doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.11.012
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract4100.shtml

·基础研究·

乳腺癌中 Wnt 信号蛋白 β-catenin 和 cyclin D1 的表达及其与侵袭转移的关系

曾令瑞[1]，韩玉贞[1]，朱玉红[2]

（1. 山东滨州医学院 病理学教研室，山东 烟台 264003；2. 山东滨州医学院附属医院 病理科，山东 滨州 256603）

摘　要　**目的：**分析乳腺癌原发癌组织与其淋巴结转移癌组织中 β-catenin 和 cyclin D1 的表达及其与乳腺癌侵袭转移性的关系。

方法：用免疫组化法检测 55 例三阴乳腺癌原发癌与其中 21 例伴有淋巴结转移的转移癌，以及 55 例非三阴性乳腺原发癌与其中 25 例伴有淋巴结转移的转移癌组织中 β-catenin 与 cyclin D1 的表达情况。

结果：在有淋巴结转移的 46 例中，转移癌组织 β-catenin 异位表达率与 cyclin D1 阳性表达率均明显高于原发癌组织（54.3% *vs*. 76.1%；63.0% *vs*. 82.6%，均 $P<0.05$），且两种组织中 β-catenin 异位表达率和 cyclin D1 阳性表达率均呈正相关（$r=0.29$；$r=0.38$，均 $P<0.05$）。无论是原发癌组织还是转移癌组织，β-catenin 异位表达率与 cyclin D1 阳性表达率在三阴乳腺癌和非三阴性原发癌间的差异均无统计学意义（均 $P>0.05$）。

结论：高 β-catenin 异位表达与 cyclin D1 阳性表达与乳腺癌的高侵袭转移性有关，但三阴乳腺癌更高的侵袭转移性可能涉及其他独立于Wnt信号通路的机制。　[中国普通外科杂志, 2014, 23(11):1517-1521]

关键词　乳腺肿瘤；肿瘤转移；Wnt 蛋白质类

中图分类号：R737.9

Expression of Wnt signaling protein β-catenin and cyclin D1 in breast cancer and its relation with invasion and metastasis

ZENG Lingrui[1], HAN Yuzhen[1], ZHU Yuhong[2]

(1. Department of Pathology, Binzhou Medical University, Yantai, Shandong 264003, China; 2. Department of Pathology, Affiliated Hospital, Binzhou Medical University, Binzhou, Shandong 256603, China)

Corresponding author: *HAN Yuzhen, Email: hanyzh6309@sina.com*

ABSTRACT　**Objective:** To analyze the expression of β-catenin and cyclin D1 in the primary lesion and lymph node metastasis of breast cancer and its relation with invasion and metastasis of breast cancer.

Methods: Using immunohistochemical staining, the expression of β-catenin and cyclin D1 in the primary lesions and metastases from 55 cases of triple negative breast cancer (TNBC) in which 21 cases had lymph node metastases, and 55 cases non-TNBC in which 25 cases had lymph node metastases was determined.

Results: In 46 cases with lymph node metastases, both the β-catenin ectopic expression rate and cyclin D1 positive expression rate in the metastases were significantly higher than those in the primary tumor (54.3% *vs*. 76.1%; 63.0% *vs*. 82.6%, both $P<0.05$), and the β-catenin ectopic expression rate and cyclin D1 positive expression

基金项目：山东省自然科学基金资助项目（ZR2010HM096）。

收稿日期：2013-11-01；**修订日期：**2014-05-05。

作者简介：曾令瑞，山东滨州医学院硕士研究生，主要从事乳腺肿瘤病理方面的研究。

通信作者：韩玉贞，Email: hanyzh6309@sina.com

© 版权归中国普通外科杂志所有

rate had positive correlation in either the primary or metastatic tumor (r=0.29; r=0.38, both P<0.05). Whether it was in the primary lesion or metastasis, there was no statistical difference in the β-catenin ectopic expression rate or cyclin D1 positive expression rate between TNBC and non-TNBC (all P>0.05).

Conclusion: High β-catenin ectopic expression and cyclin D1 positive expression is associated with a high potential of invasion and metastasis in breast cancer, but the even higher potential of invasion and metastasis of TNBC may be associated with other mechanisms that are independent of Wnt signaling pathway.

[**Chinese Journal of General Surgery, 2014, 23(11):1517-1521**]

KEYWORDS Breast Neoplasms; Neoplasm Metastasis; Wnt Proteins

CLC number: R737.9

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤，其发病率逐年上升且呈现年轻化趋势明显，腋窝淋巴结转移是评价患者预后的重要指标。三阴乳腺癌是指雌激素受体（ER）、孕激素受体（PR）及人表皮生长因子受体 2（HER-2）均阴性的乳腺癌，由于侵袭转移能力较强，且缺乏有效地治疗靶点，故预后较差[1]。Wnt 信号通路在肿瘤发生、发展中发挥重要的作用[2-3]，研究[4-5]表明 Wnt 信号通路在乳腺癌中处于激活状态，当 Wnt 信号通路被激活时，β-catenin 在细胞之中积聚并增多，并进入胞核，从而激活下游靶基因 C-myc、cyclin D1 等基因的转录，有关 Wnt 信号通路在三阴乳腺癌表达研究较少[6]，而关于 Wnt 信号通路在乳腺原发癌和其淋巴结转移癌中的比较研究，国内外未见报道。为此，本文应用免疫组化 EnVision 两步法探讨三阴乳腺癌、原发癌及相应淋巴结转移癌中 Wnt 信号通路蛋白 β-catenin 和 cyclin D1 表达及意义。

1 材料与方法

1.1 材料

选取滨州医学院附属医院病理科 2011 年—2012 年存档的 110 例乳腺浸润性导管癌（46 例伴有腋窝淋巴结转移），且术前均未经任何放疗、化疗，其中三阴乳腺癌 55 例，且 21 例伴有淋巴结转移，非三阴乳腺癌 55 例，且 25 例伴有淋巴结转移。

1.2 试剂

鼠抗人 β-catenin 单克隆抗体、兔抗人 cyclin D1 及 EnVision 两步法检测试剂盒均购自北京中杉金桥。

1.3 结果判断

β-catenin 参照 Maruyama 等[7]的方法，β-catenin 在细胞内分为胞膜、胞质、胞核着色，膜阳性率 >75% 为正常表达（图 1A），膜表达消失或 <75% 为异位表达，胞质（核）阳性率 >10% 也为异位表达（图 1B）；cyclin D1 为胞核着色（图 1C），每张切片随机选取有肿瘤组织的 5 个不同高倍视野，计数 500 个肿瘤细胞，计算细胞阳性率，细胞 >10% 为阳性表达。

1.4 统计学处理

应用 SPSS 20.0 统计软件包，进行 χ^2 检验和相关性分析。

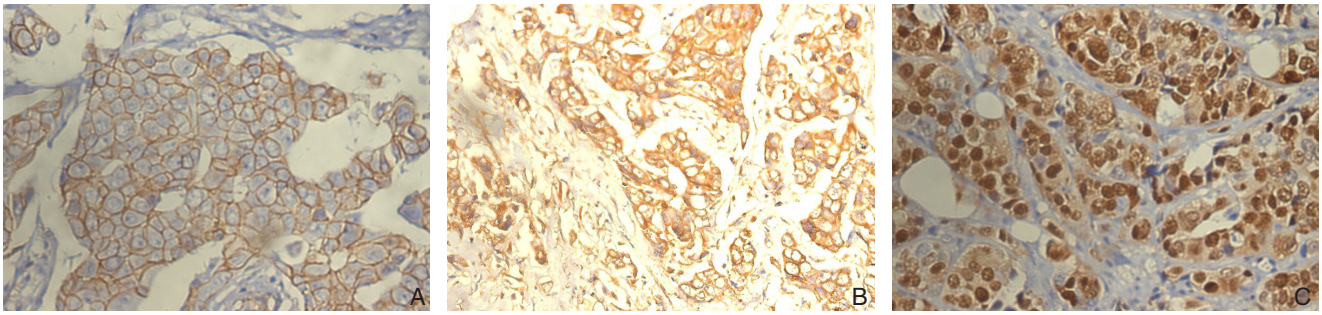

图 1 免疫组化检测 β-catenin 与 cyclin D1 的表达（×400） A：β-catenin 在乳腺癌原发癌胞膜表达（棕黄色）；B：β-catenin 在乳腺癌原发癌胞质表达（棕黄色）；C：cyclin D1 在淋巴结转移癌胞核中表达（棕褐色）

Figure 1 Immunohistochemical staining for measurement of β-cateninand cyclin D1 expression (×400) A: β-catenin expression in cell membrane of the primary breast cancer (brown stain); B: β-catenin expression in cytoplasm of the primary breast cancer (brown stain); C: Cyclin D1 expression in the cell nuclei of the lymph node metastases (dark brown stain)

© 版权归中国普通外科杂志所有

2 结　果

2.1 β-catenin 和 cyclin D1 在乳腺癌的原发癌与淋巴结转移癌中的表达

乳腺原发癌和转移癌中 β-catenin 的异位表达率分别为 54.3% 和 76.1%，转移癌明显高于原发癌，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；乳腺原发癌和淋巴结转移癌中 cyclin D1 的阳性表达率分别为 63.0% 和 82.6%，转移癌明显高于原发癌，差异有统计学意义（$P<0.05$）（表 1）。

表 1　原发癌和转移癌 β-catenin 和 cyclin D1 的表达 [*n*（%）]

Table 1　β-catenin and cyclin D1 expression in the primary lesion and metastases [*n* (%)]

组别	*n*	β-catenin 表达		*P*	cyclin D1 表达		*P*
		正常表达	异位表达		阴性	阳性	
原发癌	46	21（45.7）	25（54.3）	<0.05	17（37.0）	29（63.0）	<0.05
转移癌	46	11（23.9）	35（76.1）		8（17.4）	38（82.6）	

2.2 乳腺癌的原发癌与转移癌中 β-catenin 和 cyclin D1 的相关性

相关性分析显示，乳腺癌的原发癌组织中 β-catenin 异位表达率与 cyclin D1 阳性表达率呈正相关性（$r=0.29$，$P<0.05$）（表 2），淋巴结转移癌组织中 β-catenin 异位表达率和 cyclin D1 阳性表达率亦呈正相关性（$r=0.38$，$P<0.05$）（表 3）。

2.3 β-catenin 和 cyclin D1 三阴乳腺癌和非三阴乳腺癌中表达的比较

三阴乳腺癌和非三阴乳腺癌的原发癌组织中 β-catenin 异位表达率分别为 52.7% 和 63.6%，而 cyclin D1 的阳性率分别为 54.5% 和 58.2%，两者差异均无统计学意义（均 $P>0.05$）（表 4）；三阴乳腺癌和非三阴乳腺癌的转移癌组织中 β-catenin 异位表达率分别为 71.4% 和 80.0%，而 cyclin D1 的阳性表达率分别为 76.2% 和 88.0%，二者差异亦均无统计学意义（均 $P>0.05$）（表 5）。

表 2　原发癌 β-catenin 和 cyclin D1 的相关性 [*n*（%）]

Table 2　Correlation between β-catenin and cyclin D1 expression in the primary cancer [*n* (%)]

β-catenin	*n*	cyclin D1 表达		*P*
		阴性	阳性	
正常表达	21	11（52.4）	10（47.6）	<0.05
异位表达	25	6（24.0）	19（76.0）	

表 3　转移癌 β-catenin 和 cyclin D1 的相关性 [*n*（%）]

Table 3　Correlation between β-catenin and cyclin D1 expression in the metastases [*n* (%)]

β-catenin	*n*	cyclin D1 表达		*P*
		阴性	阳性	
正常表达	12	5（41.7）	7（58.3）	<0.05
异位表达	34	3（8.8）	31（91.2）	

表 4　三阴乳腺癌和非三阴乳腺癌原发癌 β-catenin 和 cyclin D1 的表达 [*n*（%）]

Table 4　Expressions of β-catenin and cyclin D1 in the primary lesion of TNBC and non-TNBC [*n* (%)]

组别	*n*	β-catenin 表达		*P*	cyclin D1 表达		*P*
		正常表达	异位表达		阴性	阳性	
三阴性原发癌	55	26（42.3）	29（52.7）	>0.05	25（45.5）	30（54.5）	>0.05
非三阴性原发癌	55	20（36.4）	35（63.6）		23（41.8）	32（58.2）	

表 5　三阴乳腺癌和非三阴乳腺癌转移癌 β-catenin 和 cyclin D1 的表达 [*n*（%）]

Table 5　Expressions of β-catenin and cyclin D1 in the metastases of TNBC and non-TNBC [*n* (%)]

组别	*n*	β-catenin 表达		*P*	cyclin D1 表达		*P*
		正常表达	异位表达		阴性	阳性	
三阴性原发癌	21	6（28.6）	15（71.4）	>0.05	5（23.8）	16（76.2）	>0.05
非三阴性原发癌	25	5（20.0）	20（80.0）		3（12.0）	22（88.0）	

3 讨　论

乳腺癌的侵袭和转移是多因素、多步骤的复杂过程，腋窝淋巴结转移是判断乳腺癌患者预后重要的指标，乳腺原发癌与相应淋巴结转移癌基因表达谱的相似性证实，淋巴结转移癌是其原发癌的转移亚克隆，两者的差异表达基因可能与细胞的转移表型相关[8]。郝希山等[9]的研究，是将乳腺癌的

© 版权归中国普通外科杂志所有

淋巴结转移癌作为原发癌的转移亚克隆，利用人表达谱基因芯片，通过比较原发癌和转移癌的基因表达差异，筛选乳腺癌转移相关基因，其差异基因涉及了细胞黏附和运动能力、细胞信号传导、细胞生长代谢等与转移相关的生物学过程。另有作者[10-11]应用免疫组化的方法对乳腺原发癌和相应淋巴结转移癌进行比较研究，结果表明：Ki-67、Hedgehog信号通路蛋白Smo、Gli-1存在表达差异，转移癌中Ki-67的表达高于原发癌[10]，而Hedgehog信号通路蛋白Smo、Gli-1在原发癌的表达高于转移癌[11]，显示，原发癌和淋巴结转移癌的蛋白表达存在明显差异。Wnt信号通路在乳腺癌的发生、发展中发挥重要作用，有研究表明乳腺癌中β-catenin的异位表达与预后不良有关[12]，β-catenin的异位表达和cyclin D1的高表达有关[13]，cyclin D1的高表达促进了肿瘤细胞的增殖和迁移能力[14-15]。而有关Wnt信号通路在乳腺原发癌和相应淋巴结转移癌的比较研究，国内外未见报道，为此，本文应用免疫组化对乳腺原发癌和相应淋巴结转移癌进行比较研究，结果表明：无论β-catenin，还是cyclin D1，转移癌均明显高于原发癌，并且β-catenin的异位表达与cyclin D1的高表达呈正相关性，因此，笔者认为：乳腺原发癌中β-catenin异位表达和cyclin D1高表达的细胞亚群易发生侵袭和淋巴道转移，该癌细胞亚群到达局部淋巴结后，大量增殖形成淋巴结转移癌。

乳腺癌是一种高度的异质性的肿瘤，Perou等[16]根据不同的分子表型，将乳腺癌分为5个亚型，其中三阴乳腺癌亚型具有高度侵袭性并易发生远处转移[17]，且缺乏有效的治疗靶点[18]，故预后较差。Khramtsov等[19]研究发现Wnt信号通路在三阴乳腺癌中被激活且和不良预后有关；本研究表明三阴性和非三阴乳腺癌无论β-catenin，还是cyclin D1的表达均无统计学差异（$P>0.05$），提示三阴乳腺癌的高侵袭和转移性不主要依赖于Wnt信号通路的活化，而可能通过其他信号通路的活化。李珊珊等[20]研究发现三阴乳腺癌中β-catenin的异位表达率高于非三阴乳腺癌，因此Wnt信号通路在三阴乳腺癌的表达情况还有待进一步研究。

参考文献

[1] 钱宏美，张亚男，张勇，等. 三阴性乳腺癌的临床病理特征分析[J]. 中国普通外科杂志，2011, 20(11):1196-1198.

[2] Giles RH, van Es JH, Clevers H. Caught up in a Wnt storm: Wnt signaling in cancer[J]. Biochim Biophys Acta, 2003, 1653(1):1-24.

[3] Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer[J]. Nature, 2005, 434(7035):843-850.

[4] Prasad CP, Gupta SD, Rath G, et al. Wnt signaling pathway in invasive ductal carcinoma of the breast: relationship between beta-catenin, dishevelled and cyclin D1 expression[J]. Oncology, 2007, 73(1/2): 112-117.

[5] Khalil S, Tan GA, Giri DD, et al. Activation status of Wnt/ß-catenin signaling in normal and neoplastic breast tissues: relationship to HER2/neu expression in human and mouse[J]. PLoS One, 2012, 7(3):e33421. doi: 10.1371/journal.pone.0033421.

[6] King TD, Suto MJ, Li Y. The Wnt/beta-catenin signaling pathway: a potential therapeutic target in the treatment of triple negative breast cancer[J]. J Cell Biochem, 2012, 113(1):13-18.

[7] Maruyama K, Ochiai A, Akimoto S, et al. Cytoplasmic beta-catenin accumulation as a predictor of hematogenous metastasis in human colorectal cancer[J]. Oncology, 2000, 59(4):302-309.

[8] 冯玉梅，高光，张芳，等. 利用mRNA差异显示和基因芯片技术联合筛选乳腺原发癌与淋巴结转移癌患者的差异表达基因[J]. 中华医学杂志，2006, 86(39):2749-2755.

[9] 郝希山，冯玉梅，张亮，等. 采用单引物扩增法标记的基因芯片技术筛选乳腺原发癌与淋巴结转移癌的差异表达基因[J]. 中华医学杂志，2005, 85(6):385-390.

[10] Buxant F, Anaf V, Simon P, et al. Ki-67 immunostaining activity is higher in positive axillary lymph nodes than in the primary breast tumor[J]. Breast Cancer Res Treat, 2002, 75(1):1-3.

[11] 徐珊珊，韩玉贞，马文浩，等. 乳腺原发癌和淋巴结转移癌中Hedgehog信号蛋白的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志，2012, 28(11):1198-1201.

[12] López-Knowles E, Zardawi SJ, McNeil CM, et al. Cytoplasmic localization of beta-catenin is a marker of poor outcome in breast cancer patients[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2010, 19(1):301-309.

[13] Ozaki S, Ikeda S, Ishizaki Y, et al. Alterations and correlations of the components in the Wnt signaling pathway and its target genes in breast cancer[J]. Oncol Rep, 2005, 14(6):1437-1443.

[14] Thuneke I, Schulte HM, Bamberger AM. Bamberger. Biphasic effect of medroxyprogesterone-acetate (MPA) treatment on proliferation and cyclin D1 gene transcription in T47D breast cancer cells[J]. Breast Cancer Res Treat, 2000, 63(3):243-248.

[15] 李宏涛，熊永萍，徐明亮，等. 组织芯片技术应用于检测乳腺癌组织中p16和cyclin D1的表达[J]. 中国普通外科杂志，2008, 17(5):494-496.

[16] Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours[J]. Nature, 2000, 406(6797):747-752.

© 版权归中国普通外科杂志所有

[17] Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(15 pt 1):4429–4434.

[18] Tan AR, Swain SM. Therapeutic strategies for triple-negative breast cancer[J]. Cancer J, 2008, 14(6):343–351.

[19] Khramtsov AI, Khramtsova GF, Tretiakova M, et al. Wnt/beta-catenin pathway activation is enriched in basal-like breast cancers and predicts poor outcome[J]. Am J Pathol, 2010, 176(6):2911–2920.

[20] 李珊珊，孙颖，丁涣，等．β-catenin 在不同亚型乳腺癌中的表达及其临床意义 [J]. 山东大学学报：医学版，2013, 51(3):107–110.

（本文编辑　宋涛）

本文引用格式：曾令瑞，韩玉贞，朱玉红．乳腺癌中 Wnt 信号蛋白 β-catenin 和 cyclin D1 的表达及其与侵袭转移的关系 [J]. 中国普通外科杂志，2014, 23(11):1517–1521. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.11.012

Cite this article as: ZENG LR, HAN YZ, ZHU YH. Expression of Wnt signaling protein β-catenin and cyclin D1 in breast cancer and its relation with invasion and metastasis[J]. Chin J Gen Surg, 2014, 23(11):1517-1521. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.11.012

本刊常用词汇英文缩写表

C —反应蛋白	CRP	甲型肝炎病毒	HAV	心电图	ECG
Toll 样受体	TLRs	碱性成纤维细胞转化生长因子	bFGF	心脏监护病房	CCU
氨基末端激酶	JNK	聚合酶链反应	PCR	血管紧张素 II	AngII
白细胞	WBC	抗生物素蛋白 – 生物素酶复合物法	ABC 法	血管内皮生长因子	VEGF
白细胞介素	IL	辣根过氧化物酶	HRP	血管性血友病因子	vWF
半数抑制浓度	IC_{50}	链霉抗生物素蛋白 – 生物素酶复合物法	SABC 法	血红蛋白	Hb
变异系数	CV	磷酸盐缓冲液	PBS	血肌酐	SCr
标记的链霉抗生物素蛋白 – 生物素法	SP 法	绿色荧光蛋白	GFP	血尿素氮	BUN
表皮生长因子	EGF	酶联免疫吸附测定	ELISA	血小板	PLT
丙氨酸转氨酶	ALT	美国食品药品管理局	FDA	血压	BP
丙二醛	MDA	脑电图	EEG	血氧饱和度	SO_2
丙型肝炎病毒	HCV	内毒素 / 脂多糖	LPS	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸	NADPH
超氧化物歧化酶	SOD	内皮型一氧化氮合酶	eNOS	严重急性呼吸综合征	SARS
磁共振成像	MRI	内生肌酐清除率	CCr	一氧化氮	NO
极低密度脂蛋白胆固醇	VLDL-C	尿素氮	BUN	一氧化氮合酶	NOS
低密度脂蛋白胆固醇	LDL-C	凝血酶时间	TT	乙二胺四乙酸	EDTA
动脉血二氧化碳分压	$PaCO_2$	凝血酶原时间	PT	乙酰胆碱	ACh
动脉血氧分压	PaO_2	牛血清白蛋白	BSA	乙型肝炎病毒	HBV
二甲基亚砜	DMSO	热休克蛋白	HSP	乙型肝炎病毒 e 抗体	HBeAb
反转录 – 聚合酶链反应	RT-PCR	人类免疫缺陷病毒	HIV	乙型肝炎病毒 e 抗原	HBeAg
辅助性 T 细胞	Th	人绒毛膜促性腺激素	HCG	乙型肝炎病毒表面抗体	HBsAb
肝细胞生长因子	HGF	三磷酸腺苷	ATP	乙型肝炎病毒表面抗原	HBsAg
干扰素	IFN	三酰甘油	TG	乙型肝炎病毒核心抗体	HBcAb
高密度脂蛋白胆固醇	HDL-C	生理氯化钠溶液	NS	乙型肝炎病毒核心抗原	HBcAg
谷胱甘肽	GSH	世界卫生组织	WHO	异硫氰酸荧光素	FLTC
固相 pH 梯度	IPG	双蒸水	ddH_2O	诱导型一氧化氮合酶	iNOS
核糖核酸	RNA	丝裂原活化蛋白激酶	MAPK	原位末端标记法	TUNEL
核因子 – κ B	NF- κ B	四甲基偶氮唑盐微量酶反应	MTT	杂合性缺失	LOH
红细胞	RBC	苏木精 – 伊红染色	HE	增强化学发光法	ECL
红细胞沉降率	ESR	胎牛血清	FBS	肿瘤坏死因子	TNF
环氧化酶 –2	COX-2	体质量指数	BMI	重症监护病房	ICU
活化部分凝血活酶时间	APTT	天冬氨酸氨基转移酶	AST	转化生长因子	TGF
活性氧	ROS	脱氧核糖核酸	DNA	自然杀伤细胞	NK 细胞
获得性免疫缺陷综合征	AIDS	细胞间黏附分子	ICAM	直接胆红素	DBIL
肌酐	Cr	细胞外基质	ECM	总胆固醇	TC
基质金属蛋白酶	MMP	细胞外调节蛋白激酶	ERK	总胆红素	TBIL
计算机 X 线断层照相技术	CT	纤连蛋白	FN		

© 版权归中国普通外科杂志所有