

文章编号 1006-8147(2018)01-0036-04

论 著

# $\beta$ -catenin 在非特殊型浸润性导管癌中的表达及其对患者预后的影响

杨丽敏, 秦凤霞, 黄 勇, 马勇杰

(天津医科大学肿瘤医院, 国家肿瘤临床医学研究中心, 乳腺癌防治教育部重点实验室, 天津市“肿瘤防治”重点实验室, 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心, 天津 300060)

**摘要** 目的:探讨  $\beta$ -catenin 在非特殊型浸润性导管癌(IDC-NOS)中的表达情况及其与患者临床病理参数、预后的关系。方法:采用免疫组织化学染色技术检测 273 例 IDC-NOS 中  $\beta$ -catenin 的表达情况,分析  $\beta$ -catenin 与 IDC-NOS 患者临床病理参数以及生存之间的关系。结果: $\beta$ -catenin 的异常表达与雌激素受体状态(ER)显著负相关( $r_s=-0.134, P=0.027$ ),与其他病理学参数均不相关。 $\beta$ -catenin 异常表达 IDC-NOS 患者预后差。在 ER 阳性的 IDC-NOS 患者中, $\beta$ -catenin 异常表达的患者预后差;在 ER 阴性的 IDC-NOS 患者中, $\beta$ -catenin 的表达对患者预后没有影响。结论: $\beta$ -catenin 异常表达 IDC-NOS 患者预后差。 $\beta$ -catenin 的异常表达与 ER 状态呈显著负相关。 $\beta$ -catenin 的表达情况能够影响 ER 阳性 IDC-NOS 患者的预后。

**关键词** 非特殊型浸润性导管癌; $\beta$ -catenin;雌激素受体;生存

中图分类号 R737.9

文献标志码 A

## Expression of $\beta$ -catenin in non-specific invasive ductal carcinoma and its effect on prognosis

YANG Li-min, QIN Feng-xia, HUANG Yong, MA Yong-jie

(Cancer Institute and Hospital, Tianjin Medical University, National Clinical Research Center for Cancer, Key Laboratory of Breast Cancer Prevention and Therapy, Tianjin Medical University, Ministry of Education, Tianjin Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin's Clinical Research Center for Cancer, Tianjin 300060, China)

**Abstract** **Objective:** To explore the expression of  $\beta$ -catenin in IDC-NOS (invasive ductal carcinoma, not otherwise specified) tissues and its relationship with the clinicopathologic parameters and prognosis of these patients. **Methods:** The expression of  $\beta$ -catenin in 273 cases with IDC-NOS was detected by immunohistochemical method, and the correlation between  $\beta$ -catenin and pathological features of IDC-NOS was analyzed. **Results:** The aberrant expression of  $\beta$ -catenin was negatively correlated with estrogen receptor (ER) status ( $r_s=-0.134, P=0.027$ ), and uncorrelated with other clinicopathologic parameters. The aberrant expression of  $\beta$ -catenin was associated with poor prognosis. Moreover, the aberrant expression of  $\beta$ -catenin could not indicate poor prognosis in ER negative patients but could indicate poor prognosis in ER positive patients. **Conclusion:** Aberrant expression of  $\beta$ -catenin in IDC-NOS patients may indicate poor prognosis. The aberrant expression of  $\beta$ -catenin is negatively correlated with ER status. In the presence of ER, the aberrant expression of  $\beta$ -catenin could indicate poor prognosis of IDC-NOS patients.

**Key words** invasive ductal carcinoma, not otherwise;  $\beta$ -catenin; ER; prognosis

乳腺癌是严重危害女性生命健康的常见恶性肿瘤之一,其发病率呈不断上升趋势。我国乳腺癌患者发病率每年约以 3%~4% 以上的速度递增,因此,预防和治疗乳腺癌具有重大意义。 $\beta$ -catenin 是一种多功能蛋白,重要功能是参与细胞间的相互黏连,在乳腺上皮中, $\beta$ -catenin 通过介导与 E-cadherin 的相互作用,将细胞外黏附分子与胞质内组织骨架相互连接,以保持质膜的完整性,并参与细胞的黏附、迁徙与转移等过程。随后的研究发现,它不仅是细胞黏附分子,还是 wnt 信号通路中重要

的传递因子。在细胞核中, $\beta$ -catenin 通过调节基因表达过程,在乳腺癌发生发展中具有重大作用。本研究采用免疫组织化学方法检测  $\beta$ -catenin 在 273 例非特殊型浸润性导管癌(IDC-NOS)中的表达,并分析其表达情况与乳腺癌临床病理特征及预后的关系。

### 1 资料与方法

1.1 病例资料 随机选取天津医科大学肿瘤医院 2004-2006 年病例资料完整的经病理诊断证实的 IDC-NOS 273 例,并对其标本对应的石蜡切片进行免疫组化染色。273 例 IDC-NOS 患者均为女性,年龄 27~76 岁,平均年龄为 50.00 岁。患者的随访起点为手术日期,末次随访时间为 2014 年 11 月 24 日,

作者简介 杨丽敏(1991-),女,硕士在读,研究方向:乳腺癌的发生发展与化疗耐药的机制;通信作者:马勇杰, E-mail: yongjiemagu@aliyun.com。

平均随访 73.5 月。至随访截止日,有 44 例(16.1%)患者出现了肿瘤的复发或远处转移,25 例(9.2%)患者死于癌症。

**1.2 免疫组化染色** 免疫组织化学染色采用链霉素抗生物素-过氧化物酶免疫组化试剂盒 SP-9000 操作说明进行,简述如下:组织切片经脱蜡复水,组织抗原修复(pH=6.0 的枸橼酸盐缓冲液),3% $H_2O_2$  室温孵育 10 min,试剂 2(非特异性染色阻断剂)室温孵育 20 min,滴加  $\beta$ -catenin 鼠抗人单克隆抗体(Santa Cruz),4℃过夜,室温复温 45 min 后,滴加试剂 3(生物素标记的羊抗鼠/兔 IgG)37℃孵育 20 min,PBS 清洗 3 次,滴加试剂 4(链霉卵白素-过氧化物酶)37℃孵育 20 min,之后用 DAB 显色,苏木精复染,1%盐酸酒精分化,0.2%氨水返蓝,脱水透明后封片。

**1.3 结果判断** 免疫组织化学的检测结果由两位病理学医师独立观察得出。 $\beta$ -catenin 染色结果分别从细胞膜、细胞浆两个方面判断  $\beta$ -catenin 在癌细胞内的分布,膜阳性细胞率>70%为正常表达,膜阳性细胞率 $\leq$ 70%为表达减弱或缺失;细胞浆阳性率>10%为胞浆异位表达。膜表达减弱或缺失及胞浆异位表达均称作异常表达。ER 的判定以 1%为临界

值,至少 1%肿瘤细胞显示核显色时,将肿瘤判读为 ER 阳性<sup>[1-2]</sup>。

**1.4 统计学分析** 采用 SPSS 19.0 统计软件包进行数据分析,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。各组间临床病理资料及差异的比较使用  $\chi^2$  检验, $\beta$ -catenin 的表达情况与临床病理参数的相关性分析采用 Spearman 秩相关检验。总生存分析和无进展生存分析采用 Kaplan-Meier 法分析,总生存期是从诊断日期到因乳腺癌死亡的日期,无进展生存期是由手术日期到癌症复发、转移或者死亡的日期。

## 2 结果

**2.1  $\beta$ -catenin 的表达情况与 IDC-NOS 患者预后的关系** 本研究中  $\beta$ -catenin 有 11.7%(32/273)仅表现胞浆着色,65.2%(178/273)仅胞膜着色,14.7%(40/273)既有胞浆着色又有胞膜着色,其余为阴性表达,未见胞核着色。根据癌细胞中  $\beta$ -catenin 的胞浆、胞膜表达情况将  $\beta$ -catenin 的表达分为正常表达和异常表达。在 273 例 IDC-NOS 患者中,有 133 例(48.7%)患者属于  $\beta$ -catenin 正常表达,140 例(51.3%)患者呈现出  $\beta$ -catenin 异常表达,见图 1。Kaplan-Meier 生存分析发现, $\beta$ -catenin 异常表达的乳腺癌患者预后差(图2A,2B)。

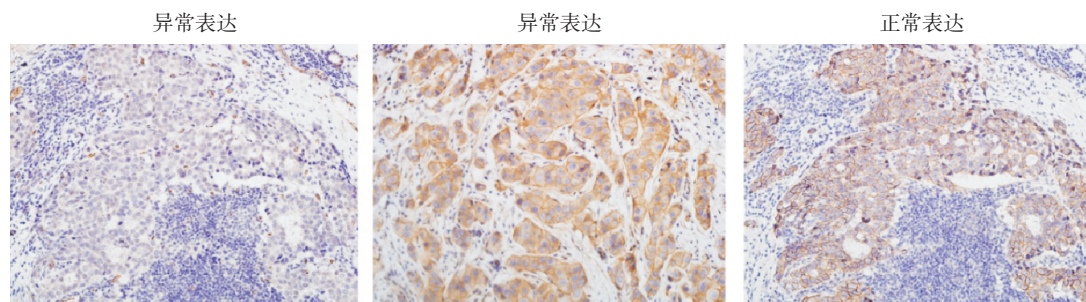


图1 IDC-NOS 患者  $\beta$ -catenin 表达免疫组化图( $\times 200$ )

Fig 1  $\beta$ -catenin expression in IDC-NOS patients( $\times 200$ )

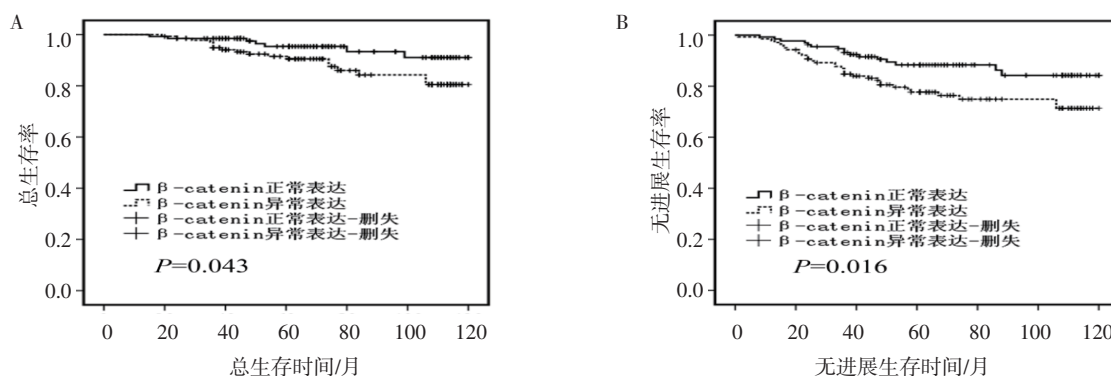


图2  $\beta$ -catenin 正常表达与异常表达患者的生存分析

Fig 2 Survival analysis of normal and aberrant expressions of  $\beta$ -catenin in IDC-NOS patients

2.2  $\beta$ -catenin 的表达与 IDC-NOS 患者临床病理参数的关系 分析  $\beta$ -catenin 的异常表达与乳腺癌的各项临床病理参数的相关性,发现  $\beta$ -catenin 的异常表达与年龄、组织学分级、肿瘤大小、淋巴结转移状态、复发和/或远处转移、孕激素受体(PR)、人类表皮生长因子受体 2 状态(HER2)在内的病理指标均无相关性,与雌激素受体状态(ER)呈显著负相关关系( $r_s=-0.134, P=0.027$ )(表 1)。

表 1  $\beta$ -catenin 的异常表达与浸润性导管癌临床病理参数的相关性  
Tab 1 The relationship between  $\beta$ -catenin and pathological features of IDC-NOS

临床病理特征	例数	$\beta$ -catenin 表达[n(%)]		$r_s$	P
		正常	异常		
年龄	273			0.078	0.200
<50 岁		74(52.5)	67(47.5)		
$\geq 50$ 岁		59(44.7)	73(55.3)		
组织学分级 <sup>†</sup>	267			-0.011	0.852
I 级		3(33.3)	6(66.7)		
II 级		103(50.0)	103(50.0)		
III~IV 级		25(48.1)	27(51.9)		
cTNM 分期 <sup>†</sup>	265			0.013	0.836
I 期		19(51.4)	18(48.6)		
II 期		89(47.6)	98(52.4)		
III~IV 期		20(48.8)	21(51.2)		
肿瘤大小 <sup>†</sup>	265			-0.030	0.631
$\leq 2$ cm		44(47.3)	49(52.7)		
2~5 cm		82(50.6)	80(49.4)		
>5 cm		5(50.0)	5(50.0)		
淋巴结转移	273			0.050	0.410
否		53(52.0)	49(48.0)		
是		80(46.6)	91(53.2)		
ER 状态 <sup>†</sup>	272			-0.134	0.027*
阴性		42(40.4)	62(59.6)		
阳性		91(54.2)	77(45.8)		
PR 状态 <sup>†</sup>	272			-0.116	0.056
阴性		31(39.7)	47(60.3)		
阳性		102(52.6)	92(47.4)		
HER2 状态 <sup>†</sup>	272			0.007	0.903
阴性		107(49.1)	111(50.9)		
阳性		26(48.1)	28(51.9)		
复发和/或远处转移	273			0.108	0.074
否		117(51.1)	112(48.9)		
是		16(36.4)	28(63.6)		

<sup>†</sup> 代表删失值

2.3 不同 ER 表达状态下, $\beta$ -catenin 的表达与 IDC-NOS 患者预后的关系 由于 ER 与  $\beta$ -catenin 的异常表达呈负相关,本研究联合分析 ER 状态与  $\beta$ -catenin 表达情况对预后的影响,发现在 ER 阴性

的患者中( $n=104$ ), $\beta$ -catenin 异常表达患者与  $\beta$ -catenin 正常表达患者的预后没有差异(图 3A, 3B),然而在 ER 阳性的患者中( $n=168$ ), $\beta$ -catenin 异常表达提示预后不良(图 3C、3D)。

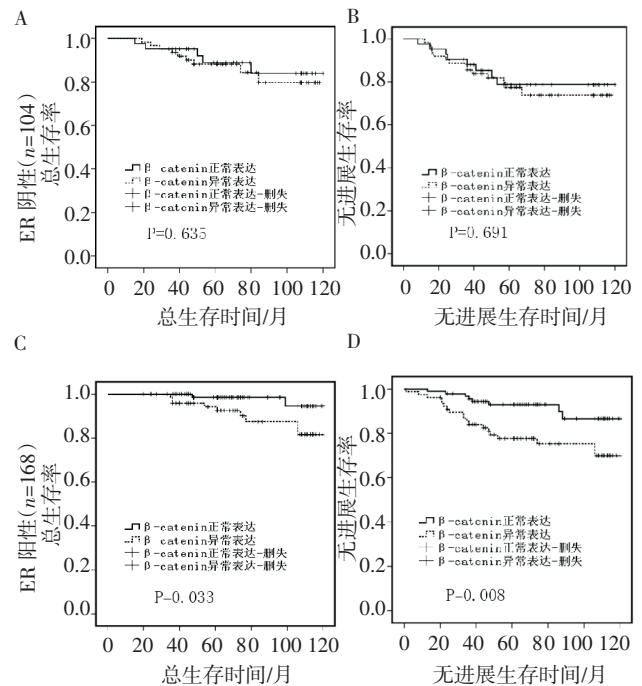


图 3 在 ER 阴性患者(A,B)和 ER 阳性患者(C,D)中, $\beta$ -catenin 正常表达与异常表达患者的生存曲线分析

Fig 3 The survival curves of normal and aberrant expressions of  $\beta$ -catenin in ER-negative patients (A, B) and ER-positive patients (C, D)

### 3 讨论

$\beta$ -catenin 是一种多功能蛋白,在肿瘤发生发展过程中发挥多重作用。 $\beta$ -catenin 可与 E-cadherin 的胞质区相连形成复合体,在介导和调节同质细胞黏附中起着重要作用<sup>[3-4]</sup>。同时, $\beta$ -catenin 也是 wnt 信号转导通路的中心效应器<sup>[5-6]</sup>。胞浆中积累的  $\beta$ -catenin 进入细胞核,与 TCF/LEF(T cell factor/lymphoid enhancer factor)家族的 DNA 结合蛋白结合,转录激活并调控下游靶基因的表达<sup>[7-9]</sup>。

许多研究表明  $\beta$ -catenin 在乳腺癌的发生发展过程中起着举足轻重的作用<sup>[10]</sup>,但是在乳腺癌标本中, $\beta$ -catenin 的免疫组织化学染色结果还很混乱,主要是由于  $\beta$ -catenin 的亚细胞定位以及分析方法不同。Li 等<sup>[11]</sup>通过免疫组织化学技术检测了 169 例浸润性乳腺癌标本,观察到  $\beta$ -catenin 的胞膜、胞浆及胞核中都有着色,且认为  $\beta$ -catenin 胞浆和胞核阳性着色为 wnt 通路激活状态, $\beta$ -catenin 胞浆和胞核阳性表达的乳腺癌患者预后差。López-Knowles 等<sup>[12]</sup>使用免疫组织化学染色技术检测了 276 例浸润



性导管癌标本中  $\beta$ -catenin 的表达,有 4%(12/276) 的患者仅胞膜着色,5%(15/276) 仅胞浆着色,其余的胞浆、胞膜都有着色,另外仅在 3 例患者中观察到  $\beta$ -catenin 胞核着色。研究者认为  $\beta$ -catenin 胞浆表达水平高于  $\beta$ -catenin 胞膜表达水平的乳腺癌患者预后差。Pang 等<sup>[13]</sup>表明  $\beta$ -catenin 在乳腺癌细胞的细胞膜上表达, $\beta$ -catenin 低表达的乳腺癌患者预后差。Zhang 等<sup>[14]</sup>通过 meta 分析发现,细胞质/细胞核中  $\beta$ -catenin 的高表达的乳腺癌患者预后差,而细胞膜上  $\beta$ -catenin 的表达不能指示预后。

本研究通过免疫组织化学染色实验检测了 273 例浸润性导管癌标本中  $\beta$ -catenin 的表达,其中有 11.7%(32/273) 仅胞浆着色,65.2%(178/273) 仅胞膜着色,14.7%(40/273) 既有胞浆又有胞膜着色,其余为阴性表达,并未发现有胞核着色。将胞膜表达低于 70% 或胞浆表达高于 10% 视为  $\beta$ -catenin 异常表达,共有 133 例(48.7%) 患者表现出  $\beta$ -catenin 正常表达,140 例(51.3%) 患者表现出  $\beta$ -catenin 的异常表达。对其生存分析发现, $\beta$ -catenin 异常表达的乳腺癌患者预后差。通过 Spareman 相关分析发现, $\beta$ -catenin 的异常表达与患者的 ER 状态显著负相关,ER 阳性时  $\beta$ -catenin 正常表达所占的比例高( $r_s = -0.134, P = 0.027$ )。

有文献报道, $\beta$ -catenin 能够正调 ER $\alpha$  下游靶基因的表达式<sup>[15]</sup>。本研究通过联合分析 ER 的状态与  $\beta$ -catenin 表达情况对乳腺癌患者预后的影响发现,在 ER 阴性的患者中, $\beta$ -catenin 异常表达与正常表达的乳腺癌患者的预后没有差异,而在 ER 阳性的患者中, $\beta$ -catenin 异常表达的乳腺癌患者预后差于  $\beta$ -catenin 正常表达的患者。表明在 ER 阳性的条件下, $\beta$ -catenin 的表达情况才能够影响乳腺癌患者的预后。这可能是由于  $\beta$ -catenin 能够增强 ER 的转录激活作用,进而促进下游靶基因转录,最终导致肿瘤的发生。

综合以上分析结果得出, $\beta$ -catenin 在 IDC-NOS 中的异常表达与 ER 的状态呈负相关。在 ER 阳性的条件下, $\beta$ -catenin 的表达情况能够影响 IDC-NOS 患者的预后。

#### 参考文献:

- [1] Hammond M E, Hayes D F, Wolff A C, et al. American society of clinical oncology/college of american pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer[J]. J Oncol Pract, 2010, 6(4): 195
- [2] Harvey J M, Clark G M, Osborne C K, et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer [J]. J Clin Oncol, 1999, 17(5): 1474
- [3] Katuri V, Tang Y, Li C, et al. Critical interactions between TGF- $\beta$  signaling/ELF, and E-cadherin/ $\beta$ -catenin mediated tumor suppression [J]. Oncogene, 2006, 25(13): 1871
- [4] Varisli L, Ozturk B E, Akyuz G K, et al. HN1 negatively influences the  $\beta$ -catenin/E-cadherin interaction, and contributes to migration in prostate cells [J]. J Cell Biochem, 2015, 116(1): 170
- [5] Uematsu K, Kanazawa S, You L, et al. Wnt pathway activation in mesothelioma: evidence of Dishevelled overexpression and transcriptional activity of  $\beta$ -catenin[J]. Cancer Res, 2003, 63(15): 4547
- [6] Li H, Kim J H, Koh S S, et al. Synergistic effects of coactivators GRIP1 and  $\beta$ -catenin on gene activation: cross-talk between androgen receptor and Wnt signaling pathways[J]. J Biol Chem, 2004, 279(6): 4212
- [7] Parr C, Mirzaei N, Christian M, et al. Activation of the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway represses the transcription of the  $\beta$ -amyloid precursor protein cleaving enzyme (BACE1) via binding of T-cell factor-4 to BACE1 promoter [J]. FASEB J, 2015, 29(2): 623
- [8] Raurell I, Castano J, Franci C, et al. Presenilin-1 interacts with plakoglobin and enhances plakoglobin-Tef-4 association. Implications for the regulation of  $\beta$ -catenin/Tcf-4-dependent transcription [J]. J Biol Chem, 2006, 281(3): 1401
- [9] Asally M, Yoneda Y.  $\beta$ -catenin can act as a nuclear import receptor for its partner transcription factor, lymphocyte enhancer factor-1 (lef-1) [J]. Exp Cell Res, 2005, 308(2): 357
- [10] Prosperi J R, Goss K H. A Wnt-ow of opportunity: targeting the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in breast cancer[J]. Curr Drug Targets, 2010, 11(9): 1074
- [11] Li S, Li S, Sun Y, et al. The expression of  $\beta$ -catenin in different subtypes of breast cancer and its clinical significance[J]. Tumour Biol, 2014, 35(8): 7693
- [12] Lopez-Knowles E, Zardawi S J, McNeil C M, 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
- [13] Pang H, Lu H, Song H, et al. Prognostic values of osteopontin-c, E-cadherin and  $\beta$ -catenin in breast cancer[J]. Cancer Epidemiol, 2013, 37(6): 985
- [14] Zhang D P, Li X W, Lang J H. Prognostic value of  $\beta$ -catenin expression in breast cancer patients: a meta-analysis [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(14): 5625
- [15] Gupta N, Schmitt F, Grebhardt S, et al.  $\beta$ -catenin is a positive regulator of estrogen receptor- $\alpha$  function in breast cancer cells [J]. Cancers (Basel), 2011, 3(3): 2990

(2017-05-08 收稿)