



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.05.019
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2015.05.019
Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(5):712-716.

· 基础研究 ·

基底细胞样乳腺癌中 HIF-1 α 及 Glut-1 的表达及意义

周炳娟¹, 陈红¹, 马秋双¹, 张金库¹, 张楠¹, 肖士卿¹, 王国茹², 马红普³

(1. 河北省保定市第一中心医院 病理科, 河北 保定 071000; 2. 河北省容城县医院 妇产科, 河北 保定 071700; 3. 河北省高阳县医院 妇产科, 河北 保定 071500)

摘要

目的: 探讨缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α) 及葡萄糖转运蛋白 1 (Glut-1) 蛋白在基底细胞样乳腺癌 (BLBC) 中的表达及临床意义。

方法: 采用免疫组化方法检测 95 例 BLBC 及其癌旁乳腺组织与 708 例非 BLBC 组织中 HIF-1 α 及 Glut-1 蛋白的表达, 分析两者表达与 BLBC 临床病理因素的关系。

结果: HIF-1 α 及 Glut-1 蛋白在 BLBC 组织的阳性表达率均明显高于癌旁组织与非 BLBC 组织 (均 $P < 0.05$), 两种蛋白的表达呈明显正相关 ($r = 0.368$, $P < 0.05$)。

结论: HIF-1 α 和 Glut-1 的表达在 BLBC 组织中同时升高, 两者可能共同参与了 BLBC 的发生、发展, 并可能作为评估 BLBC 患者预后的指标。

关键词

乳腺肿瘤; 癌, 基底细胞; 缺氧诱导因子 1, α 亚基; 葡萄糖转运体 1 型
中图分类号: R737.9

Expression and significance of HIF-1 α and Glut-1 in basal-like breast carcinoma

ZHOU Bingjuan¹, CHEN Hong¹, MA Qiushuang¹, ZHANG Jinku¹, ZHANG Nan¹, XIAO Shiqing¹,
WANG Guoru², MA Hongpu³

(1. Department of Pathology, Baoding First Central Hospital, Baoding, Hebei 071000, China; 2. Gynaecology, Rongcheng County Hospital, Baoding, Hebei 071700, China; 3. Gynaecology, Gaoyang County Hospital, Baoding, Hebei 071500, China)

Abstract

Objective: To investigate the expression and clinical significance of hypoxia inducible factors 1 α (HIF-1 α) and glucose transporter 1 (Glut-1) in basal-like breast carcinoma (BLBC).

Methods: The protein expressions of HIF-1 α and Glut-1 in 95 specimens of BLBC and their adjacent breast tissue, and 708 samples of non-BLBC tissue were detected by immunohistochemical staining, and their relations with the clinicopathologic factors of BLBC were analyzed.

Results: The positive expression rate of either HIF-1 α or Glut-1 protein in BLBC tissue was significantly higher than that in adjacent breast tissue and non-BLBC tissue (all $P < 0.05$), and both HIF-1 α and Glut-1 protein expressions were associated with lymph node metastasis and clinical stage of BLBC (all $P < 0.05$); there was a significantly positive correlation between HIF-1 α and Glut-1 expression in BLBC tissue ($r = 0.368$, $P < 0.05$).

收稿日期: 2015-02-20; 修订日期: 2015-04-25。

作者简介: 周炳娟, 河北省保定市第一中心医院副主任医师, 主要从事肿瘤病因与病理方面的研究。

通信作者: 张金库, Email: zjkbk@sohu.com

Conclusion: HIF-1 α and Glut-1 synchronously overexpress in BLBC tissue, which may co-participate in the occurrence and development of BLBC, and can be potentially used as a prognostic index for BLBC patients.

Key words

Breast Neoplasms; Carcinoma, Basal Cell; Hypoxia-Inducible Factor 1, α Subunit; Glucose Transporter Type 1

CLC number: R737.9

基底细胞样乳腺癌 (BLBC) 是2000年由 Perou 等^[1]首次提出的一种特殊乳腺癌亚型, 具有独特的组织形态特征和生物学行为, 对传统的内分泌治疗无效且无特异性靶向治疗药物, 临床预后较差^[2]。因此, 探究BLBC的发病机制并寻找可能的治疗靶点面临巨大挑战。缺氧是乳腺癌重要的微环境之一, 缺氧诱导因子1 α (hypoxia inducible factors 1 α , HIF-1 α) 作为缺氧最关键的转录因子, 可通过诱导新血管的生成、调节细胞的能量代谢、调控细胞凋亡, 为肿瘤细胞生长及转移提供物质基础^[3-5]。葡萄糖转运蛋白1 (glucose transporter 1, Glut-1) 是哺乳动物细胞转运葡萄糖的最重要的载体, 微环境缺氧时, Glut-1和糖酵解酶被激活, 满足恶性肿瘤在缺血、缺氧环境下快速增殖的能量需求^[6]。

本研究采用免疫组化的方法检测BLBC、非BLBC及癌旁乳腺组织中HIF-1 α 和Glut-1表达情况, 分析HIF-1 α 和Glut-1与BLBC临床病理因素的关系, 旨在探讨HIF-1 α 和Glut-1在BLBC发生、发展过程中的作用。

1 材料与方 法

1.1 标本来源

收集保定市第一中心医院病理科2005年1月—2014年10月手术治疗的803例乳腺浸润性导管癌石蜡标本, 所有患者均为女性, 术前均未进行放疗、化疗及内分泌治疗。标本常规取材, 10%中性福尔马林固定, 常规石蜡包埋, 4 μ m厚连续切片。根据Nielsen分型标准^[7]筛选出BLBC病例 (即ER和HER-2阴性, CK5/6和/或EGFR阳性) 95例 (平均年龄49.73岁) 及其癌旁乳腺组织 (取自距BLBC肿瘤边缘5 cm的正常乳腺组织), 非BLBC708例 (平均年龄53.16岁)。

1.2 试剂

兔抗人HIF-1 α 多克隆抗体购自武汉博士德公司, 兔抗人Glut-1多克隆抗体、兔抗人ER、兔抗人PR、兔抗人CerbB-2、鼠抗人CK5/6、鼠抗人

EGFR、即用型快捷免疫组化MaxVisionTM检测试剂盒 (KIT-5020) 和氨基联苯胺 (DAB-0031) 显色试剂盒均购自福州迈新生物公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化 采用免疫组化二步法检测BLBC, 非BLBC及癌旁乳腺组织中HIF-1 α 及Glut-1蛋白的表达情况, 所有操作步骤依据产品说明书进行, 采用柠檬酸修复液 (pH6.0) 高温高压修复抗原, 以已知的HIF-1 α 及Glut-1阳性的食管癌组织作为阳性对照, 以磷酸盐缓冲液 (PBS) 替代一抗作为阴性对照, 对氨基联苯胺 (DAB) 显色, 苏木素复染, 中性树胶封片。

1.3.2 结果判定 由2名高年资病理科医师采用双盲法进行阳性结果判定。在高倍镜下随机选取5个高倍视野 ($\times 400$), 计数200个细胞, 共计1 000个, 观察染色强度并计算每张切片阳性细胞百分率。HIF-1 α 蛋白阳性表达为胞核或胞质内出现棕黄色颗粒; 阳性判断标准: 无染色或 $<1\%$ 的细胞核染色为 (-); $1\% \sim 10\%$ 的细胞核染色和/或较弱的胞质染色为 (+); $10\% \sim 50\%$ 的细胞核染色, 和/或明显的胞质染色 (++) ; $>50\%$ 的细胞核染色和/或较强的胞质染色为 (+++) ^[8]。Glut-1的阳性染色细胞为细胞膜上出现棕黄色颗粒。Glut-1表达的阳性判断标准: 无染色为 (-), $1\% \sim 10\%$ 的细胞染色为 (+), $10\% \sim 50\%$ 的细胞染色为 (++) , $>50\%$ 的细胞染色为 (+++) ^[9]。

1.4 统计学处理

数据处理采用SPSS 16.0统计学软件, HIF-1 α 及Glut-1的表达及其与BLBC的临床病理因素的分析采用 χ^2 检验, 变量之间的相互关系采用Spearman相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HIF-1 α 和Glut-1蛋白在各组的表达情况

HIF-1 α 蛋白在BLBC、非BLBC、癌旁乳腺组织中的阳性表达率分别为77.9% (74/95)、39.4% (279/708)、5.3% (5/95)。BLBC组中

HIF-1 α 的阳性表达率明显高于其他两组, 3组间表达率的差异有统计学意义 ($P<0.05$)。Glut-1 蛋白在BLBC组的阳性表达率为80.0% (76/95),

明显高于其在非BLBC (41.38%) 和癌旁乳腺组织 (0.0%) 中的表达, 3组间表达率的差异有统计学意义 ($P<0.05$) (图1, 表1)。

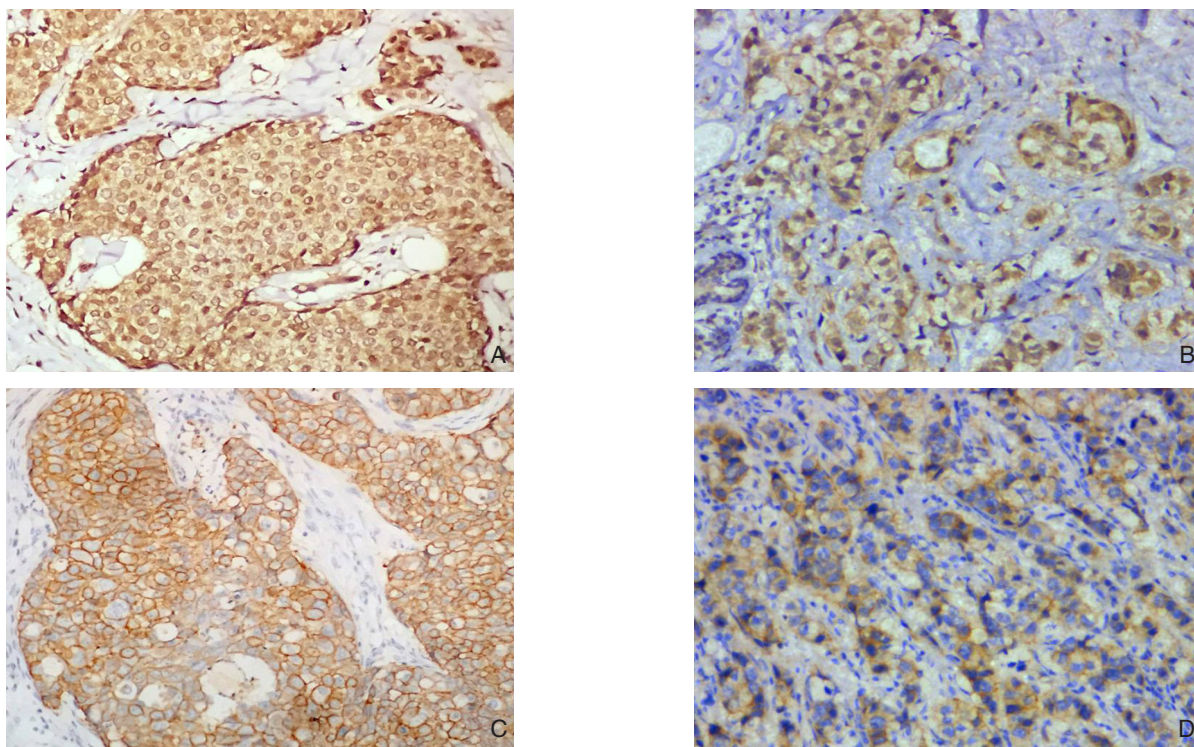


图1 免疫组化检测 HIF-1 α 与 Glut-1 蛋白的表达 ($\times 200$) A: HIF-1 α 在 BLBC 组织中的阳性表达; B: HIF-1 α 在非 BLBC 组织中的阳性表达; C: Glut-1 在 BLBC 组织中的阳性表达; D: Glut-1 在非 BLBC 组织中的阳性表达

Figure 1 Immunohistochemical staining for HIF-1 α and Glut-1 protein expressions ($\times 200$) A: HIF-1 α positive expression in BLBC tissue; B: HIF-1 α positive expression in non-BLBC tissue; C: Glut-1 positive expression in BLBC tissue; D: Glut-1 positive expression in non-BLBC tissue

表1 HIF-1 α 及 Glut-1 在 BLBC、非 BLBC、癌旁正常乳腺组织中表达 [n (%)]

Table 1 HIF-1 α and Glut-1 protein expressions in BLBC, non-BLBC and adjacent breast tissues [n (%)]

组织	n	HIF-1 α		Glut-1	
		(+)	(-)	(+)	(-)
BLBC	95	74 (77.9) ^{1,2)}	21 (22.1)	76 (80.0) ^{1,2)}	19 (20.0)
非 BLBC	708	279 (39.4) ¹⁾	429 (60.6)	293 (41.4) ¹⁾	415 (58.6)
癌旁乳腺组织	95	5 (5.3)	90 (94.7)	0 (0.0)	95 (100.0)
χ^2		104.8		125.7	
P		0.000		0.000	

注: 1) 与癌旁乳腺组织比较, $P<0.05$; 2) 与非 BLBC 组织比较, $P<0.05$

Note: 1) $P<0.05$ vs. adjacent breast tissue; 2) $P<0.05$ vs. non-BLBC tissue

2.2 HIF-1 α 、Glut-1 蛋白与 BLBC 临床病理指标的关系

HIF-1 α 和 Glut-1 蛋白的表达与 BLBC 的淋巴结转移及临床分期密切相关 (均 $P<0.05$), 而与 BLBC 患者的年龄及肿瘤大小无关 (均 $P>0.05$) (表2)。

2.3 HIF-1 α 与 Glut-1 在 BLBC 中表达的相关性分析

相关性分析结果显示, HIF-1 α 与 Glut-1 蛋白在 BLBC 中的表达呈正相关关系 ($r=0.368$, $P=0.000$) (表3)。

表2 HIF-1 α 、Glut-1与BLBC临床病理特征的关系[n(%)]
Table 2 Relations of HIF-1 α and Glut-1 with clinicopathologic factors of BLBC [n(%)]

临床病理参数	n	HIF-1 α		χ^2	P	Glut-1		χ^2	P
		(+)	(-)			(+)	(-)		
年龄(岁)									
< 50	42	36 (85.7)	6 (14.3)	2.673	0.102	35 (83.3)	7 (16.7)	0.523	0.470
\geq 50	53	38 (71.7)	15 (28.3)			41 (77.4)	12 (22.6)		
肿瘤大小									
T ₁	30	19 (63.3)	11 (36.7)	5.124	0.077	22 (73.3)	8 (26.7)	5.496	0.064
T ₂	52	44 (84.6)	8 (15.4)			47 (90.4)	5 (9.6)		
T ₃	13	11 (84.6)	2 (15.4)			9 (69.2)	4 (30.8)		
TNM分期									
I-II	63	45 (71.4)	18 (28.6)	4.542	0.033	44 (69.8)	19 (30.2)	12.063	0.001
III-IV	32	29 (90.6)	3 (10.4)			32 (100.0)	0 (0.0)		
淋巴结转移									
无	38	25 (65.8)	13 (34.2)	5.390	0.020	26 (68.4)	12 (31.6)	5.307	0.021
有	57	49 (86.0)	8 (14.0)			50 (87.7)	7 (12.3)		

表3 BLBC中HIF-1 α 与Glut-1表达的相关性

Table 3 Correlation between HIF-1 α and Glut-1 expressions in BLBC

Glut-1	HIF-1 α		r	P
	(+)	(-)		
(+)	65	11	0.368	0.000
(-)	9	10		

3 讨论

缺氧与肿瘤的生成、浸润、转移、肿瘤对放、化疗耐受性及预后密切相关^[10]。目前研究认为,细胞缺氧信号转导机制的核心是缺氧诱导因子1(HIF-1)。HIF-1属于DNA结合蛋白,是由氧调控亚基HIF-1 α 和结构亚基HIF-1 β 组成的异源二聚体,其转录活性主要由HIF-1 α 的表达和活性决定^[11]。HIF-1 α 在多种恶性肿瘤组织中过度表达如胆囊癌^[12]、肾透明细胞癌^[13]、乳腺癌^[14]、子宫内膜癌^[15]等,并与癌细胞的增殖、凋亡及其生物学行为密切相关^[9]。本研究结果显示,乳腺癌组织中HIF-1 α 的表达显著高于癌旁乳腺组织,且BLBC组HIF-1 α 的表达水平较非BLBC组明显升高,进一步提示HIF-1 α 在乳腺癌,特别是BLBC发生、发展的过程中具有重要作用。同时,本实验数据显示,HIF-1 α 在有淋巴结转移BLBC组中显著高表达,并且与肿瘤TNM分期有关,而与患者年龄、肿瘤大小无关,证明HIF-1 α 的过表达使BLBC侵袭力增加,更易发生转移,可能是BLBC预后不良的重要因素之一。

Glut-1是葡萄糖转运蛋白家族的成员之一,

其功能是逆浓度梯度进行葡萄糖转运。Glut-1在正常和良性肿瘤组织中不表达,在恶性肿瘤组织中高表达并与肿瘤预后密切相关,因此也被认为是细胞恶变的早期标志之一^[16]。Grover-McKay等^[17]研究发现,Glut-1在人类乳腺癌细胞系MCF-7、MDA-MB-435和MDA-MB-231中的表达与肿瘤侵袭能力相关。肿瘤内部缺氧时,Glut-1过表达促进肿瘤细胞的糖代谢,并与肿瘤的临床分期、增殖速率、低生存率相关,检测Glut-1有助于判断乳腺癌的预后^[18]。Kang等^[19]证实,Glut-1的表达与高核分级、ER和PR阴性、总生存期、无病生存期显著相关。本实验结果显示,Glut-1蛋白在BLBC组织中的阳性表达率为80.0%(76/95),明显高于非BLBC和癌旁乳腺组织,与Hussein等^[20]的结果一致。同时,Glut-1表达与BLBC淋巴结转移及TNM分期有关,有淋巴结转移组Glut-1蛋白的表达率高于无淋巴结转移组;肿瘤分期越晚,其阳性表达率越高,提示Glut-1可能参与了BLBC的发生、发展,并可作为乳腺癌恶性程度及预后判断的指标之一。

细胞缺氧与营养缺乏是Glut-1表达增强的主要诱因。肿瘤组织缺氧,导致HIF-1 α 表达增强,并调控多种下游因子如Glut-1、CAIX、EPO及iNOS等^[21]的基因转录。本研究结果显示,BLBC中HIF-1 α 和Glut-1蛋白的表达呈显著正相关,进一步证实了Glut-1受HIF-1 α 调节的学说,HIF-1 α 及Glut-1蛋白可能协同参与了BLBC的发生、发展。

综上所述,HIF-1 α 和Glut-1与BLBC的发生、发展密切相关,并可作为判断BLBC恶性生物

学行为及预测预后的一项重要指标。随着研究的进一步深入,以HIF-1 α 和Glut-1为靶点抑制其基因表达,遏制肿瘤细胞能量代谢和血管生成,可能成为BLBC治疗和预防的重要手段之一。

参考文献

- [1] Perou CM, Sørli T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours[J]. Nature, 2000, 406(6797):747-752.
- [2] Rakha EA, Reis-Filho JS, Ellis IO. Basal-like breast cancer: a critical review[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(15): 2568-2581.
- [3] 李军涛, 张恒伟, 郭旭辉, 等. 合并糖尿病的乳腺癌组织中缺氧诱导因子-1 α 的表达及其与微血管生成的关系[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(4):252-255.
- [4] Nishimoto A, Kugimiya N, Hosoyama T, et al. HIF-1 α activation under glucose deprivation plays a central role in the acquisition of anti-apoptosis in human colon cancer cells[J]. Int J Oncol, 2014, 44(6):2077-2084.
- [5] Li J, Shi M, Cao Y, et al. Knockdown of hypoxia-inducible factor-1 α in breast carcinoma MCF-7 cells results in reduced tumor growth and increased sensitivity to methotrexate [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 342(4): 1341-1351.
- [6] Jiwa LS, van Diest PJ, Hoefnagel LD, et al. Upregulation of Claudin-4, CAIX and GLUT-1 in distant breast cancer metastases[J]. BMC Cancer, 2014, 14:864. doi: 10.1186/1471-2407-14-864.
- [7] Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(16):5367-5374.
- [8] Zhong H, De Marzo AM, Laughner E, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 α in common human cancers and their metastases [J]. Cancer Res, 1999, 59(22):5830-5835.
- [9] Cooper R, Sarioğlu S, Sökmen S, et al. Glucose transporter-1 (GLUT-1): a potential marker of prognosis in rectal carcinoma[J]. Br J Cancer, 2003, 89(5):870-876.
- [10] Quintero M, Mackenzie N, Brennan PA. Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) in cancer[J]. Eur J Surg Oncol, 2004, 30(5):465-468.
- [11] Otrrock ZK, Hatoum HA, Awada AH, et al. Hypoxia-inducible factor in cancer angiogenesis: structure, regulation and clinical perspectives[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2009, 70(2):93-102.
- [12] 阮戈. 胆囊癌患者HIF-1 α 在胆囊癌侵袭转移中的作用研究[J]. 中国普通外科杂志, 2012, 21(8):1004-1006.
- [13] Wan L, Huang J, Chen J, et al. Expression and significance of FOXP1, HIF-1 α and VEGF in renal clear cell carcinoma[J]. J BUON, 2015, 20(1): 188-195.
- [14] Liu ZJ, Semenza GL, Zhang HF. Hypoxia-inducible factor 1 and breast cancer metastasis[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2015, 16(1):32-43.
- [15] 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.
- [16] Xiong Y, Xiong YY, Zhou YF. Expression and significance of beta-catenin, Glut-1 and PTEN in proliferative endometrium, endometrial intraepithelial neoplasia and endometrioid adenocarcinoma[J]. Eur J Gynaecol Oncol, 2010, 31(2):160-164.
- [17] Grover-McKay M, Walsh SA, Seftor EA, et al. Role for glucose transporter 1 protein in human breast cancer[J]. Pathol Oncol Res, 1998, 4(2):115-120.
- [18] Stackhouse BL, Williams H, Berry P, et al. Measurement of glut-1 expression using tissue microarrays to determine a race specific prognostic marker for breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat, 2005, 93(3):247-253.
- [19] Kang SS, Chun YK, Hur MH, et al. Clinical significance of glucose transporter 1 (GLUT1) expression in human breast carcinoma[J]. Jpn J Cancer Res, 2002, 93(10):1123-1128.
- [20] Hussein YR, Bandyopadhyay S, Semaan A, et al. Glut-1 expression correlates with basal-like breast cancer[J]. Transl Oncol, 2011, 4(6):321-327.
- [21] Ousset M, Bouquet F, Fallone F, et al. Loss of ATM positively regulates the expression of hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) through oxidative stress: Role in the physiopathology of the disease[J]. Cell Cycle, 2010, 9(14):2814-2822.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 周炳娟, 陈红, 马秋双, 等. 基底细胞样乳腺癌中HIF-1 α 及Glut-1的表达及意义[J]. 中国普通外科杂志, 2015, 24(5):712-716. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.05.019
Cite this article as: ZHOU BJ, CHEN H, MA QS, et al. Expression and significance of HIF-1 α and Glut-1 in basal-like breast carcinoma[J]. Chin J Gen Surg, 2015, 24(5):712-716. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.05.019