

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.01.010

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.01.010

成骨细胞特异性转录因子2在乳腺癌中的表达及临床意义

周炳娟^{1,2}, 黄丽娟², 曹建江², 马小乐², 孙吉瑞¹, 乔海芝¹, 赵文明¹, 张金库¹

(1. 保定市第一中心医院病理科, 河北 保定 071000;

2. 新疆生产建设兵团第二师库尔勒医院病理科, 新疆 库尔勒 841000)

[摘要] 目的: 探讨成骨细胞特异性转录因子2(runt-related transcription factor 2, Runx2)在乳腺癌组织中的表达及临床意义。方法: 采用免疫组织化学法检测Runx2在乳腺浸润性导管癌和癌旁乳腺组织中的表达情况及其与乳腺癌临床病理特征间的关系。结果: Runx2在乳腺浸润性导管癌及癌旁乳腺组织中的阳性表达率分别为69.52%(73/105)和8.57%(9/105), 乳腺浸润性导管癌组Runx2的阳性表达率显著高于癌旁乳腺组织, 差异具有统计学意义, 而且Runx2在乳腺浸润性导管癌中的表达与雌激素受体(estrogen receptor, ER)呈负相关。Runx2的表达与乳腺癌的组织学分级、淋巴结转移及临床分期相关, 而与患者年龄及肿瘤大小无关。结论: Runx2可能参与了乳腺癌的发生, 而且在ER阴性乳腺癌的发生过程中可能发挥了更加重要的作用。Runx2与乳腺癌的恶性程度、浸润、转移有关, 提示Runx2可能成为乳腺癌患者预后评估的重要指标之一。

[关键词] 乳腺癌; 成骨细胞特异性转录因子2; 免疫组织化学

Expression and clinical significance of runt-related transcription factor 2 in breast carcinoma

ZHOU Bingjuan^{1,2}, HUANG Lijuan², CAO Jianjiang², MA Xiaole², SUN Jirui¹, QIAO Haizhi¹,
ZHAO Wenming¹, ZHANG Jinku¹

(1. Department of Pathology, NO.1 Central Hospital of Baoding, Baoding Hebei 071000; 2. Department of Pathology, Second Hospital of Korla of The Xinjiang Production and Construction Corps, Korla Xinjiang 841000, China)

Abstract **Objective:** To study the expression and clinical significance of runt-related transcription factor 2 (Runx2) in breast carcinoma. **Methods:** The expression of Runx2 in primary breast invasive ductal carcinoma (IDC) and adjacent mammary gland tissue and its relationship with breast cancer's clinical pathological features was detected by immunohistochemical method (IHC). **Results:** IHC analysis showed that the positive expression rate of Runx2 in IDC was 69.52% (73/105), much higher than that in para-tumor breast tissues [8.57% (9/105), $P < 0.05$] and the expression of Runx2 in IDC was negatively related with estrogen receptor (ER). Furthermore, Runx2 expression showed a significant correlation with histopathologic grade lymph node metastasis and pTNM stage, and did not correlate with patients' age, and tumor size. **Conclusion:** The overexpression of Runx2 may participate in the tumorigenesis of breast carcinoma and may play a more important role in the carcinogenesis of ER negative-

收稿日期 (Date of reception): 2016-09-03

通信作者 (Corresponding author): 张金库, Email: zjkbk@sohu.com

expressing breast carcinoma. Runx2 correlated with malignant degree, invasion and metastasis of breast carcinoma and may be a key factor to assess the prognosis of patients.

Keywords breast carcinoma; runt-related transcription factor 2; immunohistochemistry

成骨细胞特异性转录因子2 (runt-related transcription factor 2, Runx2)作为Runt相关转录因子家族中的一员,是成骨细胞分化和骨形成的关键调节因子。Runx2在鼠乳腺上皮细胞中表达,而且在多种恶性肿瘤中表达异常,并与患者预后不良有关^[1-2]。乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,严重威胁着女性的健康和生命。本研究采用免疫组织化学法检测Runx2蛋白在乳腺浸润性导管癌及癌旁乳腺组织中的表达情况及其与乳腺癌临床病理特征间的关系,以期探讨Runx2在乳腺组织癌变、浸润、转移及预后评估中的作用。

1 对象与方法

1.1 标本来源

收集2010年1月至2015年12月新疆生产建设兵团第二师库尔勒医院的乳腺病变存档石蜡切片,选取有完整临床病理资料的乳腺浸润性导管癌105例,癌旁乳腺组织(距肿瘤边缘5 cm的乳腺组织)105例。所有乳腺癌患者均为女性,术前均未行放疗、化疗及内分泌治疗。平均年龄50.23(27~69)岁。T1(直径 \leq 2 cm)47例, T2(<2直径 \leq 5 cm)32例, T3(直径>5 cm)26例。组织学分级I级36例, II级43例, III级26例。无淋巴结转移(N0)56例,有淋巴结转移49例(N1 36例; N2 13例); I期27例, II期54例, III期24例。

1.2 试剂与方法

鼠抗人Runx2单克隆抗体购自台湾Abnova公司。即用型快捷免疫组织化学MaxVisionTM检测试剂盒和氨基联苯胺显色试剂盒均购自福州迈新生物生物科技有限公司。标本经10%中性甲醛溶液固定、石蜡包埋、4 μ m厚连续切片、采用免疫组织化学MaxVision两步法染色(具体操作步骤参照试剂盒说明书进行),以PBS代替一抗作为阴性对照,以随试剂盒提供的已知阳性切片作为阳性对照。

1.3 免疫组织化学染色结果判定

以细胞核中出现棕黄色颗粒为阳性。采取

双盲法阅片,每张切片随机选择10个高倍镜视野,结合阳性细胞比例和阳性细胞着色强度进行判定。阳性细胞率<10%为0分;阳性细胞率11%~25%为1分;阳性细胞率26%~50%为2分;阳性细胞率>50%为3分。无着色为0分;浅黄色为1分;棕黄色为2分;棕褐色为3分。最后根据阳性细胞率与染色强度评分的乘积进行最后评分,0分为阴性, \geq 1分为阳性^[3]。

1.4 统计学处理

采用IBM SPSS23.0统计学软件进行数据分析,计数资料采用卡方检验和Fisher确切概率检验,多个样本率的两两比较采用卡方分割法, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Runx2蛋白在各组的表达情况

Runx2蛋白的阳性表达为细胞核出现棕黄色颗粒(图1)。105例乳腺浸润性导管癌中,Runx2蛋白阳性的73例,阳性表达率69.52%。105例癌旁乳腺组织中,Runx2蛋白阳性的9例,阳性表达率8.57%。乳腺浸润性导管癌中Runx2蛋白的阳性表达率显著高于癌旁乳腺组织($P<0.05$,表1)。

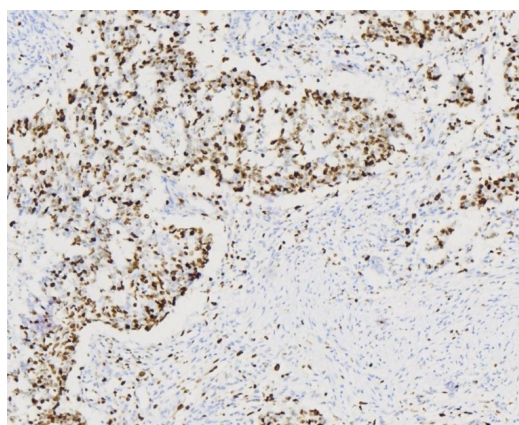


图1 Runx2在乳腺癌中的表达(IHC, \times 200)

Figure 1 Expression of Runx2 in breast carcinoma (IHC, \times 200)

表1 Runx2在各组中的表达[例(%)]

Table 1 Expression of Runx2 in each group [No. (%)]

分组	n	Runx2		χ^2	P
		+	-		
乳腺浸润性导管癌	105	73 (69.52)	32 (30.48)	81.951	<0.001
癌旁乳腺组织	105	9 (8.57)	96 (91.43)		

2.2 Runx2 蛋白与乳腺癌临床病理特征间的关系

Runx2蛋白的表达与组织学分级、淋巴结转移及临床分期相关($P < 0.05$)。组织学分级 I, II, III 级的乳腺浸润性导管癌 Runx2 蛋白的阳性表达率分别为 41.67% (15/36), 74.42% (32/43) 和 100.00% (26/26), II 级和 III 级乳腺癌的 Runx2 蛋白的阳性表达率显著高于 I 级乳腺癌 (III 级与 I 级比较, $\chi^2 = 22.935$, $P < 0.001$); II 级与 I 级比较 ($\chi^2 = 8.722$, $P = 0.003$), 且 III 级乳腺癌组织 Runx2 蛋白的阳性表达率显著高于 II 级乳腺癌, 差异具有统计学意义 (Fishers' 确切概率 $P = 0.005$)。N0、N1、N2 组乳腺浸润性导管癌 Runx2 蛋白的阳性表达率分别为 58.93% (33/56), 75.00% (27/36) 和 100% (13/13), N2 组 Runx2 蛋白的阳性率显著高

于 N0 组 (Fisher's $P = 0.003$), 而与 N1 组比较无显著差异 (Fisher's $P = 0.089$), N1 组 Runx2 蛋白阳性表达率比 N0 组增高, 但二者差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.495$, $P = 0.114$)。I 期的 27 例乳腺癌病例, 17 例 Runx2 阳性, II 期的 54 例乳腺癌病例, 32 例 Runx2 阳性, III 期的 24 例乳腺癌病例, 24 例 Runx2 阳性, pTNM 分期较晚的乳腺癌组织 Runx2 蛋白阳性表达率更高, 差异具有统计学意义 (III 期与 I 期比较, $\chi^2 = 11.051$, $P = 0.001$); III 期与 II 期比较 ($\chi^2 = 13.619$, $P = 0.000$)。Runx2 蛋白的表达与患者年龄及肿瘤大小无关 ($P > 0.05$)。Runx2 蛋白的表达与雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 呈负相关关系 ($r = -0.315$, $P = 0.001$), 与 HER-2 无显著相关性 ($r = 0.176$, $P = 0.072$, 表 2)。

表2 Runx2蛋白与乳腺癌临床病理特征的关系

Table 2 Relationship between Runx2 expression and clinicopathological feature in breast carcinoma

临床病理参数	n	Runx2		χ^2	P
		+	-		
年龄/岁				0.982	0.322
≤50	47	35	12		
>50	58	38	20		
肿瘤大小				1.475	0.478
T1	47	30	17		
T2	32	23	9		
T3	26	20	6		
组织学分级				25.069	<0.001
I	36	15	21		
II	43	32*	11		
III	26	26**	0		
淋巴结情况				9.175	0.010
N0	56	33	23		
N1	36	27	9		
N2	13	13*	0		

表2 (续表)

临床病理参数	n	Runx2		χ^2	P
		+	-		
pTNM分期				13.754	0.001
I	27	17	10		
II	54	32	22		
III	24	24 ^{△*}	0		
ER				10.428	0.001
+	68	40	28		
-	37	33	4		
HER-2				3.245	0.072
+	25	21	4		
-	80	52	28		

组织学分级: *与 I 级相比, II, $\chi^2=8.722$, $P=0.003$; III, $\chi^2=22.935$, $P<0.001$; *与 II 级相比, Fishers' $P=0.005$ 。淋巴结情况: *与 N0 组相比, Fishers' $P=0.003$ 。TNM 分期: [△]与 I 期相比, $\chi^2=11.051$, $P=0.001$; *与 II 期相比, $\chi^2=13.619$, $P<0.001$ 。相关性分析: Runx2 与雌激素受体(ER), $r=-0.315$, $P=0.001$; Runx2 与 HER-2, $r=0.176$, $P=0.072$ 。

Histological grade: * compared with grade I, II, $\chi^2=8.722$, $P=0.003$; III, $\chi^2=22.935$, $P<0.001$; * compared with grade II, Fishers' $P=0.005$. Lymph node status: * compared with N0, Fishers' $P=0.003$. TNM stage: [△] compared with stage I, $\chi^2=11.051$, $P=0.001$; * compared with stage II, $\chi^2=13.619$, $P<0.001$. Correlation analysis: Runx2 and ER, $r=-0.315$, $P=0.001$; Runx2 and HER-2, $r=0.176$, $P=0.072$.

3 讨论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 10%~15%会发生远处转移, 而超过70%的晚期乳腺癌患者会发生骨转移, 发生骨转移后的5年生存率只有大约20%^[4-6]。乳腺癌的发生、发展及转移涉及了多条信号转导途径的失调及致癌转录因子的异位表达。

Runx 转录因子家族有3个成员(Runx1~3)。Runx 在造血(Runx1)、骨(Runx2)和胃肠道/神经元(Runx3)生长过程中的作用到了证实, 而且3个成员都能够参与癌症的进展^[7-8]。Runx2 可通过诱导细胞异常增殖、抑制凋亡导致上皮性肿瘤的形成并在前列腺癌^[9]、肺癌^[10]、卵巢癌^[11]、骨肉瘤^[12]等多种恶性肿瘤中异常表达。Runx2 可在胚胎乳芽及成人乳腺的基底和腺上皮细胞中表达, 通过调节相关基因的表达参与乳腺的生长过程, 而且在乳腺癌细胞株中, Runx2 也呈现高表达^[13]。

雌激素、ER α 及Runx2之间存在复杂的相互作用关系。一方面, ER 不仅能降低Runx2在乳腺癌发生过程中的致癌作用, 而且还能够对乳腺癌细胞中Runx2的表达起到抑制作用^[13]。另一方面,

Runx2能够通过ER α 的F启动子相互作用调节ER α 的表达, 而且Runx2能与ER α 形成复合物影响下游的基因表达^[14]。雌激素则通过通过雌激素转录生长因子 β (TGF β)途径^[15]、Wnt途径^[16]、Fas/FasL途径^[17]及NF- κ B途径^[18]等调节Runx2的表达和活性。本研究结果显示: Runx2蛋白在乳腺浸润性导管癌中的阳性表达率显著高于癌旁乳腺组织, 差异具有统计学意义。而且Runx2蛋白与ER的表达呈负相关关系提示, Runx2在乳腺癌, 特别是ER阴性的乳腺癌的发生、发展中发挥了更加重要的作用。人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor, HER2)阳性的乳腺肿瘤具有更强的侵袭性, 包括高增殖率、高微血管密度、侵袭性更强、凋亡阻滞等^[19], 15%~20%的乳腺癌患者HER2过表达, 与生存率较低有关^[20], 在乳腺癌细胞中, Runx2的表达与HER2水平相关, 二者高表达是乳腺癌独立的预后欠佳的因素, 二者联合似乎成为预后评估的新的综合指标^[13]。本实验结果显示Runx2与HER2的表达无相关性, 与Onodera等^[13]研究结果的差异可能与病例选择有关, 但具体原因尚待进一步研究。

乳腺癌的发生、发展涉及了多个过程, 包

括原发肿瘤的形成、肿瘤周围新生血管形成、浸润, 外渗及最终形成骨转移。Runx2通过促进上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、腺泡形态的破坏、远处转移的集群现象或骨质溶解, 调节与转移表型相关基因如MMP9, MMP13, TGF- β 和VEGF等的表达参与其中^[21-22]。这些过程可能都与乳腺癌患者预后不佳有关。本研究发现组织学分级越高, 淋巴结转移越多, pTNM分期越晚的乳腺癌组织, Runx2的阳性表达率越高, 差异具有统计学意义。但Runx2蛋白的表达与患者年龄及肿瘤大小无关, 提示Runx2可能成为乳腺癌患者生物学行为评估的重要标志。

综上所述, Runx2参与了乳腺组织的癌变过程, 并在ER阴性的乳腺癌发生过程中发挥更加重要的作用, 而且Runx2的高表达可能与患者预后欠佳有关。既往研究^[23]也发现: 对Runx2基因进行靶向沉默, 可有效的抑制癌细胞的迁移, 降低乳腺癌溶骨性病变的发生。因此, Runx2有可能成为乳腺癌治疗的新靶点, 为乳腺癌的治疗提供新的思路。

参考文献

- Pratap J, Imbalzano KM, Underwood JM, et al. Ectopic runx2 expression in mammary epithelial cells disrupts formation of normal acini structure: implications for breast cancer progression[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(17): 6807-6814.
- Owens TW, Rogers RL, Best S, et al. Runx2 is a novel regulator of mammary epithelial cell fate in development and breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(18): 5277-5286.
- 闵大六, 沈赞, 林峰, 等. Runx2和Ezrin基因在骨肉瘤组织中的表达及其临床意义[J]. *中国癌症杂志*, 2012(9): 685-689.
MIN Daliu, SHEN Zan, LIN Feng, et al. Expression and clinical significances of Runx2 and Ezrin expressions in osteosarcoma[J]. *China Oncology*, 2012(9): 685-689.
- Weigelt B, Peterse JL, van't Veer LJ. Breast cancer metastasis: markers and models[J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(8): 591-602.
- Lee YT. Breast carcinoma: pattern of metastasis at autopsy[J]. *J Surg Oncol*, 1983, 23(3): 175-180.
- Coleman RE, Rubens RD. The clinical course of bone metastases from breast cancer[J]. *Br J Cancer*, 1987, 55(1): 61-66.
- Cohen MM Jr. Perspectives on RUNX genes: an update[J]. *Am J Med Genet A*, 2009, 149A(12): 2629-2646.
- Chimge NO, Frenkel B. The RUNX family in breast cancer: relationships with estrogen signaling[J]. *Oncogene*, 2013, 32(17): 2121-2130.
- Brubaker KD, Vessella RL, Brown LG, et al. Prostate cancer expression of runt-domain transcription factor Runx2, a key regulator of osteoblast differentiation and function[J]. *Prostate*, 2003, 56(1): 13-22.
- Li H, Zhou RJ, Zhang GQ, et al. Clinical significance of RUNX2 expression in patients with nonsmall cell lung cancer: a 5-year follow-up study[J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(3): 1807-1812.
- Li W, Xu S, Lin S, et al. Overexpression of runt-related transcription factor-2 is associated with advanced tumor progression and poor prognosis in epithelial ovarian cancer[J]. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 2012: 456534.
- Martin JW, Zielenska M, Stein GS, et al. The role of RUNX2 in osteosarcoma oncogenesis[J]. *Sarcoma*, 2011, 2011: 282745.
- Onodera Y, Miki Y, Suzuki T, et al. Runx2 in human breast carcinoma: its potential roles in cancer progression[J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(12): 2670-2675.
- Khalid O, Baniwal SK, Purcell DJ, et al. Modulation of Runx2 activity by estrogen receptor-alpha: implications for osteoporosis and breast cancer[J]. *Endocrinology*, 2008, 149(12): 5984-5995.
- Hawse JR, Subramaniam M, Ingle JN, et al. Estrogen-TGFbeta cross-talk in bone and other cell types: role of TIEG, Runx2, and other transcription factors[J]. *J Cell Biochem*, 2008, 103(2): 383-392.
- Mendoza-Villanueva D, Zeef L, Shore P. Metastatic breast cancer cells inhibit osteoblast differentiation through the Runx2/CBFBeta-dependent expression of the Wnt antagonist, sclerostin[J]. *Breast Cancer Res*, 2011, 13(5): R106.
- Kovacic N, Lukić IK, Grcević D, et al. The Fas/Fas ligand system inhibits differentiation of murine osteoblasts but has a limited role in osteoblast and osteoclast apoptosis[J]. *J Immunol*, 2007, 178(6): 3379-3389.
- Chen JR, Haley RL, Hidestrand M, et al. Estradiol protects against ethanol-induced bone loss by inhibiting up-regulation of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand in osteoblasts[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 319(3): 1182-1190.
- Cadoo KA, Fornier MN, Morris PG. Biological subtypes of breast cancer: Current concepts and implications for recurrence patterns[J]. *Q J Nucl Med Mol Imaging*, 2013, 57(4): 312-321.
- Baselga J. Treatment of HER2-overexpressing breast cancer[J]. *Ann Oncol*, 2010, 21 (Suppl 7): vii36-vii40.
- Pratap J, Javed A, Languino LR, et al. The Runx2 osteogenic transcription factor regulates matrix metalloproteinase 9 in bone metastatic cancer cells and controls cell invasion[J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(19): 8581-8591.

22. Javed A, Barnes GL, Pratap J, et al. Impaired intranuclear trafficking of Runx2 (AML3/CBFA1) transcription factors in breast cancer cells inhibits osteolysis in vivo[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(5): 1454-1459.
23. Reufsteck C, Lifshitz-Shovali R, Zepp M, et al. Silencing of skeletal metastasis-associated genes impairs migration of breast cancer cells and reduces osteolytic bone lesions[J]. Clin Exp Metastasis, 2012, 29(5): 441-456.

本文引用: 周炳娟, 黄丽娟, 曹建江, 马小乐, 孙吉瑞, 乔海芝, 赵文明, 张金库. 成骨细胞特异性转录因子2在乳腺癌中的表达及临床意义[J]. 临床与病理杂志, 2017, 37(1): 50-55. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.01.010

Cite this article as: ZHOU Bingjuan, HUANG Lijuan, CAO Jianjiang, MA Xiaole, SUN Jirui, QIAO Haizhi, ZHAO Wenming, ZHANG Jinku. Expression and clinical significance of runt-related transcription factor 2 in breast carcinoma[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2017, 37(1): 50-55. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.01.010