

文章编号:1005-6947(2007)01-0090-04

· 简要论著 ·

乳腺癌组织中 Glut1 的表达及其与临床病理因素和血管生成的关系

孙文洲, 于丽波, 张清媛

(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院内科, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:采用免疫组织化学方法检测 Glut1 的表达和 MVD 值在 60 例乳腺癌组织及 20 例正常乳腺组织中的差异,分析它们之间的关系。结果显示 Glut1 在乳腺癌组织中的阳性表达率为 53.33%,在正常乳腺组织中无表达,两者差异有显著性($P < 0.05$)。中、低分化组癌组织中 Glut1 的表达率高于高分化组($P < 0.05$);淋巴结转移组中的 Glut1 表达明显高于无转移组($P < 0.05$)。乳腺癌临床分期高者,其 Glut1 表达率高于临床分期较低者($P < 0.05$)。Glut1 表达与肿瘤直径、ER 和 PR 表达无关,而与 MVD 值有关($P < 0.05$)。提示 Glut1 蛋白的过表达参与了乳腺癌的发生、发展,并与乳腺癌血管生成密切相关。

[中国普通外科杂志,2007,16(1):90-92]

关键词:乳腺肿瘤;葡萄糖转运蛋白1;微血管密度

中图分类号:R737.9

文献标识码:B

葡萄糖转运蛋白 (glucose transporter-1, Glut1) 是葡萄糖转运蛋白家族的成员之一,是哺乳动物细胞葡萄糖跨膜转运的主要载体;其在恶性肿瘤组织中普遍高表达,与细胞的恶性转化、增殖、侵袭能力密切相关。本研究用免疫组织化学法检测乳腺癌组织中 Glut1 的表达和 MVD (microvessel density) 的值,结合临床病理因素分析它们之间的关系及其意义。

1 材料与方 法

1.1 标本及其一般资料

取 1997—2000 年本院手术切除的 60 例乳腺癌组织,均为女性患者。乳腺癌组年龄 27 ~ 72 岁,中位年龄 51.5 岁。病理诊断均为浸润性导管癌。乳腺癌组患者术前均未接受化疗、放疗和免疫治疗。所有病例随访 5 年以上,临床及病理资料完整(表 1)。每例乳腺癌的组织分型和临床分期按卫生部 1988 年制定的乳腺癌诊治规范。I 期 14 例,II 期 24 例,III 期 22 例。癌旁组织对照

组标本取自 20 例乳腺癌旁 5 cm 处腺体组织,经病理证实为正常腺体组织。患者年龄 30 ~ 68 岁,中位年龄 46.7 岁。所有组织标本均经石蜡包埋。

1.2 试剂

兔抗人 Glut1 多克隆抗体(即用型),鼠抗人 CD34 单克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司;链霉抗生物素蛋白,过氧化物酶(SP)二抗试剂盒购自北京中山生物技术有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 免疫组化 SP 法 操作按说明书染色步骤进行。用已知阳性切片作阳性对照,用磷酸盐缓冲液(PBS)替代一抗作阴性对照。

1.3.2 染色结果判定 以细胞膜有棕黄色颗粒为 Glut1 蛋白阳性。在高倍镜下($\times 200$)下随机选择 5 个视野,计数 1 000 个细胞,阳性细胞数 $< 10\%$ 为阴性。 $\geq 10\%$ 为阳性。肿瘤 MVD 测定参照 Weidner 方法:肿瘤区凡染成棕黄色,可与周围血管、肿瘤细胞和其他结缔组织区分开来的单个内皮细胞或内皮细胞簇均作为一个单一的、可计数的微血管。不以红细胞的出现与否来确定微血管,也不以是否出现管腔来计数血管。管腔面积大于 8 个红细胞直径、带有较厚的肌层的微血管

收稿日期:2006-06-15; 修订日期:2006-12-09。

作者简介:孙文洲,男,黑龙江鹤岗人,哈尔滨医科大学附属肿瘤医院副主任医师,主要从事乳腺癌的基础与临床方面的研究。

通讯作者:孙文洲 E-mail:YLBSWZ@yahoo.com.cn。

均不计数。每例首先在低倍镜下选择3个血管着色最密集区域,然后在200倍光镜下,随机计数5个视野内微血管数,取3个视野的平均值作为MVD值。

1.4 统计学处理

运用 SPSS10.0 统计软件进行统计学处理。采用 χ^2 检验、t 检验和方差分析。用 Spear-man 等级相关分析 Glut1、CD34 的相互关系。

2 结果

2.1 Glut1 在乳腺癌组织中的表达

乳腺癌组织中 Glut1 的阳性反应物为棕黄色,主要定位于肿瘤细胞的胞膜上(图1)。癌组织中 Glut1 的阳性表达为 32 例(53.33%),在正常乳腺组织中无染色,两者之间差异有显著性($P < 0.05$)。

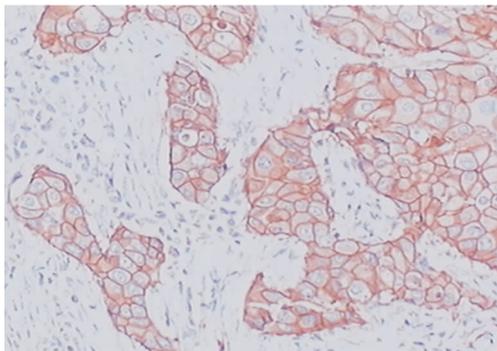


图1 乳腺癌组织中 Glut1 的表达(S-P×100)

2.2 Glut1 的表达与乳腺癌临床病理因素的关系

Glut1 的表达与乳腺癌患者的临床分期、组织学分级、淋巴结转移有关,而与肿瘤直径、雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)表达无关。中、低分化组癌组织中 Glut1 的表达率高于高分化组,差异有显著性($P < 0.05$);有淋巴结转移及临床分期较晚者其 Glut1 表达明显高于无淋巴结转移组及临床分期较早者(均为 $P < 0.05$)(表1)。

2.3 乳腺癌组织中 MVD 计数

乳腺癌组织中微血管形态异常,血管腔内可见裂隙样的细胞簇及能容纳大量细胞的海绵样结构(图2)。乳腺癌组织中 MVD 为 28.17 ± 10.4 ,正常乳腺癌组织为 12.16 ± 4.7 ;两组差异有极显著性($P < 0.01$)。

表1 乳腺癌组织中 Glut-1 的表达与临床病理因素的关系

病理因素	例数	Glut1		P 值
		(+ ~ +++ 例)	(%)	
肿瘤大小(cm)				
≤2	29	13	44.83	>0.05
>2	31	19	61.29	
病理分级				
G1+G2	31	12	38.71	<0.05
G3	29	20	68.97	
临床分期				
I,II	38	19	50.00	<0.05
III	22	18	81.82	
淋巴结转移				
(+)	39	25	64.10	<0.05
(-)	21	7	33.33	
ER				
(+)	40	22	55.00	>0.05
(-)	20	10	50.00	
PR				
(+)	32	19	59.38	>0.05
(-)	28	13	46.43	

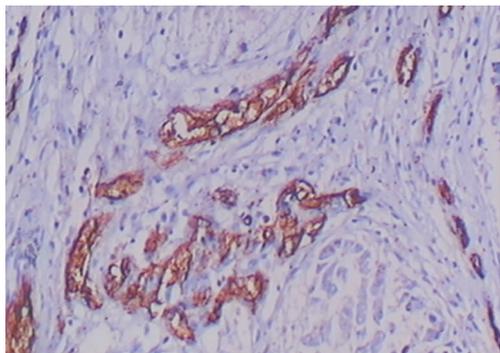


图2 乳腺癌组织中微血管(CD34)的分布(S-P×100)

2.4 乳腺癌组织中 Glut1 的表达与 MVD 计数的关系

Glut1 表达阳性的乳腺癌组织中, MVD 值为 $30.06 \pm 3.469 \pm 17$, Glut1 表达阴性的乳腺癌组织中 MVD 值为 13.72 ± 0.57 , 差异有显著性($P < 0.05$)。提示 Glut1 表达与 MVD 有关。

3 讨论

恶性肿瘤组织与相应正常组织相比的显著特点,是前者糖酵解率升高。这意味着为满足细胞快速生长增殖的高能量需求,癌细胞要摄取大量

糖。Glut1 表达异常升高可能为癌细胞摄取葡萄糖增多的机制之一。众多研究表明:在人类正常上皮和良性上皮肿瘤组织中目前的多克隆抗体免疫组化法不能检测到 Glut1 蛋白表达,而在恶性肿瘤组织中则普遍高表达,阳性表达率均高达 50%^[8]。Glut1 在肿瘤中基因表达的增加和激活可能有两种机制:一是与 ras 和 src 等癌基因和生长因子调节相关,转染 ras 或 src,可能导致糖吸收和糖转运蛋白的增加;二是,肿瘤微环境局部缺氧也可能诱导糖代谢适应性吸收增加和 Glut1 表达增加^[2]。

国外学者研究表明,Glut-1 的高表达与肿瘤患者的预后有关。Kunkel 等用免疫组化法检测 118 例口腔鳞状细胞癌患者 Glut1 的表达,发现 Glut1 表达是一个非常具有预后意义的指标^[3]。Scott 等^[4]用 Western blot 免疫印迹和免疫组化方法,在一组低分化的乳腺癌细胞系 MCF-7, MDA-MB, MDA-MB-435 和 MDA-MD-231 中发现,细胞表面 Glut-1 的表达水平与细胞浸润转移力呈正相关。本研究表明,Glut1 的表达与淋巴结转移及肿瘤的分化程度有关,有淋巴结转移肿瘤组织中的表达率高于无转移者($P < 0.05$),中、低分化的癌组织中表达率高于高分化者($P < 0.05$);同时肿瘤分期较晚者,其阳性表达率较高。提示肿瘤细胞需要的能量增加。本文结果与国外报道相符^[5]。提示 Glut1 可作为乳腺癌恶性程度及预后判断的参考指标。

MVD 的检测,不仅能反映乳腺癌组织内血管的数量,而且能反映乳腺癌细胞生长及转移的能力。采用对血管内皮细胞抗原的免疫组化技术染色进行微血管定量的方法(即 MVD),能准确可靠

地反映肿瘤血管生成,是反映恶性肿瘤生物学行为的一项重要指标,并已在大多数肿瘤中获得证实。在内皮细胞的众多标记物中,抗人原始造血细胞抗原(CD34)单克隆抗体对淋巴细胞和基质细胞不存在任何交叉反应,比 VIII 因子和 CD31 更具敏感性和特异性;微血管染色较 CD31 和 VIII 因子定位更准确。本实验亦显示:Glut1 表达阳性的乳腺癌组织中,MVD 值显著高于相对应的阴性组织($P < 0.05$)。说明 Glut1 在血管生成及肿瘤的转移中起重要作用。

参考文献:

- [1] Ravazoula P, Batistaou A, Aletra C, *et al.* Immunohistochemical expression of glucose transporter GLUT1 and CyclinD1 in breast carcinoma with negative lymphnodes [J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2003, 24(6):544-566.
- [2] Haber RS, Rathan A, Weiser KR, *et al.* GLUT1 glucose transporter expression in colorectal carcinoma: a marker for poor prognosis [J]. *Cancer*, 1998, 83(1):34-40.
- [3] Kunkel M, Reichert TE, Benz P, *et al.* Overexpression of Glut-1 and increased glucose metabolism in tumors are associated with a poor prognosis in patients with oral squamous cell carcinoma [J]. *Cancer*, 2003, 97(4):1015-1024.
- [4] Scott PA, Gleadle JM, Bicknell R, *et al.* Role of the hypoxia sensing system, acidity and reproductive hormones in the variability of vascular endothelial growth factor induction in human breast carcinoma cell lines [J]. *Int J Cancer*, 1998, 75(5):706-712.
- [5] Alo PL, Visca P, Botti C, *et al.* Immunohistochemical expression of human erythrocyte glucose transporter and fatty acid synthase in infiltrating breast carcinomas and adjacent typical/atypical hyperplastic or normal breast tissue [J]. *Am J Clin Pathol*, 2003, 6(1):129-134.