

# APE1 在乳腺浸润性导管癌组织中的表达 及其与预后的关系

奚 蕾 应明真 曹向明 沈伟生 王雅杰 刘宝瑞

**摘 要** **目的** 了解脱嘌呤脱嘧啶核酸内切酶 1 (apurinic/apyrimidinic endonuclease 1, APE1) 在乳腺浸润性导管癌组织中的表达情况, 分析其与患者临床病理学参数之间的关系, 探讨 APE1 蛋白表达与乳腺浸润性导管癌患者预后的关系。**方法** 收集 2002 年 1 月 ~ 2012 年 12 月东南大学附属江阴医院, 第二军医大学附属长海医院经治的病理确诊的乳腺浸润性导管癌患者组织标本 133 例。免疫组化法检测癌组织中 APE1 蛋白表达情况, 并对其与临床病理参数的相关性进行分析。生存分析采用 Kaplan - Meier 法, 生存率比较采用 Log - rank 检验。**结果** 133 例患者失访 14 例, 有效随访病例为 119 例。患者中位年龄 53 岁, APE1 蛋白阳性表达者 96 例 (72.18%), 阴性表达者 37 例 (27.82%)。APE1 蛋白阳性表达和雌激素受体状态、Her2 表达以及分子分型相关 ( $P < 0.05$ ), 和年龄、肿瘤大小、有无淋巴结转移及组织学分级无关 ( $P > 0.05$ )。生存分析提示 APE1 蛋白阴性患者的总生存时间 (OS) 优于阳性表达患者 ( $P < 0.05$ )。**结论** 乳腺浸润性导管癌患者 APE1 蛋白表达与雌激素受体表达、Her2 表达、分子分型相关。相比于 APE1 阴性表达患者, 阳性表达提示预后不良。

**关键词** 脱嘌呤脱嘧啶核酸内切酶 1 乳腺浸润性导管癌 预后

**中图分类号** R73

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.10.032

**Expression of APE1 in Breast Invasive Ductal Carcinoma and Its Relationship with Prognosis.** Xi Lei, Ying Mingzhen, Cao Xiangming, et al. Nanjing Medical University, Jiangsu 210029, China

**Abstract** **Objective** To understand the expression of APE1 (apurinic/apyrimidinic endonuclease 1) in breast invasive ductal carcinoma, analyze the intrinsic relationship between APE1 expression and clinical pathological data, and evaluate the prognosis with Pro APE1. **Methods** Data from 133 patients diagnosed with breast invasive ductal carcinoma between January 2002 and December 2012 in Jiangyin Hospital Affiliated to Southeast University Medical School and Changhai Hospital of Second Military Medical University were reviewed retrospectively. The expression of Pro APE1 was tested with Immunohistochemistry method, and a correlation analysis with pathological data was made. Survival function was done with Kaplan - Meier estimator, the survival distributions with Log - rank test was and compared. **Results** We missed 14 patients at the end of study and median age of the rest patients was 53 years old. 96 of them manifested positive Pro APE1 expressing (72.81%) and 37 of them manifested negative APE1 expressing (27.82%). Estrogen receptor positive ( $P < 0.05$ ), HER - 2 positive ( $P < 0.05$ ), the molecular typing ( $P < 0.05$ ) were statistically related to Pro APE1, while age ( $P > 0.05$ ), size of tumor ( $P > 0.05$ ), lymph node situation ( $P > 0.05$ ), and historical stage ( $P > 0.05$ ) were not significantly related. Survival function shows that patients with negative Pro APE1 expressing had a longer OS than who had positive expressing ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Expression of gene APE1 in invasive ductal breast cancer was associated to estrogen receptor, HER - 2 and molecular typing. Compared with patients of APE1 negative expressing, patients of APE1 positive expressing suggested a poor prognosis.

**Key words** Apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 (APE1); Breast invasive ductal carcinoma; Prognosis

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤, 其中浸润性导管癌是乳腺癌最常见的病理类型。近年来, 乳腺癌在我国的发生率呈逐年上升趋势。目前乳腺浸润性导管

癌的主要治疗手段包括手术、放化疗、分子靶向治疗和内分泌治疗等, 有很多研究探讨乳腺癌的基因治疗, 尝试寻找新的基因作为靶点来提高治疗效果。脱嘌呤脱嘧啶核酸内切酶 1 (apurinic/apyrimidinic endonuclease 1, APE1) 已经被证实存在于多种恶性肿瘤组织中, 是脱嘌呤/嘧啶 (apurinic/apyrimidinic, AP) 内切酶的主要活性部分, APE1 的表达增高和肿瘤的发生、发展以及预后有着密切的关系<sup>[1]</sup>。有研究证实,

作者单位: 210029 南京医科大学 (奚蕾、曹向明、沈伟生); 210008 南京医科大学附属鼓楼医院肿瘤中心 (刘宝瑞); 200433 上海, 第二军医大学附属长海医院肿瘤科 (应明真、王雅杰)

通讯作者: 刘宝瑞, 教授, 主任医师, 博士生导师, 电子信箱: baorui-liu@nju.edu.cn

乳腺浸润性导管癌的放化疗耐受与肿瘤组织 DNA 损伤修复过程密切相关,APE1 作为关键酶参与 DNA 碱基切除修复途径 (base excision repair BER),起到了耐受 DNA 损伤的重要作用<sup>[2,3]</sup>。因此,针对 APE1 的分子靶向治疗或许能使乳腺浸润性导管癌放化疗耐受成为可能。本研究旨在探讨 APE1 在乳腺浸润性导管癌组织中的表达情况及其与预后的关系,为进一步的研究提供临床病理依据。

资料与方法

1. 一般资料:收集 2002 年 1 月~2012 年 12 月东南大学附属江阴医院,第二军医大学附属长海医院经治的病理确诊的乳腺浸润性导管癌患者组织标本 133 例,患者年龄 31~84 岁,中位年龄 53 岁。所有患者均接受了规范、系统性的局部和(或)全身治疗,包括手术、放疗、化疗、内分泌治疗等。收集和整理全部乳腺癌患者的临床、病理资料,按照年龄、TNM 分期、激素受体状态、组织学分级、近似分子分型等指标进行分类统计分析。

2. 免疫组织化学方法:133 例乳腺癌浸润性导管癌组织及癌旁正常组织石蜡标本切片后应用 En-vision 免疫组织化学法检测 APE1 的表达情况,鼠抗人 APE1 单克隆抗体购于 Santa Cruz 公司(1:200),严格按照试剂盒说明书进行操作,以磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗做阴性对照,用已知阳性切片做阳性对照。

3. 结果判定:病理结果判读采用双盲法,分别由两位高年资的病理专科医生独立判定结果,当出现判定结果不一致时需要进行复判,最终确定结果。APE1 阳性产物定位于细胞质和(或)细胞核。二级计分法用于阳性细胞结果判定,根据细胞染色阳性率和染色强度结果综合判断计分,具体标准如下,

细胞染色阳性率:≤5% 为 0 分,6%~25% 为 1 分,26%~50% 为 2 分,51%~75% 为 3 分,>75% 为 4 分;染色强度计分:阴性为不着色计 0 分,弱阳性(+)为淡棕黄色计 1 分,强阳性(+++)为深棕褐色为计 3 分,强阳性和弱阳性之间为(++)计 2 分。两者分值相乘得到总分,5~12 分定义为阳性,0~4 分为阴性。

4. 随访:对象为纳入研究的 133 例浸润性导管癌患者,随访时间从病理确诊之日开始算起。其中失访 14 例,有效随访 119 例。中位随访时间为 85 个月,死亡 24 例。随访截止时间为 2014 年 10 月。

5. 统计学方法:应用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,分类变量相关性分析使用  $\chi^2$  检验。采用 Kaplan-Meier 法评估乳腺癌患者生存率,使用 Log-rank 检验对组间生存率曲线进行比较。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

结 果

1. 乳腺浸润性导管癌组织中 APE1 表达情况:根据二级计分法,纳入本研究的 133 名乳腺浸润性导管癌患者中,癌组织 APE1 表达阳性率显著高于癌旁正常组织,差异具有统计学意义( $P=0.000$ ,表 1)。在癌组织 APE1 表达阳性患者中,7.29% (7/96) 为胞质表达阳性为主,其余均主要为胞核表达阳性(图 1)。

表 1 乳腺浸润性导管癌组织与癌旁正常组织 APE1 蛋白的表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组织类型     | n   | APE1 阳性 [n(%)] | P     |
|----------|-----|----------------|-------|
| 浸润性导管癌组织 | 133 | 96(72.18)      | 0.000 |
| 癌旁正常组织   | 133 | 5(3.76)        |       |

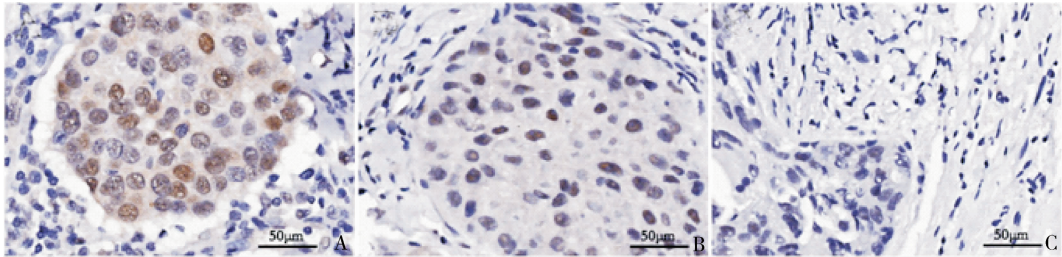


图 1 APE1 在乳腺浸润性导管癌中的表达  
A. 强阳性;B. 弱阳性;C. 阴性

2. APE1 表达与乳腺浸润性导管癌患者临床病理学参数之间的相关性:研究结果显示,乳腺浸润性导管癌组织 APE1 的表达和组织雌激素受体(ER)表达、孕激素受体(PR)表达、人类表皮生长因子受体 2(Her2)表达以及分子分型相关,与年龄、肿瘤大小、有无淋巴结转移及组织学分级不相关。ER 表达阳性、PR 表达阳性或 Her2 表达阴性的乳腺浸润性导管

癌表达 APE1 的阳性率高。在分子分型中,Luminal A 型浸润性导管癌患者 APE1 表达的阳性率高(表 2)。

3. APE1 表达与预后的关系:119 例乳腺浸润性导管癌患者的中位 OS 为 85 个月。其中,APE1 阳性患者的中位 OS 为 85 个月,APE1 阴性患者的中位 OS 为 93 个月。经过 Log-rank 检验分析显示两组间生存率的差异具有统计学意义( $\chi^2=3.919,P=0.048$ ,

表 2 乳腺浸润性导管癌中 APE1 蛋白的表达与患者临床病理学参数之间的关系

| 病理特征                           | n   | APE1 阳性[n(%)] | P     |
|--------------------------------|-----|---------------|-------|
| 年龄(岁)                          |     |               | 0.713 |
| <50                            | 40  | 28(70.00)     |       |
| ≥50                            | 93  | 68(73.12)     |       |
| T 分期                           |     |               | 0.964 |
| T <sub>1</sub> ~T <sub>2</sub> | 126 | 91(72.22)     |       |
| T <sub>3</sub> ~T <sub>4</sub> | 7   | 5(71.43)      |       |
| 淋巴结转移                          |     |               | 0.568 |
| 无                              | 70  | 52(74.29)     |       |
| 有                              | 63  | 44(69.84)     |       |
| ER 表达                          |     |               | 0.016 |
| 阴性                             | 57  | 35(61.40)     |       |
| 阳性                             | 76  | 61(80.26)     |       |
| PR 表达                          |     |               | 0.000 |
| 阴性                             | 44  | 22(50.00)     |       |
| 阳性                             | 89  | 74(83.15)     |       |
| Her2 表达                        |     |               | 0.044 |
| 阴性                             | 76  | 60(78.95)     |       |
| 阳性                             | 57  | 36(63.16)     |       |
| 病理学分级                          |     |               | 0.102 |
| I                              | 0   | 0(0.00)       |       |
| II                             | 93  | 71(76.34)     |       |
| III                            | 40  | 25(62.50)     |       |
| 分子分型                           |     |               | 0.000 |
| Luminal A                      | 67  | 56(83.58)     |       |
| Luminal B                      | 33  | 26(78.79)     |       |
| Her2                           | 24  | 11(45.83)     |       |
| Basal-like                     | 9   | 3(33.33)      |       |

图 2)。乳腺浸润性导管癌 APE1 表达阴性患者与 APE1 表达阳性的患者相比具有更好的 OS。

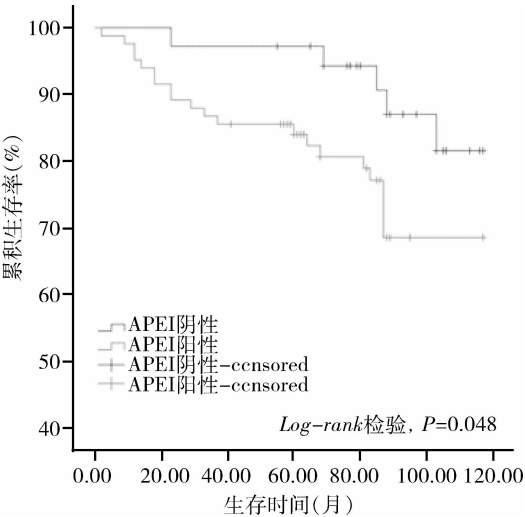


图 2 APE1 表达和生存时间的关系

讨 论

APE1 基因包括 4 个内含子和 5 个外显子,定位

在 14 号染色体长臂 11.2 ~ 12 区。研究表明 APE1 在正常组织中也有表达,且表达的胞内定位存在差异。在多数正常组织中 APE1 表达定位于胞核,而在一些高增殖率的细胞如淋巴细胞、肝细胞中,APE1 可呈现胞质定位<sup>[4]</sup>。在恶性肿瘤组织中,APE1 的表达出现增强,Yang 等<sup>[5]</sup>发现恶性黑色素瘤细胞系的 APE1 蛋白水平高出正常黑色素细胞数倍。至于恶性肿瘤细胞中 APE1 表达的胞内定位,Sheng 等<sup>[6]</sup>发现卵巢癌组织中常呈现胞核、胞质共同表达,且胞质表达常提示预后不佳。Kim 等<sup>[7]</sup>对结肠癌的 APE1 表达研究也得到了类似的结果。在本研究中,笔者发现 133 例乳腺浸润性导管癌患者的癌组织有 72.18% 呈 APE1 阳性表达,显著高于癌旁正常组织(3.76%),但是癌组织中仅有 7 例是胞核、胞质共表达,其余均为胞核表达。受限于本研究中胞核胞质共表达患者例数较少,且目前 APE1 表达定位的生物学机制和其相关影响仍不明确,故仍需要更深入的研究去揭示其原因。

本研究发现 APE1 在乳腺浸润性导管癌中的表达与 ER、PR、Her2 表达及分子分型相关,与年龄、肿瘤大小、是否有淋巴结转移及组织学分级不相关。笔者推测 APE1 可能与 ER、PR、Her2 存在交互作用,参与细胞生物学行为的调节。就 ER 而言,Curtis 等通过对一株乳腺癌细胞株的研究发现,APE1 可以与 ER 发生相互作用,还可以增强 ERα 与含雌激素反应元件(ERE)的 DNA 的结合,且这些效应均是借助于 APE1 的氧化还原能力实现的。而 APE1 与 PR、Her2 的相互作用方式尚未见诸报道。近年来,肿瘤内部异质性相关的探索成为了肿瘤领域的新热点<sup>[8]</sup>。现有研究发现,同一患者肿瘤病灶内的细胞之间存在差异,这种差异体现在从基因水平到蛋白水平的各个方面,并且这种差异会随着肿瘤的进展与治疗的干预发生动态变化。对于乳腺癌而言,Her2 蛋白的表达情况已经被证实并非一成不变。由此笔者推测,APE1 作为可能与 Her2 发生相互作用的蛋白之一,或许同样存在伴随肿瘤发展及治疗干预而发生动态变化的现象,相信这必将是值得后续深入研究探讨的新课题。

通过生存分析,笔者发现 APE1 在乳腺浸润性导管癌中的表达与预后相关,APE1 阳性表达患者的预后差于阴性表达患者。目前的研究已经证实 APE1 蛋白兼具有 AP 内切酶活性和转录因子激活能力。APE1 占 AP 内切酶活性总体的 95%,是 DNA 碱基切

除修复(BER)的限速酶。而 BER 作为 DNA 烷化剂及辐射损伤后的主要修复方式,其能力的强弱与肿瘤细胞的放化疗耐受相关。因此研究者推断,APE1 的阳性表达可能导致肿瘤细胞放化疗耐受的形,进而影响患者预后。另外,除 AP 内切酶活性,APE1 还具有激活多种转录因子的能力。APE1 的 N 端区域为氧化还原结构域,通过氧化还原可以激活 NF - kappaB、ATF、myb、Pax、HIF -  $\alpha$  等。有研究证实 APE1 的氧化还原功能对维持和促进卵巢癌细胞的增殖具有重要作用,运用 APE1 的低分子抑制剂 E3330 可以明显抑制卵巢癌细胞的增殖。因此笔者推测,除了参与 DNA 修复诱导放化疗耐受,APE1 的氧化还原活性同样对促进乳腺浸润性导管癌细胞增殖具有重要意义,这可能也是 APE1 阳性表达患者预后不佳的原因之一。

笔者发现 APE1 在乳腺浸润性导管癌组织中的阳性率显著高于癌旁正常组织。癌组织 APE1 表达情况和雌孕激素受体的表达、Her2 的表达及分子分型相关,提示 APE1 可能与这些受体及相应信号通路间存在一定的交互作用。笔者同时还发现 APE1 阳性表达的乳腺浸润性导管癌患者的预后比阴性表达者差,推测其可能与 APE1 诱导的治疗耐受相关,这些现象的内在机制仍有待于进一步研究探索,可考虑进一步扩大样本量来验证 APE1 对预后价值。

## 参考文献

- 1 Yang S, Meyskens FL. Apurinic/aprimidinic endonuclease/redox effector factor - 1 ( APE/Ref - 1 ): a unique target for the prevention and treatment of human melanoma[J]. *Antioxid Redox Signal*,2009, 11(3):639 - 650
- 2 Król M, Pawłowski KM, Majchrzak K, et al. Why chemotherapy can fail[J]. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2010,13(2):399 - 406
- 3 Tell G,Quadrioglio F,Tiribelli C, et al. The many functions of APE1/Ref - 1: not only a DNA repair enzyme[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11(3):601 - 620
- 4 Luo M, He H, Kelley MR, et al. Redox regulation of DNA repair: implications for human health and cancer therapeutic development [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2010,12(11):1247 - 1269
- 5 Yang S, Irani K, Heffron SE, et al. Alterations in the expression of the apurinic/aprimidinic endonuclease - 1/redox factor - 1 ( APE/Ref - 1 ) in human melanoma and identification of the therapeutic potential of resveratrol as an APE/Ref - 1 inhibitor[J]. *Mol Cancer Ther*, 2005,4(12):1923 - 1935
- 6 Sheng Q, Zhang Y, Wang R, et al. Prognostic significance of APE1 cytoplasmic localization in human epithelial ovarian cancer[J]. *Medical Oncology*,2012,29(2):1265 - 1271
- 7 Kim JS, Kim JM, Liang ZL, et al. Prognostic significance of human apurinic/aprimidinic endonuclease ( APE/Ref - 1 ) expression in rectal cancer treated with preoperative radiochemotherapy [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*,2012,82(1):130 - 137
- 9 Burrell RA, McGranahan N, Bartek J, et al. The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution [J]. *Nature*, 2013,501(7467):338 - 345 (收稿日期:2015 - 01 - 15)  
(修回日期:2015 - 03 - 16)

# 新疆维吾尔族急性缺血性脑卒中短期预后与 5 - 脂氧合酶激活蛋白 SG13S32 位点及危险因素的相关性研究

刘 梦 殷立新 马建华 张小宁

**摘 要** **目的** 探讨新疆维吾尔族人群急性缺血性脑卒中短期预后与 5 - 脂氧合酶激活蛋白(5 - lipoxigenase - activating, ALOX5AP)基因 SG13S32 位点、年龄、性别、就诊时间等危险因素的相关性。**方法** 选取 194 例新疆地区急性缺血性脑卒中经相同药物治疗后的维吾尔族患者,应用聚合酶链反应 - 限制性片段长度多态性技术检测 ALOX5AP 基因 SG13S32 位点多态性,采用队列研究的统计分析方法比较不同基因型人群的短期预后改善情况,并经 Logistic 逐步回归分析,得出预后相关独立因素。**结果** 5 - 脂氧合酶激活蛋白基因 SG13S32 位点不同基因型间维吾尔族急性缺血性脑卒中短期预后改善差异无统计学意义

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81060097)

作者单位:830054 乌鲁木齐,新疆医科大学第一附属医院神经内科

通讯作者:马建华,电子信箱:mjh9191@163.com