

• 临床检验研究论著 •

Bmi-1 基因表达与浸润性乳腺导管癌临床病理特征的关系

沈丽娟¹, 钟芳芳¹, 倪 勇¹, 吴平平²

(1. 安徽省芜湖市中医院病理科基因诊断实验室, 安徽芜湖 241000;

2. 安徽省芜湖市二院病理科, 安徽芜湖 241000)

摘 要:目的 研究浸润性乳腺导管癌及癌旁组织中 Bmi-1 基因表达水平及差异, 及其与浸润性乳腺导管癌临床病理特征的关系。方法 应用实时荧光定量 PCR 检测 82 例浸润性乳腺导管癌患者手术切除癌组织及相应癌旁组织中的 Bmi-1 mRNA, 比较两者间表达的差异; 研究基因表达水平与年龄、肿瘤大小、TNM 分期、组织分化程度、淋巴结转移等临床病理特征的关系和相关性。结果 Bmi-1 mRNA 在浸润性乳腺导管癌及癌旁组织中均可检出, 癌组织中的基因表达水平显著高于癌旁组织 ($P=0.001$)。Bmi-1 基因表达水平与年龄无关, 与肿瘤大小、肿瘤组织分化程度、有无淋巴结转移相关。结论 Bmi-1 基因的高表达与浸润性乳腺导管癌的侵袭和发展相关, 其检测结果可作为浸润性乳腺导管癌早期诊断及预后的分子水平参考指标。

关键词: 浸润性乳腺导管癌; 聚合酶链反应; 预后

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.15.023

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)15-2021-03

Relation between Bmi-1 gene expression and clinicopathological characteristics in breast infiltrating ductal carcinoma

Shen Lijuan¹, Zhong Fangfang¹, Ni Yong¹, Wu Pingping²

(1. Gene Diagnosis Room, Department of Pathology, Wuhu Mnicipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhu, Anhui 241000, China; 2. Department of Pathology, Wuhu Municipal Second Hospital, Wuhu, Anhui 241000, China)

Abstract: Objective To investigate the Bmi-1 gene expression level and difference in breast infiltrating ductal carcinoma and pericarcinomatous tissue and its relation with the clinicopathological characteristics of breast infiltrating ductal carcinoma. **Methods**

The tissue specimens were obtained from the resected carcinoma tissue and corresponding pericarcinomatous tissues in 82 patients with breast infiltrating ductal carcinoma and Bmi-1 mRNA was detected by using the real-time quantitative reverse transcriptional PCR (qRT-PCR). The expression differences between them were compared; the relation and the correlation between the gene expression with the clinicopathological characteristics of the age, tumor size, TNM staging, histodifferentiation degree and lymphatic metastasis were studied. **Results** Bmi-1 mRNA could be detected in breast infiltrating ductal carcinoma and pericarcinomatous tissue, and the gene expression level in the carcinoma tissue was significantly higher than that in the pericarcinomatous tissues ($P=0.001$). The expression level of Bmi-1 gene had no relation with the age and was correlated with the tumor size, tumor's differentiation degree and lymphatic metastasis. **Conclusion** The high expression of Bmi-1 gene is correlated with the invasion and progress of breast infiltrating ductal carcinoma, its detection results could be used as the reference index in the molecular level for the early diagnosis of breast infiltrating ductal carcinoma and prognosis.

Key words: primary invasive ductal breast cancer; polymerase chain reaction; prognosis

Bmi-1 蛋白作为一种广泛表达核蛋白, 已被证明在胃癌、非小细胞型肺癌、B 细胞非何杰金淋巴瘤等肿瘤中高表达, Bmi-1 基因在多种肿瘤中被认为是一种癌基因。目前关于 Bmi-1 与肿瘤的相关性及作为肿瘤预后指标的研究逐渐成为热点^[1-3]。然而, 乳腺癌中 Bmi-1 基因表达水平检测, 及其与临床病理特征关系的报道目前国内已有报道。本研究采用实时荧光定量 RT-PCR 和相对定量分析法检测 Bmi-1 mRNA 在浸润性乳腺导管癌及癌旁组织中的表达水平, 并分析 Bmi-1 基因表达水平与患者临床病理学特征之间的关系, 探讨 Bmi-1 基因表达水平在浸润性乳腺导管癌患者预后中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 82 例浸润性乳腺导管癌及癌旁组织(距离肿瘤边缘大于或等于 2 cm)标本来源于 2012 年 6~12 月芜湖市中医院, 芜湖市二院, 弋矶山医院乳腺癌手术的患者, 并且上述

患者均经病理检测证实。患者平均年龄 51.5 ± 10.6 岁(33~82 岁); 平均肿瘤最大直径 (2.52 ± 1.32) cm(0.3~10.0 cm); 低分化癌 8 例, 中高分化癌 74 例; 有淋巴结转移 48 例, 无淋巴结转移 34 例。

1.2 仪器与试剂 RNA 提取试剂盒购自 Qiagen 公司, Real Time qRT-PCR 试剂盒购自大连宝生物工程有限公司, Bmi-1、GAPDH 引物均由上海赛百盛公司合成。PCR 扩增仪为 ABI7500, 紫外分光光度计为日本岛津公司产品(UV-3200)。

1.3 方法

1.3.1 总 RNA 提取与定量 在液氮速冻条件下将标本组织磨成粉末, 趁液氮尚未挥发时, 把组织粉末转移到 1.5 mL eppendorf 管中, 使用 RNeasy Mini Kit 试剂盒, 按照操作说明书提取总 RNA。紫外分光光度计测定提取总 RNA 浓度, A260/A280 比值在 1.8~2.0, -80℃ 保存备用。

1.3.2 cDNA 的合成 取 500 ng 总 RNA 在 25 μ L 反应体系中逆转录成 cDNA,该反应体系组成如下:10 \times RT 缓冲液 5 μ L,oligo dT(18) 1 μ L,dNTP 3 μ L,RNase Inhibitor 1 μ L,M-MLV 逆转录酶 1 μ L,加入 DEPC 处理水至 25 μ L。70 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,42 $^{\circ}$ C 孵育 60 min,-20 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.3.3 PCR 反应 按试剂盒操作程序进行。反应体系为 20 μ L,包括 cDNA 2 μ L,SYBR green Premix Ex Taq II 10 μ L,上、下游引物(10 μ mol/L) 各 0.8 μ L,ROX Reference Dye II 0.4 μ L。Bmi-1 上游引物为 5'-GCT GCC AAT GGC TCT AAT GAA-3',下游引物为 5'-TGC TGG GCA TCG TAA GTA TCT T-3',产物长度 189 bp;GAPDH 上游引物为 5'-GCA CCG TCA AGG CTG AGA AC-3',下游引物为 5'-TGG TGA AGA CGC CAG TGG A-3',产物长度 138 bp。反应条件:预变性 95 $^{\circ}$ C 30 s,95 $^{\circ}$ C 5 s,60 $^{\circ}$ C 35 s,35 个循环。融解曲线分析为 95 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 1 min,95 $^{\circ}$ C 15 s。根据融解曲线峰型评价 PCR 扩增产物的特异性。

1.3.4 结果判定 采用 Relative Quantification 检测模式,软件分析结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件,运用配对 *t* 检验、Mann-Whitney 检验及相关分析方法,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 浸润性乳腺导管癌及癌旁组织中 Bmi-1 基因的表达 经扩增效率一致性分析,Bmi-1 基因和内参照基因的扩增效率基本一致。癌组织中 Bmi-1 mRNA 的相对表达量为 2.37 \pm 0.25 (1.89~2.97);癌旁组织中 Bmi-1 mRNA 的相对表达量为 0.33 \pm 0.13(0.11~0.54);Bmi-1 mRNA 在癌组织与癌旁组织中的表达水平差异有统计学意义(*P*=0.001),见图 1。

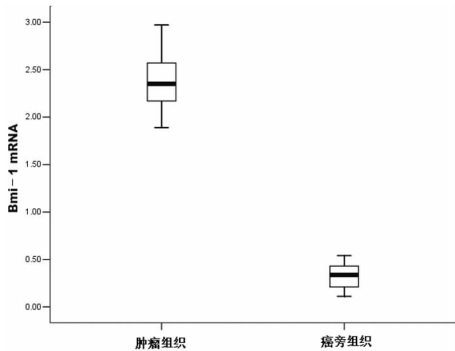


图 1 乳腺癌及其癌旁组织标本中 Bmi-1 表达水平

表 1 乳腺癌中 Bmi-1 表达水平与临床病理特征的关系

临床病理指标	<i>n</i>	Bmi-1 mRNA(相对表达值)	
		肿瘤组织	癌旁组织
年龄(岁)			
≤50	47	2.34±0.04	0.31±0.02
>50	35	2.41±0.04	0.37±0.02
肿瘤直径(cm)			
≤2	42	2.21±0.03	0.24±0.01
>2	40	2.55±0.03	0.44±0.01
分化程度			

续表 1 乳腺癌中 Bmi-1 表达水平与临床病理特征的关系

临床病理指标	<i>n</i>	Bmi-1 mRNA(相对表达值)	
		肿瘤组织	癌旁组织
低分化	8	2.68 \pm 0.10	0.33 \pm 0.04
中高分化	74	2.34 \pm 0.03	0.33 \pm 0.02
淋巴结转移			
有	48	2.43 \pm 0.03	0.29 \pm 0.02
无	34	2.29 \pm 0.04	0.36 \pm 0.01

2.2 Bmi-1 mRNA 水平与患者临床病理特征的关系 患者的各临床病理因素与 Bmi-1 mRNA 表达水平的关系如表 1 所示。Bmi-1 mRNA 表达水平与患者年龄无关(*P*=0.296,*P*=0.064)。然而,Bmi-1 mRNA 表达水平与肿瘤体积大小密切相关,肿瘤体积增大,表达水平也增高(*P*=0.002,*P*=0.001);肿瘤组织中 Bmi-1 mRNA 表达水平与组织分化程度有关,低分化患者中的表达水平较高(*P*=0.003);Bmi-1 mRNA 表达水平还与淋巴结转移明显相关,发生淋巴结转移患者表达水平明显高于无转移患者(*P*=0.019;*P*=0.015)。

3 讨 论

有研究报道 Bmi-1mRNA 表达水平与肿瘤大小无关,发现在乳腺癌患者中,Bmi-1mRNA 表达水平在体积较大肿瘤中的表达明显高于体积较小的肿瘤,提示 Bmi-1 基因参与了乳腺癌的发生发展过程,可作为临床监测乳腺癌病情的一个重要指标。一般认为出现淋巴结转移的乳腺癌患者预后不良^[12-14]。本研究显示,在伴有淋巴结转移的乳腺癌患者中,Bmi-1mRNA 表达水平明显高于不伴淋巴结转移者,提示乳腺癌的转移可能与 Bmi-1 基因功能增强有关,因此乳腺癌组织中 Bmi-1 基因的高表达是判断预后的有效指标^[15-21]。

乳腺癌发生发展是一个多阶段、多步骤、多因素参与的过程。随着医学水平的进步,乳腺癌的早期诊断率有了明显的提高,但在临床治疗上更加关注的是患者的预后。本研究的结果提示 Bmi-1 可能在乳腺癌转移过程中起到重要作用,并有可能成为一个新的判断乳腺癌预后分子标志物。

参考文献

[1] Lu H,Sun HZ,Li H,et al. The clinicopathological significance of Bmi-1 expression in pathogenesis and progression of gastric carcinomas[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2012,13(7):3437-3441.

[2] Gavrilescu MM,Todosi AM,Anitei MG,et al. Expression of bmi-1 protein in cervical,breast and ovarian cancer[J]. Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi,2012,116(4):1112-1117.

[3] Wang Y,Zhe H,Ding Z,et al. Cancer stem cell marker Bmi-1 expression is associated with basal-like phenotype and poor survival in breast cancer[J]. World J Surg,2012,36(5):1189-1194.

[4] Yao D,Wang Y,Xue L,et al. Different expression pattern and significance of p14ARF-Mdm2-p53 pathway and Bmi-1 exist between gastric cardia and distal gastric adenocarcinoma[J]. Hum Pathol,2013,44(5):844-851.

[5] Liu ZG,Liu L,Xu LH,et al. Bmi-1 induces radioresistance in MCF-7 mammary carcinoma cells[J]. Oncol Rep,2012,27(4):1116-1122.

(下转第 2025 页)

娠次数 61 次,其中有 12 次为 2 次妊娠。对照组正常分娩率为 97%,碘-131 治疗组正常分娩率为 96.1%,抗甲状腺药物治疗组正常分娩率为 88.5%,对照组与碘-131 治疗组正常分娩率比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.148, P=0.7>0.05$),对照组与抗甲状腺药物治疗组正常分娩率比较,差异有统计学意义($\chi^2=5.739, P=0.017<0.05$),碘-131 治疗组和抗甲状腺药物治疗组正常分娩率比较,差异有统计学意义($\chi^2=4.26, P=0.039<0.05$)。提示甲状腺功能亢进(简称甲亢)患者选择碘-131 治疗对生育能力影响并不比 ATD 治疗大,部分方面还优于 ATD 治疗。与唐真武等^[7]的研究结果基本一致。由上可知,碘-131 治疗育龄期甲亢妇女对生育能力无影响,也未增加遗传损害发生率,育龄女性甲亢患者应正确理解碘-131 治疗的特点,积极采取相应的治疗方案。

甲亢患者常存在下丘脑-垂体-性腺轴功能紊乱,是甲状腺机能增高,分泌激素增多或因甲状腺激素在血循环中水平增高所致的一组内分泌病,病因多种,女性多见。临床上女性甲亢患者由于甲状腺激素水平的改变,而导致下丘脑-垂体促性腺激素轴的调节功能紊乱,女性可能出现月经紊乱和女性不孕症^[8-9]。育龄女性患者采取何种治疗方法对其性腺激素及生育能力影响较小,不同专家的观点有所差异,甚至部分医务人员都言之不详,这更加重患者的担忧。国内有部分学者对抗甲状腺药物治疗育龄女性患者血清性激素变化进行了大量研究,但很少有关于碘-131 治疗前后性激素变化的报道,或是已有报道的观察指标不系统、不全面。虽然碘-131 治疗与抗甲状腺治疗的原理不同,但对育龄女性患者的性激素影响来说基本一致,从本文研究来看碘-131 治疗对育龄女性患者的性激素影响更为全面一些。本文通过对育龄女性甲亢患者治疗前后性激素六项测定及生育情况进行随访,探讨育龄女性甲亢患者通

过碘-131 治疗后对其生育的影响,为育龄女性甲亢患者的治疗提供专业意见和制定科学方案,碘-131 治疗育龄女性甲亢简便、安全、临床效果好,应在临床上普遍应用。

参考文献

[1] 李素香,金善姬,李忠吉. 135 例甲亢、甲低患者血清激素含量分析[J]. 放射免疫学杂志,2008,21(3):285-286.

[2] Read CH Jr, Tansey MJ, Menda Y, et al. A 36-year retrospective analysis of the efficacy and safety of radioactive iodine in treating young Graves' patients[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2004, 89(9): 4229-4233.

[3] 阮家兰. 甲亢患者治疗前后血清性激素水平对比研究[J]. 当代医学, 2012, 18(29): 12-13.

[4] 王坤,李广宙,王怀全. 甲亢患者 131I 治疗前后血清性激素水平观察. 中外医疗, 2009, 23(1): 6-7.

[5] 边新华. 甲状腺功能异常患者的性激素水平变化分析[J]. 内蒙古医学杂志, 2012, 44(3): 312-313.

[6] 杜忠芳,陈燕,董明国,等. 240 例甲亢、甲低患者血清性激素测定分析[J]. 中华核医学杂志, 2002, 22(5): 313-314.

[7] 唐真武,唐佳华. 131I 治疗甲亢对女性生育影响 682 例临床观察[J]. 中国社区医师, 2009, 11(20): 106.

[8] Yamashita S, Saenko V. Mechanisms of Disease: molecular genetics of childhood thyroid cancers[J]. Nat Clin Pract Endocrinol Metab, 2007, 3(5): 422-429.

[9] 张云峰,秦贵军. 女性甲状腺功能异常患者性激素水平变化分析[J]. 实用医药杂志, 2013, 30(5): 385-387.

(收稿日期:2014-02-15)

(上接第 2022 页)

[6] Liu Y, Yang Y, Xu H, et al. Implication of USP22 in the regulation of BMI-1, c-Myc, p16INK4a, p14ARF, and cyclin D2 expression in primary colorectal carcinomas[J]. Diagn Mol Pathol, 2010, 19(4): 194-200.

[7] Yang DD, Cui BB, Sun LY, et al. The co-expression of USP22 and BMI-1 may promote cancer progression and predict therapy failure in gastric carcinoma[J]. Cell Biochem Biophys, 2011, 61(3): 703-710.

[8] Li W, Li Y, Tan Y, et al. Bmi-1 is critical for the proliferation and invasiveness of gastric carcinoma cells[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2010, 25(3): 568-575.

[9] Wu J, Hu D, Yang G, et al. Down-regulation of BMI-1 cooperates with artemisinin on growth inhibition of nasopharyngeal carcinoma cells[J]. J Cell Biochem, 2011, 112(7): 1938-1948.

[10] Qiao B, Chen Z, Hu F, et al. BMI-1 activation is crucial in hTERT-induced epithelial-mesenchymal transition of oral epithelial cells[J]. Exp Mol Pathol, 2013, 95(1): 57-61.

[11] Song LB, Zeng MS, Liao WT, et al. Bmi-1 is a novel molecular marker of nasopharyngeal carcinoma progression and immortalizes primary human nasopharyngeal epithelial cells[J]. Cancer Res, 2006, 66(12): 6225-6232.

[12] Wu X, Liu X, Sengupta J, et al. Silencing of Bmi-1 gene by RNA interference enhances sensitivity to doxorubicin in breast cancer cells[J]. Indian J Exp Biol, 2011, 49(2): 105-112.

[13] Riis ML, Lüders T, Nesbakken AJ, et al. Expression of BMI-1 and Mel-18 in breast tissue—a diagnostic marker in patients with

breast cancer[J]. BMC Cancer, 2010, 10(1): 686.

[14] Pandit TS, Kennette W, Mackenzie L, et al. Lymphatic metastasis of breast cancer cells is associated with differential gene expression profiles that predict cancer stem cell-like properties and the ability to survive, establish and grow in a foreign environment[J]. Int J Oncol, 2009, 35(2): 297-308.

[15] 王晓亮, 李绍刚, 李赛飞, 等. 乳腺癌组织中 Bmi-1 蛋白表达与病理学特征的相关性研究[J]. 成都医学院学报, 2013, 8(2): 165-167.

[16] 冯云, 张练, 李振宇, 等. Bmi-1 和 P16 蛋白在乳腺癌组织中的表达及意义[J]. 广东医学, 2012, 33(17): 2616-2618.

[17] 张建兵, 黄荣, 朱兴华, 等. 乳腺癌中 p120 连环素和 Bmi-1 的表达及临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2011, 27(8): 831-834.

[18] 管海涛, 王中卫, 薛锋杰, 等. Bmi-1 与乳腺癌发生、发展及预后相关性研究[J]. 临床肿瘤学杂志, 2011, 16(2): 144-147.

[18] 李嗣杰, 韩冰, 吴迪. 乳腺癌组织中 Bmi-1、EZH2 蛋白的表达变化及意义[J]. 山东医药, 2010, 50(34): 49-50.

[19] 周晓云, 徐正顺, 李惠翔, 等. Bmi-1 在乳腺癌组织中的表达及相关性研究[J]. 河南科技大学学报: 医学版, 2010, 20(1): 8-11.

[20] 冯艳, 宋立兵, 郭宝红, 等. Bmi-1 在乳腺癌组织中的表达及意义[J]. 癌症: 英文版, 2007, 26(2): 154-157.

[21] 胡晓清, 陈理达, 赵挺. BMI 与乳腺癌预后关系的临床分析[J]. 临床医学, 2006, 26(2): 86-87.

(收稿日期:2014-02-26)