

· 论著 ·

乳腺癌组织中细胞周期蛋白 D1 的表达水平
与腋窝淋巴结状态的关系

张昉 王建东 徐虎 寇德强 邱镜丹

【摘要】 目的 探讨乳腺癌组织中细胞周期蛋白 D1(cyclin D1)的表达水平与腋窝淋巴结转移状态的关系。**方法** 回顾性收集解放军总医院乳腺专病中心 2014 年全年收治的 1 012 例乳腺癌患者资料,患者分别编号。采用免疫组织化学的方法检测术后癌组织中 cyclin D1 的表达水平,并根据其表达水平将患者分为 5 组,分别为 1 组(cyclin D1 阴性)、2 组(cyclin D1 $\geq 1\%$ 且 $< 25\%$)、3 组(cyclin D1 $\geq 25\%$ 且 $< 50\%$)、4 组(cyclin D1 $\geq 50\%$ 且 $< 75\%$)及 5 组(cyclin D1 $\geq 75\%$),利用抽签的方法从每组分别抽取 90 例患者作为受试对象,分析各组受试对象的腋窝淋巴结状态。采用 χ^2 检验比较各组间腋窝淋巴结转移率是否具有差异,率的多重比较采用 χ^2 分割法。**结果** 1~5 组患者的腋窝淋巴结转移率分别为 40.0%、43.3%、35.6%、42.2%、66.7%,组间比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 21.503, P < 0.001$),进一步分析发现,cyclin D1 表达水平 $\geq 75\%$ 组的腋窝淋巴结转移率明显高于其他各组($\chi^2 = 12.857, 9.899, 17.431, 10.841, P$ 均 < 0.004)。**结论** 当患者乳腺癌组织中 cyclin D1 的表达水平超过参考值 75% 时,可以作为腋窝淋巴结转移的预测指标。

【关键词】 乳腺肿瘤; 细胞周期蛋白 D1; 淋巴转移

【中图分类号】 R737.9 **【文献标志码】** A

Relationship between cyclin D1 expression in breast cancer tissue and axillary lymph node metastasis

Zhang Fang, Wang Jiandong, Xu Hu, Kou Deqiang, Qiu Jingdan. Breast Disease Center, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China

Corresponding author: Wang Jiandong, Email: vicky1968@163.com

【Abstract】 Objective To detect the relationship between cyclin D1 expression in breast cancer tissue and axillary lymph node metastasis. **Methods** We labeled 1 012 breast cancer patients treated in Breast Disease Center, General Hospital of PLA in 2014 and detected the expression level of cyclin D1 in postoperative carcinoma tissues using immunohistochemical method. According to the cyclin D1 level, the patients were divided into 5 groups, namely group 1 (cyclin D1 negative), group 2 (cyclin D1 $\geq 1\%$ and $< 25\%$), group 3 (cyclin D1 $\geq 25\%$ and $< 50\%$), group 4 (cyclin D1 $\geq 50\%$ and $< 75\%$) and group 5 (cyclin D1 $\geq 75\%$). Ninety cases were randomized as subjects in each group and their lymph node status were analyzed. The axillary lymph node metastasis rates between groups were compared by χ^2 test. Pairwise comparison was performed by partition of χ^2 test. **Results** The rate of lymph node metastasis was 40.0%, 43.3%, 35.6%, 42.2% and 66.7% in groups 1-5 respectively, which showed a significant difference between groups ($\chi^2 = 21.503, P < 0.001$). The rate of lymph node metastasis in group 5 was significantly higher than that in other 4 groups ($\chi^2 = 12.857, 9.899, 17.431, 10.841$; all $P < 0.004$). **Conclusion** When the level of cyclin D1 in breast cancer tissue surpasses the reference value (75%), cyclin D1 can be regarded as a predictive factor of axillary lymph node metastasis.

【Key words】 Breast neoplasms; Cyclin D1; Lymphatic metastasis

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一。近年

来其发病率呈上升趋势,但病死率却逐年下降,这得益于乳腺癌诊疗水平的提高。在分子水平积极探索乳腺癌的发病机制,可以给临床一线工作者提供更有意义的帮助。资料显示:细胞周期蛋白

D1(cyclin D1)广泛高表达于人类各种实体肿瘤,且 cyclin D1 的蛋白表达水平与肿瘤的恶性程度呈正相关,其中最有意义的是乳腺癌^[1]。本研究通过检测乳腺癌组织中 cyclin D1 的蛋白表达情况,分析其与临床病理特征及与患者腋窝淋巴结转移状态的关系,以探讨 cyclin D1 是否可以作为预测腋窝淋巴结状态的参考指标。

1 资料和方法

1.1 临床资料及分组

本研究为回顾性研究,入组病例为解放军总医院 2014 年全年收治的 1 012 例早期可手术的乳腺癌患者,每例患者分别编号。手术后将切除的标本送本院病理科免疫组组织化室进行 cyclin D1 批量检测,根据结果将患者分组,即 1 组(cyclin D1 阴性)、2 组(cyclin D1 $\geq 1\%$ 且 $< 25\%$)、3 组(cyclin D1 $\geq 25\%$ 且 $< 50\%$)、4 组($\geq 50\%$ 且 $< 75\%$)及 5 组($\geq 75\%$)。通过抽签的方法,各组随机选取 90 例患者作为受试对象,详细分析各组受试对象的腋窝淋巴结状态。所有受试对象年龄分布在 27 ~ 82 岁,平均年龄 53 岁。其中 1 组的年龄分布在 27 ~ 79 岁,平均年龄 55 岁;2 组的年龄分布在 33 ~ 81 岁,平均年龄 60 岁;3 组的年龄分布在 29 ~ 77 岁,平均年龄 50 岁;4 组的年龄分布在 28 ~ 82 岁,平均年龄 52 岁;5 组的年龄分布在 30 ~ 81 岁,平均年龄 51 岁。

1.2 检测方法

将手术切除标本浸泡于 10% 多聚甲醛中固定 30 min 以上,送经本院病理科免疫组织化学室,批量检测癌组织中 cyclin D1 表达水平。

1.3 结果判断

cyclin D1 在细胞中主要定位于细胞核,也可定位于细胞浆。根据细胞核阳性数占癌细胞总数的百分比及本研究目的,由病理科医师判读, cyclin D1 的判读结果分为阴性(组织中未见 cyclin D1 表达)、 $\geq 1\%$ 且 $< 25\%$ 、 $\geq 25\%$ 且 $< 50\%$ 、 $\geq 50\%$ 且 $< 75\%$ 及 $\geq 75\%$ 5 种。

1.4 统计学方法

所得数据录入 SPSS 19.0 统计软件进行统计学分析。各组患者的腋窝淋巴结转移率采用 χ^2 检验, $P < 0.050$ 为差异具有统计学意义。率的两两比较采用 χ^2 分割法,检验水准调整为 $\alpha = 0.004$ 。

2 结果

各组间淋巴结转移率的差异有统计学意义($\chi^2 = 21.503$, $P = 0.000$, 表 1)。进一步行两两比较发现,5 组与 1 ~ 4 组间的差异均有统计学意义($\chi^2 = 12.857$ 、 9.899 、 17.431 、 10.841 , P 均 < 0.004),即当乳腺癌组织中 cyclin D1 的表达水平 $\geq 75\%$ 时,腋窝淋巴结转移的阳性率明显升高。

表 1 各组乳腺癌患者腋窝淋巴结转移率

组别	例数	转移(例)	阳性率(%)
1 组	90	36	40.0
2 组	90	39	43.3
3 组	90	32	35.6
4 组	90	38	42.2
5 组	90	60	66.7 ^a
χ^2 值	21.503		
P 值	< 0.001		

注:^a 分别与 1 ~ 4 组比较, $\chi^2 = 12.857$ 、 9.899 、 17.431 、 10.841 , P 均 < 0.004 ,其余各组间两两比较, P 均 > 0.004

3 讨论

cyclin D1 是由 295 个氨基酸残基构成的蛋白质,编码基因 CCND1 定位于 11 号染色体长臂 1 区 3 带,其含量在细胞周期中呈周期性变化。CCND1 的异常表达可以促进 cyclin D1 的细胞周期调节行为^[2]。cyclin D1 最早出现于细胞周期 G_1 期的中期,在 G_1 期向 S 期转化时浓度最大。 G_1 期视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, RB)蛋白处于低磷酸化状态,并与转录因子 E2F 家族成员结合,阻止其转录激活作用;S 期, cyclin D-CDK4 复合物使 RB 蛋白处于高磷酸化状态, RB 蛋白与 E2F 解离,相关基因转录增强。张秀梅等^[3]用 RNA 干扰技术抑制了人乳腺癌 MCF-7 细胞中 cyclin D1、CDK4 的表达,发现 G_1 期细胞数量明显增多,而 S 期细胞数量明显减少。这说明在乳腺癌细胞中 cyclin D1 和 CDK4 的过表达与细胞增殖失控明显相关。在 G_1 期到 S 期的转换中, cyclin D1 被认为是关键的限速因素之一。cyclin D1 的持续高表达使得细胞 G_1 期明显缩短,提前进入 S 期,导致细胞增殖失控^[4]。如果 cyclin D1 的活性受到了抑制,细胞增殖就会停滞于 G_1 期,肿瘤细胞的增殖也就受到了抑制,反之亦然。Bimonte 等^[5]在研究姜黄色素作用于人乳腺癌小鼠模型时发现,在抑制癌细胞的同时,姜黄色素下调了 cyclin D1 的表达水平。相似的研究也表明,

许多抗癌物质正是通过下调 cyclin D1 的表达而发挥作用的^[6-8]。郭云娣等^[9]用免疫组织化学法检测了 68 例乳腺癌组织和 30 例非乳腺癌组织,发现细丝蛋白 A 和 cyclin D1 在乳腺癌组织中阳性表达率高于非乳腺癌组织,因此推测细丝蛋白 A 可能通过上调 cyclin D1 的表达而促进了癌细胞的增殖。研究表明,在细胞周期的调节中, cyclin D1 比其他细胞周期蛋白更敏感^[10]。已知肿瘤细胞的恶性增殖是由于细胞周期调节失控造成的,通过影响乳腺癌细胞中 cyclin D1 的表达,可以抑制癌细胞的无限增殖,可能成为乳腺癌治疗的重要靶点。

众所周知,年龄较轻的乳腺癌患者往往预后不良,肿瘤的直径越大,TNM 分期越晚,组织学分级越高,预示病情进展越晚,患者预后越差。乳腺癌患者容易出现腋窝淋巴结的转移,而腋窝淋巴结状态则是判断预后的一项重要参考指标。通常认为,乳腺癌患者发生腋窝淋巴结转移者,预后较差。郑瑛等^[11]在研究保留乳房术后发生淋巴结转移患者的预后时发现,淋巴结转移率高者预后通常较差。但在手术之前,临床医师很难判断腋窝淋巴结的转移状态。能否找到一个简便的方法来预测腋窝淋巴结状态是一个值得深入研究的课题。郭云娣等^[9]的研究证明 cyclin D1 在乳腺癌中高表达,并促进了肿瘤的增殖和转移,且 cyclin D1 过表达的肿瘤组织具有较强的侵袭和转移能力。王方等^[12]在研究激素受体阴性乳腺癌时发现, cyclin D1 在淋巴结转移组的表达率显著高于非转移组,说明 cyclin D1 与淋巴结的转移密切相关。齐凤杰等^[13]通过应用免疫组织化学 PV-9000 两步法检测 80 例乳腺癌术后石蜡标本中 cyclin D1 的表达情况,也发现 cyclin D1 的表达与腋窝淋巴结转移密切相关。两项研究均提示 cyclin D1 的表达水平越高,乳腺癌的侵袭及转移能力越强,但未能量化评估 cyclin D1 与腋窝淋巴结状态的关系。在本研究中,当乳腺癌组织中 cyclin D1 的表达水平>75% 时,腋窝淋巴结转移率有显著的变化,并且差异具有统计学意义,推测 cyclin D1 有可能成为预测腋窝淋巴结状态的指标。乳腺癌患者术前穿刺(空芯针或真空辅助微创活组织检查)可获得一定量的癌组织,使得检测其中 cyclin D1 的表达水平方便和可行,提示 cyclin D1 有望成为预测腋窝淋巴结状态的指标。

手术之前临床医师大多依靠查体和超声、X 线摄影、MRI 等影像学资料来评估腋窝淋巴结状态。当术前查体时发现腋窝淋巴结质地偏硬、表面高低不平、较为固定、活动度差或边界触及不清,或术前超声发现^[14]:(1)淋巴结的纵径、横径比值(L/T)<2.0;(2)淋巴结横径>7 mm;(3)淋巴结内及周边动脉血流丰富,阻力指数>0.6;(4)淋巴结包膜不光滑,内有液化坏死区或点状钙化时,高度提示腋窝淋巴结发生转移。资料显示:术前查体联合超声能够提高单独检查的诊断及预测腋窝淋巴结转移的能力^[15]。本研究提示:当术前穿刺病理明确诊断为乳腺癌后,除了 ER、PR、HER-2、Ki67 等常规免疫组织化学指标外,可以加做 cyclin D1。若 cyclin D1 的表达水平较高时,则高度怀疑腋窝淋巴结转移。临床工作中,很多医师用前哨淋巴结活组织检查术来判断乳腺癌患者的腋窝淋巴结状态。但前哨淋巴结活组织检查术并非预测腋窝淋巴结状态的金标准,存在一定的假阴性率,尤其在很多小医疗机构,假阴性率甚至更高^[16]。此外在手术中,当发现前哨淋巴结阳性时,通常的做法是进一步行腋窝淋巴结清扫术,即清除非前哨淋巴结。因此,当术前查体及相关检查提示已有淋巴结转移时,是否可以考虑不做前哨淋巴结活组织检查,而直接清扫腋窝,值得临床工作者思考。因为这不仅避免了腋窝的切口,考虑到了手术的美容效果,又使得患者的 TNM 分期更加准确。

综上所述,乳腺癌组织中 cyclin D1 的表达水平可以作为腋窝淋巴结状态的预测指标。当 cyclin D1 的表达水平较高时应高度怀疑腋窝淋巴结发生转移,结合临床资料可以为确定下一步的治疗方案提供参考依据。但是 cyclin D1 的表达水平能否作为一个独立预测腋窝淋巴结状态的指标,并应用于临床实践,还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] McIntosh GG, Anderson JJ, Milton I, et al. Determination of the prognostic value of cyclin D1 overexpression in breast cancer [J]. *Oncogene*, 1995, 11(5):885-891.
- [2] Ravikumar G, Ananthamurthy A. Cyclin D1 expression in ductal carcinoma of the breast and its correlation with other prognostic parameters [J]. *J Can Res Ther*, 2014, 10(3): 671-675.
- [3] 张秀梅,张霞,肖建英. 干扰 CDK4 和 Cyclin D1 的表达抑制 MCF-7 细胞的增殖[J]. *基础医学与临床*, 2013, 33(7):

- 910-911.
- [4] Rögelsperger O, Wlcek K, Ekmekcioglu C, et al. Melatonin receptors, melatonin metabolizing enzymes and cyclin D1 in human breast cancer [J]. J Recept Signal Transduct Res, 2011, 31(2): 180-187.
- [5] Bimonte S, Barbieri A, Palma G, et al. Dissecting the role of curcumin in tumour growth and angiogenesis in mouse model of human breast cancer [J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 878134.
- [6] 薛万里, 李锦成, 朱德森, 等. 鲑鱼骨素对人乳腺癌细胞系 MCF-7 的作用[J]. 江苏医药, 2011, 37(19): 2236-2238.
- [7] Wang L, Peng Y, Shi K, et al. Osthole inhibits proliferation of human breast cancer cells by inducing cell cycle arrest and apoptosis[J]. J Biomed Res, 2015, 29(2): 132-138.
- [8] Ye X, Yuan L, Zhang L, et al. Garcinol, an acetyltransferase Inhibitor, suppresses proliferation of breast cancer cell Line MCF-7 promoted by 17 β -estradiol [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(12): 5001-5007.
- [9] 郭云娣, 陈建华. FLNA 和细胞周期蛋白 D1 在乳腺浸润性导管癌组织中表达[J]. 江苏医药, 2015, 41(5): 549-551.
- [10] 吴玉新, 王靖华, 步宏. 细胞周期素 D1 与肿瘤研究[J]. 诊断病理学杂志, 2000, 7(3): 219-221.
- [11] 郑瑛, 陈钦, 梁志洁, 等. 淋巴结转移率评价腋窝淋巴结转移的保治疗乳腺癌患者预后的价值[J]. 中华肿瘤杂志, 2015, 37(1): 41-46.
- [12] 王方, 朱信信, 袁峥, 等. 雌激素受体孕激素受体阴性乳腺癌细胞周期蛋白 D1 和 p53 的表达与临床病理特征及预后的相关性研究 [J]. 中国肿瘤临床与康复, 2013, 20(4): 293-297.
- [13] 齐凤杰, 赵树鹏, 朱培, 等. STAT3 和 Cyclin D1 蛋白在乳腺癌中的表达及意义[J]. 山东医药, 2010, 50(52): 106-108.
- [14] 李光. 乳腺癌腋窝淋巴结转移患者中应用 PET-CT、临床触诊与 B 超诊断方法的意义与影响分析[J]. 中国医药导刊, 2013, 15(3): 415-452.
- [15] 王帅, 孙宝杰. 术前体检联合超声检查预测腋窝淋巴结转移与前哨淋巴结预测结果分析[J]. 中外医疗, 2015, 34(6): 66-67.
- [16] Wong J, Yong WS, Thike AA, et al. False negative rate for intraoperative sentinel lymph node frozen section in patients with breast cancer: a retrospective analysis of patients in a single Asian institution [J]. J Clin Pathol, 2015, 68(7): 536-540.

(收稿日期: 2015-05-15)

(本文编辑: 宗贝歌)

张昉, 王建东, 徐虎, 等. 乳腺癌组织中细胞周期蛋白 D1 的表达水平与腋窝淋巴结状态的关系[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2015, 9(5): 303-306.