

• 论 著 •

法尼酯 X 受体 FXR 在乳腺浸润性导管癌中的表达

印永祥¹, 张 岩², 赵 华¹

(南京医科大学附属无锡市妇幼保健院:1. 病理科, 2. 药剂科 214002)

摘要:目的 探讨法尼酯 X 受体(FXR)在乳腺浸润性导管癌组织中的表达。方法 用免疫组织化学 MaxVision 法检测 FXR、雌激素 ER、孕激素 PR 在 10 例正常乳腺组织和 34 例乳腺浸润性导管癌组织中的表达。结果 FXR 在正常乳腺组中阳性率 100%, 浸润性导管癌中阳性率 55.88%。FXR 蛋白表达与年龄、病理分级无明显关系($P > 0.05$), 与淋巴结未转移组比较, 有淋巴结转移组高表达 FXR 蛋白($P < 0.05$)。FXR 蛋白与 ER 蛋白表达呈显著正相关($r = 0.373, P < 0.05$); PR 蛋白高表达时, 虽 FXR 蛋白也高表达, 但无相关性($r = 0.206, P > 0.05$)。结论 FXR 高表达可能促进乳腺癌淋巴结转移, FXR 与 ER 雌激素表达呈显著正相关。

关键词:癌, 导管, 乳腺; 免疫组织化学; 淋巴转移**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2011.01.017**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2011)01-0036-02

Expression of farnesoid X receptor in mammary invasive duct carcinomas

Yin Yongxiang¹, Zhang Yan², Zhao Hua¹

(1. Department of Pathology, the Affiliated Maternity and Child Health Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi 214002, China; 2. Pharmacy of the Affiliated Maternity and Child Health Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi 214002, China)

Abstract: Objective To detect the expression of farnesoid X receptor(FXR) in mammary invasive duct carcinomas. **Methods** The protein expressions of FXR, ER and PR in 34 cases of mammary invasive duct carcinomas were detected by immunohistochemistry(MaxVision assay). **Results** Positive expression rates of FXR, ER and PR were 55.58%, 67.65% and 70.59% in mammary invasive duct carcinomas respectively. Positive expression rates of FXR in normal breast tissue were 100%. FXR expression level showed no statistical correlation with pathological grading and age. The expression of FXR had a significantly correlation with lymph node metastasis($P < 0.05$). The expression of FXR was positively associated with ER($r = 0.373, P < 0.05$). the expression of FXR increased with the expression of PR, but there was no significant association between FXR expression and PR($r = 0.206, P > 0.05$). **Conclusion** The increasing expression of FXR may play an important role in the metastasis of invasive breast cancer. FXR expression significantly correlated with estrogen receptor(ER)

Key words:mammary invasive duct carcinomas; FXR; ER; PR; lymph node metastasis

乳腺癌的发生、发展为多基因参与和多阶段协同作用的结果。如何进一步了解其分子特征, 为临床提供更多有关治疗、预后的信息是目前研究的热点。法尼酯衍生物 X 受体(FXR), 又称为 NR1H4, 属于核受体超家族成员。FXR 调控一系列代谢相关基因的表达, 在胆酸、胆固醇、三酰甘油及糖代谢中发挥重要作用。FXR 在乳腺癌的表达情况国内外报道尚较少。本研究对乳腺浸润性导管癌组织中 FXR 和 ER、PR 蛋白表达进行分析, 以探讨 FXR 表达在乳腺浸润性导管癌的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 病例来自于南京医科大学附属无锡市妇幼保健本院 2007~2009 年的 34 例女性乳腺浸润性导管癌(IDC)患者。年龄 25~79 岁, 中位年龄 50 岁。所有患者均未进行过新辅助化疗。病理诊断、分级参照 2003 年 WHO 世界卫生组织乳腺肿瘤组织学分类标准进行, IDC 组织学分级: I ~ II 级 22 例, III 级 12 例。另取 10 例乳腺纤维腺瘤旁正常乳腺组织为对照组。全部材料经 10% 中性福尔马林固定, 常规脱水、石蜡包埋, 切片。

1.2 试剂及方法 兔抗人 FXR 多克隆抗体(SC.13063)购自 SantaCruz 公司, 兔抗人单克隆抗体 ER, 兔抗人单克隆抗体 PR 购于北京中杉金桥生物技术公司。抗原经柠檬酸(pH6.0)高压修复, 检测系统 MaxVision 及 DAB 购于福州迈新生物技术

公司, 苏木素复染, 中性树胶封片。

1.3 免疫组化结果判断标准 以公司提供的阳性片作阳性对照, 以抗体稀释液代替一抗作阴性对照, HE 染色作组织学对照。每张切片由 2 名观察者双盲交换判断。FXR 蛋白阳性表达为正常导管上皮细胞或肿瘤细胞, 细胞核或胞质呈棕黄色; ER、PR 蛋白阳性表达为肿瘤细胞, 细胞核呈棕黄色。对实验结果进行半定量判定: 染色强度依次为 0 分(无色)、1 分(淡黄色)、2 分(棕黄色)、3 分(棕褐色); 染色范围以染色细胞所占的百分比评分: 阳性细胞小于或等于 10% 为 0 分, 11%~50% 为 1 分, 51%~75% 为 2 分, 大于 75% 为 3 分, 染色强度和阳性百分比的乘积为免疫组化结果: 0 分为(-), 1、2 分为(+), 3、4 分为(++)+, 6、9 分以上为(+++)。1 分为阴性, (+~++) 为阳性。

1.4 统计学处理 用 SPSS13.0 统计软件包进行统计分析。进行非参数 Mann-Whitney Test 进行分析和 Spearman 等级相关分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 FXR 在不同乳腺组织的表达 FXR 定位在乳腺导管上皮细胞或癌细胞核和胞质内, 点状或弥漫分布。在 10 例正常乳腺组中阳性率 100%, 浸润性导管癌中阳性率 55.88%, 见表 1。

2.2 FXR 蛋白在浸润性导管癌表达与年龄、病理分级及 ER、PR 的关系 FXR 蛋白表达与年龄、病理分级无明显关系($P >$

0.05),与淋巴结未转移组比较,有淋巴结转移组高表达 FXR 蛋白($P > 0.05$)。FXR 蛋白与 ER 蛋白表达呈显著正相关($r = 0.373, P < 0.05$),PR 蛋白高表达时,虽 FXR 蛋白也高表达,但无相关性($r = 0.206, P > 0.05$),见表 2、3。

表 1 FXR 在不同乳腺组织中的表达

组别	n	FXR			阳性率(%)
		-	+~++	+	
正常乳腺组织	10	0	10	100*	
浸润性导管癌	34	15	19	55.88*	

注:与正常乳腺组织相比较,* $P < 0.05$ 。

表 2 FXR 在浸润性导管癌中的表达

临床病理特征	n	FXR		
		-	+~++	+
年龄(岁) <50	19	10	9	
≥50	15	5	10	
病理分级 I ~ II 级	22	9	13	
III 级	12	6	6	
淋巴结是否转移 有	19	4	15*	
无	15	11	4*	

注:与淋巴结未转移组比较,* $P < 0.05$ 。

表 3 FXR 与 ER、PR 的相关性分析

项目	n	FXR	
		阴性(-)	阳性(+)
ER 阳性	23	5	18
阴性	11	7	4
PR 阳性	24	9	15
阴性	10	6	4

3 讨 论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,流行病学上其发病率与高脂饮食相关,高脂饮食会大量增加机体内胆汁酸。FXR 是细胞核受体超家族成员,调节胆汁酸内环境稳定。FXR 和癌细胞之间的关系逐渐成为 1 个新的研究热点,多项研究证明,FXR 激动剂可有抑癌作用^[1]。FXR 有可能作为多种疾病的药靶,是 1 种代谢调节者和细胞保护者^[2]。

最近张超峰和王坚^[3]发现,FXR 在胆管癌、阴性切缘和正常胆管组织中均有表达。在癌旁无瘤切缘和正常胆管组织中的表达显著高于癌组织,说明了 FXR 可能是机体的保护性核受体。FXR 与乳腺癌的研究近年来也得到重视,Swales 等^[4]首次发现在乳腺癌组织和癌旁正常组织中均检测到高水平的 FXR 表达。研究表明,与乳腺纤维腺瘤旁正常乳腺组织比较,乳腺浸润性导管癌 FXR 表达也显著降低。有可能 FXR 被激活后向核内转移,调节下游靶基因的转录,FXR 的表达降低,激活受到抑制,使下游靶基因的表达发生改变,从而导致肿瘤的形成^[5]。

目前 FXR 与乳腺癌的研究结果不一。1 项对于绝经后妇女新发乳腺癌的研究表明,血浆中脱氧胆酸(DCA)水平增高,此外乳管内鹅脱氧胆酸(CDCA)的水平也增高,可作为 1 个独立的危险因素^[5-6]。应用 FXR 激动剂可诱导乳腺癌、结肠癌等细胞的凋亡^[7]。体外细胞实验发现,FXR 激动剂 CDCA 和

GW4064 能在体外诱导乳腺癌细胞株 MCF-7 和 MDA-MB-468 出现凋亡。FXR 的激活下调了靶基因 MRP1 和 SLC7A5,由于 SLC7A5 是提供特定必需氨基酸并促进肿瘤细胞增殖的重要因子,因此 FXR 的活化有抗增殖的效果^[4]。通过高浓度的配位体激活 FXR,可诱导乳腺癌细胞株 MCF-7 和 MDA-MB-468 凋亡,低浓度则无直接效应;FXR 效应剂 GW4064 在 mRNA 水平上诱导 FXR 靶基因、小异源二聚体、肠胆汁酸结合蛋白、多药抗药性相关蛋白 2 表达和抑制小异源二聚体靶基因芳香化酶^[4]。而 Silva 等^[8]从 MG63 成骨细胞或骨组织释放的胆汁酸脱氧胆酸盐(DCA)促进细胞存活和诱导 MDA-MB-231 乳腺癌细胞转移,FXR 拮抗剂 Z-香胶甾酮可阻止细胞转移和诱导凋亡。

在乳腺癌的发生、发展中,雌激素可以促进乳腺癌的形成、乳腺癌细胞的增殖、细胞周期转化和抑制细胞凋亡以及抗氧化作用,其信号转导机制涉及的通路,主要包括雌激素受体基因信号转导通路和雌激素受体非基因信号转导通路^[9]。本研究数据表明,FXR 蛋白与 ER 蛋白表达呈显著正相关,PR 蛋白高表达时,虽 FXR 蛋白也高表达,但无相关性,与 Journe 等^[10]报道相符。有趣的是,首先发现在乳腺浸润性导管癌中,FXR 蛋白表达与年龄、病理分级无明显关系;与淋巴结未转移组相比,淋巴结转移组高表达 FXR 蛋白。FXR 在肿瘤环境中可能通过某种机制反过来促进癌细胞转移。体外实验表明,CDCA 仅在无类固醇基质、FXR 基因沉默和 ER 丧失中刺激 ER 阳性的细胞增殖,CDCA 激活的 FXR 可与 ER 相互作用,ER 阳性的乳腺癌经 FXR 和 ER 相互作用可刺激增殖^[10]。低浓度的脱氧胆酸(DCA)可通过 FXR 促进乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的生长和转移;骨是乳腺癌转移最常见的部位,MG63 成骨细胞和人类骨组织含有 DCA,FXR 核转移伴随着尿激酶型纤溶酶原激活物(uPA)和编队的 F-肌动蛋白(F-actin)增多,uPA 和 F-actin 是乳腺癌转移的重要因子,提示与乳腺癌细胞结合的 uPA 受体自我推动其迁移和转移到骨组织^[8]。FXR 激活剂呢醇通达 FXR 介导的 ER 受体活性促进 MCF-7 乳腺癌细胞生长^[11]。

FXR 与乳腺癌的关系尚不明确,可能是 1 种代谢调控与肿瘤之间的全新机制,FXR 有复杂的特性,FXR 的低表达可能是乳腺癌形成的机制之一,在乳腺癌中 FXR 如何促进癌细胞转移,其内在机制有待于进一步的探索。

参考文献

- Zimber A, Gespach C. Bile acids and derivatives, their nuclear receptors FXR, PXR and ligands: role in health and disease and their therapeutic potential[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2008, 8(5): 540-563.
- Yan DW, Wei DC, David DM, et al. FXR: a metabolic regulator and cell protector[J]. Cell Research, 2008, 18(11): 1087-1095.
- 张超峰,王坚. 法尼酯 X 受体在胆管癌中的表达特点[J]. 外科理论与实践, 2009, 14(2): 171-173.
- Swales KE, Korbonits M, Carpenter R, et al. The farnesoid X receptor is expressed in breast cancer and regulates apoptosis and aromatase expression[J]. Cancer Res, 2006, 66(20): 10120-10126.
- Costarelli V, Sanders TA. Plasma deoxycholic acid concentration is elevated in postmenopausal (下转第 39 页)

(上接第 37 页)

- women with newly diagnosed breast cancer[J]. Eur J Clin Nutr, 2002, 56(9):925-927.
- [6] Javitt NB, Budai K, Miller DG, et al. Breast-gut connection; origin of chenodeoxycholic acid in breast cyst fluid [J]. Lancet, 1994, 343(8898):633-635.
- [7] Li YT, Swales KE, Thomas GJ, et al. Farnesoid X receptor ligands inhibit vascular smooth muscle cell inflammation and migration[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 27(12):2606-2611.
- [8] Silva J, Dasgupta S, Wang G, et al. Lipids isolated from bone induce the migration of human breast cancer cells [J]. J Lipid Res, 2006, 47(4):724-733.
- [9] 李苏华, 邓华瑜. 雌激素对乳腺癌细胞的作用及其信号转

导机制[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(4):344-346.

- [10] Journe F, Durbecq V, Chaboteaux C, et al. Association between farnesoid X receptor expression and cell proliferation in estrogen receptor-positive luminal-like breast cancer from postmenopausal patients[J]. Breast Cancer Res Treat, 2009, 115(3):523-535.
- [11] Journe F, Laurent G, Chaboteaux C, et al. Farnesol, a mevalonate pathway intermediate, stimulates MCF-7 breast cancer cell growth through farnesoid-X-receptor-mediated estrogen receptor activation[J]. Breast Cancer Res Treat, 2008, 107(1):49-61.

(收稿日期:2010-05-12)