابطه معنی‌دار تلقی شده است.

یافته‌ها

در این مطالعه ۶۶ بیمار مبتلا به سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین سن این بیماران ۴۷/۳۴ سال بوده است. ۵۰ نفر (۷۵/۸٪) از این بیماران در سن قبل یائسگی بودند و ۸۰/۳٪ تحت کموتراپی، ۳۱ نفر (۴۷٪) تحت درمان تکمیلی رادیوتراپی قرار گرفتند. از این میان برای ۱۸ نفر (۲۷/۳٪) Ovarian Suppression انجام شد. در ۴۵ نفر از این بیماران (۶۸/۲٪) متاستاز غدد لنفاوی وجود داشت. اندازه متوسط تومور در این بیماران برابر با ۳/۳ سانتیمتر می‌باشد. ۳۴/۸٪ تومورها دارای درجه بدخیمی یک، ۵۹/۱٪ درجه بدخیمی دو و ۶/۱ درجه بدخیمی سه داشتند. حدود ۵۹/۱٪ ER مثبت، ۵۰٪ PR مثبت و ۶۵/۲٪ AR مثبت بودند. در طول مدت پیگیری ۱۵

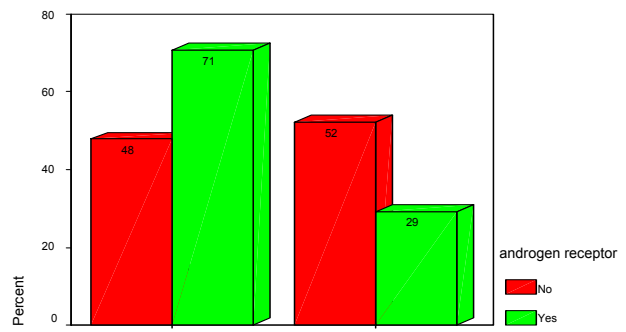


نمودار ۳- بررسی بقای کلی بر اساس بروز رسپتور اندروژنی

بحث و نتیجه گیری

اگرچه هنوز مؤثرترین عامل در درمان و پروگنوز سرطان پستان براساس Stage بالینی تعیین می‌شود ولی اهمیت شاخص‌هایی نظیر ER و PR نیز به خوبی شناخته شده است. به علت اینکه نقش AR کمتر بررسی شده است مطالعه‌ی ما روی تعدادی از بیماران متمرکز شده است که دارای حداقل بقا ۵ ساله می‌باشند و در این گروه علاوه بر بررسی اثر AR روی بقا رابطه آن با سایر فاکتور پروگنوستیک تا حد امکان بررسی شده است در این مطالعه هم بقای بدون بیماری و هم بقای کلی مد نظر می‌باشد همانطور که در قسمت نتایج ثبت شده است توزیع رسپتور اندروژنی در گروه‌های سنی کمتر از ۵۰ سال و بالای آن تفاوت چندانی نداشته و در این طیف‌های سنی AR پراکندگی یکسانی دارد همچنان که در منابع بررسی شده نیز ذکر گردیده عامل سن نقش مؤثری در بروز AR و تعیین پیامد بالینی سرطان پستان ندارد.

در آنالیز Univariate ارتباط معنی‌داری بین بروز AR با افزایش اندازه تومور به بیش از ۲ سانتیمتر به دست نیامد، به نظر می‌رسد از اندازه تومور برای تخمین وضعیت بروز رسپتور اندروژنی نمی‌توان استفاده کرد ولی همچنان که از جدول نیز پیداست ارتباط معنی‌داری بین درجه بدخیمی تومور و بروز رسپتور اندروژنی به دست آمد به این صورت که گرید یک (۷۳/۹٪) و به دنبال آن گرید دو (۶۶/۷٪) بیشترین بروز رسپتور اندروژنی را نشان دادند. در این بررسی هیچ یک از تومورهای گرید سه از نظر رسپتور اندروژنی مثبت نبوده‌اند. مشابه این نتایج در بررسی دیگری نیز به دست آمده^۳ در سایر مطالعات نیز در تومورهای گرید سه Under Expression

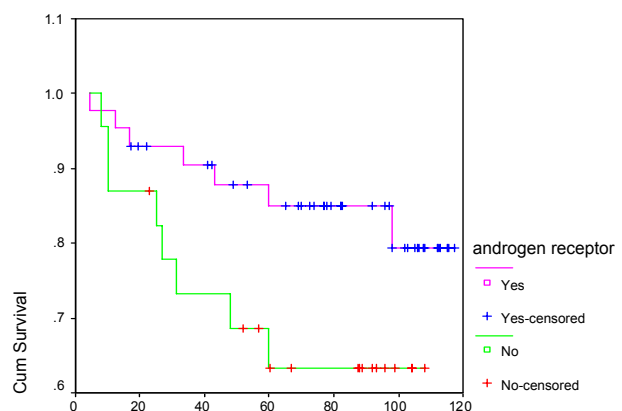


نمودار ۱- درگیری غدد لنفاوی بر اساس بروز رسپتور اندروژنی

همچنین ارتباط آماری معنی‌داری بین بقای کلی و بقای بدون بیماری با AR به دست نیامد ولی جدول ۲ و نمودارهای ۲ و ۳ بیانگر رابطه مثبت بین بروز AR و بقای کلی و بقای بدون بیماری می‌باشد. بقای بدون بیماری و بقای کلی بیماران که دارای رسپتور اندروژنی بوده‌اند به ترتیب ۱۰۳/۲۵ ماه و ۱۰۴/۳۱ ماه بوده است. این در حالی است که ارقام فوق در آن دسته از بیماران که فاقد رسپتور اندروژنی بوده‌اند به ترتیب ۸۴/۶۴ و ۸۴/۷۲ ماه بوده است (جدول ۲ و نمودارهای ۲ و ۳).

جدول ۲- ارتباط رسپتور اندروژنی با بقای کلی و بقای بدون بیماری

مشخصات	AR Negative	AR Positive	P-Value
میانگین بقای کلی	۸۴/۶۴	۱۰۴/۳۱	۰/۷۸۳
میانگین بقای بدون بیماری	۷۲/۸۲	۱۰۳/۲۵	۰/۷۲۰



نمودار ۲- بررسی بقای بدون بیماری بر اساس بروز رسپتور اندروژنی

نهایتاً در قسمت تحلیل بقای رابطه AR و طول مدت بقای بدون بیماری ($P=0.72$) و بقای کلی ($P=0.783$) به دست آمد که مؤید ارتباط معنی‌دار آماری نیست. اما با توجه به نمودارهای رسم شده و مشاهده تفاوت‌های موجود در زمان بقای بین هر یک از گروه‌های مختلف (نمودار ۲ و ۳ مربوط به وضعیت مثبت یا منفی هر یک از متغیرها در ارتباط با زمان بقای) چنین استنباط می‌شود که در عدم بروز AR که در گرید سه تومور مشهود است با کاهش طول مدت بقای مواجهه هستیم. این همان تصویری است که در متون بررسی شده نیز به آن اشاره شده است.^۵ به نظر می‌رسد عدم حاصل شدن ارتباط معنی‌دار در این راستا صرفاً به علت حجم نسبتاً کم نمونه می‌باشد و با توجه به ارتباط مشاهده شده در نمودارها به نظر می‌رسد در صورت افزایش حجم نمونه دسترسی به آمار معنی‌دار نیز ممکن است. مطالعه حاضر نشان می‌دهد که بروز AR می‌تواند به عنوان یک فاکتور پروگنوستیک و یا Predictive (طبق بعضی از فرانس‌ها) استفاده شود و این امکان استراتژی درمان جدید هورمونال ادجوانت را فراهم می‌کند.

رسپتور اندروژنی بررسی شده به روش PCR و منفی بودن AR با روش IHC نیز گزارش گردیده است.^۲

تعداد غدد لنفاوی گرفتار و AR اگرچه از نظر آماری ارتباط معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ($P=0.69$) ولی همچنان که از نمودار ۱ و جدول ۱ برمی‌آید با افزایش تعداد غدد لنفاوی گرفتار (بیش از ۴ عدد) احتمال مثبت بودن AR از ۷۲/۵٪ به ۲۹/۵٪ کاهش می‌یابد.

اگرچه در بررسی انجام شده توسط سایر محققین تومور با AR مثبت عود کمتری از تومور AR منفی داشته‌اند^۵ ولی در این بررسی از نظر آماری بین موارد مناسبتاز و عود موضعی که با هم در نظر گرفته شده‌اند و بروز یا عدم بروز AR تفاوتی مشهود نیست ($P=0.525$).

در این بررسی ارتباط معنی‌داری بین بروز رسپتور اندروژنی با رسپتورهای هورمونی شامل PR ($P=0.004$) و ER ($P=0.044$) مشهود است که این ارتباطات در سایر مقالات مرور شده نیز اثبات گردیده است.^{۱و۲}

Abstract:

Evaluation of Androgen Receptor Expression and its Effect on Survival Rate in a Group of Patients with Breast Carcinoma and Long-Term Follow up in Institute Cancer

Ensani F. MD^{}, Nozarian Z. MD^{**}, Haddad P. MD^{***}, Izadi Mod N. MD^{****}*

Introduction & Objective: Several studies have shown expression of estrogen and progesterone receptor (ER, PR) in breast cancer, but little is known about the role of androgen receptor. The aim of this study is to investigate the correlation among androgen receptor (AR) and biological behavior of breast cancer, survival and other prognostic factors.

Materials & Methods: This study was performed for 66 patients with invasive breast cancer with prolonged follow-up, immunohistochemical analysis (IHC) was performed on formalin-fixed paraffin-embedded material, the result was analyzed for correlation with ER, PR, tumor grade and lymph node invasion status and survival.

Results: 73.9% of grade I and 66.7% of grade II tumors were positive for Androgen Receptor (AR) but no AR expression is identified in grade III tumors ($P < 0.05$).

Positive AR was observed in 74.4% of ER positive and 81.8% of PR positive tumors ($P < 0.05$).

There was no significant association between AR expression with overall and disease-free survival, recurrence, tumor size, patient age and lymph node metastasis ($P > 0.05$).

Conclusions: AR are commonly expressed in low-grade tumors, AR was also associated with ER and PR expression.

Although there is no association between AR with lymph node metastasis and survival, but patients with lymph node metastasis less than four, had a high expression of AR.

Also AR is expressed in a higher number of patients with better overall and disease-free survival.

Key Words: Breast Cancer, Androgen Receptor

^{*} Associate Professor of Department of Clinical Pathology, Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Emam Khomayni Hospital, Tehran, Iran

^{**} Resident of Pathology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

^{***} Associate Professor of Department of Clinical Pathology, Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Emam Khomayni Hospital, Tehran, Iran

^{****} Associate Professor of Department of Clinical Pathology, Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Mirzakoobakhan Hospital, Tehran, Iran

References:

1. A-G Aselim et al. Androgen receptor expression in ductal carcinoma in situ of the breast, relation to estrogen and progesterone receptors. *Journal of Clinical Pathology* 2002; 55,4-17.
2. Farid Moinfar et al. Androgen receptor frequency are expressed in breast carcinoma, *Cancer*, 2003 Vol 98(4); 703-711.
3. Ivan Bieche, Beatrice Parfait et al. Quantitation of androgen receptor gene expression in sporadic breast tumors by real - time RT-PCR, *Carcinogenesis*, 2001 Vol 22. (9) 1521-1526.
4. S. Nicholas Agoff. MD et al. Androgen receptor expression in estrogen receptor-negative breast cancer *Am J Clin Pathology* 2003, 120: 725-731.
5. Bryan RM, Mercer RT, Bemeh RC, et al . Androgen receptors in breast cancer, *Cancer* 1984; 54: 2436-2440 .

Archive of SID