



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.11.023  
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract4111.shtml

· 简要论著 ·

# HIF-1 $\alpha$ 及肿瘤相关巨噬细胞在乳腺癌组织中的表达及其意义

安杰<sup>1</sup>, 刘伟<sup>2</sup>, 刘爽<sup>1</sup>, 张文<sup>1</sup>, 赵惠玲<sup>1</sup>, 牛群丽<sup>1</sup>

(中国人民解放军白求恩国际和平医院 1. 病理科 2. 普外一科, 河北 石家庄 050082)

## 摘要

**目的:** 探讨缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) 及肿瘤相关巨噬细胞 (TAM) 在乳腺癌组织中的表达及两者间关系。

**方法:** 应用免疫组化法检测 40 例乳腺癌和癌旁组织中 HIF-1 $\alpha$ 、TAM 标记抗原 CD68 的表达。

**结果:** 乳腺癌组织中 HIF-1 $\alpha$ 、CD68 的表达均高于与癌旁组织 (均  $P < 0.05$ )；乳腺癌组织中 CD68 与 HIF-1 $\alpha$  表达呈正相关 ( $r = 0.823$ ,  $P < 0.01$ )；两者表达均与乳腺癌的病理分期、淋巴结转移有关 (均  $P < 0.05$ )。

**结论:** 乳腺癌中 HIF-1 $\alpha$  和 CD68 的表达明显高于癌旁组织, 提示 HIF-1 $\alpha$  与 TAM 的共同作用可能参与了乳腺癌的发生与发展。

[中国普通外科杂志, 2014, 23(11):1572-1575]

## 关键词

乳腺肿瘤 / 病理学；缺氧诱导因子；肿瘤相关巨噬细胞

中图分类号：R737.9

绝大多数实体肿瘤内部存在多个缺氧 / 坏死区域, 其缘于肿瘤的过快生长与血供不足的失衡状态。研究证实: 缺氧诱导因子 1 $\alpha$  是 HIF-1 的活性亚基, 也是组织缺氧的重要标记物<sup>[1]</sup>。肿瘤相关巨噬细胞在大多数恶性肿瘤间质中浸润, 构成了肿瘤赖以生长的间质微环境。近来研究<sup>[2-3]</sup>提示, 肿瘤相关巨噬细胞 (TAM) 多在多种实体肿瘤缺氧 / 坏死区域内集聚并发挥重要作用。本研究通过检测乳腺癌组织和癌旁组织中的 HIF-1 $\alpha$  和 TAM 标记抗原 CD68 表达水平, 分析其与临床特征的关系, 探讨其可能发挥的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

收集 2012 年 3 月—2013 年 3 月白求恩国际

和平医院 40 例手术切除浸润性乳腺癌标本, 均经病理检查证实, 标本经 10% 中性缓冲福尔马林固定, 石蜡包埋 4  $\mu\text{m}$  连续切片。所有患者均为女性, 年龄 30~79 岁, 平均 44.6 岁, 术前来接受放化疗。

### 1.2 试剂与实验方法

即用型鼠抗人 CD68 单克隆抗体, 即用型鼠抗人 HIF-1 $\alpha$  单克隆抗体均购自福州迈新生物技术开发有限公司。即用型 Envision 免疫组化试剂盒购自 Dako 公司; 参照免疫组化 Envision 试剂盒说明检测上述标本连续切片中 CD68、HIF-1 $\alpha$  蛋白的表达情况。每次实验均设阳性和阴性对照, 用试剂公司提供的已知的阳性切片作为阳性对照。用 PBS 代替一抗作为阴性对照。

### 1.3 结果判断

HIF-1 $\alpha$  及 CD68 均表达于细胞浆, 阳性染色细胞被染成棕黄色。经免疫组化方法染色后的切片, 在 400 倍视野下选择染色均匀的区域, 计数 5 个视野, 计算阳性细胞占细胞总数的百分比, 着色范围以阳性细胞数百分率判定: 未着色为 0 分; 着色 25% 以下为 1 分; 着色以 25%~50% 为 2 分; 着色 50% 以上为 3 分。着色强度判定: 无着色为

收稿日期: 2013-10-23; 修订日期: 2014-05-08。

作者简介: 安杰, 中国人民解放军白求恩国际和平医院主治医师, 主要从事乳腺肿瘤发病机制及分子病理学检测方面的研究。

通信作者: 安杰, Email: anjieaj1@sina.com

0 分; 浅着色为 1 分; 棕黄色为 2 分; 深棕色为 3 分。上述两项相加为分级标准。阴性: <3 分; 阳性:  $\geq 3$  分。

### 1.4 统计学处理

所有数据均运用 SPSS 12.0 统计软件对进行分析处理。计数资料采用  $\chi^2$  检验或四格表 Fisher 确切概率法。CD68、HIF-1 $\alpha$  表达相关性采用 Spearman 相关分析法。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

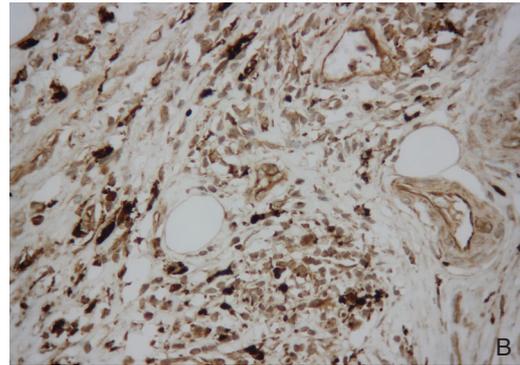
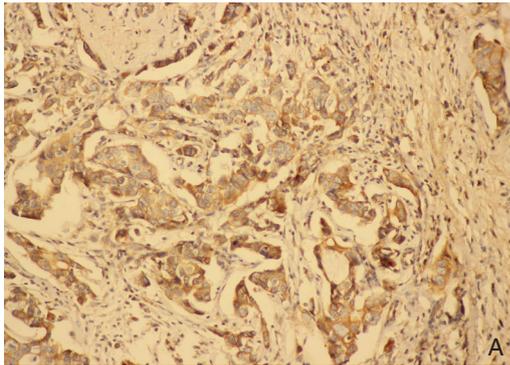


图 1 免疫组化检测乳腺癌组织中 HIF-1 $\alpha$ 、CD68 的表达 (  $\times 200$  ) A: HIF-1 $\alpha$  阳性表达; B: CD68 阳性表达

## 2 结果

### 2.1 HIF-1 $\alpha$ 、CD68 在乳腺组织中的表达

HIF-1 $\alpha$  在浸润性乳腺癌组织、癌旁组织中的阳性表达率分别为 77.5% ( 31/40 )、5.0% ( 2/40 ); CD68 在浸润性乳腺癌组织、癌旁组织中的阳性表达率分别 70.0% ( 28/40 ) 和 17.5% ( 7/40 ), 两种组织间比较, 差异均有统计学意义 ( 均  $P < 0.05$  ) ( 图 1 )。

### 2.2 HIF-1 $\alpha$ 、CD68 表达相关性分析

经 Spearman 等级相关分析乳腺癌组织 HIF-1 $\alpha$  与 CD68 表达的相关性, 结果发现两者的表达呈正相关 (  $r = 0.823, P < 0.01$  )。

### 2.3 HIF-1 $\alpha$ 、CD68 的表达与浸润性乳腺癌临床病理特征的关系

HIF-1 $\alpha$ 、CD68 在浸润性乳腺癌组织中的表达与患者的年龄、脉管癌栓有无、ER、PR、HER-2 表达无关 ( 均  $P > 0.05$  ), 与癌组织的病理分期、淋巴结转移有关 ( 均  $P < 0.05$  ) ( 表 1 )。

表 1 CD68、HIF-1 $\alpha$  蛋白表达与患者临床病理参数的关系 [  $n$  ( % ) ]

临床病理参数	$n$	CD68 阳性	$P$	HIF-1 $\alpha$ 阳性	$P$
年龄					
$\leq 60$	25	18 ( 72.0 )	0.722	20 ( 80.0 )	0.625
$> 60$	15	10 ( 66.7 )		11 ( 73.3 )	
转移淋巴结					
无	15	7 ( 46.7 )	0.013	7 ( 46.7 )	0.001
有	25	21 ( 84.0 )		24 ( 84.0 )	
肿瘤分期					
I	8	2 ( 25.0 )		2 ( 25.0 )	
II	18	12 ( 66.7 )	0.001	15 ( 83.3 )	0.000
III	14	14 ( 100.0 )		14 ( 100.0 )	
脉管癌栓					
无	37	25 ( 67.6 )	0.541	28 ( 75.7 )	1.000
有	3	3 ( 100.0 )		3 ( 100.0 )	

## 3 讨论

Virchow 在 1863 年首次发现人类肿瘤组织中 有粒细胞浸润, 他认为粒细胞的存在从一定程度上

印证了肿瘤起始于慢性炎症这一学说。巨噬细胞是机体先天性免疫系统的必要组分, 也是参与机体慢性炎症反应的一类重要细胞。它们通常来源于外周血的单核细胞, 通过血循环渗透到组织间质中,

而后转化成驻留型巨噬细胞。机体中的巨噬细胞可因局部环境获得特异性的表型,并呈现出不同的功能,包括吞噬、抗原递呈、抗菌细胞毒性、组织重塑和分泌功能等<sup>[4]</sup>。

目前所知,巨噬细胞同样在恶性肿瘤组织中浸润并构成了肿瘤间质的主要成分,这种巨噬细胞被称为 TAM<sup>[5]</sup>,它们大多由局部血循环中的单核细胞募集到肿瘤所在部位,并分化成为 TAM。研究<sup>[2]</sup>显示:TAM 在肿瘤发生发展过程中发挥着重要作用。经典激活的 M1 型巨噬细胞可通过分泌诸如 TNF- $\alpha$ 、氧化亚氮等物质刺激淋巴细胞产生免疫应答,对肿瘤细胞表现出细胞毒性杀伤作用。与之相反,替代激活的 M2 型巨噬细胞,即 TAM 可通过促进肿瘤细胞分裂增殖、侵袭和转移以及血管生成等机制促进肿瘤的进展<sup>[4]</sup>。TAM 还可以通过分泌 IL-10 等免疫抑制因子,抑制淋巴细胞活性,诱导机体对肿瘤细胞的免疫耐受<sup>[6]</sup>。

目前所知,包括乳腺、脑、子宫、头颈部等大多数实体肿瘤内部,均存在较多缺氧/坏死区域。这些缺氧/坏死区域的出现缘于肿瘤新生血管结构异常,血流缓慢不畅,运输氧和营养成分减少,无法满足肿瘤快速生长的需要。肿瘤的快速生长和氧需求的增加进一步加重了围绕新生血管的缺氧/坏死区域形成。当这种不平衡达到一定程度时,该区域的肿瘤细胞出现生长停滞并通过无氧酵解代谢提供能量。大量研究<sup>[7-10]</sup>证实:肿瘤中缺氧/坏死区域范围与肿瘤预后不良直接相关。原因可能在于缺氧区域肿瘤细胞对传统放射治疗及化学治疗的效果不佳,而供氧充足区域的肿瘤细胞对上述治疗方法更敏感。

近年来的研究<sup>[4]</sup>发现:TAM 多在包括乳腺癌等实体肿瘤的缺氧/坏死区域聚集,起初推测其作用在于清除该区域坏死细胞碎片。最近的研究<sup>[11]</sup>发现:该区域中的 TAMs 可分泌 VEGF 等血管生成因子,促进内皮细胞的增殖及肿瘤新生血管形成。这表明 TAM 可以被肿瘤细胞特异性招募于缺氧区域,通过促进肿瘤血管生成,改善肿瘤内部缺氧现象,进而发挥促肿瘤发展效应。缺氧/坏死区域肿瘤细胞通过何种机制趋化血单核/巨噬细胞,并分化成为 TAMs,目前尚无明确阐述。

HIF-1 是具有转录活性的核蛋白,具有相当广泛的靶基因谱<sup>[1]</sup>。HIF-1 是一种异源二聚体,主要由 120 kD 的 HIF-1 $\alpha$  和 91~94 kD 的 HIF-1 $\beta$  2 个亚单位组成。HIF-1 $\beta$  亚基基因定位于人的 1 号染

色体 q21 区,在细胞内稳定表达,起结构性作用;HIF-1 $\alpha$  基因定位于人的 14 号染色体 q21~24 区,受缺氧信号的调控,是 HIF-1 的活性亚基。HIF-1 普遍存在于人和哺乳动物细胞内,常氧下也有表达,但合成的 HIF-1 蛋白很快即被细胞内氧依赖性泛素蛋白酶降解途径所降解,只有在缺氧条件下 HIF-1 才可稳定表达。作为 HIF-1 的活性亚基,HIF-1 $\alpha$  是组织缺氧区域的最重要的标记物。

本文对 TAM 标记抗原 CD68 和 HIF-1 $\alpha$  在乳腺癌组织中的表达及两者相互关系进行分析,结果显示:CD68 和 HIF-1 $\alpha$  在乳腺癌中的表达水平明显高于癌旁组织;TAM 在乳腺癌组织中的表达与 HIF-1 $\alpha$  的表达相关。说明 TAM 在乳腺癌组织缺氧/坏死区域聚集,这种聚集与乳腺癌的临床病理参数密切相关,与患者的临床预后密切相关。上述结果为进一步研究乳腺癌缺氧/坏死区域趋化单核细胞并诱导分化 TAM,从而形成有利于肿瘤的间质环境提供了可靠证据。

#### 参考文献

- [1] Hu Y, Liu J, Huang H. Recent agents targeting HIF-1 $\alpha$  for cancer therapy[J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(3):498-509.
- [2] Wu H, Xu JB, He YL, et al. Tumor-associated macrophages promote angiogenesis and lymphangiogenesis of gastric cancer[J]. *J Surg Oncol*, 2012, 106(4):462-468.
- [3] 杨乐平,杨竹林,李青龙,等.大鼠胰腺癌和非癌胰腺组织 MV,TAM,MC 计数及意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2008, 17(3):246-249.
- [4] Sica A, Allavena P, Mantovani A. Cancer related inflammation: the macrophage connection[J]. *Cancer Lett*, 2008, 267(2):204-215.
- [5] Murdoch C, Giannoudis A, Lewis CE. Mechanisms regulating the recruitment of macrophages into hypoxic areas of tumors and other ischemic tissues[J]. *Blood*. 2004, 104(8):2224-2234.
- [6] Ley S, Weigert A, Weichand B, et al. The role of TRKA signaling in IL-10 production by apoptotic tumor cell-activated macrophages[J]. *Oncogene*, 2013, 32(5):631-640.
- [7] Overgaard J. Hypoxic modification of radiotherapy in squamous cell carcinoma of the head and neck--a systematic review and meta-analysis[J]. *Radiother Oncol*, 2011, 100(1):22-32.
- [8] 肖若冰,肖雅莉,谢常军等. HIF-1 $\alpha$  与 VEGF 在乳腺癌组织中的表达及与放疗敏感性的相关性研究[J]. *中南医学科学杂志*, 2013,41(4):368-371.
- [9] Wouters A, Pauwels B, Lardon F, et al. Review: implications of in vitro research on the effect of radiotherapy and chemotherapy under hypoxic conditions[J]. *Oncologist*, 2007, 12(6):690-712.
- [10] Minet E, Michel G, Remacle J, et al. Role of HIF-1 as a transcription



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.11.024  
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract4112.shtml

· 简要论著 ·

# TOPO-II、Ki-67 在乳腺癌中的表达及意义

余虹

(武汉铁路职业技术学院 护理学院, 湖北 武汉 430205)

## 摘要

目的: 探讨 TOPO-II、Ki-67 在乳腺癌中的表达及临床意义。

方法: 收集 2011 年 1 月—2014 年 1 月诊治的乳腺癌患者 75 例临床资料, 采用免疫组化检测癌组织 TOPO-II、Ki-67 的表达, 并分析其与临床病理参数、组织学分级、临床分期等的相关性。

结果: TOPO-II 在乳腺癌中的阳性表达率为 60.0%, Ki-67 的阳性表达率为 77.3%, TOPO-II 的阳性表达与患者组织学分级、TNM 临床分期、淋巴结转移有关 ( $P < 0.05$ ), 与患者年龄、肿瘤的大小无关 ( $P > 0.05$ ); Ki-67 与组织学分级有关 ( $P < 0.01$ ), 与年龄、肿瘤的大小、TNM 临床分期、淋巴结转移均无关 (均  $P > 0.05$ )。

结论: TOPO-II 和 Ki-67 在乳腺癌中高表达, 且均与组织学分级有关, 检测两者水平对评估乳腺癌患者的预后和指导临床治疗有重要意义。

[中国普通外科杂志, 2014, 23(11):1575-1577]

## 关键词

乳腺肿瘤; TOPO-II; Ki-67

中图分类号: R737.9

乳腺癌是女性常见肿瘤之一, 严重影响女性健康。乳腺癌的形成与发展过程受多种因素影响, 多种生物学标记物均与乳腺癌的预后关系密切<sup>[1]</sup>。其中 TOPO-II、Ki-67 是已被证实参与了肿瘤的形成与发展, 并且可以作为指导临床质量和提示患者预后的独立指标<sup>[2]</sup>。本文将进一步探讨 TOPO-II、Ki-67 在乳腺癌中的表达及临床意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 一般资料

随机选取汉口铁路中心医院 2011 年 1 月—2014 年 1 月诊治的乳腺癌患者 75 例, 均为女性; 年龄 40~80 岁, 平均(55.68 ± 10.39)岁。病理类型: 浸润性导管癌 65 例, 浸润性小叶癌 7 例, 导管内癌 2 例, 髓样癌 1 例。组织学分级: I~II 级 52 例, III 级 23 例。合并淋巴结转移 36 例。

### 1.2 检测方法

标本经中性福尔马林固定后常规脱水、石蜡包埋, 常规切片, 采用免疫组化二步法检测乳腺癌组织中 TOPO-II 和 Ki-67 的表达, 切片经二甲苯脱蜡、梯度酒精水化, 使用微波炉中高火枸橼酸

收稿日期: 2014-09-15; 修订日期: 2014-10-16。

作者简介: 余虹, 武汉铁路职业技术学院副教授, 主要从事临床医学及医学教育、护理教育方面的研究。

通信作者: 余虹, Email: yuhong196711@163.com

factor involved in embryonic development, cancer progression and apoptosis (review)[J]. Int J Mol Med, 2000, 5(3):253-259.

[11] Lewis JS, Landers RJ, Underwood JC, et al. Expression of vascular endothelial growth factor by macrophages is up-regulated in poorly vascularized areas of breast carcinomas[J]. J Pathol, 2000, 192(2):150-158.

本文引用格式: 安杰, 刘伟, 刘爽, HIF-1 $\alpha$  及肿瘤相关巨噬细胞在乳腺癌组织中的表达及其意义 [J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(11):1572-1575. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.11.023

Cite this article as: AN J, LIU W, LIU S, et al. Expressions of HIF-1 $\alpha$  and tumor-associated macrophages in breast cancer tissue and their significance[J]. Chin J Gen Surg, 2014, 23(11):1572-1575. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.11.023

(本文编辑 宋涛)