

· 论著 ·

人类白细胞分化抗原 133 与乳腺浸润性导管癌临床病理特征的关系

宋云骏 姜林鹤 冷彦利 刘运江

【摘要】 目的 研究肿瘤干细胞标志物人类白细胞分化抗原(CD)133 在乳腺浸润性导管癌组织中的表达及其与临床病理因素之间的关系。**方法** 收集 2001 年 1 月至 2005 年 12 月间承德市肿瘤医院和承德医学院附属医院肿瘤科的 102 例乳腺浸润性导管癌组织,采用免疫组织化学方法检测其 CD133 蛋白表达,并用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法分析 CD133 表达与临床病理因素的关系。**结果** 乳腺浸润性导管癌组织不同程度地表达 CD133。不同肿瘤直径组间 CD133 阳性表达率差异有统计学意义($\chi^2 = 7.476, P=0.024$),其中肿瘤直径 $>2 \sim 5$ cm 组 CD133 阳性表达率明显高于肿瘤直径 ≤ 2 cm 组[56.72% (38/67) 比 26.09% (6/23), $\chi^2 = 6.429, P<0.012$]。不同组织学分级间相比,CD133 阳性表达率的差异也有统计学意义($\chi^2 = 6.274, P=0.043$)。并且,有淋巴结转移者 CD133 阳性表达率比无淋巴转移者高[64.71% (22/34) 比 39.71% (27/68), $\chi^2 = 5.675, P=0.017$]。乳腺浸润性导管癌组织中,CD133 阳性表达率在不同年龄、不同临床分期之间差异无统计学意义($\chi^2 = 0.177, P=0.674$; $\chi^2 = 2.874, P=0.242$)。**结论** CD133 有可能作为判断乳腺浸润性导管癌侵袭转移的指标。

【关键词】 肿瘤干细胞; 抗原,CD; 癌,导管,乳腺; 免疫组织化学

【中图分类号】 R737.9

【文献标志码】 A

Relationship between CD133 expression and the clinicopathological characteristics of breast invasive ductal carcinoma SONG Yun-jun, JIANG Lin-he, LENG Yan-li, LIU Yun-jiang. Department of Oncological Surgery, Tumour Hospital of Chengde City, Chengde 067000, China

【Abstract】 Objective To investigate the expression of cancer stem cell marker CD133 in breast invasive ductal carcinoma and its relationship with the clinicopathological parameters. **Methods** Totally 102 cases of invasive ductal carcinoma in the Tumour Hospital of Chengde City and Department of Oncology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College from January 2001 to December 2005 were involved, and CD133 protein expressions in their carcinoma tissues were detected by immunohistochemistry. χ^2 test or Fisher probabilities test was used to analyze the relationship of CD133 expression and clinicopathological parameters. **Results** CD133 was expressed to different extents in the breast invasive ductal carcinoma tissues. The positive expression rate of CD133 showed statistical significant difference between groups with different tumor sizes($\chi^2 = 7.476, P=0.024$), and the positive expression rate of CD133 in the patients with tumor diameter of $>2-5$ cm was significantly higher than that in the patients with tumor diameter ≤ 2 cm [56.72% (38/67) vs 26.09% (6/23), $\chi^2 = 6.429, P<0.012$]. There were some statistical differences between groups at different histological grades($\chi^2 = 6.274, P=0.043$). The positive expression rates of CD133 in patients with lymph node metastasis were significantly higher than those without [64.71% (22/34) vs 39.71% (27/68), $\chi^2 = 5.675, P=0.017$]. There was no significant difference in the expression of CD133 between groups with different age and clinical stage($\chi^2 = 0.177, P=0.674$; $\chi^2 = 2.874, P=0.242$). **Conclusion** CD133 can be used as an important marker of invasion and metastasis in breast invasive ductal carcinoma.

【Key words】 Neoplastic stem cells; Antigens, CD; Carcinoma, ductal, breast; Immunohistochemistry

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0807.2013.06.004

基金项目:承德市科学技术研究与发展计划项目(20122186)

作者单位:067000 河北省承德市肿瘤医院肿瘤外科 承德市肿瘤防治中心

通信作者:刘运江,Email: lyj818326@126.com

乳腺癌是对女性危害最为严重的恶性肿瘤。乳腺癌发病率极高,严重威胁着患者的健康和生命。病理学研究表明,乳腺癌绝大多数都是浸润性导管癌。近年来提出的肿瘤干细胞假说(cancer stem cells hypothesis),为研究肿瘤细胞的生物学特性和临床治疗提供了新的思路。目前,关于人类白细胞分化抗原(cluster of differentiation, CD) 133 分子在乳腺浸润性导管癌中表达及其发生发展中意义的研究较少有文献报道。笔者应用免疫组织化学方法检测 102 例浸润性乳腺癌标本中 CD133 的表达,并分析其与乳腺癌临床病理特征之间的关系,为进一步研究其在乳腺癌转移、复发及预后中的作用打下基础。

1 资料和方法

1.1 一般资料

收集承德市肿瘤医院和承德医学院附属医院肿瘤科 2001 年 1 月至 2005 年 12 月病史资料完整的乳腺浸润性导管癌(图 1) 102 例。根据第 6 版《乳腺癌 TNM 分期》^[1] 进行临床分期,肿瘤的大小及腋窝淋巴结转移通过超声及病理检查进行确定。

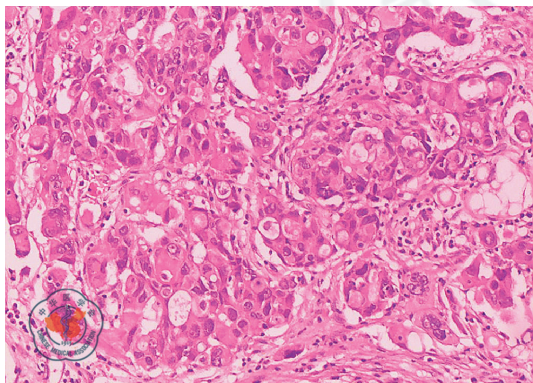


图 1 乳腺浸润性导管癌的病理表现(HE ×200)

102 例患者术前均未接受任何治疗,年龄为 32~74 岁,中位年龄为 48 岁。其中<50 岁者 54 例,

≥50 岁者 48 例,肿瘤≤2 cm 者 23 例,>2~5 cm 者 67 例,>5 cm 者 12 例;临床分期 I 期 8 例,II_A 35 例,II_B 43 例,III 期以上 16 例;组织学分级 I 级 15 例,II 级 57 例,III 级 30 例;有淋巴结转移 34 例,无淋巴结转移 68 例。并对 102 例乳腺浸润性导管癌患者进行随访,随访时间为 0.25~6.60 年,中位随访时间为 4.10 年。

1.2 CD133 的免疫组织化学染色方法

石蜡切片烘片 2 h,脱蜡,PBS 冲洗,加入兔抗人 CD133 多克隆抗体(购自北京中杉金桥生物技术有限公司,ZA-0426,工作浓度为 1:100),4℃ 过夜,用 PBS 冲洗,加聚合物增强剂(试剂 A),室温孵育,再加酶标抗鼠/兔聚合物(试剂 B),室温孵育。石蜡切片用 PBS 冲洗,加二氨基联苯胺(DAB)显色,然后复染,用 0.1% HCl 分化,冲洗,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,观察。

1.3 结果判断

CD133 阳性表达为边界清晰、突出于背景的棕黄色,主要定位于细胞质,细胞膜同时呈棕黄色亦为阳性。按 Horst 等^[2] 的标准,CD133 表达的计分标准为:随机选取 5 个高倍视野约 200 个细胞,计数肿瘤细胞阳性数,结合着色强度,阳性细胞数>10% 为阳性,≤10% 为阴性。

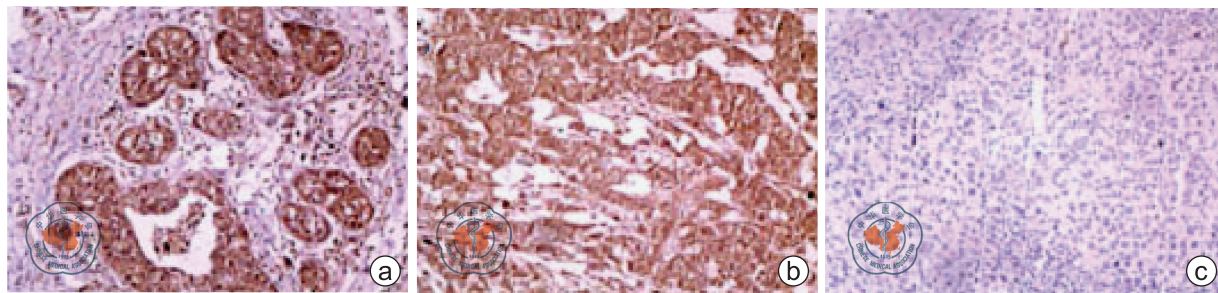
1.4 统计学处理

应用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。计数资料的分析采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法, $P<0.050$ 为差异有统计学意义;计数资料的两两比较采用卡方分割, $\alpha'=0.012$ 。

2 结果

2.1 乳腺浸润性导管癌组织中 CD133 蛋白的表达

102 例乳腺浸润性导管癌组织中,CD133 蛋白阳性 49 例,阳性率为 48.04%。棕黄色颗粒主要定位于细胞质和细胞膜,CD133 阳性细胞呈散在或小簇分布(图 2)。



a: CD133 阳性表达(SP ×400) b: CD133 阳性表达(SP ×200); c: CD133 阴性表达(SP ×100)

图 2 乳腺浸润性导管癌中 CD133 免疫组织化学染色结果

2.2 乳腺浸润性导管癌组织中 CD133 阳性表达率与临床病理因素的关系

不同肿瘤直径组间 CD133 阳性表达率的差异有统计学意义,其中肿瘤直径 $>2 \sim 5$ cm 组 CD133 阳性表达率明显高于肿瘤直径 ≤ 2 cm 组 [56.72% (38/67) 比 26.09% (6/23)];不同组织学分级间相比,CD133 阳性表达率的差异也有统计学意义;有淋巴结转移者 CD133 阳性表达率明显高于无淋巴结转移者 [64.71% (22/34) 比 39.71% (27/68)] (统计结果详见表 1)。乳腺浸润性导管癌组织中 CD133 阳性表达率在不同年龄、不同临床分期之间差异无统计学意义(统计结果详见表 1)。

表 1 乳腺浸润性导管癌 CD133 蛋白表达与临床病理因素的关系

病理因素	例数	CD133 表达(例)		χ^2 值	P 值
		阳性	阴性		
年龄				0.177	0.674
<50 岁	54	27	27		
≥ 50 岁	48	22	26		
肿瘤直径				7.476	0.024
≤ 2 cm	23	6	17		
$>2 \sim 5$ cm	67	38 ^a	29		
>5 cm	12	4	8		
临床分期				2.874 ^b	0.242
I	8	2	6		
II	35	15	20		
III	59	32	27		
组织学分级				6.274	0.043
I	15	5	10		
II	57	24	33		
III	30	20	10		
淋巴结转移				5.675	0.017
有	34	22	12		
无	68	27	41		

a: $P < 0.012$, 与肿瘤直径 ≤ 2 cm 组比较 ($\chi^2 = 6.429$); b: 确切概率法

3 讨论

乳腺浸润性导管癌是乳腺上皮细胞增殖失控而发生的恶性肿瘤。多数研究表明,乳腺浸润性导管癌的预后与肿瘤大小、病理类型、病灶转移程度、确诊早晚和治疗合理与否密切相关^[3]。近年来研究发现,肿瘤组织中少量的瘤细胞具有造血

干/祖细胞(stem/ancestral cell)的特征,如具有旺盛的自我更新能力、可转移到远端部位、寿命长、抗凋亡及多潜能分化等生物学特性^[4]。这些细胞被称为肿瘤干细胞(tumor stem cell, TSC)或癌症干细胞(cancer stem cell, CSC)。TSC/CSC 在肿瘤形成、肿瘤转移和复发等过程中起着重要的作用。目前,有关肿瘤干细胞的研究主要集中在与肿瘤转移和复发的关系以及对放、化疗的抵抗性和耐受性方面。

近年的研究表明,CD133 为 TSC 细胞表面的标记性分子,是目前用于各种 TSC 或干细胞研究的热点标志之一^[5]。它是 Prominin 家族主要成员,目前发现的同源性抗原具有 CD133-1 和 CD133-2,其基因分别定位在人类的 4 号和 2 号染色体上。CD133 最先在造血干细胞或祖细胞中发现,已有研究证实 CD133 在乳腺癌^[6-7]、肺癌^[8-9]、结直肠癌^[10]、前列腺癌^[11]、胰腺癌^[12]、和胃癌^[13]等多种肿瘤组织中均有表达。Liu 等^[14]的研究表明 CD133 蛋白表达与患者的肿瘤分期、肿瘤大小、淋巴结转移具有重要相关性。在 BRCA1 相关的乳腺癌细胞系,CD133⁺细胞具有较高的克隆形成率、高增殖率和多向分化的潜能^[15];CD133⁺细胞还能使非肥胖糖尿病/重症联合免疫缺陷的小鼠发生肿瘤,并使肿瘤不断生长及转移。

本研究发现不同直径的乳腺肿瘤间 CD133 阳性表达率差异有统计学意义,CD133 阳性表达率在肿瘤生长的中、晚期均高于早期,这提示在肿瘤生长的过程中,CD133 可能发挥着重要作用。本研究还发现乳腺浸润性导管癌患者中:组织学分级 I 级 15 例,CD133 阳性 5 例,阳性率为 5/15; II 级 57 例,CD133 阳性 24 例,阳性率为 42.11%; III 级 32 例,CD133 阳性 20 例,阳性率 62.50%;组织学分级 II 级比例最高,占总样本数的 55.88% (57/102),在乳腺癌不同组织学分级的患者之间 CD133 阳性表达率的差异有统计学意义。这与吴明霞等^[5]研究发现的 CD133 阳性表达率与乳腺癌组织学分级呈正相关性的结果一致。淋巴结转移数作为判断肿瘤浸润的标准,其阳性率越高说明患者的肿瘤分期越晚,预后越差。本研究发现 CD133 在有淋巴结转移患者中阳性表达率为 64.71% (22/34),明显高于无淋巴结转移的患者 (39.71%, 27/68),提示 CD133 也可能与患者预后存在关系。

本研究采用免疫组织化学方法,检测了 CD133 在乳腺浸润性导管癌组织中的表达情况,并初步分析了其与患者临床病理特征的关系,但并未作进一步研究。CD133 作为多种肿瘤细胞表面标志物,对其进行详细的研究,将有助于乳腺癌复发和转移的临床诊断和治疗。

参考文献

- [1] UICC. TNM classification of malignant tumors [M]. 6th ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2002:131-142.
- [2] Horst D, Kriegl L, Engel J, et al. CD133 expression is an independent prognostic marker for low survival in colorectal cancer[J]. Br J Cancer, 2008, 99(8): 1285-1289.
- [3] 李博艳,李春国. 125 例乳腺浸润性导管癌预后因素分析[J]. 内蒙古中医药, 2012, 31(1): 39-40.
- [4] Smith LM, Nesterova A, Ryan MC, et al. CD133/ prominin-1 is a potential therapeutic target for antibody-drug conjugates in hepatocellular and gastric cancers[J]. Br J Cancer, 2008, 99(1): 100-109.
- [5] 吴明霞,邓海贞,顾永平,等. 肿瘤干细胞标志物 CD133 在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 苏州大学学报(医学版), 2009, 29(4): 678-680, 693.
- [6] Abraham BK, Fritz P, McClellan M, et al. Prevalence of CD44 +/CD24 -/low cells in breast cancer may not be associated with clinical outcome but may favor distant metastasis [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(3): 1154-1159.
- [7] Croker AK, Allan AL. Inhibition of aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity reduces chemotherapy and radiation resistance of stem-like ALDHhiCD44 human breast cancer cells [J]. Breast Cancer Res Treat, 2012, 133(1): 75-87.
- [8] Luo D, Yan X, Liu D, et al. Differential effects of mesenchymal stem cells on a heterogeneous cell population within lung cancer cell lines [J]. Mol Cell Biochem, 2013, 378(1/2): 107-116.
- [9] Mizugaki H, Sakakibara-Konishi J, Kikuchi J, et al. CD133 expression; a potential prognostic marker for non-small cell lung cancers[EB/OL]. [2013-05-30]. <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10147-013-0541-x#page-2>.
- [10] O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, et al. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice[J]. Nature, 2007, 445(7123): 106-110.
- [11] Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E, et al. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells [J]. Nature, 2007, 445(7123): 111-115.
- [12] Hermann PC, Huber SL, Herrler T, et al. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer[J]. Cell Stem Cell, 2007, 1(3): 313-323.
- [13] Smith LM, Nesterova A, Ryan MC, et al. CD133/ prominin-1 is a potential therapeutic target for antibody-drug conjugates in hepatocellular and gastric cancers[J]. Br J Cancer, 2008, 99(1): 100-109.
- [14] Liu Q, Li J, Zheng X, et al. Expression of CD133, PAX2, ESA, and GPR30 in invasive ductal breast carcinomas [J]. Chin Med J(Engl), 2009, 122(22): 2763-2769.
- [15] Currie MJ, Beardsley BE, Harris GC, et al. Immunohistochemical analysis of cancer stem cell markers in invasive breast carcinoma and associated ductal carcinoma *in situ*: relationships with markers of tumor hypoxia and microvasculature[J]. Hum Pathol, 2013, 44(3): 402-411.

(收稿日期:2013-06-03)

(本文编辑:罗承丽)

宋云骏,姜林鹤,冷彦利,等. 人类白细胞分化抗原 133 与乳腺浸润性导管癌临床病理特征的关系[J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版, 2013, 7(6): 411-414.