



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.05.026  
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract3900.shtml

· 简要论著 ·

# ABCB5 和 SphK1 在乳腺癌组织中的表达及意义

熊伟, 吴煌福, 黄光越, 陈华敏, 吴晓明

(海南省农垦总医院 肿瘤外科, 海南海口 430000)

## 摘要

**目的:** 探讨 ABCB5 和鞘氨醇激酶 1 (SphK1) 在乳腺癌组织中的表达水平及两者与临床病理特征和预后的关系。

**方法:** 收集于行手术切除的 92 例乳腺癌组织及 45 例对应癌旁组织, 采用免疫组化 SP 法分别检测癌组织及癌旁组织中的表达情况并根据二级计分法将其分为低表达和高表达部分, 分析两蛋白表达水平与临床病理参数的关系及两者表达的相关性。

**结果:** 乳腺癌组织 ABCB5 和 SphK1 蛋白的高表达率分别为 69.6% (64/92) 和 58.7% (54/92), 均高于癌旁组织的 35.6% (16/45) 和 40.0% (18/45), 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 乳腺癌组织中 ABCB5 蛋白表达与分期、病理类型、月经情况和淋巴结转移有关, 而 SphK1 蛋白表达与分期、肿瘤大小、月经情况、淋巴结转移、ER 及 HER-2 表达有关 ( $P < 0.05$ ); ABCB5 和 SphK1 蛋白表达呈正相关 ( $r = 0.453, P = 0.022$ )。

**结论:** ABCB5 和 SphK1 在乳腺癌组织中高表达, 两者可能在乳腺癌的发生发展中有一定作用, 检测 ABCB5 和 SphK1 辅助乳腺癌的诊断和病情评估。 [中国普通外科杂志, 2014, 23(5):688-691]

## 关键词

乳腺肿瘤 / 病理学; ABCB5; 鞘氨醇激酶; 预后  
中图分类号: R737.9

乳腺癌是全球严重威胁女性健康的疾病之一, 发病率居女性恶性肿瘤首位, 近年来日趋年

轻化<sup>[1]</sup>。因此探索影响乳腺癌发生发展的相关因素对降低乳腺癌发病率及提高术后生存期有重要意义。乳腺癌是一种异质性较高的恶性肿瘤, 涉及多个过程及基因, 故筛选鉴定与该病密切相关的基因已成为当务之急<sup>[2]</sup>。ABC 膜转运家族在多药耐药中起重要作用, 如其可向细胞外排出化疗药物来降低胞内药物浓度<sup>[3]</sup>。细胞内鞘脂

收稿日期: 2014-02-04; 修订日期: 2014-04-27。

作者简介: 熊伟, 海南省农垦总医院主治医师, 主要从事胃肠腹腔镜手术及乳腺肿瘤方面的研究。

通信作者: 熊伟, Email: 36725747@qq.com

## 参考文献

- [1] 牛瑞芳, 杨毅, 刘红, 等. 乳腺癌中癌基因抗癌基因表达分析[J]. 中国肿瘤临床, 2003, 30(3):167-171.
- [2] Alphonse GT, Smith BL, Erban JK. Breast Cancer: A Multidisciplinary Approach to Diagnosis and Management[M]. New York: Demos Medical Publishing, 2009:1-3.
- [3] Zamore PD. Ancient pathways programmed by small RNAs[J]. Science, 2002, 296(5571):1265-1269.
- [4] Siddiqi S, Terry M, Matushansky I. Hiwi mediated tumorigenesis is associated with DNA hypermethylation[J]. PLoS One, 2012, 7(3):e33711.
- [5] York A. Gene therapy: the state of the art[J]. Lancet Oncol, 2005, 6(4):196.
- [6] Lungwitz U, Breunig M, Blunk T, et al. Polyethylenimine-based non-viral gene delivery systems[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2005, 60(2):247-266.
- [7] Wang R, Li Z, Guo H, et al. Caveolin 1 knockdown inhibits the proliferation, migration and invasion of human breast cancer BT474 cells[J]. Mol Med Rep, 2014, 9(5):1723-1728.
- [8] Tezcan O, Gündüz U. Vimentin silencing effect on invasive and migration characteristics of doxorubicin resistant MCF-7 cells[J]. Biomed Pharmacother, 2014, 68(3):357-364.
- [9] Kim YJ, Choi JS, Seo J, et al. MET is a potential target for use in combination therapy with EGFR inhibition in triple-negative/basal-like breast cancer[J]. Int J Cancer, 2014, 134(10):2424-2436.
- [10] 刘顺芳, 刘谨文, 杨志芳, 等. DJ-1 shRNA 靶向逆转人乳腺癌阿霉素耐药细胞株 MCF-7/ADM 的耐药性[J]. 中国普通外科杂志, 2010, 11(19):1219-1222.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 胡小辉, 黄胜超, 吴海滨, 等. 靶向 Hiwi 基因的 RNAi 对乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(5):685-688. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.05.025  
Cite this article as: HU XH, HUANG SC, WU HB, et al. The effect of the siRNA targeted Hiwi gene on breast cancer cell proliferation and apoptosis[J]. Chin J Gen Surg, 2014, 23(5):685-688. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.05.025

代谢平衡可影响细胞稳态,其代谢产物参与癌细胞的增殖与凋亡<sup>[4]</sup>。ABCB5 是 ABC 家族中的新近发现成员,而鞘氨醇激酶 1 (Sphingosine kinase-1, SphK1) 是细胞内鞘脂代谢的重要限速酶<sup>[5-6]</sup>,两者在乳腺癌中的表达情况目前鲜有报道。故本研究采用免疫组化 SP 法检测乳腺癌组织中 ABCB5 和 SphK1 的表达情况,并分析两者与乳腺癌临床病理特征的关系,现将结果报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

收集本院 2010 年 2 月—2013 年 10 月经术后病理确诊的 92 例乳腺癌患者的癌组织石蜡标本及 45 例癌旁组织。年龄 31~73 岁,平均年龄为 54.2 岁,≤50 岁者 41 例,>50 岁者 51 例。病理分期: I 期 24 例, II 期 20 例, III 期 23 例, IV 期 25 例。病理类型: 浸润性导管癌 75 例,其他 17 例。肿瘤大小: ≤5 cm 者 59 例,>5 cm 者 33 例。月经情况: 未绝经 36 例,绝经 56 例。34 例有淋巴结转移, ER 阳性者 47 例, PR 阳性者 57 例, HER-2 阳性者 45 例。纳入标准: (1) 一般及随访资料完整真实; (2) 术前均未行放疗及内分泌治疗; (3) ECOG 评分 0~1 分; (4) 均取得患者的知情同意。

### 1.2 方法

采用免疫组织化学 SP 法检测 92 例乳腺癌组织及 45 例癌旁组织中的 ABCB5 和 SphK1 表达,根据免疫组化常用二级计分法进行病理切片评分,并分为高表达和低表达,分析两蛋白表达水平与乳腺癌常见临床病理参数(年龄、分期、病理类型、肿瘤大小、月经情况、淋巴结转移、ER、PR 和 HER-2 表达)的关系。

### 1.3 主要试剂与仪器

兔抗人 ABCB5 多克隆抗体(美国 ABGENT 公司),鼠抗人 SphK1 多克隆抗体(Santa cruz 公

司),免疫组化试剂盒及 DAB 显色液(福州迈新生物技术开发有限公司)。光学显微镜(Olympus 公司),石蜡切片机(德国 LEICA 公司)。

### 1.4 免疫组化 SP 法

术后立即将病理组织用石蜡包埋,置于低温冰箱内复温,切成厚度为 5 μm 的切片,依次经脱蜡、酒精水化、高压修复、内源性过氧化物酶灭活后,分别加入 ABCB5、SphK1 一抗,37℃ 孵育,经 DAB 显色、苏木素复染、脱水及透明后,采用中性树胶封片。以已知阳性组织切片作阳性对照,以 PBS 代替一抗作阴性对照。

### 1.5 免疫组化的结果判断标准

光镜下观察整个切片,均由 2 名病理医生采用双盲法阅片,每例随机选取 5 个高倍镜视野。ABCB5 和 SphK1 的阳性表达位于胞浆,呈棕黄色或棕褐色。评分以染色强度与阳性细胞计数结合起来计算。(1)按阳性细胞数计数:阳性细胞数≤5% 计为 0 分,6%~25% 为 1 分,26%~50% 为 2 分,51%~75% 为 3 分,>75% 为 4 分。(2)按染色深浅:无阳性细胞计为 0 分,黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。将两者得分相乘,以 5 分为界值分为低表达(<5 分)和高表达(≥5 分)。

### 1.6 统计学处理

采用 SPSS 16.0 版软件分析数据,数据均以“率”表示并行  $\chi^2$  检验,两蛋白表达相关性分析采用 Spearman 相关分析。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组 ABCB5 和 SphK1 蛋白表达情况

癌组织 ABCB5 和 SphK1 蛋白的高表达率分别为 69.6% (64/92) 和 58.7% (54/92),均高于癌旁组织的 35.6% (16/45) 和 40.0% (18/45),组间差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ) (表 1)。

表 1 两组 ABCB5 和 SphK1 蛋白表达情况比较 [n (%)]

组别	n	ABCB5		$\chi^2$	P	SphK1		$\chi^2$	P
		高表达	低表达			高表达	低表达		
癌组织	92	64 (69.6)	28 (30.4)	14.387	0.000	54 (58.7)	38 (41.3)	4.236	0.040
癌旁组织	45	16 (35.6)	29 (64.4)			18 (40.0)	27 (60.0)		

### 2.2 乳腺癌组织中 ABCB5 蛋白表达与临床病理参数的关系

ABCB5 蛋白表达与年龄、肿瘤大小、ER、

PR 及 HER-2 表达均无关,但与分期、病理类型、月经情况和淋巴结转移有关。其中,分期为 III+IV 者的高表达率高于 I+II 者 (79.2% vs. 59.1%,

$P=0.037$ ), 浸润性导管癌者较其他病理类型的高表达率高 (77.3% vs. 35.3%,  $P=0.001$ ), 绝经者较未绝经者的高表达率高 (80.4% vs. 52.8%,

$P=0.005$ ), 有淋巴结转移者较无转移者的高表达率高 (85.3% vs. 60.3%,  $P=0.012$ ) (表2)。

表2 ABCB5 和 SphK1 蛋白表达与临床病理参数的关系 [n (%)]

组别	n	ABCB5		$\chi^2$	P	SphK1		$\chi^2$	P
		高表达	低表达			高表达	低表达		
年龄 (岁)									
≤ 50	41	32 (78.0)	9 (22.0)	2.514	0.113	29 (70.7)	12 (29.3)	0.868	0.352
> 50	51	32 (62.7)	19 (37.3)			25 (49.1)	26 (50.9)		
分期									
I+II	44	26 (59.1)	18 (40.9)	4.370	0.037	19 (43.2)	25 (56.8)	9.659	0.002
III+IV	48	38 (79.2)	10 (20.8)			35 (72.9)	13 (27.1)		
病理类型									
浸润性导管癌	75	58 (77.3)	17 (22.7)	11.568	0.001	41 (54.7)	34 (45.3)	2.718	0.099
其他	17	6 (35.3)	11 (64.7)			13 (76.5)	4 (23.5)		
肿瘤大小 (cm)									
≤ 5	59	39 (66.1)	20 (33.9)	0.932	0.334	26 (44.1)	34 (57.6)	17.483	0.000
> 5	33	25 (75.8)	8 (24.2)			29 (87.9)	4 (12.1)		
月经情况									
未绝经	36	19 (52.8)	17 (47.2)	7.872	0.005	30 (83.3)	6 (16.7)	10.45	0.001
绝经	56	45 (80.4)	11 (19.6)			28 (50.0)	28 (50.0)		
淋巴结转移									
有	34	29 (85.3)	5 (14.7)	6.302	0.012	29 (85.3)	5 (14.7)	15.738	0.000
无	58	35 (60.3)	23 (39.7)			25 (43.1)	33 (56.9)		
ER									
阴性	45	35 (77.8)	10 (22.2)	2.806	0.094	15 (33.3)	30 (66.7)	23.371	0.000
阳性	47	29 (61.7)	18 (38.3)			39 (83.0)	8 (17.0)		
PR									
阴性	35	22 (62.9)	13 (37.1)	1.201	0.273	20 (57.1)	15 (42.9)	0.056	0.813
阳性	57	42 (73.7)	15 (26.3)			34 (59.6)	23 (40.4)		
HER-2									
阴性	47	33 (70.2)	14 (29.8)	0.019	0.890	22 (46.8)	25 (53.2)	5.600	0.018
阳性	45	31 (68.9)	14 (31.1)			32 (71.1)	13 (28.9)		

### 2.3 乳腺癌组织中 SphK1 蛋白表达与临床病理参数的关系

SphK1 蛋白表达与年龄、病理类型及 PR 表达均无关, 但与分期、肿瘤大小、月经情况、淋巴结转移、ER 及 HER-2 表达有关。其中, 分期为 III+IV 者的高表达率高于 I+II 者 (72.9% vs. 43.2%,  $P=0.002$ ), 肿瘤大小 >5 cm 者较 ≤ 5 cm 者的高表达率高 (87.9% vs. 44.1%,  $P=0.000$ ), 未绝经者较绝经者的高表达率高 (83.3% vs. 50.0%,  $P=0.005$ ), 有淋巴结转移者较无转移者的高表达率高 (85.3% vs. 43.1%,  $P=0.005$ ), ER 阳性者较阴性者的高表达率高 (83.0% vs. 33.3%,  $P=0.000$ ), HER-2 阳性者较阴性者的高表达率高 (71.1% vs. 46.8%,  $P=0.018$ ) (表2)。

### 2.4 乳腺癌组织中 ABCB5 和 SphK1 蛋白表达的相关性

乳腺癌组织中 ABCB5 不同表达水平间的

SphK1 表达差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ); 两蛋白的表达呈正相关性 ( $r=0.453$ ,  $P=0.022$ ) (表3)。

表3 乳腺癌组织中 ABCB5 和 SphK1 蛋白表达的相关性

蛋白	SphK1		$\chi^2$	P	
	高	低			
ABCB5	高	47 (73.4)	17 (26.6)	18.850	0.000
	低	7 (25.0)	21 (75.0)		
r	0.453				
P	0.022				

## 3 讨论

手术是治疗乳腺癌的常用手段之一, 为提高远期生存情况, 术后常辅助化疗, 但治疗过程中出现耐药严重影响了化疗效果, 因此肿瘤耐药是提高乳腺癌术后生存情况需克服的难题。耐药可分为两个阶段, 一个为原发性耐药, 发生在治疗初始阶段, 另一个为获得性耐药, 可发生在几个

化疗周期后。耐药基因介导了肿瘤耐药的发生,其中包括 ABC 膜转运蛋白家族。ABCB5 位于人 7 p21.1,与 ABCB1 类似,可促进药物外排<sup>[5]</sup>。通过 siRNA 手段沉默黑色素细胞中 ABCB5 表达,可提高该细胞对喜树碱的敏感性<sup>[7]</sup>。另一项研究指出,ABCB5 缺失的黑色素瘤细胞中阿霉素累积水平高于野生型,提示 ABCB5 可促进阿霉素外排<sup>[8]</sup>。以上提示 ABCB5 与肿瘤细胞产生耐药有关,但在乳腺癌中的表达及与耐药的关系尚未见报道。

神经鞘脂类广泛存在于细胞膜上,并参与多种病理生理过程,常见的有炎症反应、细胞分化及生长等<sup>[9]</sup>。SphK1 是神经鞘脂类代谢的限速酶,在其产物动态平衡中起作用<sup>[6]</sup>。研究<sup>[10]</sup>证实,SphK1 基因表现出癌基因特性,可刺激细胞生长,最终导致细胞的恶性转化。目前已发现该蛋白在肺癌、头颈部癌和黑色素瘤等中过表达,但未见在乳腺癌中的报道。鉴于 ABCB5 和 SphK1 在恶性肿瘤发生发展中的重要作用,故本研究检测两者在蛋白质中的表达。

本研究发现:乳腺癌组织中 ABCB5 和 SphK1 的高表达率均高于癌旁组织,表明乳腺癌中两者均呈高表达,可能在乳腺癌发病中起重要作用。乳腺癌组织中 ABCB5 蛋白表达与分期、病理类型、月经情况和淋巴结转移有关,提示该蛋白表达与临床病理特征有关,其中分期为“III+IV”、浸润性导管癌、绝经及有淋巴结转移者的高表达率较高,推测原因可能为以上指标预示乳腺癌的恶性程度高,化疗疗效较差,因此化疗药量及周期数均较多,故癌细胞通过反馈性上调 ABCB5 表达来增强耐药。SphK1 蛋白表达与分期、肿瘤大小、月经情况、淋巴结转移、ER 及 HER-2 表达有关,也提示该蛋白与乳腺癌的临床病理特征有关,其中分期为“III+IV”、肿瘤大小 >5 cm 者、有淋巴结转移者、ER 阳性及 HER-2 阳性者的高表达率较高。Li 等<sup>[11]</sup>发现胃癌中 SphK1 表达与临床分期、浸润深度和血管侵犯和不良预后。有研究<sup>[6]</sup>指出 SphK1 可通过激活 NF- $\kappa$ B 和 PI3K/Akt 信号途径来促进肿瘤的增殖、迁移及浸润。此外,本研究分析两种蛋白的表达具有相关性,表明两种联合检测对乳腺癌诊断及疗效预测有一定的作用。但由于随访时间较短,本研究未分析两种蛋白表达与乳腺癌预后的关系,将在进一步研究中完善。

综上所述,ABCB5 和 SphK1 在乳腺癌组织中高表达,两者可能在乳腺癌的发生发展中有一定作用,检测两者可用辅助乳腺癌的诊断和病情评估。

## 参考文献

- [1] So WK, Leung DY, Ho SS, et al. Associations between social support, prevalent symptoms and health-related quality of life in Chinese women undergoing treatment for breast cancer: a cross-sectional study using structural equation modelling[J]. *Eur J Oncol Nurs*, 2013, 17(4):442-448.
- [2] 曾繁余,张显岚,张珊,等.乳腺癌腔镜腋窝淋巴结清扫术保留肋间臂神经的临床研究[J].*中国普通外科杂志*,2013,22(7):934-937.
- [3] Eid SY, El-Readi MZ, Wink M. Carotenoids reverse multidrug resistance in cancer cells by interfering with ABC-transporters[J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(11):977-87.
- [4] 苏颖洁,黄杰安,刘诗权,等.鞘氨醇激酶 1 和核因子  $\kappa$ B p65 在结肠癌中的表达及其临床意义[J].*中华内科杂志*,2012,51(3):220-224.
- [5] Grimm M, Krimmel M, Polligkeit J, et al. ABCB5 expression and cancer stem cell hypothesis in oral squamous cell carcinoma[J]. *Eur J Cancer*, 2012, 48(17):3186-3197.
- [6] Song L, Xiong H, Li J, et al. Sphingosine kinase-1 enhance resistance to apoptosis through activation of PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B pathway in human non-small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(7):1839-1849.
- [7] Kawanobe T, Kogure S, Nakamura S, et al. Expression of human ABCB5 confers resistance to taxanes and anthracyclines[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 418(4):736-741.
- [8] Frank NY, Frank MH. ABCB5 gene amplification in human leukemia cells[J]. *Leuk Res*, 2009, 33(10):1303-1305.
- [9] Heo K, Park KA, Kim YH, et al. Sphingosine 1-phosphate induces vascular endothelial growth factor expression in endothelial cells[J]. *BMB reports*, 2009, 42(10): 685-690.
- [10] Kawahara S, Otsuji Y, Nakamura M, et al. Sphingosine kinase 1 plays a role in the upregulation of CD44 expression through extracellular signal-regulated kinase signaling in human colon cancer cells[J]. *Anticancer Drugs*, 2013, 24(5):473-483.
- [11] Li W, Yu CP, Xia JT, et al. Sphingosine kinase 1 is associated with gastric cancer progression and poor survival of patients[J].*Clin Cancer Res*, 2009, 15(4): 1393-1399.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式:熊伟,吴煌福,黄光越,等.ABCB5 和 SphK1 在乳腺癌组织中的表达及意义[J].*中国普通外科杂志*,2014,23(5):688-691. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.05.026

Cite this article as: XIONG W, WU HF, HUANG GY, et al. Expression and significance of ABCB5 and SphK1 in breast carcinoma[J]. *Chin J Gen Surg*, 2014, 23(5):688-691. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.05.026