

〔文章编号〕 1007-0893(2021)04-0024-02

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2021.04.010

## TM4SF3 蛋白在三阴性乳腺癌中的表达及预后意义

胡倩 蓝晓珊 陈秀云 林颖欣 庞丹梅

(佛山市第一人民医院, 广东 佛山 528000)

〔摘要〕 **目的:** 观察 TM4SF3 蛋白在三阴性乳腺癌患者体内的表达情况, 分析 TM4SF3 的表达和三阴性乳腺癌患者预后的关系。**方法:** 应用半定量免疫组化技术检测 2007–2010 年佛山市第一人民医院肿瘤医院 82 例临床资料完整的三阴性乳腺癌患者的 TM4SF3 蛋白表达水平, 采用卡方检验和 Kaplan–Meier 法分析 TM4SF3 在患者体内的表达水平和临床特征和肿瘤进展时间的关系。**结果:** 在乳腺癌患者癌组织中, TM4SF3 蛋白表达水平与患者发生淋巴结转移、远处转移和 TNM 分期有关, 而与年龄、肿瘤大小, Ki-67 均无关。TM4SF3 蛋白高表达患者的肿瘤进展时间比低表达组短。**结论:** TM4SF3 在三阴性乳腺癌患者体内的蛋白表达水平与淋巴结转移, 远处转移以及三阴性乳腺癌患者预后相关。TM4SF3 可能参与了三阴性乳腺癌的转移和进展, 并可能是三阴性乳腺癌治疗的潜在靶点。

〔关键词〕 三阴性乳腺癌; TM4SF3 蛋白; 肿瘤进展时间

〔中图分类号〕 R 737.9 〔文献标识码〕 B

乳腺癌是我国女性最常见的恶性肿瘤。三阴性乳腺癌是指雌激素受体 (estrogen receptor, ER), 孕激素受体 (progesterone receptor, PR) 和人表皮生长因子受体-2 (human epidermal growth factor receptor-2, Her-2) 三个重要蛋白均表达阴性的一个特殊类型的乳腺癌。绝大部分三阴性乳腺癌的临床表现呈现为一种侵袭性的病程。相比激素受体阳性乳腺癌, 该类型乳腺癌更容易发生局部复发和远处转移<sup>[1]</sup>。TM4SF3 蛋白又称为 TSPAN8, 是 Tetraspanins 蛋白家族成员。本研究旨在探讨 TM4SF3 蛋白在三阴性乳腺癌患者体内的蛋白表达水平及其和三阴性乳腺癌患者临床特征和肿瘤进展时间的重要关系, 研究详情如下。

### 1 资料与方法

#### 1.1 一般资料

选取本院 2007–2010 年临床资料完整的三阴性乳腺癌患者 82 例作为研究对象, 82 例患者均为女性, 平均年龄 (48.55 ± 9.23) 岁, 超过 60 岁的 30 例, 60 岁以下的 52 例, 体力状况 (performance status, PS) 评分 0 ~ 1 分 70 例, PS 评分 2 分 12 例, Ki-67 ≥ 30% 的 42 例, Ki-67 < 30% 的 40 例。患者均进行长期随访, 包括复发、转移、肿瘤进展时间、生存状态等, 并且均已行半定量免疫组化技术检测肿瘤组织的石蜡切片的 TM4SF3 蛋白表达水平。

纳入标准: (1) 病理确诊的乳腺浸润性导管癌或小叶癌; (2) 免疫组化 ER < 1%, PR < 1%, Her-2 阴性或 (+), 排除 Her-2 (++) 或 (+++); (3) 年龄 18 ~ 70 岁; (4) PS 评分 0 ~ 2 分, 预计生存期超过 3 个月;

(5) 无严重的骨髓功能、心功能或肝肾功能及凝血系统异常。

#### 1.2 免疫组化方法

脱蜡前, 应将患者肿瘤组织石蜡切片在室温中放置 1 h, 后置于二甲苯中浸泡, 然后乙醇中浸泡, 之后用磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer saline, PBS) 清洗脱蜡。用蒸馏水或 PBS 配置新鲜的 3% 过氧化氢溶液, 在室温封闭 5 min, PBS 洗 3 次。甲醛固定的石蜡包埋组织切片抗原修复。煮沸热修复, 用电炉或者水浴锅加热 0.01 mmol · L<sup>-1</sup> 枸橼酸钠缓冲溶液 (pH 6.0) 至 95 °C 左右, 放入组织切片加热。PBS 洗 5 min 后滴加 5% BSA 封闭液, 室温封闭 15 min。然后滴加 TM4SF3 一抗 (编号: ab70007, 来自 Abcam 公司), 工作浓度 1:100; 4 °C 过夜。PBS 洗 3 次。此后在滴加聚合 HRP 标记抗兔子 / 小鼠免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) 二抗 (SV0002 聚合 HRP 标记抗兔 IgG, 来自武汉博士德生物公司) 后室温孵育 1 h。PBS 洗 3 次后采用 DAB 显色试剂盒显色。最后在苏木素复染后乙醇中脱水后中性树脂 50 μL 封片, 室温保存。

#### 1.3 免疫组化结果判读

由两位高年资病理医师独立判读患者组织切片中的 TM4SF3 蛋白表达水平。判读标准如下: 按每张切片中肿瘤细胞 TM4SF3 阳性细胞的百分比和着色深度做半定量分析。TM4SF3 阳性细胞 1% ~ 10% 为 0 分, 11% ~ 25% 为 1 分, 26% ~ 50% 为 2 分, 51% ~ 100% 为 3 分。染色深度无着色为 0 分, 浅黄色 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分。两者乘积 0 ~ 3 分为阴性, 4 分以上判断为阳性。

〔收稿日期〕 2021 - 01 - 05

〔作者简介〕 胡倩, 女, 主治医师, 主要研究方向是乳腺癌内科治疗。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 18.0 软件进行统计处理，计数资料采用  $\chi^2$  检验，生存率采用 Kaplan–Meier 法，生存期差别的比较用 log–rank 检验， $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 TM4SF3 蛋白表达水平与三阴性乳腺癌临床病理特征的关系

TM4SF3 蛋白的阳性染色为棕黄色颗粒，主要分布在乳腺癌细胞的胞浆中，如封三图 1。82 例三阴性乳腺癌患者中 TM4SF3 蛋白总体阳性率为 40.24%，III ~ IV 患者 TM4SF3 蛋白阳性率为 80.95%，I ~ II 期患者 TM4SF3 蛋白阳性率为 37.5%，III ~ IV 期患者和 I ~ II 期患者差异具有统计学意义 ( $P < 0.0001$ )，同时临床发现远处转移，分期 M1 的患者的 TM4SF3 蛋白阳性率也显著高于 M0 的患者，临床发现淋巴结转移，分期 N1 ~ 3 的患者的 TM4SF3 蛋白阳性率也显著高于 N0 的患者，差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。除此之外，TM4SF3 表达与 PS 评分、年龄、肿瘤大小、Ki-67 水平等临床特征差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )，具体见表 1。

表 1 TM4SF3 蛋白表达水平和三阴性乳腺癌患者临床特征的关系 (例)

临床特征	n	TM4SF3 蛋白表达水平		$\chi^2$	P
		低表达组	高表达组		
年龄 / 岁					
< 55	38	13	25	1.0712	0.3005
≥ 55	44	20	24		
PS 评分 / 分					
0	44	14	30	2.8032	0.0941
1 ~ 2	38	19	19		
肿瘤大小 / cm					
≤ 2	24	12	12	1.3431	0.2463
> 2	58	21	37		
分期					
I ~ II	40	25	15	16.08	< 0.0001
III ~ IV	42	8	34		
淋巴结转移					
N0	24	15	9	6.9891	0.0082
N1 ~ N3	58	18	40		
远处转移					
M0	18	3	15	4.8451	0.0277
M1	64	29	35		
Ki-67/%					
< 30	40	21	19	3.0761	0.7945
≥ 30	42	14	28		

注：PS 一体力状况

2.2 TM4SF3 蛋白在三阴性乳腺癌的表达和预后的关系

从患者入组开始到肿瘤进展或患者死亡称为肿瘤进展时间 (time to progression, TTP)。从 Kaplan–Meier 生存曲线可见 TM4SF3 蛋白阳性表达者的 TTP 低于阴性表达者，经 log–rank 检验，两组差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )，如封三图 2。

3 讨论

肿瘤的侵袭转移是一个分阶段的复杂过程，肿瘤转移由一组先后而连续的步骤组成。侵袭转移过程首先出现的现象是肿瘤细胞间的黏附减少，肿瘤细胞的活动性增加<sup>[2-4]</sup>。本研究发现，三阴性乳腺癌细胞株 TM4SF3 蛋白在三阴性乳腺癌患者体内呈阳性表达，TM4SF3 蛋白异常高水平表达和淋巴结转移、远处转移及分期相关。此外 82 例三阴性乳腺癌的 TM4SF 的蛋白高表达水平和相对较短的肿瘤进展时间相关。近年来有靶向细胞黏附分子，如表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 和上皮细胞黏附因子 (epithelial cell adhesion molecule, EPCAM) 的单克隆抗体并用于临床，但并无开发靶向 Tetraspanins 家族蛋白的单克隆抗体的研究用于肿瘤临床治疗，这个研究方向值得研究者们继续进一步深入<sup>[5]</sup>。

本研究发现 TM4SF3 蛋白在三阴性乳腺癌患者体内表达升高，并且 TM4SF 在患者体内的蛋白高表达水平和肿瘤患者较短的 TTP 相关，TM4SF3 可能和三阴性乳腺癌细胞的转移特性相关，以上研究提示 TM4SF3 蛋白可能是治疗三阴性乳腺癌的潜在靶向。

[参考文献]

- (1) Rebecca V. Triple-Negative Breast Cancer Drug Receives Approval (J) . JAMA, 2020, 323(21): 2122.
- (2) Waks AG, Winer EP. Breast Cancer Treatment: A Review (J) . JAMA The Journal of the American Medical Association, 2019, 321(3): 288-300.
- (3) Zhou Z, Ran YL, Hu H, et al. TM4SF3 promotes esophageal carcinoma metastasis via upregulating ADAM12m expression (J) . Clinical & Experimental Metastasis, 2008, 25(5): 537-548.
- (4) Han R, Hensley PJ, Li J, et al. Integrin-associated CD151 is a suppressor of prostate cancer progression (J) . American journal of translational research, 2020, 12(4): 1428-1442.
- (5) Kanetaka K, Sakamoto M, Yamamoto Y, et al. Overexpression of tetraspanin CO-029 in hepatocellular carcinoma (J) . Journal of Hepatology, 2001, 35(5): 637-642.