

文章编号:1005-6947(2007)01-0058-03

· 基础研究 ·

BRMS1 mRNA 在乳腺癌组织中的表达及其意义

唐鲁兵¹, 孙靖中¹, 马榕¹, 王甜甜¹, 高海东¹, 余之刚², 冯进波³

(山东大学 1. 齐鲁医院 乳腺外科, 山东 济南 250012; 2. 第二医院 乳腺外科, 山东 济南 250033; 3. 齐鲁医院中心实验室, 山东 济南 250012)

摘要:目的 探讨乳腺癌转移抑制基因 BRMS1 mRNA 在乳腺癌组织中的表达及其临床意义。方法 用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)技术检测 71 例乳腺癌、71 例癌旁组织及 12 例乳腺良性肿瘤、12 例正常乳腺组织中 BRMS1 mRNA 的表达,半定量分析 RT-PCR 产物电泳条带密度。结果 在 71 例乳腺癌及其相应癌旁组织中 BRMS1 mRNA 表达水平分别为 0.378 ± 0.046 和 0.918 ± 0.044 ; 12 例乳腺良性肿瘤及正常乳腺组织表达水平分别为 0.908 ± 0.047 和 0.934 ± 0.028 ; 乳腺癌组织 BRMS1 mRNA 的表达水平明显低于癌旁组织、乳腺良性肿瘤和正常乳腺组织 ($P < 0.01$)。BRMS1 mRNA 的表达水平与患者年龄、肿瘤大小、ER 和 PR 无关 ($P > 0.05$), 而腋淋巴结有转移及临床分期 III, IV 期者其表达水平低于无淋巴结转移和临床分期 I, II 期者 ($P < 0.05$)。结论 BRMS1 mRNA 在乳腺癌组织中表达水平下降; 其表达与乳腺癌腋淋巴结转移、临床分期有关, 可能成为乳腺癌转移和预后的指标之一。 [中国普通外科杂志, 2007, 16(1): 58-60]

关键词: 乳腺肿瘤/病理学; 基因, BRMS1; 基因表达; 乳腺癌/预后

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A

Expression of BRMS1 mRNA in human breast cancer and its clinical significance

TANG Lu-bing¹, SUN Jing-zhong¹, MA Rong¹, WANG Tian-tian¹, GAO Hai-dong¹, YU Zhi-gang², FENG Jin-bo³

(1. Department of Breast Surgery, QiLu Hospital, Shandong University, Jinan 250012, China;
2. Department of Breast Surgery, the Second hospital, Shandong University, Jinan 250033, China;
3. the Central Laboratory, QiLu Hospital, Shandong University, Jinan 250012, China)

Abstract: Objective To study the expression of BRMS1 mRNA in human breast cancer tissues and their significance. **Methods** The expression of BRMS1 mRNA was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) in 71 breast cancer tissues and adjacent breast tissues, 12 patients with benign breast tumors and 12 patients with normal breast tissue, and semi-quantitative analysis of band densities was also performed. **Results** The expression of BRMS1 mRNA in 71 patients with breast cancer and adjacent breast tissue was 0.378 ± 0.046 and 0.918 ± 0.044 , respectively; the expression of BRMS1 mRNA in 12 patients with benign breast tumors and 12 patients with normal breast tissue was 0.908 ± 0.047 and 0.934 ± 0.028 respectively. BRMS1 mRNA expression was significantly lower in breast cancer tissue compared to adjacent breast tissue, benign breast tumors and normal breast tissue ($P < 0.01$). The expression of BRMS1 mRNA in breast cancer was reduced and had no relation with patient age, tumor size, and ER, PR ($P > 0.05$), but was related to axillary lymph node metastasis and clinical stage ($P < 0.05$). **Conclusions** The expression of BRMS1 mRNA in patients with breast cancer was correlated with axillary lymph node metastasis and clinical stage, and the reduction of BRMS1 mRNA expression could be an index for metastasis and prognosis of patients with breast cancer. [Chinese Journal of General Surgery, 2007, 16(1): 58-60]

收稿日期:2005-08-28; 修订日期:2006-05-25。

作者简介:唐鲁兵,男,山东烟台人,山东大学齐鲁医院主治医师,主要从事乳腺肿瘤的基础与临床方面的研究。

通讯作者:孙靖中 电话:0531-82169491(O)。

Key words: Breast Neoplasms/pathol; Gene, BRMS1; Gene Expression; Breast Cancer/progno

CLC number: R737.9

Document code: A

乳腺癌转移抑制基因 1 (breast cancer metastasis suppressor 1, BRMS1) 系 2000 年新发现的转移抑制基因, 与恶性肿瘤转移的关系十分密切^[1]。本研究应用半定量逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 技术检测乳腺癌组织中 BRMS1 mRNA 的表达, 并探讨其与临床病理特征的关系。

1 资料与方法

1.1 标本及其临床资料

1.1.1 乳腺癌组 收集我院 2003 年 10 月—2005 年 1 月 71 例乳腺癌患者的癌组织, 术后均经病理证实。病例均为女性, 年龄 28~83 (平均 52.4) 岁。术前均未行化疗、放疗和内分泌治疗。行乳腺癌根治术 21 例, 改良根治术 44 例, 保留乳头的乳腺癌改良根治术 5 例, 乳腺单纯切除术 1 例。临床分期: I 期 21 例, II 期 25 例, III 期 24 例, IV 期 1 例; 病理类型: 浸润性导管癌 55 例, 导管内癌 6 例, 浸润性小叶癌 5 例, 髓样癌 2 例, 黏液腺癌 2 例, 乳腺派杰病 1 例。

1.1.2 乳腺癌癌旁组织组 标本取自上述乳腺癌病例, 所取组织均距肿瘤边缘 3 cm 以上, 病理切片证实无癌。

1.1.3 乳腺良性肿瘤组 12 例, 均为女性, 年龄 14~39 (平均 21.6) 岁。病理类型: 乳腺纤维腺瘤 11 例, 乳腺良性分叶状肿瘤 1 例。

1.1.4 正常乳腺组织 标本取自上述 12 例乳腺良性肿瘤患者, 距肿瘤边缘约 2 cm。病理切片证实为正常乳腺组织。标本离体后均在无菌条件下切取新鲜组织约 1 g, 迅速放入 -84℃ 冰箱保存。

1.2 实验方法

1.2.1 总 RNA 提取 乳腺癌、癌旁组织、乳腺良性肿瘤及正常乳腺组织均采用异硫氰酸胍-酚-氯仿 (AGPC) 一步法提取总 RNA。将总 RNA 溶于 0.1% 焦碳酸二乙酯 (DEPC) 处理水, 紫外分光光度计检测 RNA 浓度及 A260/A280 比值。调 RNA 浓度至 0.5 μg/μL。

1.2.2 RT-PCR BRMS1 上游引物为 5' GAGCCT-CAAGATTCGCATTC 3' (451 bp-470 bp); 下游引物

为 5' TGTGCTCCACCATTTCAGA 3' (671 bp-653 bp); 扩增片断 221 bp。β-actin 上游引物为 5' ACTAT-GTTTGAGCCTTCAACA 3'; 下游引物为 5' CATCTCT-TGCTCGAAGTCCA 3'; 扩增片断 317 bp (由上海博雅生物技术公司合成)。首先进行逆转录反应, 反应体系为 20 μL, 入 PCR 仪 (Biometra PCR) 中, 37℃ 反应 60 min, 95℃ 5 min 灭活逆转录酶 (MMLV)。第二步进行 PCR 扩增反应, 反应体系为 50 μL。反应条件为 95℃ 充分变性 5 min, 然后 94℃ 45 s, 56℃ 45 s, 72℃ 45 s, 33 个循环, 最后 72℃ 延伸 7 min。

1.2.3 RT-PCR 产物相对定量分析 取 10 μL PCR 产物在含有溴化乙锭的 2% 琼脂糖凝胶上电泳, 5 V/cm, 在凝胶成像系统 (Fluorchem, 9900, Germany) 下成像分析。将 β-actin 条带的光密度值定为 10, 取目的基因条带与 β-actin 条带光密度值的比值作为目的基因的相对值。

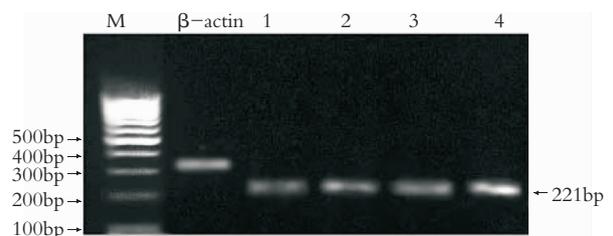
1.3 统计学处理

组间比较采用 *t* 检验和方差分析。采用 SPSS10.0 版软件进行统计学处理。

2 结果

2.1 BRMS1 mRNA 在乳腺癌组织及非癌组织中的表达

BRMS1 mRNA 在乳腺癌组织的表达水平为 0.378 ± 0.046 , 明显低于癌旁组织的 0.918 ± 0.044 、乳腺良性肿瘤的 0.908 ± 0.047 及正常乳腺组织的 0.934 ± 0.028 , 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 癌旁组织、乳腺良性肿瘤及正常乳腺组织中表达值无显著差异 (均为 $P > 0.05$) (附图)。



附图 乳腺癌组织、癌旁组织、乳腺良性肿瘤及正常乳腺组织中 BRMS1 mRNA 的表达 M: marker; β-actin: 内参照; 1: 乳腺癌组织; 2: 癌旁组织; 3: 乳腺良性肿瘤; 4: 正常乳腺组织

2.2 BRMS1 mRNA 在乳腺癌组织中的表达及其与临床病理因素的关系

乳腺癌组织中 BRMS1 mRNA 的表达在患者年龄、肿块大小、雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)的组间差异无显著性($P > 0.05$),但与腋淋巴结转移及临床分期有关。III,IV期的表达水平显著低于I,II期者($P < 0.05$);有淋巴结转移者显著低于无转移者($P < 0.05$)(附表)。

附表 乳腺癌 BRMS1 mRNA 的表达与临床病理因素的关系

临床病理因素	例数	BRMS1 mRNA 的表达	P 值
年龄(岁)			
绝经前	32	0.366 ± 0.049	>0.05
绝经后	39	0.385 ± 0.052	
肿瘤大小(cm)			
T ≤ 2cm	37	0.387 ± 0.036	>0.05
T > 2cm	34	0.369 ± 0.042	
ER			
(+)	32	0.386 ± 0.034	>0.05
(-)	39	0.371 ± 0.037	
PR			
(+)	29	0.382 ± 0.042	>0.05
(-)	42	0.362 ± 0.045	
腋淋巴结转移			
有	33	0.324 ± 0.036	<0.05
无	38	0.472 ± 0.042	
临床分期			
I,II期	46	0.430 ± 0.039	<0.05
III,IV期	25	0.335 ± 0.045	

3 讨论

恶性肿瘤的转移需要多种基因调控,可分为转移促进基因和转移抑制基因,其中转移抑制基因的作用更为重要,它的表达缺失或下降可诱导肿瘤的转移^[2]。目前 BRMS1 基因仅限于乳腺癌^[1]、恶性黑色素瘤^[3]和膀胱癌^[4]等细胞株的体外研究。

本研究结果显示乳腺癌组织 BRMS1 mRNA 的表达水平显著低于癌旁组织、乳腺良性肿瘤和正常乳腺组织($P < 0.01$);同时发现,有腋淋巴结转移的 BRMS1 mRNA 的表达水平显著低于无腋淋巴结转移者($P < 0.05$);III,IV期乳腺癌 BRMS1 mRNA 的表达显著低于I,II期的水平($P < 0.05$);提示 BRMS1 基因作为

转移抑制基因其表达缺失或下降与乳腺癌的淋巴结转移和临床进展有关($P < 0.05$),而与患者年龄、肿瘤大小、ER 和 PR 的关系不明显。

BRMS1 基因定位于 11q13.1 ~ q13.2,其编码 264 个氨基酸组成的蛋白质,分子质量为 28 500。该基因具有多个磷酸化位点。Samant 等^[5]将 BRMS1 转染到高转移性乳腺癌细胞 MDA-MB-435 中,其转移潜能降低 70% ~ 90%,但对乳腺癌细胞的生长无明显影响;同时将稳定转染 BRMS1 基因的乳腺癌细胞 MDA-MB-435 和 MDA-MB-231 注入裸鼠乳腺脂肪垫下,其肺部和区域淋巴结转移显著少于对照组。Saunders 等^[6]研究显示 BRMS1 基因可促使细胞通讯连接恢复,并增加连接蛋白 Cx43 的表达,降低 Cx32 的表达,最终抑制乳腺癌的转移。

总之,BRMS1 基因抑制肿瘤转移的机制是复杂的,非典型的;其具体机制尚需深入研究。肿瘤转移是一个复杂的,多步骤的过程。本研究提示 BRMS1 mRNA 的表达与乳腺癌的临床病理有一定的关系,可望成为乳腺癌转移和预后的指标,联合检测 MMP-2, TIMP-2 蛋白等转移和预后指标^[7],可望提高判断的准确性,但仍有待随访并根据生存期作出分析判断。

参考文献:

- [1] Seraj MJ, Samant RS, Verderame MF, *et al.* Functional evidence for a novel human breast carcinoma metastasis suppressor, BRMS1, encoded at chromosome 11q13 [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(1): 2476 - 2469.
- [2] Debies MT, Welch DR. Genetic basis of human breast cancer metastasis [J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2001, 6(4): 441 - 451.
- [3] Shevde LA, Samant R S, Goldberg SF, *et al.* Suppression of human melanoma metastasis by the metastasis suppressor gene, BRMS1 [J]. *Exp Cell Res*, 2002, 273(2): 229 - 239.
- [4] Seraj MJ, Harding MA, Gildea JJ, *et al.* The relationship of BRMS1 and RhoGD12 gene expression to metastatic potential in lineage related human bladder cancer cell lines [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2000, 18(6): 519 - 525.
- [5] Samant RS, Seraj MJ, Saunders MM, *et al.* Analysis of mechanisms underlying BRMS1 suppression of metastasis [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2000, 18(8): 683 - 693.
- [6] Saunders MM, Seraj MJ, Li Z, *et al.* Breast cancer metastasis potential correlates with a breakdown in homospesific and heterospesific gap junctional intercellular communication [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(5): 1765 - 1767.
- [7] 申培红,张云汉,李惠翔. MMP-2 和 TIMP-2 蛋白在乳腺癌组织中的表达及其与肿瘤转移的关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13(5): 375 - 377.