

## 转移相关蛋白在乳腺癌原发灶与复发/ 转移灶中的表达及意义

曹利娟<sup>1</sup> 包芸<sup>2△</sup> 王文娟<sup>1</sup> 唐峰<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>复旦大学附属华山医院病理科 上海 200040; <sup>2</sup>复旦大学附属华山医院北院病理科 上海 201901)

**【摘要】 目的** 研究转移相关蛋白在乳腺癌原发灶与复发/转移灶中的生物表达差异,探讨其临床意义及对患者预后的影响。**方法** 收集复旦大学附属华山医院2001—2016年接受乳房改良根治术、术后经化疗及内分泌治疗、且发生复发或转移的乳腺癌患者共计31例(随访时间15年)。采用免疫组化方法检测患者原发灶及复发/转移灶肿瘤组织中雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)、人表皮生长因子受体2(CerbB-2)、增殖细胞核抗原(Ki67)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、黏附分子-细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(CD147)、活化的(蛋白)激酶C受体1(receptor of activated C-kinase 1, RAC1)及泛素样含PHD和环指域1(ubiquitin-like, containing PHD and RING finger domains 1, UHRF-1)蛋白的表达水平。分析上述蛋白在乳腺癌原发灶与复发/转移灶中表达的差异性,判断上述蛋白表达高低对患者术后无病生存时间的影响。**结果** 与原发灶相比,复发/转移灶中RAC1表达显著升高(22.6% vs. 48.4%,  $\chi^2=4.509$ ,  $P=0.034$ );且对比发现淋巴结转移患者和原发灶 $>2$  cm的乳腺癌患者RAC1表达显著升高(0 vs. 35.0%,  $\chi^2=4.973$ ,  $P=0.033$ ; 14.3% vs. 70.6%,  $\chi^2=9.827$ ,  $P=0.002$ )。随访截至2016年,31例中5人因肿瘤复发进展死亡,26人存活。ER、PR、CD147高表达者无病生存期长,CerbB-2、Ki67、EGFR、RAC1、UHRF-1高表达者无病生存期短。**结论** 上述转移相关蛋白直接或间接参与了乳腺癌细胞的分化、增殖和侵袭转移,可以预测乳腺癌的预后。除原发灶外,在复发/转移灶中同时联合检测这些指标可进一步帮助临床医师判断患者的预后、选取适合患者的最佳治疗方案,也为乳腺癌靶向治疗药物提供新的研究方向。

**【关键词】** 乳腺癌; 复发/转移; 转移相关蛋白; 免疫组化(IHC)

**【中图分类号】** R737.9 **【文献标志码】** A **doi:** 10.3969/j.issn.1672-8467.2020.04.021

## Expression and meaning of related proteins in recurrence/ metastasis and primary breast cancer

CAO Li-juan<sup>1</sup>, BAO Yun<sup>2△</sup>, WANG Wen-juan<sup>1</sup>, TANG Feng<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Department of Pathology, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China;

<sup>2</sup>Department of Pathology, Huashan Hospital North, Fudan University, Shanghai 201901, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate discordance of related proteins in metastasis between primary and recurrence/metastasis focuses of breast cancer, and to discuss their clinical significance and value on prognosis. **Methods** We collected 31 patients with locally recurrence or metastasis admitted in Huashan Hospital of Fudan University from 2001 to 2016 (follow-up was 15 years). All patients were performed modified radical mastectomy treatment on the first visit, and then accepted chemotherapy regiment and endocrine therapy. Immunohistochemistry (IHC) was applied to detect the expressions of estrogen receptor

上海市卫计委面上项目(201540307)

<sup>△</sup>Corresponding author E-mail: 1875513173@qq.com

网络首发时间:2020-07-24 14:35:48 网络首发地址:https://kns.cnki.net/KCMS/detail/31.1885.R.20200724.1120.008.html

(ER), progesterone receptor (PR), human epidermal growth factor receptor (CerbB-2), proliferating cell nuclear antigen (Ki67), epidermal growth factor receptor (EGFR), extracellular matrix metalloproteinase inducer (CD147), receptor of activated C-kinase 1 (RAC1) and ubiquitin-like, containing PHD and RING finger domains 1 (UHRF-1) in primary and recurrence/metastasis lesions. The differential expressions of these proteins were analyzed, and the effect of their expression levels on disease-free survival of patients was also estimated. **Results** The expression rate of RAC1 in recurrent/metastatic lesions was significantly increased compared with the original lesions (22.6% vs. 48.4%;  $\chi^2=4.509$ ,  $P=0.034$ ). Compared with patients without lymph node metastasis, those with lymph node metastasis showed increased expression rate of RAC1 (0 vs. 35.0%,  $\chi^2=4.973$ ,  $P=0.033$ ). Compared with patients with primary lesions within 2 cm in diameter, those  $>2$  cm lesions showed higher expression rate of RAC1 (14.3% vs. 70.6%,  $\chi^2=9.827$ ,  $P=0.002$ ). At the end of the follow-up period in 2016, 5 of the 31 patients died due to tumor recurrence and progression, and 26 of them survived. Patients with high ER, PR and CD147 expression had a longer disease-free survival, while those with high CerbB-2, Ki67, EGFR, RAC1, UHRF-1 expression had a shorter disease-free survival. **Conclusion** Metastasis-related proteins are directly or indirectly involved in the differentiation, proliferation, invasion and metastasis of the tumor cells, thus could predict the prognosis of breast cancer. In addition to the primary lesions, the simultaneous detection of these indicators in recurrence/metastasis can further help clinicians to judge the prognosis and select the best treatment protocols, also may provide new research direction for targeted therapy of breast cancer.

**【Key words】** breast cancer; recurrence/metastasis; metastasis related proteins; immunohistochemistry (IHC)

\* This work was supported by the General Program of Shanghai Health and Family Planning Commission (201540307).

近年来,乳腺癌在我国的发生率呈现出逐年上升的趋势,发病年龄也出现了年轻化的势头<sup>[1]</sup>。尽管乳腺癌的早期诊断措施与辅助治疗方法在不断进步,乳腺癌的复发转移仍然是影响乳腺癌患者生活质量及其预后的重要原因<sup>[2-3]</sup>。

转移相关蛋白有许多种,如雌激素受体(estrogen receptor, ER),孕激素受体(progesterone receptor, PR),人表皮生长因子受体2(CerbB-2)和增殖细胞核抗原(Ki67)等,是临床病理工作中常用的诊断及鉴别诊断指标,对于乳腺癌治疗方法的选择和预后的判定有指导作用,是目前公认的且备受重视的指标。其中浸润性导管癌中HER-2和Ki67蛋白的表达与组织学分级、有无转移呈正相关<sup>[4-5]</sup>。

以往文献中转移灶通常纳入前哨淋巴结<sup>[6]</sup>或者腋淋巴结<sup>[7-9]</sup>有转移的病例,且研究多集中在与治疗及分子分型密切相关的ER、PR、CerbB-2、Ki67等转移相关蛋白,发现原发灶与前哨淋巴结或腋淋巴结转移灶中相关转移蛋白的表达有差异,且会影响乳腺癌分子分型及治疗方法的选择。本研究不同之处为比较异时的远处器官或远处淋巴结的转移灶

与乳腺癌原发灶之间转移相关蛋白的表达差异情况,此类转移灶细胞可能具有更强的异质性与转移侵袭力,以往文献中较少报道且结论不一<sup>[10-14]</sup>。

我们发现多药耐药(multiple drug resistance, MDR)药物可以诱导乳腺癌细胞发生MDR,同时也可诱导转移相关蛋白CD147、MMPs和EGFR的表达,从而增强癌细胞的侵袭转移能力。有研究报道CD147在乳腺浸润性导管癌中高表达,在乳腺癌的发生发展中发挥重要作用。EGFR异常阳性会导致乳腺癌复发时间缩短、复发率升高、存活期变短等<sup>[15]</sup>。RAC1蛋白在乳腺癌的发生和发展中起着举足轻重的作用,亦能通过一定的机制参与乳腺癌的侵袭和转移<sup>[16]</sup>。人UHRF-1是近年热点研究的基因,其在乳腺癌肿瘤细胞生长、表达情况及与患者临床特点的关系及对复发转移的影响尚未不明确。最终我们将转移相关蛋白ER、PR、CerbB-2、Ki67、EGFR、CD147、RAC1和UHRF-1纳入本研究,比较其在乳腺癌原发灶与复发/转移灶中的差异表达情况,探讨其临床意义及对患者预后的影响。

## 资料和方法

**标本来源** 本课题经复旦大学附属华山医院伦理委员会批准。所有标本来自复旦大学附属华山医院病理科,于2001—2016年被诊断为乳腺浸润性导管癌,术前均未发现有远处转移灶,术后发生复发/转移的病例共69例(随访截至2016年12月31日,平均随访时间8.2年,最短3年,最长13年)。筛选条件:术式为改良根治术,术后使用相同化疗方案(CET),均经内分泌治疗,均未经放射治疗及靶向药物治疗,且有随访结果的患者。最终确定符合标准的病例共31例(随访时间15年),病理均证实为浸润性导管癌,组织学分级为Ⅰ级2例、Ⅱ级18例、Ⅲ级11例,肿块大小为 $\leq 2$  cm 14例、 $> 2$  cm 17例,腋下淋巴结转移20例、无转移11例,复发转移时间 $\leq 2$ 年19例、 $> 2$ 年12例,结局为存活26例、死亡5例。

**免疫组织化学染色** 切取石蜡包埋组织的白片,采用EnVision两步法进行免疫组化染色。其中ER、PR、CerbB-2、EGFR、CD147、RAC1、UHRF-1及Ki67一抗的来源和工作浓度见表1。

表1 免疫组织化学抗体一览表

Tab 1 Panel of antibodies for immunohistochemistry

Antigen	Clone	Source	Dilution
ER	SP1	Long Island	1:100
PR	SP2	Long Island	1:100
CerbB-2	EP3	Zhongshan	1:100
EGFR	EP38p	MXB Biotechnologies	1:200
CD147	OT14D3	Zhongshan	1:200
RAC1	RACK1 (B-3)	LifeSpan Biosciences	1:100
UHRF-1	28/ICBP90	BD Biosciences	1:400
Ki67	MIB-1	DaKo	1:100

**染色结果判读** 所有标本的染色结果判读由病理科医师进行,并由其上级医师复核确定。

**ER和PR** ER和PR的阳性部位是细胞核,其分级按细胞阳性数量所占的比例及着色深度分别计分:比例为0时记0分,1%~30%记1分,31%~60%记2分,大于60%记3分;细胞无着色时记0分,浅棕黄色记1分,正常棕黄色记2分,深棕黄色记3分。根据细胞阳性数量百分比及染色深度两项

指标的得分之和将最终结果划分为4个等级:0分为阴性(-),1~2分为弱阳性(+),3~4分为阳性(++),5~6分为强阳性(+++)。

所有病例CerbB-2均经FISH检验,其中判读为+++和经FISH检测为阳性的为扩增组,其余为阴性<sup>[17-18]</sup>。

**EGFR和CD147** EGFR和CD147的阳性部位大多反应在细胞膜上,少量可存在于细胞质内。光镜下观察免疫组化切片,按被染成阳性的肿瘤细胞占总数的百分比和染色深度分别计分:未着色记为0分,1%~50%为1分,51%~80%为2分,大于80%为3分;染色深度:无着色时为0分,浅棕黄色时为1分,棕黄色为2分,深棕黄色为3分。根据阳性细胞所占比例及染色深度两项指标的分数之和分为4个等级:0分为阴性(-),1~2分为弱阳性(+),3~4分为阳性(++),5~6分为强阳性(+++)。

**RAC1** RAC1着色部位主要在细胞质内,偶尔可在细胞核中。RAC1染色评分由肿瘤细胞被染为阳性的百分比和染色强度综合评价组成。肿瘤细胞被染为阳性的百分比分为4个等级:无阳性细胞时为0分,1%~30%为1分,31%~60%为2分,大于60%为3分;染色强度:无着色时为0分,浅棕黄色时为1分,棕黄色为2分,深棕黄色为3分;根据阳性细胞所占比例及染色深度两项指标的分数之和分为4个等级:0分为阴性(-),1~2分为弱阳性(+),3~4分为阳性(++),5~6分为强阳性(+++)。

**UHRF-1** UHRF-1的显色部位也是细胞核,其级别的划分也按照阳性细胞百分数和染色深度两项指标综合评级。细胞核未着色或全部为轻度着色或 $< 30\%$ 的肿瘤细胞核表现为中等的棕黄色着色为0级;30%~70%的细胞核表现为中等着色的棕黄色或 $< 30\%$ 的细胞核强着色记为1级;肿瘤细胞核着色比例 $> 70\%$ 或细胞核强着色比例 $> 30\%$ 时记为2级。

**Ki67** Ki67以肿瘤细胞的细胞核被染为棕黄色记作阳性。对每张组织的免疫组化切片取10个高倍视野(随机),以阳性细胞所占比例的平均值定义为阳性细胞率(%)。当阳性细胞所占百分比 $\leq 10\%$ 为1;11%~25%为2;26%~75%为3; $> 75\%$ 为4;并重复判读一次计数,然后把2次计数结果的平均值作为最终结论。

由于样本数量较少,故分析时将EGFR、CD147

和 RAC1 的-与+(或 UHRF1 组 0 和 1,Ki67 组 1 和 2)结果归为低表达组,将 EGFR、CD147 和 RAC1 的++和+++结果(或 UHRF-1 组 2 和 Ki67 组 3 和 4)归为高表达组。

**统计学处理** 使用 SPSS 21.0 软件包分析处理,计数资料的组间比较运用 $\chi^2$ 检验或 Fisher 确切概率法, $P<0.05$  为差异有统计学意义。运用 GraphPad Prism 5.0 软件分析蛋白表达水平与术后无病生存时间(disease-free survival,DFS)的关系。

## 结 果

**一般情况** 31 例患者中复发病例 6 例:位于同侧乳腺组织内者 4 例,双侧乳腺癌者 2 例;转移病例 25 例,分别为转移至胸壁 16 例、锁骨上淋巴结 2 例、锁骨下淋巴结 1 例、颈部淋巴结 1 例、肺 2 例、肝 1 例和骨 2 例。经 2016 年随访证实 5 例因肿瘤复发进展死亡,26 人存活。

### 原发灶与复发/转移灶各蛋白表达差异情况

原发灶与复发/转移灶各蛋白不同表达水平的病例数中,除了 RAC1,其他指标的病例数差异无统计学意义(表 2)。

**RAC1 蛋白表达水平与乳腺癌患者临床特点及预后的关系** 发生淋巴结转移的患者 RAC1 蛋白高表达比例为 35.0%(7/20),高于淋巴结无转移患者的 0(0/11),肿块 $\leq 2$  cm 的乳腺癌患者 RAC1 蛋白高表达为 14.3%(2/14),显著低于肿块 $> 2$  cm 的乳腺癌患者(70.6%,12/17),结果均有统计学意义( $\chi^2=4.973,P=0.033$ ; $\chi^2=9.827,P=0.002$ )(表 3)。

**8 种转移相关蛋白表达水平与患者 DFS 的关系** 随访截至 2016 年 12 月 31 日,31 例中 5 人因肿瘤复发进展死亡,26 人存活。ER、PR、CD147 高表达 DFS 长,而 CerbB-2、Ki67、EGFR、RAC1、UHRF-1 高表达者 DFS 短。8 种转移相关蛋白表达水平与患者术后 DFS 的关系见图 1 和图 2。

## 讨 论

本研究主要采用免疫组化方法检测了乳腺癌原发灶及复发/转移灶中 ER、PR、CerbB-2、Ki67、EGFR、CD147、RAC1 及 UHRF-1 蛋白的表达差异情况,结果发现复发/转移灶中 RAC1 由 22.6%(7/

表 2 原发灶与复发/转移灶各蛋白不同表达水平的例数

Tab 2 The number of cases with different protein expression levels in primary and recurrent metastasis (n=31)

Protein	Expression Level	Primary lesion	Recurrent/metastasis	$\chi^2$ and P
ER	-	10	14	$\chi^2=1.042$ $P=0.307$
	+	5	5	
	++	6	1	
	+++	10	11	
PR	-	7	10	$\chi^2=0.583$ $P=0.445$
	+	8	8	
	++	9	8	
	+++	7	5	
CerbB-2	Negative	18	21	$\chi^2=0.622$ $P=0.430$
	Over expression	13	10	
Ki67	1	12	17	$\chi^2=0.648$ $P=0.421$
	2	7	5	
	3	11	7	
	4	1	2	
EGFR	-	28	29	$\chi^2=2.067$ $P=0.492$
	+	1	2	
	++	1	0	
	+++	1	0	
CD147	-	8	5	$\chi^2=0.069$ $P=0.793$
	+	4	6	
	++	12	12	
	+++	7	8	
RAC1	-	19	13	$\chi^2=4.509$ $P=0.034$
	+	5	3	
	++	7	14	
	+++	0	1	
UHRF-1	0	19	14	$\chi^2=0.161$ $P=1.000$
	1	9	13	
	2	3	4	

31)显著上升到 48.4%(15/31),且差异具有统计学意义( $\chi^2=4.509,P=0.034$ )。

**RAC1 在肿瘤发生发展中的作用** RAC1 是 Rho 蛋白家族成员之一,多种 Rho 蛋白家族成员与恶性肿瘤细胞的表达、浸润性及转移具有相关性。RAC1 在某些基因转录过程中发挥调节作用,从而干预乳腺癌细胞的增殖、凋亡等过程<sup>[19]</sup>。RAC1 可以通过调节某些转录因子的活性如 AP-1、NF $\kappa$ B 等,从而干扰 cyclin D1 的表达,参与乳腺癌细胞周期调控<sup>[20]</sup>。

RAC1 通过 PAK1 激活 Limk,从而抑制 Cofilin 对肌动蛋白的解聚作用<sup>[21]</sup>。RAC1 蛋白的表达是乳腺癌患者独立的预后相关分子指标,其表达与肿瘤

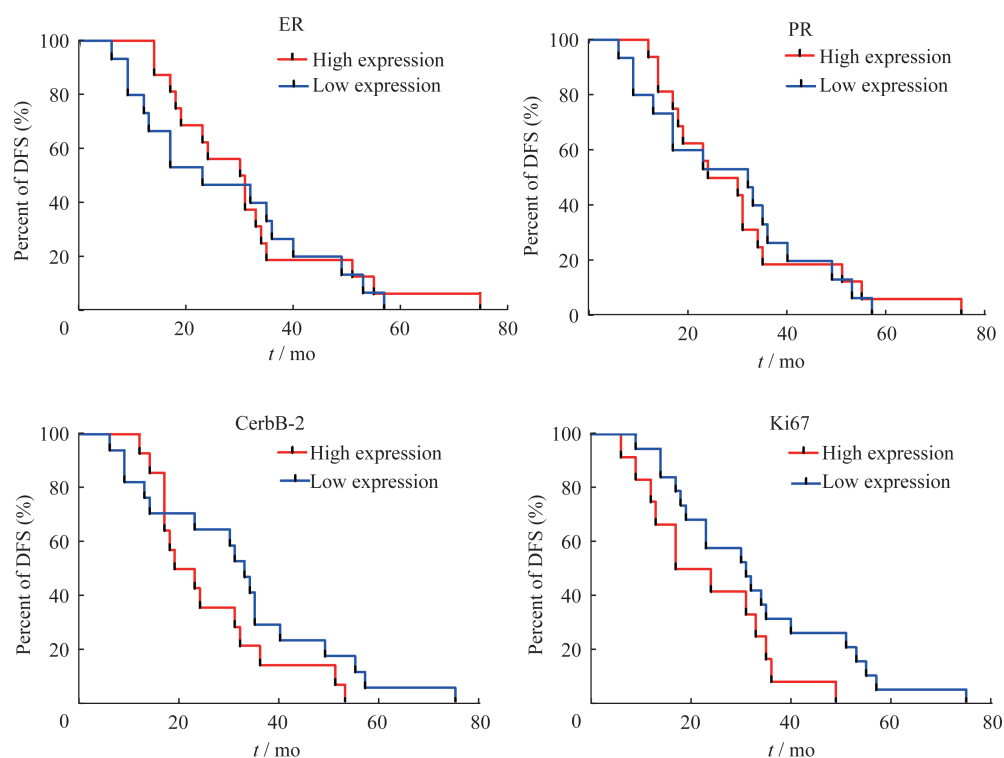


图1 ER、PR、CerbB-2、Ki67表达情况与乳腺癌患者术后无病生存时间的关系

Fig 1 The relationship between the expression of ER, PR, CerbB-2, Ki67 and the disease-free survival in breast cancer patients after surgery

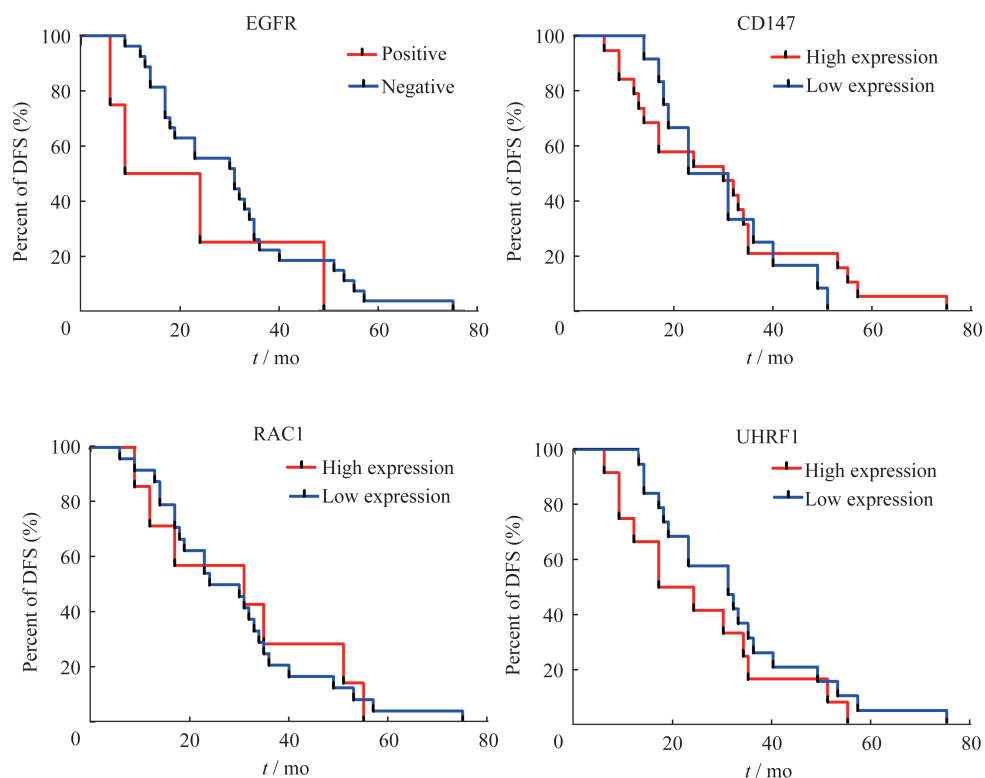


图2 EGFR、CD147、RAC1、UHRF-1表达情况与乳腺癌患者术后无病生存时间的关系

Fig 2 The relationship between the expression of EGFR, CD147, RAC1, UHRF-1 and the disease-free survival (DFS) in breast cancer patients after surgery

表3 肿瘤原发灶 RAC1 表达情况与乳腺癌临床特点及预后的相关性

Tab 3 The correlation between the expression of RAC1 in primary tumor and the clinical features and prognosis of breast cancer (n=31)

Clinical features	Number	The expression of RAC1		$\chi^2$ and <i>P</i>
		High expression	Low expression	
Lymph node				
Metastasis	20	7	13	$\chi^2=4.973$ <i>P</i> =0.033
No metastasis	11	0	11	
Histological grade				
I	2	0	2	$\chi^2=0.983$ <i>P</i> =0.612
II	18	5	13	
III	11	2	9	
TNM stage				
I	7	1	6	$\chi^2=1.415$ <i>P</i> =0.530
II	16	3	13	
III	8	3	5	
Outcome				
Death	5	3	2	$\chi^2=0.00$ <i>P</i> =1.000
Survival	26	15	11	
Tumor size				
≤2 cm	14	2	12	$\chi^2=9.827$ <i>P</i> =0.002
>2 cm	17	12	5	

大小、淋巴结转移、临床分期和组织学分级具有显著的相关性<sup>[22-23]</sup>。

Wnt5a/Dvl2/RAC1 信号通路对 MDA-MB-231 人乳腺癌细胞的迁移具有调控作用,且 RAC1 位于 Wnt5a/Dvl2/RAC1 信号通路的下游,高表达的 RAC1 可促进 MDA-MB-231 人乳腺癌细胞的迁移,干扰 RAC1 的表达可显著降低其迁移<sup>[24-25]</sup>。通过 RAC1-PAK1 信号通路,RAC1 可促进肿瘤细胞的迁移,若在乳腺癌细胞中加入 PAK1 抑制剂,高迁移能力的乳腺癌细胞的迁移能力会受抑制;PAK1 的表达会随着干扰 RAC1 的表达而下降,说明 PAK1 受到 RAC1 表达的调控,参与调节乳腺癌细胞的迁移运动<sup>[26-27]</sup>。细胞极性的改变往往与肿瘤细胞的侵袭和转移有关,在乳腺浸润性导管癌中,细胞极性部分反转的病例淋巴结的转移率高于没有细胞极性反转的病例且预后较差,RAC1 在细胞极性部分反转的病例中的表达水平明显高于没有反转的病例,RAC1 高表达可能引起乳腺浸润性导管癌细胞极性的改变,导致更差的预后<sup>[26]</sup>。

本研究共纳入 31 例患者,与原发灶相比,复发/

转移灶中 RAC1 蛋白表达水平显著升高;RAC1 高表达者 DFS 短。而我们关于 RAC1 表达水平与乳腺癌患者临床病理特点相关性的研究结果(发生淋巴结转移的患者 RAC1 蛋白高表达比例高于淋巴结无转移患者;肿块 ≥2 cm 的 RAC1 蛋白高表达比例显著高于肿瘤 <2 cm 的;临床分期较高的 RAC1 蛋白高表达的比例高于低临床分期患者;死亡患者中 RAC1 蛋白高表达比例高于存活患者的)与以往的结论相符合。RAC1 的表达有助于预测乳腺癌的侵袭转移、判断乳腺癌患者的预后。有文献报道 RAC1 作为针对肿瘤细胞迁移及抑制肿瘤血管生成的靶向药物,并针对肺癌患者应用<sup>[19,27]</sup>。乳腺癌原发灶与复发/转移灶中 RAC1 表达的差异性研究尚无报道,猜测这种差异或许与治疗方法和残存有较强转移能力的肿瘤细胞相关。

**EGFR 和 CD147 在乳腺癌组织中的表达** EGFR 是一种络氨酸激酶的细胞受体,通过结合相应的配体,激活络氨酸激酶,从而引起细胞的过度分裂、增殖及恶变。同时,EGFR 与肿瘤的发生和增殖的失控密切相关。实验表明 EGFR 的高表达或异常表达在肿瘤中非常显著<sup>[19,28]</sup>。我们以往的研究<sup>[29]</sup>发现,短期化疗后 EGFR 的表达明显增强,EGFR 过表达的患者更容易有淋巴结转移。本次研究发现,死亡病例中 EGFR 阳性表达比例为 60.00%(3/5),远高于存活病例的阳性表达比例 3.84%(1/26),且差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),即患者如果 EGFR 阳性,则倾向于预后更差以及死亡率更高,这与之前的研究结论相符。CD147 是跨膜糖蛋白分子的一种,属于免疫球蛋白超家族(IgSF),CD147 分子广泛表达于身体各部分的组织,但正常情况其表达程度一般较低<sup>[29]</sup>。有研究发现 CD147 对乳腺癌的侵袭和转移有明显的促进作用,高表达 CD147 的病例生存比例明显低于低表达病例组<sup>[30-32]</sup>。由于本次研究并未发现原发灶与复发/转移灶中二者的差异,故无法深入讨论和分析。

**ER、PR、CerbB-2、Ki67 和 UHRF-1 在乳腺癌组织中的表达** 乳腺是 ER 和 PR 的靶器官,在正常乳腺上皮细胞的细胞核中二者同时存在并且保留在乳腺癌细胞中<sup>[33]</sup>。CerbB-2 是与乳腺癌的发生、发展密切相关的原癌基因,是重要的预测和判断乳腺癌预后的独立指标<sup>[33]</sup>,作为生物学标志常用于乳腺癌的诊断和治疗。CerbB-2 蛋白在原发灶和腋窝转

移淋巴结表达情况的研究较多,但报道原发灶与复发及远处转移灶之间表达差异的文献并不多且结论不一<sup>[34]</sup>。1983年,Gerdes等<sup>[35]</sup>首先发现了Ki67是一种仅在增殖细胞中表达的核抗原,是检测肿瘤细胞增殖活性最可靠的指标之一。Fasching等<sup>[36]</sup>的研究表明,Ki67能够准确地反映肿瘤的恶性扩散情况,与肿瘤的发生、发展、转移及预后相关,对肿瘤生物学行为的研究和判断肿瘤的恶性程度至关重要<sup>[37-38]</sup>。UHRF-1基因是近年来发现的较新的基因,人和小鼠的UHRF-1基因的氨基酸序列的同源性为73.7%。小鼠UHRF-1基因对细胞周期进程和细胞增殖的调节及细胞放射敏感性等方面有影响,而人类UHRF-1的生物学功能尚不清楚。李新莉等<sup>[39]</sup>通过稳定转染技术,提高了人乳腺癌细胞BT-549中UHRF-1的表达水平,并通过MTT方法观察了增加人UHRF-1的表达对乳腺癌细胞生长的影响,结果发现转染了人UHRF-1的BT-549人乳腺癌细胞生长速度明显加快。而另一项研究发现UHRF-1蛋白在乳腺癌中的阳性表达率高于癌旁正常组织,且与乳腺癌的分期及放疗后胸壁局部复发有关<sup>[40]</sup>。

本研究观察了原发灶与复发灶或转移灶之间ER、PR、CerbB-2、Ki67、UHRF-1抗体表达的差异状况及其与乳腺癌患者术后DFS的关系。以往文献推测原发灶与复发/转移灶的差异表达原因主要有:乳腺癌的高度异质性在疾病的发生发展及治疗过程中可能伴有肿瘤细胞受体状态的改变<sup>[41]</sup>;也不排除检测方法、组织处理<sup>[42]</sup>和抗体克隆号及厂家的影响。本研究未发现ER、PR、CerbB-2、Ki67和UHRF-1蛋白在肿瘤原发灶与复发/转移灶中表达水平有显著差异,可能与样本量较小也有关系。蛋白之间的作用是相互的,不能凭借单一指标去推测乳腺癌的临床表现及预后。

综上所述,转移相关蛋白直接或间接参与了乳腺癌的分化、增殖和侵袭转移,同时可以预测乳腺癌的预后,因此,探究这些指标内在的相互作用及对乳腺癌肿瘤细胞的作用机制十分有意义。联合检测原发灶与复发/转移灶中相关指标的表达情况可以进一步帮助临床医师判断患者的预后,选取适合患者的最佳治疗方案,也可能为乳腺癌靶向治疗药物提供新的研究方向。

## 参 考 文 献

- [1] 杜沛玲,方佳英,贾潇岳,等.1994~2013年中国女性乳腺癌流行病学特征[J].汕头大学医学院学报,2016,29(2):124-126.
- [2] 王治宽,孟海燕,韩春,等.乳腺癌原发和转移灶中ER、PR及Her-2的表达[J].军医进修学院学报,2010,31(10):1026-1028.
- [3] 周红旭,杜烨,于云鹤,等.乳腺癌原发灶和同侧腋窝淋巴结转移灶中激素受体及Her-2表达差异及其对预后的影响[J].吉林大学学报(医学版),2019,45(2):376-382.
- [4] 任秋华,肖明明,侯慧,等.ER、PR、CerbB-2、p53和Ki67蛋白在乳腺癌中的表达及其意义[J].中国肿瘤临床与康复,2010,17(1):13-15.
- [5] 李维权,宋茂民.HER-2、P53、Ki-67、Nm23、ER、PR蛋白在乳腺癌中的表达及临床意义[J].标记免疫分析与临床,2011,18(1):18-22.
- [6] 王耀辉,高丽丽,王晨曦,等.ER、PR、Her-2及Ki-67在乳腺癌原发灶和前哨淋巴结转移灶中的表达对比研究[J].现代肿瘤医学,2019,27(6):959-963.
- [7] 郑向欣,管小青,吴骥,等.乳腺癌原发灶与腋淋巴结转移灶激素受体与人类表皮生长因子受体2表达情况研究[J].中国综合临床,2017,33(9):778-781.
- [8] 陈涛,方志潮,陈娉珊,等.肿瘤分子标记物4项在乳腺癌原发灶与腋窝淋巴结转移灶表达差异的临床研究[J].内蒙古医学杂志,2017,49(2):226-227.
- [9] 庞凯,王伟,张爽,等.乳腺癌原发灶与淋巴结转移灶分子标志物表达差异的回顾性研究[J].国际外科学杂志,2018,45(1):5-10.
- [10] SIGHOKO D, LIU J, HOU N, *et al.* Discordance in hormone receptor status among primary, metastatic, and second primary breast cancers: biological difference or misclassification?[J].*Oncologist*, 2014, 19(6):592-601.
- [11] CURTIT E, NERICH V, MANSI L, *et al.* Discordances in estrogen receptor status, progesterone receptor status, and HER2 status between primary breast cancer and metastasis [J].*Oncologist*, 2013, 18(6):667-674.
- [12] MACFARLANE R, SEAL M, SPEERS C, *et al.* Molecular alterations between the primary breast cancer and the subsequent locoregional/metastatic tumor [J].*Oncologist*, 2012, 17(2):172-178.
- [13] 袁渊,胡赛男,高津,等.乳腺癌原发灶和转移灶中雌激素受体孕激素受体人表皮生长因子受体2和Ki-67的表达变化[J].中华肿瘤杂志,2019,41(9):681-685.
- [14] 彭理,赵佳琳,赵大春,等.免疫组织化学指标在乳腺癌原发灶和复发转移灶之间的表达差异[J].中国医学科学院学报,2019,41(5):673-677.
- [15] COLEY HM, SHOTTON CF, AJOSE-ADEOGUN A, *et al.* Receptor tyrosine kinase (RTK) inhibition is effective

- in chemosensitising EGFR-expressing drug resistant human ovarian cancer cell lines when used in combination with cytotoxic agents [J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 72(8):941-948.
- [16] CAO XX, XU JD, XU JW, *et al.* RACK1 promotes breast carcinoma migration/metastasis via activation of the RhoA/Rho kinase pathway [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 126(3):555-563.
- [17] WOLFF AC, HAMMOND M, ALLISON KH, *et al.* Human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(20):2105-2122.
- [18] QIAN XL, WEN HY, YANG YL, 等. FISH检测乳腺癌HER-2的结果不确定性:新旧美国ASCO/CAP指南比较[J]. 临床与实验病理学杂志, 2017, 33(2):124.
- [19] BID HK, ROBERTS RD, MANCHANDA PK, *et al.* RAC1: an emerging therapeutic option for targeting cancer angiogenesis and metastasis [J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12(10):1925-1934.
- [20] SCHMITZ AA, GOVEK EE, BOTTFNER B, *et al.* Rho GTPases: signaling, migration, and invasion [J]. *Exp Cell Res*, 2000, 261(1):1-12.
- [21] EDWARDS DC, SANDERS LC, BOKOCH GM, *et al.* Activation of LIM-kinase by Pak1 couples Rac/Cdc42 GTPase signalling to actin cytoskeletal dynamics [J]. *Nat Cell Biol*, 1999, 1(5):253-259.
- [22] CAO XX, XU JD, LIU XL, *et al.* RACK1: A superior independent predictor for poor clinical outcome in breast cancer [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(5):1172-1179.
- [23] 曹汐汐. RACK1对人乳腺癌增殖、迁移和侵袭转移的影响及相关机制的研究[D]. 复旦大学, 2010.
- [24] 张万秋, 田寅辉, 朱一超, 等. Wnt5a/Dvl2/Rac1信号通路调控MDA-MB-231人乳腺癌细胞的迁移[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2013, 33(12):1664-1668.
- [25] 刘娜, 翁闪凡, 陈姝, 等. miR-101-3p靶向调控Rac1对乳腺癌细胞侵袭和迁移的影响[J]. 山东医药, 2019, 59(10):26-29.
- [26] LIU B, XIONG J, LIU G, *et al.* High expression of Rac1 is correlated with partial reversed cell polarity and poor prognosis in invasive ductal carcinoma of the breast [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(7):1393378756.
- [27] ZOU T, MAO X, YIN J, *et al.* Emerging roles of RAC1 in treating lung cancer patients [J]. *Clin Genet*, 2017, 91(4):520-528.
- [28] 张凯丽, 冀宏, 王影, 等. HSP27与FAS/FASL在三阴性乳腺癌侵袭转移中的作用[J]. 中国肿瘤临床, 2015, 42(3):147-151.
- [29] 包芸, 王文娟, 唐峰, 等. 乳腺癌化疗前后表皮生长因子受体表达的变化及其意义[J]. 复旦学报(医学版), 2011, 38(3):198-203.
- [30] 何拓, 孙静, 王婧伊, 等. CD147在肿瘤侵袭及转移过程中的作用[J]. 海南医学, 2017, 28(19):3189-3192.
- [31] ZHOU S, LIAO L, CHEN C, *et al.* CD147 mediates chemoresistance in breast cancer via ABCG2 by affecting its cellular localization and dimerization [J]. *Cancer Lett*, 2013, 337(2):285-292.
- [32] LIU M, TSANG J, LEE M, *et al.* CD147 expression is associated with poor overall survival in chemotherapy treated triple-negative breast cancer [J]. *J Clin Pathol*, 2018, 71(11):1007-1014.
- [33] 周力恒, 殷文瑾, 陆劲松, 等. 雌激素受体阳性孕激素受体表达不同的乳腺癌患者肿瘤特征比较[J]. 中华医学杂志, 2007, 87(39):2764-2767.
- [34] 王若曦, 王水. 乳腺癌ER、PR及HER-2在原发灶和转移灶之间表达关系的研究进展[J]. 江苏医药, 2013, 39(8):958-961.
- [35] GERDES J, SCHWAB U, LEMKE H, *et al.* Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation [J]. *Int J Cancer*, 1983, 31(1):13-20.
- [36] FASCHING PA, HEUSINGER K, HAEBERLE L, *et al.* Ki67, chemotherapy response, and prognosis in breast cancer patients receiving neoadjuvant treatment [J]. *BMC Cancer*, 2011, 11:486.
- [37] BRAVACCINI S, ROCCA A, BRONTE G. Is Ki67 still a powerful ally in predicting the clinical benefit of anthracyclines for the adjuvant treatment of early breast cancer? [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2018, 168(3):767-768.
- [38] AITKEN SJ, THOMAS JS, LANGDON SP, *et al.* Quantitative analysis of changes in ER, PR and HER2 expression in primary breast cancer and paired nodal metastases [J]. *Ann Oncol*, 2010, 21(6):1254-1261.
- [39] 李新莉, 朱然, 朱巍, 等. 人UHRF1基因对乳腺肿瘤细胞BT-549生长的影响[J]. 苏州大学学报(医学版), 2008(3):345-348.
- [40] 耿冲, 张旭光, 叶涛, 等. UHRF1蛋白在乳腺癌组织中的表达及其与局部复发的相关性[J]. 肿瘤研究与临床, 2017, 29(10):670-672.
- [41] 范小超, 杨奔, 左文述. 乳腺癌原发灶和转移灶激素受体与HER2表达差异及其影响因素[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2017, 24(1):65-70.
- [42] 张吴琼, 姚景昊, 杨燕. 原发性乳腺癌与同期转移灶激素受体及HER-2状态表达差异的研究现状[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2018, 39(24):2943-2946.

(收稿日期:2019-07-16; 编辑:张秀峰)