

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2013.03.010

乳腺癌组织 CK5/6 HIF-1 α 的表达及临床意义

李 鹏 乔 森

(济宁医学院附属济宁市第一人民医院, 山东 济宁 272011)

摘 要 **目的** 研究 CK5/6、HIF-1 α 在乳腺癌组织中的表达情况,并探讨其临床意义。**方法** 采用免疫组织化学染色法检测正常乳腺、三阴性乳腺癌及非三阴性乳腺癌组织中 CK5/6、HIF-1 α 的表达情况。**结果** 1)三阴性乳腺癌组及非三阴性乳腺癌组织组中 CK5/6、HIF-1 α 的表达明显高于正常乳腺组织($P<0.05$);2)三阴性乳腺癌组中 CK5/6、HIF-1 α 的表达明显高于非三阴性乳腺癌组织组($P<0.05$);3)乳腺癌组中 CK5/6 在三阴性乳腺癌中的表达与患者年龄、月经状态、肿瘤分期、肿瘤大小和淋巴结累及情况均无关;4)三阴性乳腺癌组中 HIF-1 α 高表达与乳腺癌组织学分期、临床分期和淋巴结转移关系密切。**结论** CK5/6 的表达反映了肿瘤的起源, HIF-1 α 在乳腺癌中的表达程度可能与肿瘤的侵袭进展相关。

关键词 三阴性乳腺癌;细胞角蛋白 5/6;低氧诱导因子-1 α

中图分类号:R737.9 **文献标识码**:A **文章编号**:1000-9760(2013)06-188-04

Expression and clinical significance of CK5/6 and HIF-1 α in breast cancer

LI Peng, QIAO Sen

(Jining No. 1 People's Hospital & Jining Medical University, Jining 272029, China)

Abstract: Objective Immunohistochemical technique was employed to determine expression of CK5/6 and HIF-1 α in 50 normal breast tissue, 48 triple negative breast carcinomas and 212 non-triple negative breast carcinomas. **Results** CK5/6 and HIF-1 α was overexpressed in triple negative breast carcinomas and non-triple negative breast carcinomas compared with normal breast tissue ($P<0.05$). CK5/6 and HIF-1 α was overexpressed in triple negative breast carcinomas compared with non-triple negative breast carcinomas ($P<0.05$). The expression of CK5/6 was more frequently detected in triple negative breast cancer with no relationship to age, menopausal status, lymphadenopathy, tumor size or stage. The expression of HIF-1 α had close relation to clinical parameters by stages, organization graduation and histology grading metastasized axillary lymph nodes. **Conclusion** CK5/6 and HIF-1 α are overexpressed in triple negative breast cancer. In triple negative breast cancer, expression of CK5/6 suggests its basal-like phenotype, and the increase of HIF-1 α expression may be caused by tumor progression. This study provides a new aspect for the targeting treatment of breast cancer.

Key words: Triple negative breast cancer; CK5/6; HIF-1 α

乳腺癌是威胁女性健康的重要疾病,在美国,乳腺癌是女性中最常见的癌症,也是造成死亡的第二大癌症,发病率仅次于肺癌,已成为女性健康的第一杀手^[1]。肿瘤一旦出现转移扩散意味着肿瘤病变已经发展到晚期,必须采用化疗等全身性治疗手段来解决,但化疗又有骨髓抑制、肝肾损伤、消化道反应等毒副作用^[2]。

三阴性乳腺癌表达肌上皮细胞角蛋白(Cytokeratins, CK5/6)和 CK17, CK5/6 为该型乳腺癌的特征性标志物。肿瘤细胞中低氧诱导因子-1 α (hy-

poxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)数量上升,使癌细胞内含氧量下降,细胞转用低效的酵解方式来生成 ATP,这使肿瘤生物量变大,更加缺氧,形成恶性循环。

本研究探讨 CK5/6 和 HIF-1 α 在乳腺癌和正常乳腺组织中的表达特点,并结合临床病理资料分析其与临床特征的关系,可为揭示乳腺癌,尤其是三阴性乳腺癌的生物学特性,开展乳腺癌的独特治疗方法提供科学依据。

1 资料和方法

1.1 标本来源

乳腺癌标本来自我院 2009 年 5 月至 2011 年 5 月经病理活检确诊的 48 例三阴性乳腺癌患者及 212 例非三阴性乳腺癌患者(乳腺癌组),正常乳腺组织标本来自同期病理活检未发现癌变的 50 例正常人(正常组)。两组患者在年龄及月经状态方面无显著性差异。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化染色 石蜡切片常规脱蜡、水化,抗原修复后封闭非特异性抗原,加入一抗 4℃ 过夜,加生物素标记的二抗室温孵育 30min。PBS 冲洗切片,加链霉菌抗生物素-过氧化物酶溶液孵育 20min。加入 DAB 溶液并在显微镜下观察,抗体标记的阳性部位准确后,终止显色。

1.2.2 免疫组化结果判读 0~2 分为(-),3 分为弱阳性(+),4~5 分为中度阳性(++),6~7 分为强阳性(+++)。

1.3 统计学方法

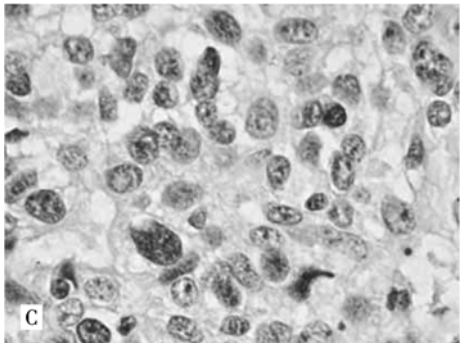
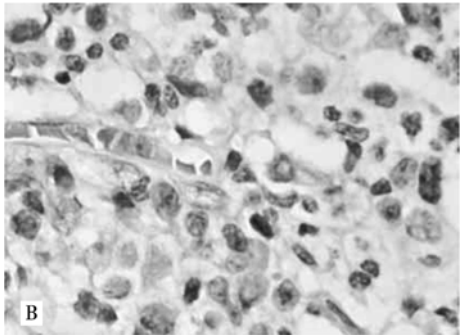
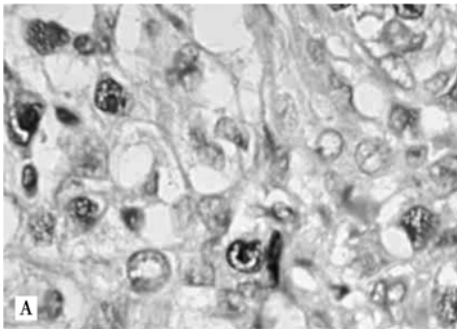
所有数据采用 SPSS13.0 统计学软件进行统计分析。

2 结果

2.1 两组中 CK5/6、HIF-1α 的表达

正常组及乳腺癌组的 CK5/6 的表达见图 1,两组患者 CK5/6 的表达有显著差异($P<0.05$)。见表 1。

三阴性乳腺癌及非三阴性乳腺癌患者 CK5/6 的表达见图 1,三阴性乳腺癌及非三阴性乳腺癌患者 CK5/6 的表达有显著差异($P<0.05$)。见表 2。



A 为正常组;B 为非三阴性乳腺癌组;C 为三阴性乳腺癌组
图 1 两组中 CK5/6 的表达(SP×400)

表 1 正常组与乳腺癌组 CK5/6 的表达比较(n,%)

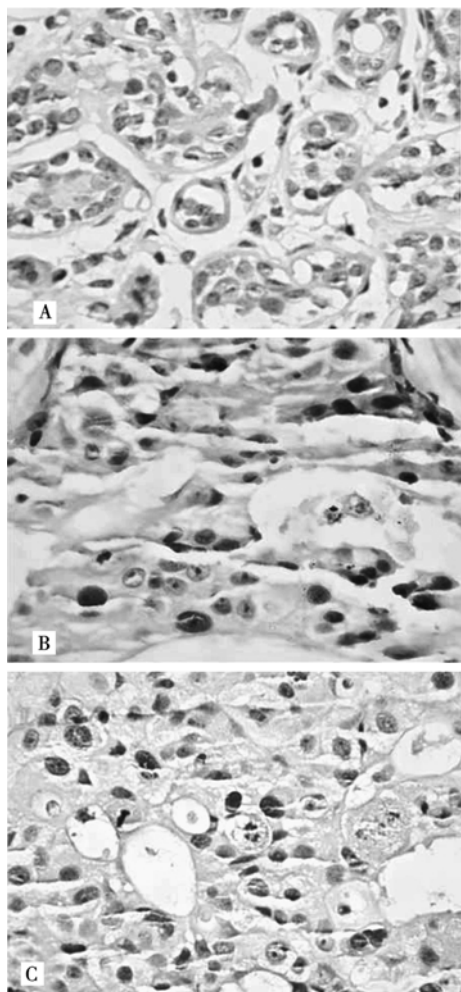
分组	—	+	++	+++
正常组(n=50)	48(96)	2(4)	0(0)	0(0)
乳腺癌组(n=260)	44(16.9)	110(42.3)	67(25.7)	51(19.6)
χ^2	6.225	7.113	5.693	7.014
P	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 2 三阴性乳腺癌及非三阴性乳腺癌 CK5/6 的表达比较(n,%)

分组	—	+	++	+++	χ^2	P
三阴性组(n=48)	4(8.3)	13(27.1)	19(39.6)	12(25)	30.938	<0.01
非三阴性组(n=212)	52(24.5)	109(51.4)	27(12.7)	24(11.4)		

正常组及乳腺癌组 HIF-1α 的表达见图 2,两组患者 HIF-1α 的表达有显著差异($P<0.05$)。见表 3。

三阴性乳腺癌及非三阴性乳腺癌患者的 HIF-1α 的表达见图 2,两组患者 HIF-1α 的表达有显著差异($P<0.05$)。见表 4。



A 为正常组;B 为非三阴性乳腺癌组;C 为三阴性乳腺癌组

图 2 3 组细胞中 HIF-1 α 的表达(SP $\times$ 100)表 3 两组中 HIF-1 α 的表达比较(n,%)

分组	—	+	++	+++	χ^2	P
正常组 (n=50)	50(100)	0(0)	0(0)	0(0)	101.289	<0.01
乳腺癌组 (n=260)	59(22.7)	82(31.5)	46(17.7)	55(21.1)		

表 4 三阴性及非三阴性乳腺癌 HIF-1 α 的表达比较(n,%)

分组	—	+	++	+++	χ^2	P
三阴性组 (n=48)	8(16.7)	8(16.7)	14(29.2)	18(37.4)	44.790	<0.01
非三阴性组 (n=212)	71(33.5)	100(47.2)	22(10.4)	19(8.9)		

2.2 CK5/6、HIF-1 α 的表达与临床病理资料的关系

三阴性乳腺癌组中 CK5/6、HIF-1 α 的表达与临床病理资料的相关性见表 5。CK5/6 在三阴性乳腺癌中的表达与肿瘤分期、肿瘤大小和淋巴结累

及情况均无关;HIF-1 α 高表达与乳腺癌组织学分期、临床分期和淋巴结转移关系密切。

表 5 三阴性乳腺癌组中 CK5/6、HIF-1 α 表达与临床病理资料的关系

临床参数	CK5/6				HIF-1 α			
	阳性	阳性率	趋势	P	阳性	阳性率	趋势	P
	例数	(%)	χ^2		例数	(%)	χ^2	
肿瘤大小(cm)								
≤2	21	47.7	1.880	>0.05	11	27.5	15.998	<0.01
>2	23	52.3			29	72.5		
肿瘤分期(期)								
I	22	50	0.000	>0.05	13	32.5	9.677	<0.01
II 和 III	22	50			27	67.5		
淋巴结转移								
无	20	45.5	0.719	>0.05	15	37.5	4.938	<0.05
有	24	54.5			25	62.5		

2.3 CK5/6、HIF-1 α 表达的相关性

采用 Spearman 秩相关检验检测三阴性乳腺癌组织中 CK5/6、HIF-1 α 表达的相关性。48 例三阴性乳腺癌中,CK5/6 和 HIF-1 α 表达呈正相关,见表 6。

表 6 三阴性乳腺癌组中 CK5/6、HIF-1 α 表达的相关性

	CK5/6	HIF-1 α	r	P
阳性例数(n)	38	6	0.149	<0.05
阴性例数(n)	2	2		

3 讨论

乳腺癌是多因素共同作用的结果^[3-7]。本实验应用免疫组织化学方法,检测 CK5/6、HIF-1 α 在正常乳腺组织及乳腺癌组织中的表达,并分析其表达与临床病理资料的相关性,为开发新的乳腺癌标志指标进行基础研究。

当肿瘤细胞快速分化、增殖时,一些在正常组织中不表现的细胞组分大量出现,如作为细胞支架的角蛋白成为肿瘤标志^[8]。由于角蛋白有多种类型^[9],所以也就形成了多种肿瘤标志^[10],这一类标志的分子组成往往是不含糖或脂的多肽链^[11],由于其体现了肿瘤共有的增殖特性,因而器官特异性差,是和多种肿瘤标志有关的广谱肿瘤标志,在鳞状细胞癌,如膀胱癌、肺癌阳性表达率较高^[12]。

本组发现三阴性乳腺癌组中 CK5/6 的表达与肿瘤分期、肿瘤大小和淋巴结转移情况无关,表明 CK5/6 在三阴性乳腺癌中的表达状态是由其基底样表型所决定的,即 CK5/6 的表达反映了肿瘤的

起源,而并不随肿瘤自身的进展而改变。

HIF 是近几年来发现的一种细胞因子^[13]。它作为一种核转录因子,在总体上调控细胞对氧的反应状况。研究发现 HIF-1 α 在恶性肿瘤发生、发展不同阶段的表达呈上升趋势^[14-16],过度表达提示预后不良。本文发现,乳腺癌中 HIF-1 α 阳性表达率显著高于正常乳腺组织,且三阴性乳腺癌中的阳性表达率高于非三阴性乳腺癌,揭示三阴性乳腺癌的肿瘤致病机制与缺氧诱导基因表达调节相关。

本组还发现三阴性乳腺癌组中 HIF-1 α 的表达与肿瘤分期、肿瘤大小和淋巴结转移情况密切相关,表明 HIF-1 α 的表达反映了肿瘤自身的进展,其阳性率越高预示着预后会越差。在 48 例三阴性乳腺癌中,CK5/6 和 HIF-1 α 表达呈正相关,预示 HIF-1 α 可能间接或直接调解细胞角蛋白 CK5/6 表达而参与肿瘤的侵袭转移等过程。

综上所述,CK5/6 和 HIF-1 α 在乳腺癌的发生、发展中发挥举足轻重的作用。本文结论有助于进一步研究肿瘤细胞凋亡、侵袭转移的分子水平调控机制,可为乳腺癌临床诊断提供依据。

参考文献:

[1] Bleicher RJ, Ruth K, Sigurdson ER, et al. Preoperative delays in the US Medicare population with breast cancer[J]. J Clin Oncol, 2012, 30(36): 4485-4492.

[2] 杨梓, 张喜平, 欧敬民. 三阴乳腺癌的中西医治疗进展[J]. 医学研究杂志, 2012, 41(9): 188-190.

[3] 康楠, 刘智红. 乳腺癌与其相关因子的研究进展[J]. 实用癌症杂志, 2012, 2(6): 673-674.

[4] Eralp Y, Ozluk DD, Yavuz E, et al. MAPK overexpression is associated with anthracycline resistance and increased risk for recurrence in patients with triple-negative breast cancer[J].

Ann Oncol, 2008, 19(4): 669-674.

[5] Umemura S, Yoshida S, Ohta Y, et al. Increased phosphorylation of Akt in triple-negative breast cancer[J]. Cancer Sci, 2007, 98(12): 1889-1892.

[6] Parikh RR, Yang Q, Higgins SA, et al. Outcomes in young women with breast cancer of triple-negative phenotype: the prognostic significance of CK19 expression[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2008, 70(1): 35-42.

[7] Kashiwagi S, Yashiro M, Takashima T, et al. Significance of E-cadherin expression in triple-negative breast cancer[J]. Br J Cancer, 2010, 103: 249-255.

[8] Weng YR, Cui Y, Fang JY. Biological functions of cytokeratin 18 in cancer[J]. Mol Cancer Res, 2012, 10(4): 485-493.

[9] Shetty S, Gokul S. Keratinization and its disorders[J]. Oman Med J, 2012, 27(5): 348-357.

[10] Strnad P, Paschke S, Jang KH, et al. Keratins: markers and modulators of liver disease[J]. Curr Opin Gastroenterol, 2012, 28(3): 209-216.

[11] Zheng S, Guo Y, Mones JM. Basal cell carcinoma with myoepithelial differentiation[J]. Am J Dermatopathol, 2011, 33(8): 863-866.

[12] Karantza V. Keratins in health and cancer: more than mere epithelial cell markers[J]. Oncogene, 2011, 30(2): 127-138.

[13] Dousias V, Vrekoussis T, Navrozoglou I, et al. Hypoxia-induced factor-1 α in endometrial carcinoma: a mini-review of current evidence[J]. Histol Histopathol, 2012, 27(10): 1247-1253.

[14] Evans CE, Branco-Price C, Johnson RS. HIF-mediated endothelial response during cancer progression[J]. Int J Hematol, 2012, 95(5): 471-477.

[15] Mucaj V, Shay JE, Simon MC. Effects of hypoxia and HIFs on cancer metabolism[J]. Int J Hematol, 2012, 95(5): 464-470.

[16] 张鹏飞, 吴继锋, 张红, 等. 胃癌中 HIF-1 α 、VEGF 及 Glut1 的表达[J]. 安徽医科大学学报, 2010, 45(1): 86-89.

(收稿日期 2013-04-15)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对作者署名的要求

论著作者署名一般不超过 6 人。署中每位作者应该是论文学术内容的构思者或设计者;实验数据的采集并能给予解释者;能对编辑部提出的审改意见进行修改者;能在学术界就论文内容进行答辩者。综述作者署名不超过 2 人。作者单位、邮政编码不同者应分别列出并予标识,作者单位之间用“;”隔开。不够署名条件但对研究成果有所贡献者可放在“志谢”项中。论文如属课题或基金项目,须在文章首页脚注中注明“基金项目和编号”。

本刊编辑部