

三阴性乳腺癌中 MAPK 及 SNAIL 蛋白的表达及临床意义

艾尼·沙塔尔, 吐尔逊太·木哈买提, 苏毅, 张卫群, 李炳军
(新疆维吾尔自治区人民医院, 新疆 乌鲁木齐 830001)

摘要: [目的] 探讨三阴性乳腺癌组织中丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)及 Snail 蛋白的表达及其临床意义。[方法] 选取 2009 年 1 月至 2011 年 2 月三阴性乳腺癌患者石蜡组织标本 50 例及 20 例癌旁正常乳腺石蜡组织为研究对象,应用免疫组化 SP 法检测 MAPK 及 Snail 蛋白在三阴性乳腺癌组织中和癌旁正常乳腺组织中的表达水平, 并分析其与三阴性乳腺癌复发转移及临床病理参数的关系。[结果] MAPK 及 Snail 蛋白在三阴性乳腺癌组织中的阳性表达水平显著性高于癌旁正常乳腺组织 ($P<0.05$);MAPK 阳性表达与三阴性乳腺癌患者的年龄、肿瘤家族史、病理类型、组织学分级、腋淋巴结转移、临床病理分期均无显著性相关性 ($P>0.05$),Snail 蛋白阳性表达与三阴性乳腺癌患者的腋淋巴结转移、临床病理分期具有相关 ($P<0.05$)。至随访截止时间,50 例患者发生复发转移 24 例,其中 MAPK 及 Snail 蛋白在三阴性乳腺癌复发转移患者中的阳性表达水平显著性高于未复发转移患者 ($P<0.05$)。[结论] MAPK 及 Snail 蛋白可能参与了三阴性乳腺癌的发展,并有可能成为判断三阴性乳腺癌复发转移的生物学指标。

关键词: 三阴性乳腺癌;丝裂原活化蛋白激酶;Snail 蛋白;复发;转移

中图分类号:R737.9 文献标识码:A 文章编号:1671-170X(2017)05-0405-04
doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2017.05.B009

Expression of MAPK and SNAIL Protein in Triple Negative Breast Cancer and its Clinical Significance

AINI Sha-taer, TUERXUNTAI·Muhamaiti, SU Yi, et al.

(Renmin Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830001, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the expression of mitogen-activated protein kinase (MAPK) and Snail protein in triple negative breast cancer tissues and its clinical significance. [Methods] Fifty triple negative breast cancer tissues and 20 adjacent normal breast tissue were selected from our hospital from January 2009 to February 2016, the expression of MAPK and Snail protein immunohistochemical SP method were used to analyze the relationship between expression of MAPK and Snail protein and clinicopathological parameters of triple negative breast cancer. [Results] The expression of MAPK and Snail protein in triple negative breast cancer tissues was significantly higher than that in adjacent normal breast tissues ($P<0.05$). MAPK positive expression of triple negative breast cancer wasn't correlated with age, family history of cancer, histological type, histological grade, axillary lymph node metastasis, clinical stage ($P>0.05$). The positive expression of Snail protein was correlated with axillary lymph node metastasis and clinical staging ($P<0.05$). Followed-up to the deadline, 24 cases of 50 patients occurred recurrence, the positive expression of MAPK and Snail protein in patients with recurrence and metastasis was significantly higher than that without recurrence and metastasis ($P<0.05$). [Conclusion] MAPK and Snail protein may be involved in the development of triple negative breast cancer, and used as a biological marker for predicting recurrence and metastasis.

Subject words: triple negative breast cancer; mitogen activated protein kinase; Snail; recurrence; metastasis

乳腺癌具有较高的发病率及死亡率,严重危害女性的生命健康^[1]。三阴性乳腺癌是指孕激素受体

(PR)、雌激素受体(ER)和人表皮生长因子受体 2 (Her-2)均是阴性的乳腺癌,其主要特点为发病人群趋于年轻化、侵袭性强、组织学分级高和临床复发转移早等,5 年生存率不超过 15%。由于该类型乳腺癌是高度恶性的分型,缺乏内分泌治疗手段和定向的

通讯作者: 艾尼·沙塔尔,主治医师,本科;新疆维吾尔自治区人民医院
乳腺、甲状腺二科,新疆乌鲁木齐市天池路 91 号(830001);
E-mail:2248297427@qq.com

收稿日期:2016-12-08;修回日期:2017-01-18

靶向治疗手段来延缓肿瘤的进展。三阴性乳腺癌治疗通常采用比较单一的化疗,而长期的化疗会造成三阴性乳腺癌患者耐受性差以及副作用大,因此寻找治疗三阴性乳腺癌的新靶点有望推进该类患者的治疗进展^[2,3]。

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK) 是一类广泛存在于哺乳动物中的丝/苏氨酸蛋白激酶,参与组成 TNBC 中重要的信号传导途径之一。当细胞受到外界刺激后,MAPK 被双重磷酸化,此时 MAPK 将胞质信号传递进入细胞核,发挥相应的生理功能。Snail 是一种编码锌指蛋白的转录因子,可诱发上皮细胞—间充质细胞转化。有研究显示 MAPK 及 Snail 蛋白在胃癌、乳腺癌、卵巢癌等肿瘤中呈高表达,在肿瘤的发生、复发及转移中发挥着重要作用^[4]。本研究旨在对三阴性乳腺癌组织中 MAPK 及 Snail 蛋白的表达及其临床意义进行探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2009 年 1 月至 2010 年 2 月我院收治的经病理组织学确诊的且病理资料完整的三阴性乳腺癌患者 50 例为研究对象,均为女性,年龄 25~71 岁,平均年龄 45.7±8.3 岁;有肿瘤家族史 10 例,无肿瘤家族史 40 例;病理学分级:Ⅰ级 13 例,Ⅱ级 25 例,Ⅲ级 12 例;病理类型:浸润性导管癌 40 例,其他类型 10 例;淋巴结转移情况:无淋巴结转移 23 例,有淋巴结转移 27 例;临床病理分期:Ⅰ期 8 例,Ⅱ期 27 例,Ⅲ期 15 例。实验标本包括 50 例癌组织标本及 20 例癌旁组织标本。

1.2 方法

应用免疫组织化学 SP 法对 50 例三阴性乳腺癌组织及 20 例癌旁正常组织中的 MAPK 及 Snail 蛋白表达水平进行检测。兔抗人 Snail 蛋白单克隆抗体购于北京博奥森生物技术有限公司,小鼠抗人 MAPK 单克隆抗体、免疫组化检测试剂盒(SP-9001, SP-9002) 及浓缩型 DAB 试剂盒均购于北京中杉金桥生物技术公司,所有实验操作均严格按照试剂盒进行。用胃癌组织阳性切片作为阳性对照,应用 PBS 缓冲液作为阴性对照。50 例患者均通过复诊或者电

话等方式进行随访,随访时间截止到 2016 年 2 月。

1.3 判断标准

MAPK 及 Snail 蛋白的阳性表达均为细胞浆及部分细胞核中有棕黄色颗粒出现,且背景清晰。按阳性细胞百分率评分:1%~25%为 1 分;26%~50%为 2 分;51%~75%为 3 分;76%~100%为 4 分。按染色强度评分:无染色为 0 分;淡棕色为 1 分;棕黄色为 2 分;棕褐色为 3 分。最后两种评分相乘是综合评分:≥3 分则表达为阳性,<3 分表达为阴性。

1.4 统计学处理

采用 SPSS20.0 统计学软件分析,计数资料均以率的形式表示,经 χ^2 检验分析,预后多因素分析应用 Cox 风险比例模型。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MAPK 及 Snail 蛋白在三阴性乳腺癌组织及癌旁正常乳腺组织中表达

MAPK 及 Snail 蛋白在三阴性乳腺癌组织中的阳性表达水平显著性高于癌旁正常乳腺组织,差异有统计学意义($P<0.05$)(Table 1)。

Table 1 The positive expression of MAPK and Snail in TNBC tissue and para-carcinoma tissue [n(%)]

Group	N	MAPK	Snail
Triple negative breast cancer tissue	50	23(46.00)	28(56.00)
Para-carcinoma tissue	20	3(15.00)	5(25.00)
χ^2		7.325	9.147
P		0.032	0.041

2.2 MAPK 及 Snail 蛋白表达与三阴性乳腺癌患者临床病理特征的关系

MAPK 阳性表达与三阴性乳腺癌患者的年龄、肿瘤家族史、病理类型、组织学分级、腋淋巴结转移、临床病理分期均无显著性相关($P>0.05$)。Snail 蛋白阳性表达与三阴性乳腺癌患者的腋淋巴结转移、临床病理分期具有相关性($P<0.05$)(Table 2)。

2.3 MAPK 和 Snail 蛋白阳性表达与三阴性乳腺癌转移复发关系

至随访截止时间,50 例患者中发生复发转移 24 例,其中 MAPK 和 Snail 蛋白在三阴性乳腺癌复发转移患者中的阳性表达水平显著性高于未复发转移患者,差异有统计学意义($P<0.05$)(Table 3)。

Table 2 Relationship between expression of MAPK/Snail and the features in patients with TNBC[n(%)]

Clinicopathological features		MAPK		P	Snail		P
		Positive	Negative		Positive	Negative	
Age(years old)	<35	10(52.63)	9(47.37)	0.911	15(68.18)	7(31.82)	1.233
	≥35	13(41.94)	18(58.06)		13(46.43)	15(53.57)	
Family history of cancer	No	15(57.69)	11(42.31)	1.324	19(55.88)	15(44.12)	0.750
	Yes	8(33.33)	16(66.67)		9(56.25)	7(43.75)	
Pathological type	Invasive ductal carcinoma	11(45.83)	13(54.17)	0.321	10(50.00)	10(50.00)	0.368
	Others	12(46.15)	14(53.85)		18(60.00)	12(40.00)	
Histological grade	I	5(45.45)	6(54.55)	0.756	7(48.67)	8(53.33)	0.109
	II	11(47.83)	12(52.17)		12(63.16)	7(36.84)	
	III	7(43.75)	9(56.25)		9(56.25)	7(43.75)	
Axillary lymph nodes metastasis	0	7(33.33)	14(66.67)	0.081	5(26.32)	14(73.68)	0.022
	1~3	8(53.33)	7(46.67)		8(61.54)	5(38.46)	
	≥4	8(57.14)	6(42.86)		15(83.33)	3(16.67)	
Clinical pathological stage	I	3(33.33)	6(66.67)	0.062	2(28.57)	5(71.43)	0.0178
	II	16(51.61)	15(48.39)		8(34.78)	15(65.22)	
	III	4(40.00)	6(60.00)		18(90.00)	2(10.00)	

Table 3 Relationship between positive expression of MAPK and Snail in recurrence/metastasis and non recurrence/metastasis of triple negative breast cancer [n(%)]

Group	N	MAPK	Snail
Recurrence/metastasis	24	16(66.67)	21(87.50)
Non recurrence/metastasis	26	6(23.08)	6(23.08)
χ^2		8.219	11.331
P		0.0397	0.0215

3 讨 论

三阴性乳腺癌是乳腺癌的一种特殊亚型, 由于其独特的临床特点、生物学行为、治疗及预后, 成为临床上极为关注的热点^[5]。

MAPK 是一种在哺乳动物中广泛存在的丝/苏氨酸蛋白激酶。当外界刺激细胞后, MAPK 被双重磷酸化, 此时胞质信号将会由 MAPK 传递到细胞核, 并发挥相应的作用^[6]。MAPK 是 MAPK 信号通路中的重要枢纽, 主要参与介导细胞发育、生长、分化和分裂等多种病理及生理的过程。MAPK 亚族主要包含细胞外调节蛋白激酶 1/2、p38、c-Jun 氨基末端激酶等。研究显示, MAPK 在多种恶性肿瘤中均呈现出异常表达, 并且在恶性肿瘤的发生、发展及转移过程中发挥着重要作用, 但目前对其在肿瘤中具体的作用机制尚不明确^[7,8]。本次研究结果显示, MAPK 在三阴性乳腺癌组织中的阳性表达水平显著性高于癌

旁正常乳腺组织, 说明 MAPK 的表达与三阴性乳腺癌存在相关性, 与 Yu 等^[9,10]研究结果相近。据相关研究显示, MAPK 蛋白表达与三阴性乳腺癌患者的临床分期及淋巴结转移有关^[11,12], 但本研究结果显示, MAPK 阳性表达与三阴性乳腺癌患者的年龄、肿瘤家族史、病理类型、组织学分级、腋淋巴结转移、临床病理分期均无显著性相关。在对 MAPK 与乳腺癌患者复发转移的关系分析中发现, MAPK 在复发转移患者中的表达水平显著性高于未复发转移的患者, 提示 MAPK 与三阴性乳腺癌患者的复发转移存在相关性。

Snail 蛋白是一种锌转录因子, 近年来有研究发现 Snail 蛋白与多种恶性肿瘤的发生、发展以及上皮-间质转化存在相关性, 目前国内外关于 Snail 蛋白表达与三阴性乳腺癌的关系的报道较少。本研究结果显示, Snail 蛋白在三阴性乳腺癌组织中的表达水平显著性高于癌旁正常乳腺组织, 说明 Snail 蛋白与三阴性乳腺癌也存在相关性。在 Snail 蛋白与三阴性乳腺癌患者临床病理资料的关系分析中发现, Snail 蛋白的阳性表达与三阴性乳腺癌患者的腋淋巴结转移、临床病理分期具有相关性, 此外还发现 Snail 蛋白表达与三阴性乳腺癌患者的复发转移也存在相关性, 即 Snail 蛋白的阳性表达率越高, 三阴性乳腺癌患者的临床分期越晚, 淋巴结转移越广泛, 复发转移的发生率越高, 故 Snail 蛋白的高表达可提

示三阴性乳腺癌患者预后不良。

综上所述, MAPK 及 Snail 蛋白可能参与了三阴性乳腺癌的发展, 并有可能成为判断三阴性乳腺癌复发转移的生物学指标。

参考文献:

- [1] Xun FH, Xiong ZW. The relationship between protein Snail and female cancer [J]. Maternal and Child Health Care of China, 2011, 25(1): 69-72. [寻风华, 熊正文. 转录因子 Snail 与女性常见肿瘤关系研究进展[J]. 中国妇幼保健杂志, 2011, 25(1): 69-72.]
- [2] Argast GM, Krueger JS, Thomson S, et al. Inducible expression of TGF β , Snail and Zeb1 recapitulates EMT in vitro and in vivo in a NSCLC model[J]. Clin Exp Metastasis, 2011, 28(7): 593-614.
- [3] Gholami S, Chen CH, Gao S, et al. Role of MAPK in oncolytic herpes viral therapy in triple-negative breast cancer[J]. Cancer Gene Ther, 2014, 21(7): 283-289.
- [4] Xiong ZW, Cao L, Huang Y, et al. Expression of Snail and N-cadherin protein in invasive ductal carcinoma of mammary glands[J]. Medicine & Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2013, 25(9): 18-24. [熊正文, 曹莉, 黄勇, 等. Snail 和 N-cadherin 在乳腺浸润性导管癌中的表达[J]. 解放军医药杂志, 2013, 25(9): 18-24.]
- [5] Yang XL, Lin FJ, Guo YJ, et al. Gemcitabine resistance in breast cancer cells regulated by PI3K/AKT-mediated cellular proliferation exerts negative feedback via the MEK/MAPK and mTOR pathways[J]. Onco Targets Ther, 2014, 7: 1033-1042.
- [6] Zhao DP, Shen A, Li SP, et al. Expression and significance of transcription factor Snail in breast cancer [J]. Chinese Journal of General Practice, 2011, 9(11): 1684-1685. [赵典朋, 申安, 李世平, 等. 转录因子 Snail 在乳腺癌中的表达及意义[J]. 中华全科医学, 2011, 9(11): 1684-1685.]
- [7] Chen JY, Wang C, Wang J, et al. The development of MAPK pathway[J]. China Medicine and Pharmacy, 2011, 1(8): 32-34. [陈建勇, 王聪, 王娟, 等. MAPK 信号通路研究进展[J]. 中国医药科学, 2011, 1(8): 32-34.]
- [8] Wang BG, Yuan XY, Xing ZB, et al. Correlation between STAT3, AR, MMP-13 expression and prognosis in triple negative breast cancer[J]. Oncology Progress, 2016, 14(6): 594-596. [王炳高, 袁新颜, 邢志博, 等. 三阴性乳腺癌组织 STAT3, AR, MMP-13 表达与预后状况的关系研究[J]. 癌症进展, 2016, 14(6): 594-596.]
- [9] Yu J, Wang YY, Zhang Q. Efficacy of traditional Chinese medicine with syndrome differentiation in the treatment for postoperative recurrence and metastasis of triple negative breast cancer[J]. Oncology Progress, 2016, 14(3): 262-265. [于洁, 王圆圆, 张青. 辨证中药治疗三阴性乳腺癌术后疗效的临床研究[J]. 癌症进展, 2016, 14(3): 262-265.]
- [10] Zhang Y, Wei L, Yu J, et al. Targeting of the $\beta 6$ gene to suppress degradation of ECM via inactivation of the MAPK pathway in breast adenocarcinoma cells [J]. Oncol Rep, 2014, 32(5): 1787-1795.
- [11] Shah SP, Roth A, Goya R, et al. The clonal and mutational evolution spectrum of primary triple-negative breast cancers[J]. Nature, 2012, 486(7403): 395-399.
- [12] Bartholomeusz C, Gonzalez Angulo AM, Liu P, et al. High ERK protein expression levels correlate with shorter survival in triple-negative breast cancer patients [J]. Oncologist, 2012, 17(6): 766-774.
- [13] Chen DB, Hong ZP, Zhang X, et al. Clinic value of the expression of fructose 1,6 - two phosphate kinase in patients with breast cancer [J]. Fujian Medicine Journal, 2016, 38(6): 100-102. [陈德波, 洪志鹏, 张熙, 等. 免疫组化检测三阴性乳腺癌患者果糖-1,6-二磷酸激酶表达的临床价值[J]. 福建医药杂志, 2016, 38(6): 100-102.]