

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.10.008
文章编号: 1005-8982(2018)10-0043-08

高海拔地区藏族乳腺浸润性导管癌凋亡相关蛋白的表达及凋亡指数的研究*

赞梅¹, 刘五甲², 韩静绮³, 杨娟¹, 白丽艳², 张文彦², 杜尕金措¹, 祁玉娟¹

(1. 青海省人民医院, 青海 西宁 810007; 2. 青海大学, 青海 西宁 810016;
3. 青海大学附属医院, 青海 西宁 810001)

摘要: 目的 探讨藏族乳腺浸润性导管癌 Bcl-2、Bax 及 Caspase 3 和凋亡指数 (AI) 的表达及临床意义。**方法** 采用免疫组织化学法研究 60 例世居藏族乳腺浸润性导管癌与 60 例藏族乳腺纤维瘤石蜡组织切片中 Bcl-2、Bax 和 Caspase 3 蛋白的表达; 采用原位 DNA 缺口末端标记法检测凋亡指数。**结果** 藏族乳腺浸润性导管癌 Bcl-2、Bax 及 Caspase 3 的表达率分别为 51.7%、76.7% 及 60.0%, 藏族乳腺纤维瘤组织的 Bcl-2、Bax 及 Caspase 3 表达率分别为 81.7%、85.0% 和 80.0%, 乳腺浸润性导管癌与乳腺纤维瘤 Bcl-2 和 Caspase 3 表达率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 乳腺纤维瘤组织高于乳腺浸润性导管癌。乳腺浸润性导管癌中 AI 阳性率与乳腺纤维瘤比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 乳腺浸润性导管癌低于乳腺纤维瘤。AI 与肿瘤直径、TNM 分期、孕激素受体 (PR) 表达相关 ($P < 0.05$), 乳腺浸润性导管癌 Bcl-2 的表达与淋巴结转移、雌激素受体 (ER) 表达相关 ($P < 0.05$), Caspase 3 的表达与 ER 表达相关 ($P < 0.05$); 乳腺浸润性导管癌中 Bcl-2 蛋白表达与 Bax、Caspase 3 蛋白表达相关 ($P < 0.05$)。**结论** 藏族乳腺浸润性导管癌中 Bcl-2、Caspase 3 蛋白低表达; Bcl-2 的表达与 Bax、Caspase 3 的表达相关; Bcl-2 的表达与淋巴结转移、ER 表达相关; 藏族乳腺浸润性导管癌中 AI 低表达与凋亡蛋白 Bcl-2、Bax、Caspase 3 的表达无关; AI 与肿瘤直径、TNM 分期、PR 表达相关。

关键词: Bcl-2; Bax; Caspase 3; 凋亡指数; 乳腺浸润性导管癌; 藏族
中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A

Expressions of apoptosis-related proteins and apoptosis index of Tibetan breast invasive ductal cancer in high altitude*

Mei Zan¹, Wu-jia Liu², Jing-qi Han³, Juan Yang¹, Li-yan Bai², Wen-yan Zhang²,

Jin-cuo Duga¹, Yu-juan Qi¹

(1. Qinghai Provincial People's Hospital, Xining, Qinghai 810007, China; 2. Qinghai University, Xining, Qinghai 810016, China; 3. Affiliated Hospital, Qinghai University, Xining, Qinghai 810001, China)

Abstract: Objective To investigate the expressions of Bcl-2, Bax, caspase 3 and apoptotic index (AI) in Tibetan breast invasive ductal cancer, and analyze their correlations with clinicopathological characteristics. **Methods** The expressions of Bcl-2, Bax and caspase 3 were examined with immunohistochemical stain in histopathologic slides of 60 cases of Tibetan breast invasive ductal cancers and 60 cases of Tibetan breast fibrocellular tumors, and AI was detected by TUNEL method. **Results** The positive expression rates of Bcl-2, Bax, caspase 3 were 52.2%, 76.7% and 60.0% in Tibetan breast invasive ductal cancer and 81.7%, 85.0% and 80.0% in Tibetan fibrocellular tumor separately. The positive expression rates of Bcl-2 and caspase 3 in Tibetan breast invasive ductal cancer were lower than those

收稿日期: 2016-12-12

* 基金项目: 青海省自然科学基金青年项目 (No: 2012-Z-940Q)

[通信作者] 祁玉娟, E-mail: Qiyujuan1108@126.com; Tel: 13519773747

in Tibetan breast fibroma tissues ($P < 0.05$). The AI of Tibetan breast invasive ductal cancer was lower than that of Tibetan breast fibrocellular tumor tissues ($P < 0.05$). The AI was related to the diameter of tumor, TNM stage and PR in Tibetan breast invasive ductal cancer ($P < 0.05$). Bcl-2 expression in Tibetan breast invasive ductal cancer was related to the lymph node involvement and ER ($P < 0.05$), caspase 3 was related to the ER ($P < 0.05$). Bcl-2 was correlated with Bax and caspase 3 in Tibetan breast invasive ductal cancer ($P < 0.05$). **Conclusions** The expressions of Bcl-2 and caspase 3 in Tibetan breast invasive ductal cancer are lower than those in Tibetan breast fibrocellular tumor. Bcl-2 expression is correlated with Bax and caspase 3 in Tibetan breast invasive ductal cancer. The expression of Bcl-2 is also related with the lymph node involvement and ER. Apoptotic index is lower in Tibetan breast invasive ductal cancer than in breast fibrocellular tumor. AI has correlations with tumor size, TNM stage and PR, but has no correlation with the expression of Bcl-2, Bax or caspase 3 in Tibetan breast invasive ductal cancer.

Keywords: Bcl-2; Bax; caspase 3; apoptotic index; breast invasive ductal cancer; Tibetan

乳腺癌是女性常见恶性肿瘤之一，浸润性导管癌为乳腺癌最常见病理类型，研究^[1]表明乳腺癌的发病既涉及多种危险因素又涉及多种分子机制，凋亡相关基因调控异常是乳腺癌发病重要原因之一。B 细胞淋巴瘤/白血病基因-2 (B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2) 是凋亡抑制基因，Bax 是一种凋亡促进因子，细胞凋亡是通过激活特定的蛋白酶-半胱天冬酶 (Caspase) 来介导的，Caspase 是细胞凋亡的效应器，它可以和许多底物起作用，导致凋亡细胞发生特有的生化和形态学改变^[2]。凋亡异常是许多恶性肿瘤的生物学特征，肿瘤组织凋亡指数 (apoptotic index, AI) 的研究对判断肿瘤的发生、发展以及预后具有重要作用^[3]。关于乳腺癌 Bcl-2、Bax 和 Caspase 3 表达及 AI 与预后的相关性研究已多有报道，然而关于藏族乳腺浸润性导管癌凋亡机制的研究未见报道。青海是以藏族、回族及蒙古族为主的少数民族集聚地区，本研究通过免疫组织化学方法研究世居藏族乳腺浸润性导管癌和乳腺良性病变 (乳腺纤维瘤) Bcl-2、Bax 和 Caspase 3 及凋亡指数的表达，探讨世居藏族乳腺浸润性导管癌病因及凋亡机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

研究对象为 2012 年 12 月-2015 年 12 月接受手术治疗的青海地区世居藏族乳腺浸润性导管癌和藏族乳腺良性病变 (乳腺纤维瘤) 患者各 60 例。临床分期按国际抗癌联盟 2010 第 7 版 TNM 分期，T 为肿瘤的大小，N 为淋巴结转移，M 为远处转移情况。根据 Bloom-Richardson 系统方案为乳腺癌组织学分级标准。所有患者均为世居藏族妇女，生活在海拔 2 200 m 以上。所有研究对象均对实验知情同意，并签署了知

情同意书，并经医院伦理委员会批准。

1.2 试剂与仪器

Caspase 3、Bax 兔抗人单克隆抗体 (北京中山生物技术有限公司)，Bcl-2 鼠抗人单克隆抗体 (丹麦 DAKO 公司)，DAKO ChemMate EnVision 检测系统 K500711 检测试剂盒进行免疫组织化学实验，TUNEL 选用罗氏诊断试剂盒 In situ cell death detection kit-POD。

SHANDON PATHCENTRE 全自动密封式脱水机、MICROM 石蜡包埋机、切片机 MICROM HM340E、电热恒温鼓风干燥箱 (DHG-9075A)、孵育湿盒、MICROM HMS760X 染色机 (德国美康公司)，显微镜 BX43 (日本奥林巴斯公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本收集及处理 选取手术切除的新鲜乳腺浸润性导管癌和乳腺纤维瘤标本，取组织中心块，10% 中性甲醛溶液固定，行 HE 染色、免疫组织化学染色和 AI 研究。

1.3.2 HE 染色 将已固定组织标本经梯度脱水、浸蜡、包埋后，以 4 μ m 厚连续切片，常规 HE 染色。

1.3.3 免疫组织化学染色 采用免疫组织化学法，检测乳腺浸润性导管癌及乳腺纤维瘤组织 Bcl-2、Bax、Caspase 3 的表达。组织切片经高压处理，修复暴露抗原。每批染色均设阳性和阴性对照，以已知阳性切片作阳性对照，以 BPS 代替一抗作空白对照，严格按照试剂盒说明书操作，DAB 显色；苏木素轻度复染；脱水，透明，中性树脂封片；显微镜观察。

1.3.4 凋亡指数研究 凋亡细胞的检测采用原位 DNA 缺口末端标记 (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated digoxigenin-11-dUTP nick end labeling, TUNEL) 法。严格按照 TUNEL 试剂盒说明

书进行制作石蜡切片→脱蜡、水化→细胞通透→加 TUNEL 反应液→加 converter-POD →与底物 DAB 反应显色→光学显微镜计数并拍照, 分析结果; 同时实验设定阴性对照及阳性对照。

1.4 结果判定

显微镜下每个 40 倍视野至少有 200 个可用于评价的细胞。所有玻片评分是采用既可反映染色强度又可反映阳性细胞数的半定量方法。染色阴性: 0 无目标细胞染色; 染色阳性: +, 1% ~ 25% 细胞染色; ++, 26% ~ 50% 细胞染色; +++, 51% ~ 75% 细胞染色; +++++, 75% 细胞染色; 按染色的强度, 弱染色: ×40 物镜视野才能看到细胞染色; 强染色: 在 ×4 或 ×10 物镜视野能看到的细胞染色; 中等染色: 介于强与弱之间的染色。细胞凋亡阳性的判断: 以肿瘤细胞核内光镜下观察, 阳性细胞的胞核为棕黄色, 呈均匀染色或颗粒状。AI 的测定: 根据切片染色强度及肿瘤细胞中阳性细胞所占的百分比。

1.5 统计学方法

采用 SPSS17.0 软件进行统计分析, 组间比较采用 χ^2 检验、Fisher 精确概率法, 采用配对 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺浸润性导管癌 Bcl-2、Bax 及 Caspase 3 的染色情况

Bcl-2 染色阳性物质主要定位于细胞浆和细胞膜, Caspase 3 和 Bax 染色阳性物质主要定位于细胞浆和细胞核。见图 1。

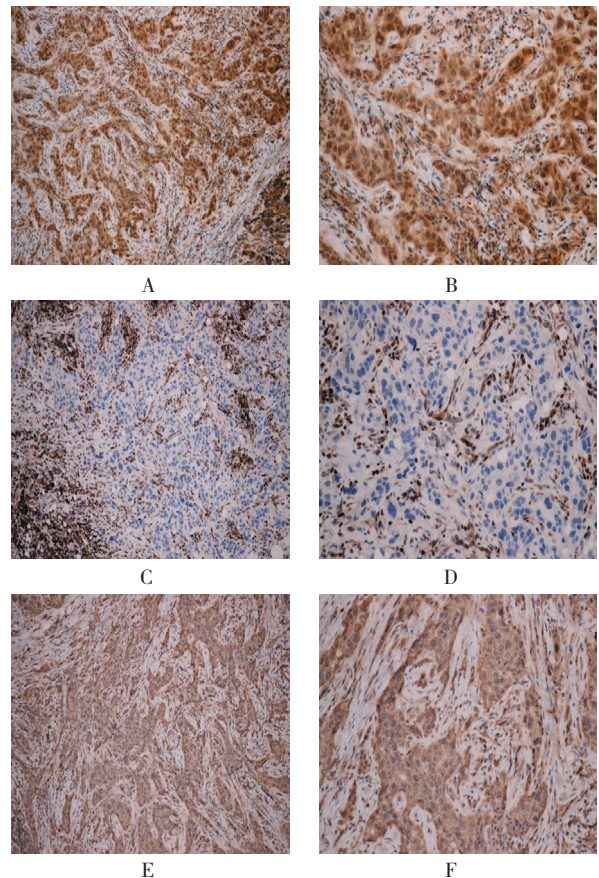
2.2 乳腺浸润性导管癌 TUNEL 的染色情况

通过光学显微镜或电子显微镜对原位凋亡细胞进行观察被认为是金标准。凋亡细胞在形态学上表现

为染色质凝聚、细胞核崩解、核膜消失, 细胞皱缩、碎裂, 凋亡小体形成等。见图 2。

2.3 乳腺浸润性导管癌及乳腺纤维瘤中 Bcl-2、Bax 和 Caspase 3 的表达

Bcl-2、Bax 及 Caspase 3 蛋白在乳腺浸润性导管癌及乳腺纤维瘤中的表达分别为 51.7% (31/60)、76.7% (46/60)、60.0% (36/60) 和 81.7% (49/60)、85.0% (51/60)、80.0% (48/60), 乳腺纤维瘤组织 Bcl-



A: Bax (×20); B: Bax (×40); C: Bcl-2 (×20); D: Bcl-2 (×40); E: Caspase 3 (×20); F: Caspase 3 (×40)

图 1 乳腺浸润性导管癌中 Bcl-2、Bax、Caspase 3 的阳性表达 (免疫组织化学染色)

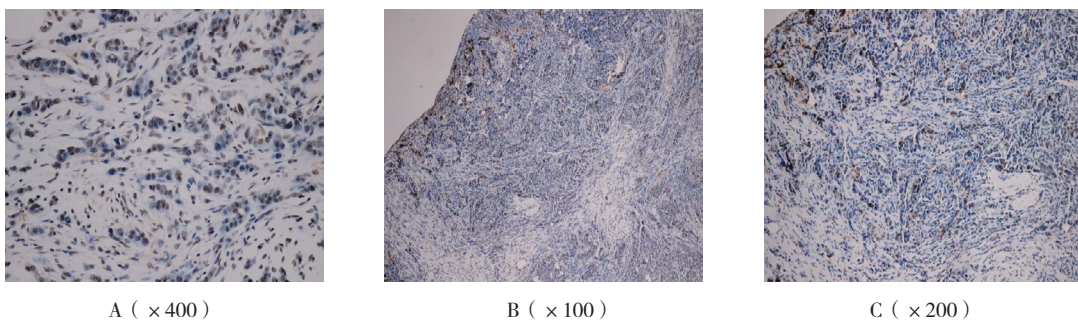


图 2 乳腺浸润性导管癌细胞形态 (TUNEL 染色)

2、Caspase 3 蛋白表达与乳腺浸润性导管癌组织比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 乳腺纤维瘤组织高于乳腺浸润性导管癌组织。见表 1。

2.4 乳腺浸润性导管癌 Bcl-2、Bax 和 Caspase 3 蛋白表达与临床病理特征

乳腺浸润性导管癌 Bcl-2 蛋白的表达与淋巴结转移、ER 表达相关 ($P < 0.05$), 与年龄、肿瘤直径、组织学分级、TNM 分期、PR 表达、Ki67 及 c-erbB-2 表达无关 ($P > 0.05$); Bax 蛋白的表达与年龄、肿瘤直径、组织学分级、TNM 分期、淋巴结转移、ER

及 PR、Ki67 及 c-erbB-2 表达均无关 ($P > 0.05$); Caspase 3 的蛋白表达与 ER 相关 ($P < 0.05$), 与年龄、肿瘤直径、组织学分级、淋巴结转移、TNM 分期、PR、Ki67 及 c-erbB-2 表达无关 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.5 乳腺浸润性导管癌 Bcl-2、Bax 和 Caspase 3 之间的关系

对 60 例乳腺浸润性导管癌 Bcl-2、Bax 和 Caspase 3 蛋白的表达进行相关性分析, 结果显示, 乳腺浸润性导管癌中 Bcl-2 与 Bax、Caspase 3 的蛋白表达相关 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 1 乳腺浸润性导管癌与乳腺纤维瘤 Bcl-2、Bax、Caspase 3 蛋白的表达 [n=60, 例(%)]

组别	Bcl-2 阳性	Bax 阳性	Caspase 3
乳腺浸润性导管癌	31 (51.7)	46 (76.7)	36 (60.0)
乳腺纤维瘤	49 (81.7)	51 (85.0)	48 (80.0)
χ^2 值	12.151	1.345	5.714
P 值	0.000	0.246	0.017

表 2 乳腺浸润性导管癌 Bcl-2、Bax、Caspase 3 的蛋白表达与临床特征

临床特征	例数	Bcl-2 阳性 例(%)	χ^2 值	P 值	Bax 阳性 例(%)	χ^2 值	P 值	Caspase 3 阳性 例(%)	χ^2 值	P 值
年龄										
≤ 35 岁	10	4 (40.0)	0.654	0.419	7 (70.0)	0.298	0.585	6 (60.0)	0.000	1.000
>35 岁	50	27 (54.0)			39 (78.0)			30 (60.0)		
肿瘤直径										
≤ 2 cm	7	3 (42.9)	3.431	0.180	5 (71.4)	1.458	0.482	4 (57.1)	1.666	0.435
2 cm < 直径 ≤ 5 cm	38	23 (60.5)			31 (81.6)			25 (65.8)		
>5cm	15	5 (33.3)			10 (66.7)			7 (46.7)		
组织学分级										
高-中分化	21	11 (52.4)	0.007	0.935	17 (80.9)	0.332	0.565	16 (76.2)	3.529	0.060
低分化	39	20 (51.3)			29 (74.4)			20 (51.3)		
TNM 分期										
I 期	3	1 (33.3)	1.944	0.378	2 (66.7)	0.178	0.915	2 (66.7)	0.714	0.700
II 期	26	16 (61.5)			20 (76.9)			17 (65.4)		
III 期	31	14 (45.2)			24 (77.4)			17 (54.8)		
淋巴结转移										
有	39	15 (38.5)	7.781	0.005	29 (74.4)	0.332	0.565	20 (51.3)	3.529	0.060
无	21	16 (76.2)			17 (80.9)			16 (76.2)		
ER										
阳性	31	20 (64.5)	4.241	0.039	24 (77.4)	0.020	0.887	23 (74.2)	5.384	0.020
阴性	29	11 (37.9)			22 (75.9)			13 (44.8)		
PR										
阳性	28	18 (64.3)	3.348	0.067	21 (75.0)	0.082	0.775	19 (67.9)	1.35	0.245
阴性	32	13 (40.6)			25 (78.1)			17 (53.1)		

续表 2

临床特征	例数	Bcl-2 阳性 例 (%)	χ^2 值	P 值	Bax 阳性 例 (%)	χ^2 值	P 值	Caspase 3 阳性 例 (%)	χ^2 值	P 值
Ki67										
≥ 14%	49	23 (46.9)	2.392	0.122	39 (79.6)	1.278	0.258	28 (57.1)	0.909	0.340
<14%	11	8 (72.7)			7 (63.6)			8 (72.7)		
c-erbB-2										
阳性	10	4 (40.0)	0.654	0.419	7 (70.0)	0.298	0.585	5 (50.0)	0.500	0.480
阴性	50	27 (54.0)			39 (78.0)			31 (62.0)		

表 3 乳腺浸润性导管癌 Bcl-2 与 Caspase 3 的相关性分析

项目	Caspase 3		Bax	
	阳性	阴性	阳性	阴性
Bcl-2				
阳性	27	4	29	2
阴性	9	20	17	12
χ^2 值	19.62		10.22	
P 值	0.000		0.001	
r 值	0.572		0.413	

表 4 乳腺浸润性导管癌与乳腺纤维瘤 凋亡指数 [n=60, 例 (%)]

组别	AI	
	阳性	阴性
乳腺浸润性导管癌	37 (61.2)	23 (38.8)
乳腺纤维瘤	50 (83.3)	10 (18.3)
χ^2 值	7.064	
P 值	0.008	

2.6 乳腺浸润性导管癌与乳腺纤维瘤 AI 比较

乳腺浸润性导管癌 AI 阳性率与乳腺纤维瘤比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 乳腺浸润性导管癌 AI 阳性率低于乳腺纤维瘤。见表 4。

2.7 乳腺浸润性导管癌 AI 与临床病理特征

乳腺浸润性导管癌 AI 与肿瘤直径、TNM 分期、PR 表达相关 ($P < 0.05$), 与年龄、淋巴结转移、组织学分级、ER 表达、Ki67 及 c-erbB-2 表达无关 ($P > 0.05$)。见表 5。

表 5 乳腺浸润性导管癌 AI 与临床病理特征

临床特征	例数	AI 例 (%)		χ^2 值	P 值
		阳性	阴性		
年龄					
≤ 35 岁	10	6 (60.0)	4 (40.0)	0.014	0.905
>35 岁	50	31 (62.0)	19 (38.0)		
肿瘤直径					
≤ 2 cm	7	4 (57.1)	3 (42.9)	21.709	0.000
<2 cm 但 ≤ 5 cm	38	23 (60.5)	15 (39.5)		
>5 cm	15	10 (66.7)	5 (33.3)		
组织学分级					
高 - 中分化	21	12 (57.1)	9 (42.9)	0.280	0.597
低分化	39	25 (64.1)	14 (35.9)		
TNM 分期					
I 期	3	1 (33.3)	2 (66.7)	18.368	0.000
II 期	26	15 (57.7)	11 (42.3)		
III 期	31	21 (67.7)	10 (32.3)		

续表 5

临床特征	例数	AI 例 (%)		χ^2 值	P 值
		阳性	阴性		
淋巴结转移					
有	39	21 (53.8)	18 (46.2)	2.883	0.090
无	21	16 (76.2)	5 (23.8)		
ER					
阳性	31	16 (51.6)	15 (48.4)	2.742	0.098
阴性	29	21 (72.4)	8 (27.6)		
PR					
阳性	28	13 (46.4)	15 (53.6)	5.157	0.023
阴性	32	24 (75)	8 (25)		
Ki67					
$\geq 14\%$	49	33 (67.3)	16 (32.7)	3.648	0.056
$<14\%$	11	4 (36.4)	7 (63.6)		
c-erbB-2					
阳性	10	6 (60.0)	4 (40.0)	0.014	0.905
阴性	50	31 (62.0)	19 (38.0)		

2.8 乳腺浸润性导管癌 AI 与 Bcl-2、Bax 和 Caspase 3 的相关性

对乳腺浸润性导管癌 AI 与 Bcl-2、Bax 和

Caspase 3 蛋白的表达进行相关性分析, 结果显示, 乳腺浸润性导管癌 AI 与 Bcl-2、Bax、Caspase 3 的蛋白表达无关 ($P > 0.05$)。见表 6。

表 6 乳腺浸润性导管癌 Bcl-2、Bax、Caspase3 的表达与 AI 相关性分析 例 (%)

项目	AI		χ^2 值	P 值
	阳性	阴性		
Bcl-2				
阳性	24 (77.4)	7 (22.6)	1.250	0.260
阴性	13 (44.8)	16 (55.2)		
Bax				
阳性	30 (65.2)	16 (34.8)	2.783	0.095
阴性	7 (50.0)	7 (50.0)		
Caspase 3				
阳性	29 (80.6)	7 (19.4)	0.067	0.800
阴性	8 (33.3)	16 (66.7)		

3 讨论

藏族是世居青藏高原的独特民族, 由于居住区域偏远, 预防、保健知识普及率低, 乳腺癌诊断后分期偏晚, 预后差。笔者对乳腺癌的前期研究发现^[4], 缺氧可以对肿瘤增殖和转移有较强的促进作用, 改善缺

氧信号通路可以抑制肿瘤的增殖和迁徙, 青海地区的高寒、缺氧环境, 以及藏族族内通婚习俗, 加之世代居住高原地区的环境特点与高原特殊民族乳腺癌的发病机制迫切需要研究。

凋亡在肿瘤的发生、发展中扮演重要的角色, 肿

瘤的发生过程中机体对于凋亡的调节发生紊乱,导致凋亡促进因子与抑制凋亡因子之间平衡打破,造成肿瘤细胞的恶性增殖。Bcl-2 基因是一种原癌基因,最初是在非霍奇金滤泡性淋巴瘤 t(14, 18) 染色体易位的断点上被发现的;主要存在于线粒体膜、滑面内质网和核膜上,通过稳定膜蛋白和减少细胞膜的通透性,抑制 CytC、Caspase 等凋亡诱导因子的释放。Bcl-2 家族蛋白对线粒体的凋亡起重要调控的作用^[5],包括抑制和促进细胞凋亡两类功能相反的蛋白质。Bax 是 1993 年由 OLTVAI 等^[6]在人和鼠 B 细胞中发现的与 Bcl-2 共沉淀的一种促凋亡蛋白,位于染色体 19q13.3~9q13.4。Bcl-2 和 Bax 是 Bcl-2 蛋白家族重要成员,Bcl-2 蛋白能阻止由多种因素诱导的细胞凋亡,与凋亡促进基因 Bax 拮抗,抑制细胞色素 C 自线粒体释放至胞质,阻止胞质细胞色素 C 对 Caspase 3 的激活。

Bcl-2 蛋白功能失调是乳腺癌形成的 1 个重要机制。国外研究报道^[7]Bcl-2 在浸润性乳腺癌中的表达率为 60% ~ 80%,张印春等^[8]报道天津平原地区乳腺癌浸润性导管癌及其癌旁组织中的 Bcl-2、Bax 表达率分别为 78.8%、74.1% 和 58.8%、67.1%,差异有统计学意义。陈建生^[9]等研究重庆地区 Bcl-2 在乳腺纤维瘤及乳腺癌的表达分别为 80% 及 61.25%,Bcl-2 在乳腺癌组织学分级 I、II、III 级中表达阳性率分别为 84.61%、58.69%、12.5%,差异有统计学意义。本研究发现藏族乳腺癌和藏族纤维瘤 Bcl-2、Bax 和 Caspase 3 的表达率分别为 52.2%、76.7%、60.0% 和 81.7%、85.0%、80.0%,藏族乳腺纤维瘤组织 Bcl-2、Caspase 3 蛋白表达高于藏族乳腺癌组织,差异有统计学意义,与部分平原地区的研究报道一致。研究报道浸润性乳腺癌中 Bcl-2 的表达和雌、孕激素受体的表达水平呈正相关,与表皮生长因子受体、c-erbB-2、P53 呈负相关^[10]。姜楠^[11]等在北京地区妇女乳腺癌的研究显示 Bcl-2 的表达为 82.7%,与年龄、绝经状况和肿瘤位置有关。本研究中藏族乳腺浸润性导管癌 Bcl-2 的表达与淋巴结转移负相关、ER 阳性表达相关,与年龄、肿瘤大小、分期、组织学分级、ki-67 及 c-erbB-2 表达无相关性。

CHANDRIKA 等^[12]研究发现,相比定位于线粒体外膜上的 Bcl-2 蛋白,内质网膜上的 Bcl-2 主要靠热休克蛋白 27 磷酸化的增强及抑制死亡酶 (Caspase 9) 活性延长细胞存活期。所以 Bcl-2 表达调节机制复杂,不仅与染色体易位有关,而且雌激素、COX2、BP1、E-

钙黏蛋白、EGFR 等多种因素可能参与其中。庞雪利等^[13]研究认为,乳腺癌 MCF-7 细胞中 IL-8 受体 CXC 趋化因子受体 CXCR1、CXCR2 均有表达;IL-8 抑制 MCF-7 细胞凋亡的机制可能与 IL-8 激活 PI3K/AKT 信号通路而上调 Bcl-2、下调 Caspase-3 的表达有关。所以笔者考虑在下一步的研究中扩大样本验证结果,对 Bcl-2 的表达在三阴和非三阴乳腺癌分层分析,同时需要考虑 Bcl-2 的表达与以上多种因素的相关性,当然更要思考藏族乳腺浸润性导管癌的发生机制与长期的高原缺氧环境其凋亡机制、肿瘤微环境与平原地区发病是否有所不同。

细胞凋亡是通过激活特定的 Caspase 来介导的。Caspase 是细胞凋亡的效应器,它可以和许多底物起作用,导致凋亡细胞发生特有的生化和形态学改变,包括线粒体外膜通透性的改变、细胞骨架重排、磷酸酰丝氨酸的暴露和 DNA 断裂等^[14]。王进京等^[15]对天津妇女乳腺癌研究发现,Caspase 3 蛋白在乳腺浸润性导管癌、导管内癌、增生症中的表达均高于癌旁组织,Caspase 3 蛋白的表达与肿瘤的大小、淋巴结转移数目、患者年龄均无统计学意义。本研究发现,Caspase 3 蛋白在乳腺纤维瘤组织表达高于乳腺浸润性导管癌组织,差异有统计学意义,Caspase 3 的表达与 ER 阳性表达正相关,Bcl-2 与 Bax、Caspase 3 的表达相关。藏族乳腺浸润性导管癌组织中 AI 阳性率低于乳腺纤维瘤,且 AI 与肿瘤直径、TNM 分期、PR 表达相关,魏琼英^[16]等研究报道非小细胞肺癌组织 AI 低于癌旁肺组织且与淋巴结转移相关。

乳腺癌是个复杂的疾病,涉及到多种分子间调控的异常,本研究结合地区的特殊自然环境和人群特点,通过青海地区世居藏族乳腺浸润性导管癌及乳腺良性病变的研究,为探讨少数民族乳腺癌的发病机制研究、评估预后、靶向治疗和个体化治疗方案的制定奠定理论基础。

参 考 文 献:

- [1] 龚力,赵敏,陶莘,等.不同分子亚型乳腺癌危险因素病例对照研究[J].现代预防医学,2016,43(4):631-634.
- [2] 郑天胜,李翔.线粒体凋亡通路的研究进展[J].医学综述,2013,19(18):3282-84.
- [3] POLKINGHORNE K R, SENEVIRATNE M, KERR P G, et al. Effect of a vascular access nurse coordinator to reduce central venous use in incident hemo-dialysis patients: a quality improvement report[J]. Am J Kidney Dis, 2009, 53(10): 99-106.
- [4] YUJUAN Q I, SEN CUI, DIANXIANG L U, et al. Effects of the

- aqueous extract of a Tibetan herb, *Rhodiola algida* Var. *tangutica* on proliferation and HIF-1 α , HIF-2 α expression in MCF-7 cells under hypoxic condition in vitro[J]. *Cancer Cell International*, 2015, 15(1): 81-89.
- [5] TISCHNER D, WOESS C, OTTINA E, et al. Bcl-2-regulated cell death signalling in the prevention of autoimmunity[J]. *Cell Death Dis*, 2010, 1(6): e48
- [6] OLTVAI ZN1, MILLIMAN C L, KORSMEYER S J. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death[J]. *Cell*, 1993, 74(4): 609-619.
- [7] HWANG K T, WOO J W, SHIN H C, et al. Prognostic influence of BCL-2 expression in breast cancer[J]. *Int J Cancer J*, 2012, 131(7): E1109-1119.
- [8] 张印春, 张丽娜, 齐立强, 等. 乳腺浸润性导管癌组织中 Bag-1、Bcl-2、Bax 的表达变化及意义 [J]. *山东医药*, 2012, 52(2): 60-61.
- [9] 陈建生, 孙治君, 于冰. 凋亡相关基因 bcl-2、Bad 在乳腺癌中的表达及意义 [J]. *重庆医科大学学报*, 2009, 34(6): 702-704.
- [10] LEE K H, IM S A, OH D Y, et al. Prognostic significance of bcl-2 expression in stage III breast cancer patients who had received doxorubicin and cyclophosphamide followed by paclitaxel as adjuvant chemotherapy[J]. *BMC Cancer*, 2007, 7: 63.
- [11] 姜楠, 颜承平, 刘晋红, 等. 乳腺癌组织中雌孕激素受体、C-erbB-2、P53、bcl-2 及 pS2 的表达及意义 [J]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2010, 11(4): 2127-2129.
- [12] CHANDRIKA B B, MANEY S K, LEKSHMI S U, et al. Endoplasmic reticulum targeted Bcl-2 confers long term cell survival through phosphorylation of heat shock protein 27[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(12): 1984-1992.
- [13] 庞雪利, 李矿发, 魏兰, 等. IL-8 通过上调 Bcl-2 的表达和下调 caspase-3 的表达抑制 MCF-7 乳腺癌细胞凋亡 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2015, 31(3): 307-310.
- [14] MIRZAYANS R, ANDRAIS B, KUMAR P, et al. The growing complexity of cancer cell response to DNA-damaging agents: caspase3 mediates cell death or survival[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(5): 708-710.
- [15] 王进京, 孙保存. 乳腺癌中 caspase-3 和 caspase-9 的表达及其意义 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2012, 28(4): 378-380.
- [16] 魏琼英. 57 例非小细胞肺癌组织凋亡指数的分析 [J]. *中外医学研究*, 2015, 29(13): 7-8.

(张蕾 编辑)