DOI:10.20135/j.issn.1006-8147.2025.04.0295

论著

LMNB1表达对乳腺癌细胞增殖的影响及其临床意义

丁子特,韩继媛,倪春生,刘芳,胡飞云,王丹,董学易,张丹芳
(天津医科大学病理学教研室,天津 300070;天津医科大学总医院病理科,天津 300052)

摘要　目的:研究核纤层蛋白B1(LMNB1)的表达对乳腺癌细胞增殖的影响及其临床意义。**方法:**通过The Human Protein Atlas数据库中免疫组织化学染色明确LMNB1在乳腺癌组织中的表达部位。利用Breast Cancer Integrative Platform和UALCAN临床数据库分析LMNB1在乳腺癌组织中的表达及与临床病理参数以及乳腺癌患者预后的关系。选取乳腺癌细胞MCF-7,将其分为对照组及LMNB1过表达组,实时荧光定量PCR验证过表达效果,通过CCK-8和MTT实验检测其对乳腺癌细胞增殖能力的影响,通过伤口愈合实验检测其对乳腺癌细胞迁移能力的影响。**结果:**数据库分析结果显示,LMNB1主要在乳腺癌组织的核膜中表达。其在亚洲人群中表达水平较高;在21~40岁患者中最高(均$P<0.001$);在N2期淋巴结转移患者中显著高于N3期及正常组织(均$P<0.01$);在晚期患者中更为显著(均$P<0.05$);在三阴性乳腺癌患者及TP53突变的乳腺癌中表达更高(均$P<0.05$)。总生存期($P<0.01$,$HR=1.348$)、疾病特异性生存期($P<0.001$,$HR=1.875$)、无病生存期($P<0.001$,$HR=4.696$)、无复发生存期($P<0.001$,$HR=4.126$)、无远处转移生存期($P<0.01$,$HR=2.723$)与患者较差的预后相关。实验结果显示,与正常乳腺组织相比,LMNB1在乳腺癌组织中的表达水平升高($P<0.000\,1$)。CCK-8和MTT实验结果显示,与对照组相比,高表达LMNB1增强了乳腺癌细胞的增殖能力($t=4.007$、11.09,均$P<0.05$);伤口愈合实验结果也表明,与对照组相比,LMNB1高表达促进乳腺癌细胞的迁移能力。**结论:**LMNB1能够促进细胞增殖、迁移,可作为乳腺癌预后的生物标志物及治疗靶点。

关键词　LMNB1;乳腺癌;增殖;治疗靶点
中图分类号　R737.9　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1006-8147(2025)04-0295-06

Effect of LMNB1 expression on the proliferation of breast cancer cells and its clinical significance

DING Zite, HAN Jiyuan, NI Chunsheng, LIU Fang, HU Feiyun, WANG Dan, DONG Xueyi, ZHANG Danfang
(Department of Pathology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; Department of Pathology, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China)

Abstract　Objective: To study the effect of lamin B1(LMNB1) expression on the proliferation of breast cancer cells and its clinical significance. **Methods:** The expression site of LMNB1 in breast cancer tissues was determined by immunohistochemistry staining in The Human Protein Atlas database. The Breast Cancer Integrative Platform and the UALCAN clinical database were utilized to examine LMNB1 expression in breast cancer tissues and its associations with clinicopathological parameters and prognosis of breast cancer patient. Breast cancer cells MCF-7 were selected and divided into the control group and the LMNB1 overexpression group. The overexpression effect was verified by real-time fluorescence quantitative PCR. The effects of MCF-7 on the proliferation ability of breast cancer cells was detected by CCK-8 and MTT experiments, and its influence on the migration ability of breast cancer cells was detected by wound healing experiments. **Results:** The results of database analysis showed that LMNB1 was mainly expressed in the nuclear membrane of breast cancer tissues. Its expression level was relatively high among the Asian population. It was the highest among patients aged 21 to 40 (all $P<0.001$). It was significantly higher in patients with stage N2 lymph node metastasis than in stage N3 and normal tissues (all $P<0.05$). It was more significant among patients in the advanced stage (all $P<0.05$). The expression was higher in patients with triple-negative breast cancer patients and breast cancer patients with TP53 mutations (all $P<0.05$). The overall survival period ($P<0.01$, $HR=1.348$), disease-specific survival period ($P<0.001$, $HR=1.875$), disease-free survival period ($P<0.001$, $HR=4.696$), recurrence-free survival period ($P<0.001$, $HR=4.126$), and distant metastasis-free survival period ($P<0.01$, $HR=2.723$) were associated with the poor prognosis of patients. The experimental results showed that, compared with normal breast tissue, the expression level of LMNB1 in breast cancer was increased ($P<0.000\,1$). Meanwhile, the results of CCK-8 and MTT experiments showed that, compared with the control group, high expression of LMNB1 enhanced the proliferation ability of breast cancer cells ($t=4.007$, 11.09, both $P<0.05$). The results of the wound healing experiment also indicated that, compared with the control group, the high expression of LMNB1 promoted the migration ability of breast cancer cells. **Conclusion:** LMNB1 can promote the proliferation and migration of breast cancer cells, and can be used as a prognostic biomarker and therapeutic target for breast cancer.

Key words　LMNB1; breast cancer; proliferation; targets for treatment

基金项目　国家自然科学基金(82373278);天津医科大学基础医学院青年教师科研孵育基金(2023FY08)
作者简介　丁子特(1998-),女,硕士在读,研究方向:病理学;通信作者:张丹芳,E-mail: zhangdf@tmu.edu.cn。

全世界每年有900万女性被临床诊断出患有不同类型的肿瘤,其中乳腺癌是女性中最常见和最致命的肿瘤[1]。乳腺癌的综合治疗使乳腺癌患者的5年生存率明显提高[2]。然而,高级别和转移性肿瘤的预后仍然不理想。迄今为止,乳腺癌的分子发病机制仍然复杂,这阻碍了有效的抗乳腺癌治疗方法的研究[3]。研究与乳腺癌发生、发展相关的关键基因,可将其作为抗乳腺癌治疗的靶点。目前,已经确定了多种肿瘤生物标志物,提高了肿瘤诊断的准确性[4]。因此,寻找乳腺癌患者敏感的生物标志物仍是目前迫切需要解决的问题。

核纤维层主要是位于核膜内层的蛋白质网络,在正常情况下可以维持细胞的生理平衡[5]。核纤层蛋白根据其生化特性分为A型和B型。B型核纤层蛋白包括核纤层蛋白B1、核纤层蛋白B2和核纤层蛋白B3,其中核纤层蛋白B1由LMNB1基因编码。LMNB1是细胞核骨架的重要组成蛋白并且构成核中间丝帮助维持核的完整性[6-7]。虽然长期以来对核纤层蛋白家族的研究主要集中在A型,但近年来人们对B型核纤层蛋白,尤其是LMNB1的功能越来越关注[8]。LMNB1基因突变和复制异常与综合征型小头畸形、中枢神经系统脱髓鞘、神经功能缺损和常染色体显性遗传脑白质营养不良相关[9]。LMNB1在大多数恶性肿瘤中呈高表达,其表达与预后有显著相关性[10-11],但LMNB1在乳腺癌中的表达与功能尚未进行研究。因此,本研究将基于在线数据库及细胞实验,阐明LMNB1表达与乳腺癌发生、发展以及预后之间的关系。

1 材料与方法

1.1 数据库分析

1.1.1 LMNB1的表达部位及表达 通过The Human Protein Atlas在线数据库(https://www.proteinatlas.org/ENSG00000113368-LMNB1)获得LMNB1在正常乳腺组织和乳腺癌组织中的表达部位;通过BCIP(http://www.omicsnet.org/bcancer/database)在线数据库中Transcriptome Analysis模块,分析LMNB1在正常乳腺组织和乳腺癌组织中的表达。

1.1.2 LMNB1表达与临床特征的相关性 选择UALCAN(https://ualcan.path.uab.edu/index.html)中TCGA模块,分析LMNB1的表达在不同种族、年龄、淋巴结转移状态、肿瘤分期、乳腺癌亚型和TP53突变状态的表达情况。

1.1.3 LMNB1表达对患者预后的影响 选择BCIP(http://www.omicsnet.org/bcancer/database)Survival Analysis模块,分析LMNB1对患者预后的影响,包括总生存期、疾病特异性生存期、无病生存期、无复发生存期以及无远处转移生存期。

1.2 实验室验证

1.2.1 细胞及质粒 MCF-7人乳腺癌细胞购自上海富恒生物科技有限公司,293T购自美国ATCC公司。通过RT-PCR获得人LMNB1(Tianjin Saier Biotechnology, SRCL07384)cDNA(Ambion, V86520)的全长序列,并克隆到pcDNA3载体中,构建LMNB1过表达质粒。

1.2.2 主要试剂及仪器 Lentii-pactm HIV Expression Kit转染试剂盒购自广州Genecopoeia公司;倒置光学显微镜(尼康)用于拍照;CCK-8试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司(BOSTER);多功能酶标仪购自美国Bio TeK公司。

1.2.3 细胞培养及处理 将MCF-7细胞分为两组:空载体转染组(对照组)和LMNB1过表达组(EX-LMNB1组)。MCF-7乳腺癌细胞和293T细胞于37℃、5%CO_2培养箱中培养,用含10%FBS、1%双抗(链霉素和青霉素)的DMEM培养基培养。使用Lentii-pactm HIV Expression Kit转染试剂盒,借助工具细胞293T进行慢病毒包装,48 h收取病毒液。用病毒液转染乳腺癌细胞以获得稳定转染细胞系。

1.2.4 实时荧光定量PCR(qPCR) LMNB1上游引物5′-GGCGGTGTACATCGACAAG-3′,下游引物5′-GGTCTCGTAGAGCGCCTT-3′,引物长度18~19 bp。细胞总RNA的提取:细胞消化离心后,在细胞沉淀中直接加入Trizol进行裂解,向1 mL的混合液加入200 μL氯仿,剧烈震荡使其充分混合,静置15 min,4℃,12 000×*g*离心10 min。轻轻吸出上清液至另一个无酶EP管中,加入等体积的异丙醇,室温静置10 min。4℃,12 000×*g*离心10 min。弃上清,加入1 mL 75%的乙醇,吹打溶解沉淀。4℃,12 000×*g*离心5 min。弃上清,室温干燥20 min。20 μL DPEC水溶解沉淀RNA。上机检测RNA浓度和纯度。逆转录成cDNA:整个过程在冰上操作。按照如下体系将各组分加入到PCR反应管中:RNA模板1 μg,Random Hexamer primer 1 μL,5×Reaction Buffer 4 μL,Ribo-LockRNase inhibitor 1 μL,10 mmol/L dNTP Mix 2 μL,RevertAid RT 1 μL,无酶水补充至20 μL,总体积20 μL。轻轻混合并离心,使得管内液体都聚集在管底部。设置程序:25℃孵育5 min,42℃孵育60 min,最后70℃加热5min终止反应。qPCR:按照如下体积配置反应体系:2×SYBR Green 10 μL,

Primer 1 1 μL，Primer 2 1 μL，DEPC 水 7 μL，DNA 模板 1 μL，总体积 20 μL。轻轻混匀并离心，上机检测。

1.2.5　CCK-8 实验　将 5×10^3 个对照细胞和 EX-LMNB1 的 MCF-7 人乳腺癌细胞接种于 96 孔板，在 37℃的细胞培养箱中培养，待细胞完全贴壁后，每孔加入 10 μL 的 CCK-8 溶液（BOSTER），在孵箱中继续培养 2 h，用酶标仪观察 450 nm 吸光度。

1.2.6　MTT 实验　将 5×10^3 个对照细胞和 EX-LMNB1 的 MCF-7 人乳腺癌细胞接种于 96 孔板，在 37℃的细胞培养箱中培养，待细胞完全贴壁后，每孔加入 20 μL MTT 溶液（KeyGen）孵育 4 h。去除上清液后，加入 100 μL DMSO，摇床震荡 10 min 使结晶充分溶解，用酶标仪在 490 nm 处测定吸光度。

1.2.7　伤口愈合试验　将对照细胞和转染 pLMNB1 的 MCF-7 人乳腺癌细胞接种于 24 孔板。采用中枪头，画一条垂直于 24 孔板的水平线，目的是保持直线。将分离的细胞洗涤后加入无血清培养基，显微镜下拍摄图像，记录划痕间距。然后继续常规培养。分别于 24 h 和 48 h 进行显微镜观察和照相。为保证一致性，尽量保持相同的视野和相同的放大倍率。

1.3　统计学处理　使用 GraphPad Prism 9.0 对实验数据进行分析和作图。数据符合正态分布，两组间均数比较采用 t 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　LMNB1 在乳腺癌组织中的表达部位　基于 The Human Protein Atlas 数据库，免疫组化结果显示，在乳腺癌癌旁正常组织和乳腺癌组织中 LMNB1 在核膜表达（图 1）。

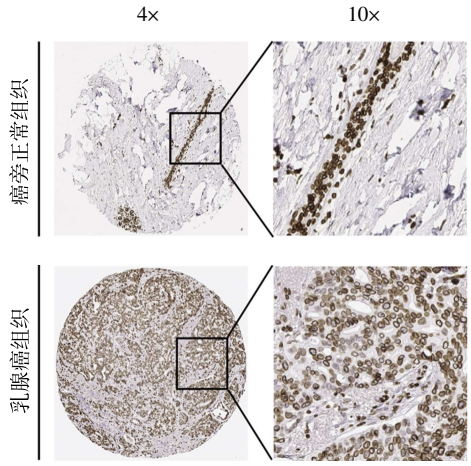
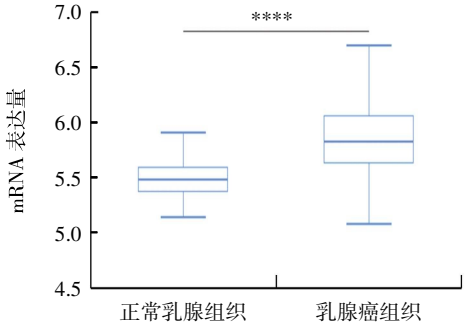


图 1　LMNB1 在正常组织和乳腺癌组织中的表达部位

Fig.1　Expression sites of LMNB1 in normal and breast cancer tissues

2.2　LMNB1 在乳腺癌组织和正常组织中的差异表达　在 BCIP 数据库分析结果显示，LMNB1 在乳腺癌组织中的表达水平显著高于正常组织（$P<0.000\ 1$），见图 2。



注：****$P<0.000\ 1$

图 2　LMNB1 在乳腺癌组织中的表达

Fig.2　The expression of LMNB1 in breast cancer tissues

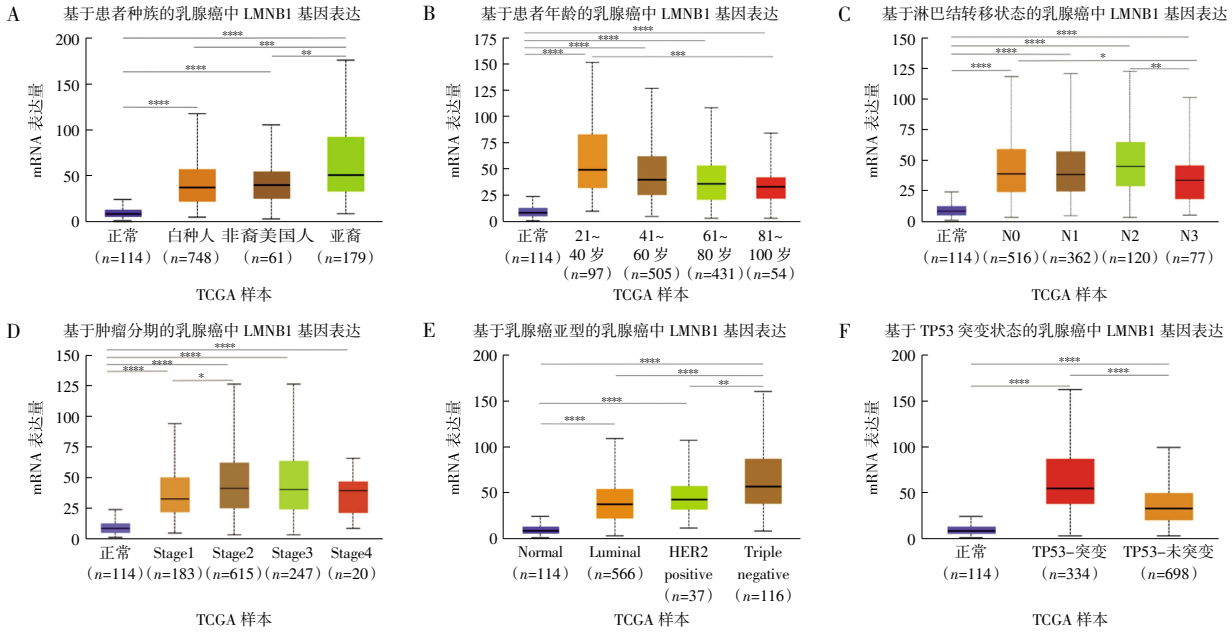
2.3　LMNB1 的表达与临床特征的相关性分析　LMNB1 在亚洲人群中表达水平较高（均 $P<0.05$，图 3A）并在 21~40 岁患者中最高（均 $P<0.001$，图 3B）。LMNB1 在 N2 期淋巴结转移患者中的高表达与 N3 期及正常组织相比具有显著差异（均 $P<0.01$，图3C）。LMNB1 表达水平在晚期（Stage2 和 Stage 3）患者中最高（均 $P<0.05$，图 3D）。LMNB1 在三阴性乳腺癌中表达水平最高（均 $P<0.05$，图 3E）。LMNB1 在 TP53 突变的乳腺癌样本中的表达水平显著高于正常和 TP53 未突变的乳腺癌样本（均 $P<0.000\ 1$，图 3F）。

2.4　LMNB1 对患者预后的影响　Breast Cancer Integrative Platform 数据库结果显示，与 LMNB1 低表达组相比，LMNB1 高表达组的总生存期（$P<0.01$，$HR=1.348$，图 4A），疾病特异性生存期（$P<0.001$，$HR=1.875$，图 4B），无病生存期（$P<0.001$，$HR=4.696$，图 4C），无复发生存期（$P<0.001$，$HR=4.126$，图 4D），无远处转移生存期（$P<0.01$，$HR=2.723$，图 4E）较差。

2.5　LMNB1 在乳腺癌细胞中的表达及转染效率验证　实时荧光定量 PCR 结果显示，与对照组相比，EX-LMNB1 组的 mRNA 明显增加（$t=5.825$，$P<0.01$），见图 5。

2.6　LMNB1 对乳腺癌细胞增殖能力的影响　CCK-8 实验结果显示，与对照组相比，EX-LMNB1 组MCF-7 细胞的增殖能力明显增强（$t=4.007$，$P<0.05$），见图 6A，MTT 实验得到相同的结果（$t=11.09$，$P<0.001$），见图 6B。

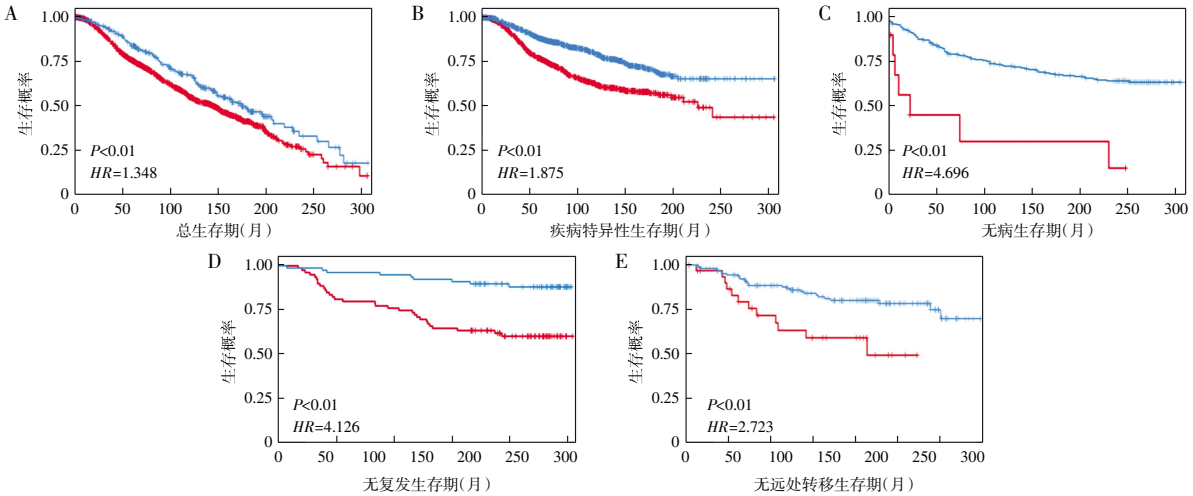
2.7　LMNB1 对乳腺癌细胞迁移能力的影响　伤口愈合实验结果显示，与对照组相比，EX-LMNB1 组 MCF-7 细胞的迁移能力明显增强（图 7）。



注：A：种族的表达情况；B：年龄的表达情况；C：不同淋巴结转移状态的表达情况；D：不同肿瘤分期的表达情况；E：不同亚型的表达情况；F：TP53 突变状态中的表达情况；*P<0.05，**P<0.01，***P<0.001，****P<0.000 1

图 3 LMNB1 表达与临床特征的相关性

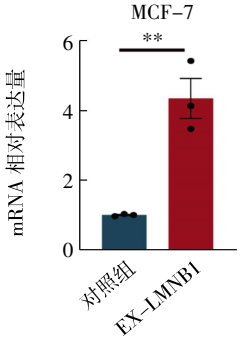
Fig.3 The correlation between LMNB1 expression and clinical characteristics



注：A~E：LMNB1 表达与乳腺癌患者总生存期、疾病特异性生存期、无病生存期、无复发生存期、无远处转移生存期的关系；红色：高表达组，蓝色：低表达组

图 4 LMNB1 表达水平与乳腺癌患者预后的关系

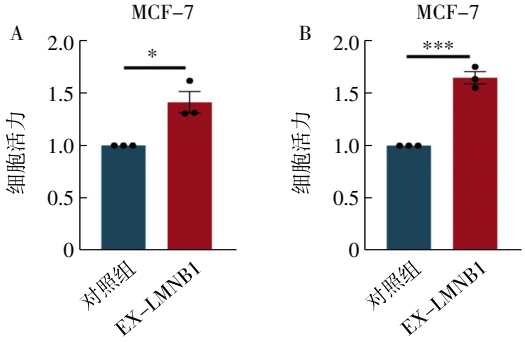
Fig.4 Relationship between LMNB1 expression level and prognosis of breast cancer patients



注：**P<0.01

图 5 LMNB1 在 MCF-7 细胞中的表达情况

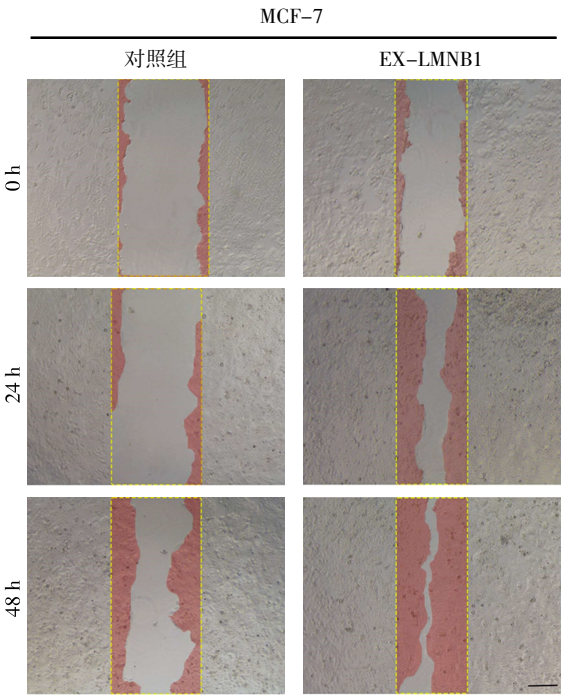
Fig.5 Expression of LMNB1 in MCF-7 cells



注：*P<0.05，***P<0.001

图 6 LMNB1 对 MCF-7 细胞增殖能力的影响

Fig.6 The effect of LMNB1 on the proliferation ability of MCF-7 cells



注：Bar=100 μm

图 7　LMNB1 对 MCF-7 细胞迁移能力的影响

Fig.7　The effect of LMNB1 on the migration ability of MCF-7 cells

3　讨论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤，也是导致女性肿瘤患者死亡的最主要原因[12]，目前已取代肺癌成为世界上发病率最高的恶性肿瘤[13]。根据 GLOBOCAN2020 的数据，2020 年全球有 230 万肿瘤新发病例和 685 000 例死亡。乳腺癌约占女性肿瘤病例的 24.5%，占肿瘤死亡的 15.5%，发病率和死亡率呈现逐年上升的流行病学特征[14]。在中国，乳腺癌是女性肿瘤相关死亡的前 5 位原因，约占 8.1%[15]。乳腺癌已成为全世界亟待解决的重要问题之一。

LMNB1 被认为是各种肿瘤中的致癌基因。在肝细胞癌中，LMNB1 上调显著促进了细胞增殖和细胞运动[16]；敲低 LMNB1 可显著抑制肝细胞癌、胰腺癌和肺腺癌的细胞增殖和转移[17-18]。最近的研究表明，LMNB1 的表达可作为黑色素瘤衰老的潜在标志物[19]，并可作为血液系统恶性肿瘤的诊断参考[20]。

本研究发现，LMNB1 主要在核膜上表达并且在乳腺癌组织中的表达显著高于正常组织。LMNB1 在乳腺癌中的表达与多种临床特征之间显著关联，即在不同种族背景的乳腺癌患者中 LMNB1 的表达水平呈现出明显差异，尤其是在亚洲人群中，其表达水平显著高于其他种族，这一发现暗示了可能存在的种族特异性生物学机制；此外，LMNB1 的表达水平在年轻患者（21 至 40 岁）中达到高峰，随着患者年龄的增长，其表达水平呈现出下降趋势。这一年轻化的表达模式可能与乳腺癌的生物学特性和年龄相关的风险因素有关。在淋巴结转移的背景下，LMNB1 在 N2 期患者的表达水平显著高于 N3 期患者及正常组织，即 LMNB1 可能为乳腺癌的转移机制提供了新的视角。值得注意的是，随着乳腺癌临床分期的增加，LMNB1 的表达水平也随之升高，特别是在晚期（Stage2 和 Stage3）患者中，其表达水平的增加可能与肿瘤的恶性进展密切相关。在乳腺癌的亚型分析中，三阴性乳腺癌患者的 LMNB1 表达水平最高，这一发现可能与该亚型的侵袭性特征相关。LMNB1 可能在 TP53 突变的乳腺癌中扮演重要角色，其在 TP53 突变乳腺癌中的高表达可能与突变引起的信号转导和基因调控异常有关。在乳腺癌患者中，LMNB1 的表达水平与多种生存期指标呈现出显著的相关性。LMNB1 高表达组相比于低表达组，在总生存期、疾病特异性生存期、无病生存期、无复发生存期以及无远处转移生存期方面均表现出较差的生存预后。结果表明 LMNB1 高表达可能与肿瘤的侵袭性增强、复发风险提高以及远处转移的增加有关。CCK-8 和 MTT 实验结果显示，在乳腺癌 MCF-7 细胞中，LMNB1 高表达显著增强细胞的增殖能力，表现为细胞活力显著升高。伤口愈合实验结果进一步证实，LMNB1 高表达可明显促进细胞的迁移能力，表明其在调控乳腺癌细胞生物学行为方面可能具有重要作用。

综上所述，本研究通过生物信息学分析和体外细胞实验，明确 LMNB1 与乳腺癌患者临床病理特征和生存预后之间的关系，并证明 LMNB1 对乳腺癌细胞增殖及迁移的影响，为探索乳腺癌患者预后相关生物标志物提供了理论依据和实验支持。

参考文献：

[1] HICKEY M, BASU P, SASSARINI J, et al. Managing menopause after cancer[J]. Lancet, 2024, 403(10430): 984-996.

[2] MOU J, LI C, ZHENG Q, et al. Research progress in tumor angiogenesis and drug resistance in breast cancer [J]. Cancer Biol Med, 2024, 21(7): 571-585.

[3] CAI Y, LIU Y, SUN Y, et al. Mesenchymehomeobox 2 inhibits cancer in breast carcinoma by affecting the PI3K/AKT/mTOR and ERK1/2 pathways[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2022, 593: 20-27.

[4] PANKOTAI-BODÓ G, OLÁH-NÉMETH O, SÜKÖSD F, et al. Routine molecular applications and recent advances in breast cancer diagnostics[J]. J Biotechnol, 2024, 380: 20-28.

[5] CREMER T, CEMER M. Chromosometerritories[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2010, 2(3): a003889.

[6] DECHAT T, PFLEGHAAR K, SENGUPTA K, et al. Nuclearla-

（下转第 307 页）