

# 脂联素在乳腺癌组织中的表达及其临床意义

彭小飞, 张 涵, 廖家李, 麦孜悦, 曾 健

(广西医科大学第一附属医院胃肠腺体外科, 广西 南宁 530021)

**摘要:**目的 研究脂联素在乳腺癌组织中的表达及与临床病理特征的关系。方法 基于癌症基因组图谱(TCGA)中的乳腺癌数据,结合 AmiGO2 衍生的血管生成基因集,筛选出与乳腺癌血管生成有关的因子脂联素,利用 GEPIA2 数据库对癌症基因组图谱数据库进行分析,同时结合 2019 年 11 月~2020 年 8 月我院手术切除且病理检查确诊为乳腺癌的癌组织及癌旁组织 80 例,通过免疫组织化学 S-P 法、qRT-PCR 法检测乳腺癌组织与正常组织中脂联素的表达差异,分析脂联素的表达与临床病理特征的关系。结果 脂联素在乳腺正常组织中高表达( $\log_{2}FC>1, P<0.05$ );乳腺癌组织中脂联素阳性表达率为 65.00%(52/80),低于癌旁组织中的阳性率 91.25%(73/80),差异有统计学意义( $P<0.05$ );乳腺癌组织中脂联素 mRNA 相对表达量为( $0.683\pm0.317$ ),高于癌旁组织中的( $0.493\pm0.294$ ),差异有统计学意义( $P<0.05$ )。不同年龄、月经史、ER、PR、HER2、Ki-67 表达间脂联素表达比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );不同肿瘤直径、淋巴结转移、组织学分级、临床分期间脂联素表达比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 脂联素在乳腺组织中呈高表达,乳腺癌组织中呈低表达,与乳腺癌预后密切相关,有助于乳腺癌的诊断及预后评估。

**关键词:** 乳腺癌;脂联素;Ki-67

中图分类号:R737.9

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2021.06.002

文章编号:1006-1959(2021)06-0006-03

## The Expression of Adiponectin in Breast Cancer Tissues and Its Clinical Significance

PENG Xiao-fei, ZHANG Han, LIAO Jia-li, MAI Zi-yue, ZENG Jian

(Gastrointestinal Gland Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China)

**Abstract:** Objective To study the expression of adiponectin in breast cancer tissues and its relationship with clinicopathological characteristics. Methods Based on the breast cancer data in the Cancer Genome Atlas (TCGA), combined with the angiogenesis gene set derived from AmiGO2, the factor adiponectin, which is related to breast cancer angiogenesis, was screened out. The GEPIA2 database was used to analyze the cancer genome atlas database, and combined with 80 cases of cancerous tissues and adjacent tissues that were diagnosed as breast cancer by pathological examination in our hospital from November 2019 to August 2020. The difference of adiponectin expression in breast cancer tissues and normal tissues was detected by immunohistochemical S-P method and qRT-PCR method, and the relationship between adiponectin expression and clinicopathological characteristics was analyzed. Results Adiponectin was highly expressed in normal breast tissues ( $\log_{2}FC>1, P<0.05$ ); The positive expression rate of adiponectin in breast cancer tissue was 65.00% (52/80), which was lower than the positive rate in adjacent tissues of 91.25% (73/80), the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ); The relative expression of adiponectin mRNA in breast cancer tissue was ( $0.683\pm0.317$ ), which was higher than that in adjacent tissues ( $0.493\pm0.294$ ), the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). There was no statistically significant difference in the expression of adiponectin among different ages, menstrual history, ER, PR, HER2, and Ki-67 expressions ( $P>0.05$ ); Different tumor diameters, lymph node metastasis, histological grade, and adiponectin expression during clinical period were compared, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). Conclusion Adiponectin is highly expressed in breast tissues and low in breast cancer tissues. It is closely related to the prognosis of breast cancer and is helpful for the diagnosis and prognosis evaluation of breast cancer.

**Key words:** Breast cancer; Adiponectin; Ki-67

乳腺癌(breast cancer)是全球女性癌症相关死亡的主要原因,血管生成在乳腺癌的发展过程中起着至关重要的作用<sup>[1]</sup>。多项研究表明<sup>[2,3]</sup>,血管生成因子(如血管内皮生长因子、成纤维细胞生长因子、转化生长因子- $\beta$ 等)水平以及其形成的微血管密度是乳腺癌存活率的重要预测因素。研究表明,脂联素与血管生成有关的差异表达基因密切相关,其由 244 个氨基酸组成的 3 kDa 蛋白,由脂肪细胞产生和分泌,是脂肪组织中分泌最多的蛋白类激素<sup>[4]</sup>,其受体在正常和恶性乳腺组织中均有表达<sup>[5]</sup>,具有抗炎和抗动脉粥样硬化的特性,可以抑制细胞增殖,降低胰岛素抵抗,促进细胞凋亡<sup>[6-8]</sup>。本研究主要探讨脂联素在乳腺癌组织中的表达及与临床病理特征的关系,现报道如下。

### 1 资料与方法

#### 1.1 乳腺癌血管生成相关因子的筛选 基于癌症基

因组图谱(TCGA)中的乳腺癌数据,结合 AmiGO2 衍生的血管生成基因集,筛选出与乳腺癌血管生成有关的因子脂联素。利用 GEPIA2 数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)对癌症基因组图谱数据库进行分析,确定脂联素在正常组织及癌组织表达差异,并对其生存曲线分析。

**1.2 一般资料** 收集 2019 年 11 月~2020 年 8 月广西医科大学第一附属医院手术切除且病理检查确诊为乳腺癌的癌组织及癌旁组织 80 例,所有病例术前均未行放、化疗等治疗。收集患者的临床资料数据,包括年龄、月经史、肿瘤直径、淋巴结转移、组织学分级、ER、PR、HER2、Ki-67、临床分期。本研究经广西医科大学第一附属医院医学伦理委员会批准,患者或家属均签署知情同意书。

#### 1.3 方法

**1.3.1 免疫组织化学染色** 制作石蜡包埋的组织标本,切片(厚 4~5  $\mu\text{m}$ ),免疫组织化学采用 S-P 法,

作者简介:彭小飞(1991.7-),男,山东临沂人,硕士,住院医师,主要从事乳腺癌的研究

一抗为兔抗人 VEGF 单克隆抗体(福建迈新生物工程有限公司),工作浓度 1:20,S-P 免疫组化试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司),实验步骤严格按照试剂盒说明书进行操作。光学显微镜下观察,胞质或胞膜中呈现棕黄色颗粒为阳性染色信号,每例切片随机观察 10 个高倍视野。按肿瘤细胞着色强度和阳性细胞率分别评分,其中细胞着色强度:无着色为 0 分、浅黄色为 1 分、棕黄色为 2 分、棕褐色为 3 分;阳性细胞率:无阳性细胞为 0 分、阳性细胞数<10%为 1 分、11%~50%为 2 分、51%~75%为 3 分、>75%为 4 分。上述两者积分相乘为最后结果:0~2 分为-、3~5 分为+、6~8 分为++、9~12 分为+++。

**1.3.2 qRT-PCR 法检测** 提取癌和癌旁组织中的总 RNA,逆转录成 cDNA。PCR 反应条件:95℃预变性 10 min,95℃变性 15s,60℃退火 30 s,72℃延伸 60 s,共循环 40 次。用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算目的基因相对表达量。

**1.4 统计学方法** 采用 SPSS25.0 统计软件进行数据处理,计量资料以( $\bar{x}\pm s$ )表示,两组均数间比较采用  $t$  检验,组间比较采用方差分析,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 数据库信息结果分析** 利用 GEPIA2 软件(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)对肿瘤基因组图谱项目数据库中乳腺癌组织标本和乳腺正常组织的 mRNA 表达数据进行分析,结果显示脂联素在乳腺正常组织中高表达( $\log FC>1, P<0.05$ ),脂联素表达高低对乳腺癌预后有影响,见图 1。

**2.2 脂联素在乳腺癌组织和正常组织中的表达** 乳腺癌组织中脂联素阳性表达率为 65.00%(52/80),低于癌旁组织中的阳性率 91.25%(73/80),差异有统计学意义( $\chi^2=7.864, P<0.05$ )。

**2.3 脂联素 mRNA 在乳腺癌组织和正常组织中的表达水平** 乳腺癌组织中脂联素 mRNA 相对表达量为( $0.683\pm 0.317$ ),高于癌旁组织中的( $0.493\pm 0.294$ ),差异有统计学意义( $t=3.105, P<0.05$ )。

**2.4 脂联素表达与乳腺癌患者临床病理特征的关系** 不同年龄、月经史、ER、PR、HER2、Ki-67 表达间脂联素表达比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );不同肿瘤直径、淋巴结转移、组织学分级、临床分期间脂联素表达比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

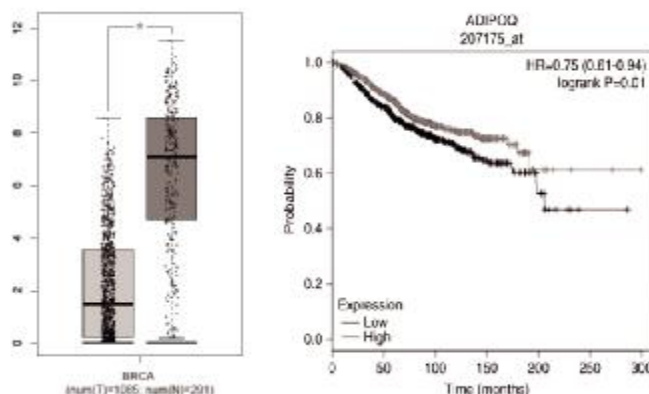


图 1 脂联素在乳腺癌组织和正常组织中的表达

表 1 脂联素表达与乳腺癌临床病理特征的关系(n)

项目	n	脂联素阳性表达	$\chi^2$	P	项目	n	脂联素阳性表达	$\chi^2$	P
年龄(岁)			0.571	0.450	ER			0.409	0.523
<40	25	15			阳性	48	26		
$\geq 40$	55	28			阴性	32	15		
月经史			0.003	0.960	PR			0.159	0.690
已绝经	44	32			阳性	35	14		
未绝经	36	26			阴性	45	20		
肿瘤直径(cm)			7.758	0.005	HER2			1.960	0.162
<3	38	28			阳性	37	23		
$\geq 3$	42	18			阴性	43	20		
淋巴结转移			13.424	<0.001	Ki-67(%)			0.468	0.494
有	34	12			<14	11	6		
无	46	35			$\geq 14$	69	45		
组织学分级			7.279	0.007	TNM 分期			3.894	0.048
I~II 级	31	24			I~II 期	68	30		
III 级	49	23			III 期	12	9		

## 3 讨论

血管生成因子可以促使内皮细胞向肿瘤细胞迁移,经过增殖,最终管道化并分支形成血管环,进而促进肿瘤细胞的血管生成,导致乳腺癌的侵袭和转移。血管生成因子水平与乳腺癌的分期、分级和临床预后密切相关,在乳腺癌的发生和发展中具有重要作用<sup>[9,10]</sup>。除此之外,血管内皮生长因子(VEGF)作为最重要的血管生成因子,其过度表达与人类的多种肿瘤(乳腺癌、胃癌、结肠癌等)的发生密切相关<sup>[11,12]</sup>。有报道称<sup>[13]</sup>,脂联素可能通过促进乳腺癌细胞自噬小体的活性和降低隔离体1/GAP相关的酪氨酸磷酸化蛋白p62信号通路来抑制癌细胞的生长。此外,脂联素通过调节LKB1-AMPK-SK6轴抑制乳腺癌细胞的转移,并刺激AMPK磷酸化,导致mTOR活性降低,表现为SK6磷酸化降低,进而导致肿瘤抑制因子LKB1表达增加<sup>[14]</sup>。因此,脂联素具有延缓肿瘤生长、血管生成和VEGF的表达特性,通过直接调节与肿瘤生长相关的信号通路来降低恶性肿瘤的发展已成为脂联素新的研究热点<sup>[15]</sup>。

研究表明<sup>[16]</sup>,被诊断为乳腺癌的肥胖患者的预后往往更差,而且无论绝经状态如何,癌症进展和复发的风险都会增加。另外,已证实肥胖和2型糖尿病患者与其循环中脂联素的水平呈负相关<sup>[17]</sup>。因此,研制重组脂联素或脂联素受体激动剂,提高血清脂联素水平及脂联素受体水平可能为乳腺癌的治疗提供新的思路。本研究基于癌症基因组图谱(TCGA)数据库和AmiGO2衍生的血管生成基因集,筛选出与乳腺癌血管生成有关的因子脂联素,通过免疫组织化学染色和RT-PCR测定发现,脂联素在乳腺癌和正常组织中存在表达差异,脂联素在乳腺正常组织中的表达含量高于乳腺癌组织( $P<0.05$ )。结合患者临床病理特征分析,结果发现不同年龄、月经史、ER、PR、HER2、Ki-67表达间脂联素表达比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );不同肿瘤直径、淋巴结转移、组织学分级、临床分期间脂联素表达比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),进一步说明脂联素具有抑制乳腺癌发生和发展的作用。

综上所述,脂联素在乳腺组织中呈高表达,乳腺癌组织中呈低表达,其可作为乳腺癌新的生物标记物,预测乳腺癌的发生、发展及预后,并为乳腺癌的治疗提供参考。

## 参考文献:

- [1]de Heer EC, Jalving M, Harris AL. HIFs, angiogenesis, and metabolism: elusive enemies in breast cancer [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(10):5074-5087.
- [2]Hinz N, Jücker M. Distinct functions of AKT isoforms in breast cancer: a comprehensive review [J]. *Cell Commun Signal*, 2019, 17(1):154.

- [3]Niu J, Ma J, Guan X, et al. Correlation Between Doppler Ultrasound Blood Flow Parameters and Angiogenesis and Proliferation Activity in Breast Cancer [J]. *Med Sci Monit*, 2019 (25): 7035-7041.
- [4]Maroni P. Leptin, Adiponectin, and Sam68 in Bone Metastasis from Breast Cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3):1051.
- [5]Jardé T, Caldefie-Chézet F, Damez M, et al. Adiponectin and leptin expression in primary ductal breast cancer and in adjacent healthy epithelial and myoepithelial tissue [J]. *Histopathology*, 2008, 53(4):484-487.
- [6]Fang H, Judd RL. Adiponectin Regulation and Function [J]. *Compr Physiol*, 2018, 8(3):1031-1063.
- [7]Dos Santos E, Benaitreau D, Dieudonne MN, et al. Adiponectin mediates an antiproliferative response in human MDA-MB 231 breast cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2008, 20(4):971-977.
- [8]Yanai H, Yoshida H. Beneficial Effects of Adiponectin on Glucose and Lipid Metabolism and Atherosclerotic Progression: Mechanisms and Perspectives [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(5):1190.
- [9]Llanos AAM, Yao S, Singh A, et al. Gene expression of adipokines and adipokine receptors in the tumor microenvironment: associations of lower expression with more aggressive breast tumor features [J]. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2020.
- [10]Lu Y, Qin T, Li J, et al. MicroRNA-140-5p inhibits invasion and angiogenesis through targeting VEGF-A in breast cancer [J]. *Cancer Gene Ther*, 2017, 24(9):386-392.
- [11]Pang L, Wang J, Fan Y, et al. Correlations of TNM staging and lymph node metastasis of gastric cancer with MRI features and VEGF expression [J]. *Cancer Biomark*, 2018, 23(1):53-59.
- [12]Fang X, Hong Y, Dai L, et al. CRH promotes human colon cancer cell proliferation via IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway and VEGF-induced tumor angiogenesis [J]. *Mol Carcinog*, 2017, 56(11):2434-2445.
- [13]Chung SJ, Nagaraju GP, Nagalingam A, et al. ADIPOQ/adiponectin induces cytotoxic autophagy in breast cancer cells through STK11/LKB1-mediated activation of the AMPK-ULK1 axis [J]. *Autophagy*, 2017, 13(8):1386-1403.
- [14]Taliaferro-Smith L, Nagalingam A, Zhong D, et al. LKB1 is required for adiponectin-mediated modulation of AMPK-S6K axis and inhibition of migration and invasion of breast cancer cells [J]. *Oncogene*, 2009, 28(29):2621-2633.
- [15]Moon HS, Liu X, Nagel JM, et al. Salutary effects of adiponectin on colon cancer: in vivo and in vitro studies in mice [J]. *Gut*, 2013, 62(4):561-570.
- [16]Fallone F, Deudon R, Muller C, et al. Breast cancer, obesity and adipose tissue: a high-risk combination [J]. *Med Sci (Paris)*, 2018, 34(12):1079-1086.
- [17]Dietze EC, Chavez TA, Seewaldt VL. Obesity and Triple-Negative Breast Cancer: Disparities, Controversies, and Biology [J]. *Am J Pathol*, 2018, 188(2):280-290.

收稿日期:2021-01-27;修回日期:2021-02-06

编辑/杜帆