

岩藻糖转移酶 9 在乳腺癌中的表达及其临床意义

纪利,汪辉,魏军成,叶双梅,周丽,卢运萍,马丁

Expression of Fucosyltransferase 9 and Its Clinical Significance in Human Breast Carcinoma

Ji Li, WANG Hui, WEI Jun-cheng, YE Shuang-mei, ZHOU Li, LU Yun-ping, MA Ding

Department of Obstetrics and Gynecology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Corresponding Author: MA Ding, E-mail: dma@tjh.tjmu.edu.cn

Abstract: Objective This study was to investigate the expression of the fucosyltransferase9 and its clinical significance in human breast carcinoma. **Methods** FUT9 expression was detected using immunohistochemistry SP method in 11 breast hyperplasia specimens and 114 breast cancer specimens (47 with lymphatic metastasis and 67 without metastasis). **Results** The positive rate of FUT9 in breast hyperplasia, breast cancer and metastatic lymph node were 9.1%(1/11), 71.9%(82/114) and 100%(47/47), respectively. The expression of FUT9 in breast cancer specimens was significantly higher than breast hyperplasia tissues ($P < 0.01$). Breast cancer patients with lymphatic metastasis had higher FUT9 expression rate of 80.9%(38/47) than patients without none lymphatic metastasis 65.7%(44/67). The differences between two groups have statistical significance ($P < 0.05$). We also have found that the expression of FUT9 was positively correlated with TNM staging and the numbers of metastatic lymph nodes in patients ($P < 0.05$), however the ER status, the PR status and the HER2 status were not associated with FUT9 expression ($P > 0.05$). **Conclusion** Expression of FUT9 in breast cancer was positively correlated with malignant progression of disease. Our results strongly suggested that FUT9 may be involved in the process of breast's lymphatic metastasis.

Key words: Breast neoplasm; fucosyltransferase9; lymphatic metastasis

摘要:目的 本研究探讨岩藻糖转移酶 9(fucosyltransferase9, FUT9)在乳腺癌组织中的表达及其与乳腺癌临床病理因素的关系。**方法** 采用免疫组织化学 SP 法检测 11 例良性乳腺增生组织和 114 例乳腺癌组织(其中 47 例合并转移淋巴结, 67 例无转移淋巴结)中 FUT9 的表达。**结果** FUT9 在良性乳腺增生组织中的阳性表达率为 9.1%(1/11), 而在乳腺癌组织中的阳性表达率为 71.9%(82/114), 在转移的淋巴灶中阳性表达率为 100%(47/47)。乳腺癌组织中的阳性表达率明显高于良性乳腺增生组织的阳性表达率, 两组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。乳腺癌组织中有淋巴结转移组的阳性表达率为 80.9%(38/47), 明显高于无淋巴结转移组的阳性表达率 65.7%(44/67), 两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。在有淋巴结转移组 FUT9 的表达与 TNM 分期以及转移的淋巴结个数相关($P < 0.05$)。FUT9 的表达与 ER、PR、HER2 的表达无相关性($P > 0.05$)。**结论** FUT9 在乳腺癌组织中的表达明显增高; FUT9 的表达与淋巴结转移、转移的淋巴结个数以及 TNM 分期有关; FUT9 可能与乳腺癌淋巴道转移有关。

关键词: 乳腺癌; 岩藻糖转移酶 9; 淋巴道转移

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2009)02-0103-03

收稿日期: 2008-04-28; 修回日期: 2008-06-10

基金项目: 青年科学基金资助项目(30600668); 国家重点基础研究发展计划资助项目(2002CB513100)

作者单位: 430030 武汉, 华中科技大学同济医学院附属同济医院妇产科

通信作者: 马丁, E-mail: dma@tjh.tjmu.edu.cn

作者简介: 纪利(1982-), 女, 硕士, 主要从事妇科肿瘤的研究

0 引言

岩藻糖转移酶 9(fucosyltransferase 9, FUT9)是人类 $\alpha-1,3$ 岩藻糖转移酶家族新的成员, 最早发现其在人白细胞、胃腺腔和前脑中表达^[1]。其在细胞凋亡^[2]、肿瘤生长、血管生成及免疫应答的调节^[3]等方面也发挥作用。然而 FUT9 在乳腺癌浸润和

转移方面的研究,国内外鲜有报道。本研究利用免疫组织化学法对良性乳腺增生组织、乳腺癌组织以及转移的淋巴灶中 FUT9 的表达进行检测,初步探讨 FUT9 在乳腺癌中的表达及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 标本来源

收集武汉市同济医院 2006 年 1 月~2007 年 6 月期间 114 例乳腺癌行根治术切除的标本,其中合并淋巴结转移者 47 例,无淋巴结转移者 67 例。患者均为女性;年龄为 26~82 岁,中位年龄 46 岁;术后病理均确诊为乳腺浸润性导管癌;所有患者术前均未行放、化疗及激素治疗。同时选取 11 例良性乳腺增生组织作对照。组织标本经 10% 的福尔马林固定,石蜡包埋,4 μm 厚连续切片。

1.2 主要试剂

兔抗人岩藻糖转移酶 9(catalog No. BA 2382) 购自 BOSTER 公司,免疫组织化学链霉素标记的抗兔二抗和辣根酶标记链霉卵白素工作液购自北京中杉金桥生物技术有限公司,显色试剂盒(DAB-kit) 购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 方法

严格按免疫组织化学(supervision)法试剂盒说明书操作。主要步骤:石蜡切片,常规脱蜡脱水,枸橼酸盐抗原修复 15 min,3% H_2O_2 浸泡 10 min,3% 正常羊血清孵育 20 min,一抗 4 $^\circ\text{C}$ 过夜,生物素化标记的二抗 37 $^\circ\text{C}$ 15 min,辣根酶标记链霉卵白素 37 $^\circ\text{C}$ 15 min,DAB 显色,苏木精复染,脱水封片。以 0.01 mol/L PBS 液代替一抗作为阴性对照。

1.4 阳性结果判断

结果判定采用九分制^[4]:每个标本均在 Olympus 显微镜 10 \times 20 倍下选取 FUT9 阳性癌细胞最密集区,随机观察 10 个视野,在每个视野中计数肿瘤细胞中的阳性细胞百分率,然后取其平均值,并计分,其标准为:阳性细胞率 $\leq 10\%$ 为 0 分, $< 25\%$ 为 1 分,25%~50% 为 2 分, $> 50\%$ 为 3 分;按染色程度:0 分为不显色或显色不清,1 分为淡黄色,2 分为中度黄色,3 分为棕黄色。根据“阳性细胞得分 \times 染色程度得分”计算总分。总分 < 3 分为阴性,3 分 \leq 总分 < 6 分为阳性(+),总分 ≥ 6 分为强阳性(+++)。

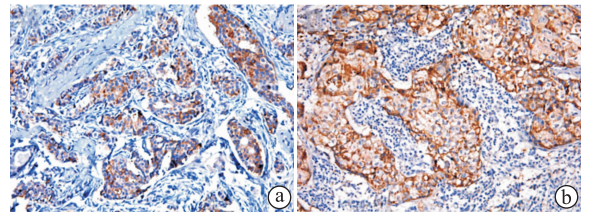
1.5 统计学方法

各组数据间的比较采用 χ^2 检验,相关分析采用 Spearman's 法。所有统计资料均采用 SPSS15.0 软件进行分析。以 $\alpha = 0.05$ 作为差异有显著性的标准。

2 结果

2.1 FUT9 在良性乳腺增生、乳腺癌组织以及转移的淋巴结中的表达

FUT9 主要在乳腺癌原发灶和淋巴结转移灶的细胞膜着色,细胞浆中少量着色,呈棕黄色颗粒,均一弥散分布,见图 1。FUT9 在乳腺癌原发灶中阳性表达率为 71.9%(82/114),在淋巴结转移灶组织中阳性表达率为 100%(47/47)明显高于良性乳腺增生(9.1%,1/11),差异有统计学意义($\chi^2 = 17.810, P < 0.01$)。FUT9 在乳腺癌中有淋巴结转移组阳性表达率为 80.9%(38/47),明显高于无淋巴结转移组(65.7%,44/67),差异有统计学意义($\chi^2 = 9.071, P < 0.05$),见表 1。



a: the primary tumor($\times 200$); b: the metastatic lymph node($\times 200$)

图 1 免疫组织化学检测 FUT9 在乳腺癌中的表达

Fig 1 Expression of FUT9 was detected by immunohistochemistry in breast cancer

2.2 FUT9 的表达与乳腺癌临床病理的关系

在选取的乳腺癌标本中雌激素受体 ER 阳性者 88 例,阴性者 18 例;孕激素受体 PR 阳性者 60 例,阴性者 45 例;HER2 阳性者 71 例,阴性者 34 例。而在乳腺癌组织中 FUT9 的表达与 ER、PR、HER2 的表达无相关性, r 值分别为 -0.028、-0.165、-0.024($P > 0.05$)。在转移的乳腺癌组织中,FUT9 的表达与 ER、PR、HER2 的表达无相关性, r 值分别为 0.003、-0.104、-0.003($P > 0.05$);FUT9 与 TNM 分期($r = 0.401, P < 0.05$)以及转移的淋巴结个数($r = 0.370, P < 0.05$)的表达成正相关。

3 讨论

以往对岩藻糖转移酶基因各亚型的研究,主要集中在 FUT3、FUT4、FUT5、FUT6、FUT7,尤其是 FUT7,有研究表明其可以通过合成唾液酸化的 Lewis X(Sialyl Lewis X, SleX)影响乳腺癌的转移和预后^[5]。FUT9 作为岩藻糖转移酶家族新的成员,有关它的研究主要集中在脑和神经系统,而对肿瘤侵袭和转移影响的研究很少。

FUT9 定位在染色体 6q16^[6],在胚胎形成两个月就有很强的表达^[7],它是一种跨膜蛋白,由 359 个氨基酸组成,其 mRNA 长 12 815 bp。Shoko N 等^[8]的研究表明,FUT9 在大脑和小脑的细胞膜上

表 1 FUT9 在乳腺增生和乳腺癌组织中的表达

Tab 1 The expression of FUT9 in Breast Hyperplasia and Breast Cancer

Parameter	n	The expression of FUT9			χ^2	P
		+	++	+++		
Breast hyperplasia	11	10	1	0		
Breast cancer	114	32	60	22	17.810	0.000
No lymphatic metastasis	67	23	37	7		
Lymphatic metastasis	47	9	23	15	9.071	0.011
Metastatic lymph node	47	0	15	32	46.248	0.000
ER	106					
Positive	88	25	47	16		
Negative	18	4	11	3	0.397	0.820
PR	105					
Positive	60	20	31	9		
Negative	45	9	25	11	2.932	0.231
HER2	105					
Positive	71	21	34	16		
Negative	34	8	22	4	2.924	0.232
ER	47					
Positive	38	7	19	12		
Negative	9	2	4	3	0.107	0.948
PR	47					
Positive	23	5	12	6		
Negative	24	4	11	9	0.738	0.692
HER2	47					
Positive	33	7	14	12		
Negative	14	2	9	3	1.915	0.384
The positive lymph nodes	47					
≤3	21	7	10	4		
>3	26	2	13	11	6.198	0.045
TNM stage	47					
Ⅲ	8	0	2	6		
Ⅱ	29	5	17	7		
I	10	4	4	2	11.161	0.025

高表达,推测其可能是脑中合成 Lewis X 最重要的酶。

本研究发现 FUT9 在乳腺癌组织比乳腺增生组织中高表达,且有转移组比无转移组强,转移的淋巴灶组比无转移组强,两两间的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。而且在乳腺癌合并淋巴结转移组, FUT9 的表达与乳腺癌的 TNM 分期,淋巴结的转移个数呈正相关 ($P < 0.05$),提示 FUT9 的表达可能与乳腺癌的侵袭转移有密切关系。

越来越多的研究表明,在乳腺癌的侵袭和转移中,淋巴道转移为其主要转移方式,且发生较早,研究乳腺癌淋巴道转移的分子机制成为近年来的研究热点。刘刚等^[9]研究表明 50% 以上的乳腺癌有淋巴道转移,淋巴道转移在乳腺癌的侵袭转移中起重要作用。Shoko N 等^[8]研究证实 FUT9 决定了

Lewis X 的表达,其可能优先岩藻糖基化多克隆乳糖链的远端 GlcNAc^[10],从而合成 Lewis X 糖原表位, Lewis X 抗原可能与内皮细胞表面的清道夫受体 C 型凝集素 (the scavenger receptor C-type lectin, SRCL) 结合,导致溶细胞作用^[11],从而促进乳腺癌的淋巴转移。

本研究尚未发现在乳腺癌组织 (包括有淋巴结转移者) 中 FUT9 的表达与 ER、PR、HER2 的表达相关 ($P > 0.05$)。这表明 FUT9 可能不参与激素调控的乳腺癌发生发展过程。

综上所述, FUT9 的表达与乳腺癌的淋巴道转移存在密切关系, 阻断其表达可能成为临床治疗的靶点。

参考文献:

- [1] Mika K, Takashi K, Hiroko I, et al. α 1,3-Fucosyltransferase IX (Fuc-TIX) is very highly conserved between human and mouse; molecular cloning, characterization and tissue distribution of human Fuc-TIX[J]. FEBS Letters, 1999, 452(3): 237-242.
- [2] Yutaro A, Yoshikazu K, Hirokata S, et al. Increased Expression of Lewis X and Y Antigens on the Cell Surface and FUT 4 mRNA during Granzyme B-Induced Jurkat Cell Apoptosis[J]. Biol Pharm Bull, 2007, 30(4): 655-660.
- [3] Valentina B, Andrea H, Birgit K, et al. CEACAM1, an adhesion molecule of human granulocytes, is fucosylated by fucosyltransferase IX and interacts with DC-SIGN of dendritic cells via Lewis x residues[J]. Glycobiology, 2006, 16(3): 197-209.
- [4] Miyazaki T, Kato H, Fukuchi M, et al. EphA2 overexpression correlations with poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Int J Cancer, 2003, 103(5): 657-663.
- [5] 丁克峰, 郑树. 岩藻糖转移酶基因亚型与乳腺癌转移和预后的关系[J]. 中华外科杂志, 2004, 42(9): 546-550.
- [6] Kaneko M, Kudo T, Iwasaki H, et al. Assignment of the human alpha 1,3-fucosyltransferase IX gene (FUT9) to chromosome band 6q16 by in situ hybridization[J]. Cytogenet Cell Genet, 1999, 86(3-4): 329-330.
- [7] Anne C T, Philippe C, Jean-Jacques C, et al. FUT4 and FUT9 genes are expressed early in human embryogenesis [J]. Glycobiology, 2000, 10(8): 789-802.
- [8] Shoko N, Hiroko I, Kazuyuki N, et al. α 1,3-Fucosyltransferase IX (Fut9) determines Lewis X expression in brain[J]. Glycobiology, 2003, 13(6): 445-455.
- [9] 刘刚, 沈镇宙, 邵志敏. 肿瘤新生淋巴管调控机制与淋巴道转移研究进展[J]. 临床肿瘤学杂志, 2003, 8(3): 226-228.
- [10] Shoko N, Hiroko I, Mika K, et al. α 1,3-Fucosyltransferase 9 (FUT9; Fuc-TIX) preferentially fucosylates the distal GlcNAc residue of poly-lactosamine chain while the other four α 1,3FUT members preferentially fucosylate the inner GlcNAc residue [J]. FEBS Letters, 1999, 462(3): 289-294.
- [11] Maria T, Mariana M, Mariana I, et al. Lewis X antigen mediates adhesion of human breast carcinoma cells to activated endothelium. Possible involvement of the endothelial scavenger receptor C-type lectin [J]. Breast Cancer Res Treat, 2007, 101(2): 161-174.