

【文章编号】1006-6233(2019)09-1470-04

# Foxp3 $\beta$ -catenin 在乳腺癌组织中的表达及其与临床预后的关系

李 骏, 郎晓讴

(沈阳医学院附属中心医院普外科, 辽宁 沈阳 110024)

**【摘要】目的:**探讨叉头状/翼状螺旋转录因子(Foxp3)、 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)在乳腺癌组织中的表达及其与临床预后的关系。**方法:**选取2016年8月至2018年8月本院乳腺癌及其癌旁正常组织80例,采用免疫组织化学法检测组织中Foxp3、 $\beta$ -catenin表达情况,分析二者与乳腺癌病理特征及生存预后的关系。**结果:**乳腺癌组织中Foxp3、 $\beta$ -catenin表达阳性率明显高于癌旁正常组织,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );乳腺癌组织中Foxp3、 $\beta$ -catenin表达与临床分期、病理分级、淋巴结转移有关( $P < 0.05$ );乳腺癌组织中Foxp3与 $\beta$ -catenin表达呈正相关( $P < 0.05$ );生存曲线分析显示,Foxp3、 $\beta$ -catenin表达阳性者1年生存率明显低于Foxp3、 $\beta$ -catenin表达阴性者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论:**Foxp3、 $\beta$ -catenin与乳腺癌的发生发展有关,二者表达呈正相关,提示检测二者表达可作为评估乳腺癌临床预后的重要指标。

**【关键词】** 叉头状/翼状螺旋转录因子;  $\beta$ -连环蛋白; 乳腺癌

**【文献标识码】** A **【doi】**10.3969/j.issn.1006-6233.2019.09.016

## Expression of Foxp3 and beta-catenin in Breast Cancer and the Relationship with Clinical Prognosis

LI Jun, LANG Xiao'ou

(The Central Hospital Affiliated to Shenyang Medical College, Liaoning Shenyang 110024, China)

**【Abstract】Objective:** To discuss the expression of forked head / wing like spiral transcription factor (Foxp3) and beta catenin in breast cancer and the relationship with clinical prognosis. **Methods:** The expression of Foxp3 and beta-catenin in 80 cases of breast cancer and adjacent normal tissues in our hospital from August 2016 to August 2018 was detected by immunohistochemistry. The relationship between the expression of Foxp3 and beta-catenin and pathological characteristics and survival and prognosis of breast cancer was analyzed. **Results:** The positive rates of Foxp3 and beta-catenin expression in breast cancer tissues were significantly higher than those in adjacent normal tissues, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The expressions of Foxp3 and beta-catenin in breast cancer tissues were correlated with clinical stage, pathological grade and lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). The expressions of Foxp3 and beta-catenin in breast cancer tissues were positively correlated ( $P < 0.05$ ). The survival curve analysis showed that, the 1-year survival rate of patients with positive expression of Foxp3 and beta-catenin was significantly lower than those patients with negative expression of Foxp3 and beta-catenin, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusions:** Foxp3 and beta-catenin are related to the occurrence and development of breast cancer, and their expressions are positively correlated, suggesting that the detection of their expressions can be used as the important index for evaluating the clinical prognosis of breast cancer.

**【Key words】** Forked head / wing like spiral transcription factor; Beta catenin; Breast cancer

乳腺癌是临床常见的恶性肿瘤,易发生转移,侵袭肝、脑、肺等重要器官,危及患者的性命,因此分析评估其临床预后具有重要的临床意义<sup>[1]</sup>。叉头状/翼状螺旋转录因子(Foxp3)是叉头样转录因子家族的成员之一,在细胞发育和免疫抑制中具有重要的作用,其异常表达可能会促进肿瘤的侵袭转移行为<sup>[1]</sup>。 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)是一种多功能蛋白,主要具有细胞间黏附连接功能,大量研究报道其高表达与肿瘤侵袭转移

有关<sup>[2]</sup>。本文通过检测乳腺癌及其癌旁正常组织中Foxp3、 $\beta$ -catenin表达情况,并分析其与患者临床预后的关系,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料:**选取2016年8月至2018年8月本院乳腺癌患者80例,年龄36~78岁、平均(58.42±7.24)岁,肿瘤直径2~7cm、平均(2.87±0.65)cm,临床分期分为I~II期32例、III~IV期48例,低分化26例、中

分化34例、高分化20例,淋巴结转移43例,导管内癌28例、浸润性导管癌50例,参照《St.Gallen 共识》<sup>[3]</sup>依据雌激素受体(ER)和孕激素受体(PR)分型分为ER(+)/PR(+)<sup>50</sup>例、ER(-)/PR(-)<sup>16</sup>例、ER(+)/PR(-)<sup>10</sup>例、ER(-)/PR(+)<sup>4</sup>例。纳入标准:病理学检查为乳腺癌,女性、年龄>18岁、无精神病史,术前无免疫、化疗、放疗、抗氧化等治疗史。排除标准:有血液、免疫、神经等系统疾病,有其他原发性癌症,有心、肝、肾等严重性疾病,妊娠期、哺乳期女性;本研究经伦理委员会审批通过,

**1.2 方法:**主要试剂,鼠抗人 Foxp3 及兔抗人  $\beta$ -catenin 抗体(美国 eBioscience 公司),EnVision 两步法免疫组织化学及二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒(购自福州迈新生物技术开发有限公司);检测方法,所有乳腺癌患者均于术后取乳腺癌及其癌旁正常组织经10%甲醛固定和石蜡包埋、5 $\mu$ m 厚度连续切片、采用 EnVision 两步法免疫组织化学法检测组织中 F<sub>oxp3</sub>、 $\beta$ -catenin 表达情况<sup>[4]</sup>,DAB 显色、苏木素复染3min、脱水待切片透明后中性树脂封固,稀释比例均为1:50,以磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗性为阴性对照、以已知 F<sub>oxp3</sub> 和  $\beta$ -catenin 阳性表达的乳腺癌切片为阳性对照;结果判定,由2名病理科医师对切片染色结果行独立阅片,F<sub>oxp3</sub> 表达于细胞核、 $\beta$ -catenin 表达于细胞膜,根据阳性细胞百分率(<5%为0分、5~25%为1分、26~50%为2分、51~75%为3分、>75%为4分)、染色强度(无色为0分、淡黄色为1分、黄色为2分、棕黄色为3分)进行评分,每张切片均在高倍显微镜下随机观察100个细胞10个视野,两项分值相加后, $\geq 4$ 分为阳性,<3分为阴性。随访,所有患者出院后通过电话、复诊等方式随访1年,观察和记录生存情况。

**1.3 统计学方法:**采用 SPSS22.0 软件进行统计分析。计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用 t 检验;计数资料以(%)表示,采用  $\chi^2$  检验;乳腺癌组织中 F<sub>oxp3</sub> 与  $\beta$ -catenin 表达的关系采用 McNemar 检验;等级资料采用秩和 Z 检验;F<sub>oxp3</sub>、 $\beta$ -catenin 表达与乳腺癌患者生存预后的关系采用生存曲线分析。以 P<0.05,为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同组织中 F<sub>oxp3</sub>、 $\beta$ -catenin 阳性表达比较:**乳腺癌组织中 F<sub>oxp3</sub>、 $\beta$ -catenin 表达阳性率明显高于癌旁正常组织,差异有统计学意义(P<0.05),见表1。

**2.2 乳腺癌组织中 F<sub>oxp3</sub>、 $\beta$ -catenin 阳性表达与病理特征的关系:**乳腺癌组织中 F<sub>oxp3</sub>、 $\beta$ -catenin 表达与临床分期、病理分级、淋巴结转移有关(P<0.05),但与年龄、月经状态、肿瘤直径、病理类型、ER 和 PR 分型等无关(P>0.05),见表2。

表1 不同组织中 F<sub>oxp3</sub>、 $\beta$ -catenin 阳性表达比较 n(%)

| 组织       | 例数 | F <sub>oxp3</sub> 表达 | $\beta$ -catenin 表达 |
|----------|----|----------------------|---------------------|
| 癌旁正常     | 80 | 18(22.50)            | 14(17.50)           |
| 乳腺癌      | 80 | 51(63.75)            | 42(52.25)           |
| $\chi^2$ |    | 27.75                | 21.538              |
| P        |    | <0.001               | <0.001              |

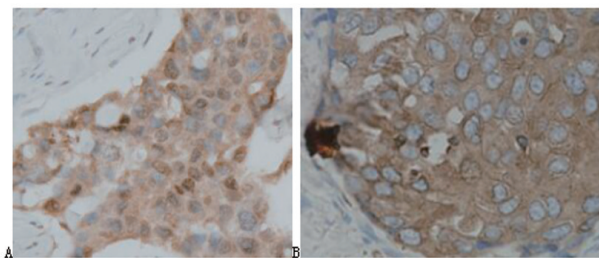


图1 乳腺癌组织中 F<sub>oxp3</sub>、 $\beta$ -catenin 阳性表达(SP,  $\times 400$ ):A 为 F<sub>oxp3</sub>,B 为  $\beta$ -catenin

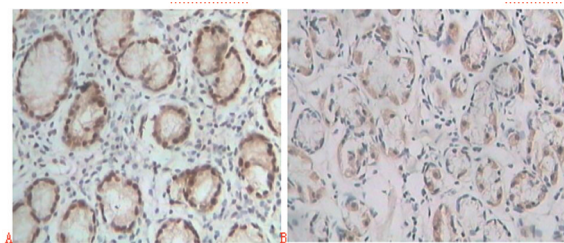


图2 乳腺癌旁组织中 F<sub>oxp3</sub>、 $\beta$ -catenin 阳性表达(SP,  $\times 400$ ):A 为 F<sub>oxp3</sub>,B 为  $\beta$ -catenin

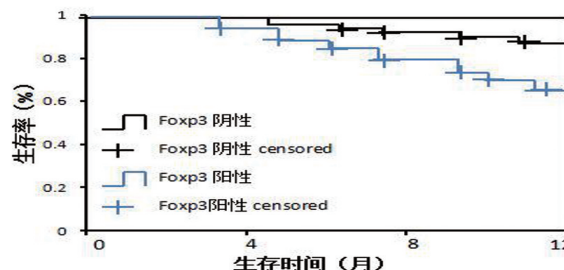


图3 乳腺癌组织中 F<sub>oxp3</sub> 表达与患者生存预后的生存曲线分析

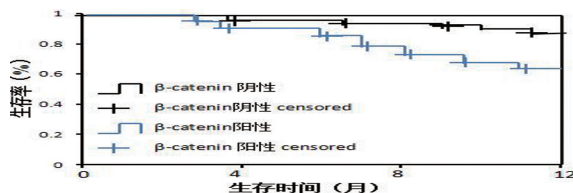


图4 乳腺癌组织中  $\beta$ -catenin 表达与患者生存预后的生存曲线分析

表2 乳腺癌组织中 Foxp3、 $\beta$ -catenin 阳性表达与病理特征的关系 (n)

| 病理特征        | 例数 | Foxp3 阳性(n=51) | $\chi^2/Z$ | P      | $\beta$ -catenin 阳性(n=42) | $\chi^2/Z$ | P      |
|-------------|----|----------------|------------|--------|---------------------------|------------|--------|
| 年龄          |    |                |            |        |                           |            |        |
| <50岁        | 31 | 18             |            |        | 15                        |            |        |
| $\geq 50$ 岁 | 49 | 23             | 0.941      | 0.332  | 27                        | 0.687      | 0.407  |
| 月经状态        |    |                |            |        |                           |            |        |
| 绝经前         | 34 | 23             | 0.777      | 0.378  | 19                        | 0.543      | 0.461  |
| 绝经后         | 46 | 28             |            |        | 23                        |            |        |
| 肿瘤直径        |    |                |            |        |                           |            |        |
| <3cm        | 56 | 34             |            |        | 27                        |            |        |
| $\geq 3$ cm | 24 | 17             | 0.070      | 0.792  | 15                        | 0.188      | 0.664  |
| 临床分期        |    |                |            |        |                           |            |        |
| I~II        | 32 | 14             |            |        | 13                        |            |        |
| III~IV      | 48 | 37             | 12.463     | <0.001 | 29                        | 5.032      | 0.0014 |
| 病理分级        |    |                |            |        |                           |            |        |
| 低           | 26 | 19             |            |        | 16                        |            |        |
| 中           | 34 | 22             |            |        | 18                        |            |        |
| 高           | 20 | 10             | 11.321     | <0.001 | 8                         | 11.422     | 0.192  |
| 淋巴结转移       |    |                |            |        |                           |            |        |
| 是           | 43 | 36             |            |        | 35                        |            |        |
| 否           | 37 | 15             | 22.092     | <0.001 | 7                         | 42.257     | <0.001 |
| 病理类型        |    |                |            |        |                           |            |        |
| 导管内癌        | 28 | 16             |            |        | 12                        |            |        |
| 浸润性导管癌      | 50 | 35             | 0.303      | 0.762  | 30                        | 0.354      | 0.682  |
| ER和PR       |    |                |            |        |                           |            |        |
| ER(+)/PR(+) | 50 | 32             |            |        | 26                        |            |        |
| ER(-)/PR(-) | 16 | 10             |            |        | 8                         |            |        |
| ER(+)/PR(-) | 10 | 6              |            |        | 6                         |            |        |
| ER(-)/PR(+) | 4  | 3              | 1.024      | 0.224  | 2                         | 1.156      | 0.197  |

2.3 乳腺癌组织中 Fxp3 与  $\beta$ -catenin 表达的关系: 乳腺癌组织中 Fxp3 与  $\beta$ -catenin 表达呈正相关( $\chi^2 = 4.923, P = 0.027$ ), 见表3。

2.4 Fxp3、 $\beta$ -catenin 表达与乳腺癌患者生存预后的关系: 80例乳腺癌患者随访1年后生存62例、生存率

为77.50%; 生存曲线分析显示, Fxp3、 $\beta$ -catenin 表达阳性者1年生存率为70.59%(36/51)、64.29%(27/42), 明显低于 Fxp3、 $\beta$ -catenin 表达阴性者的89.66%(26/29)、92.11%(32/38), 差异有统计学意义( $\chi^2 = 7.709, P = 0.005; \chi^2 = 17.709, P < 0.001$ ), 见图3、4。

表 3 乳腺癌组织中 Foxp3 与  $\beta$ -catenin 表达的关系 (n)

| Foxp3 表达 | $\beta$ -catenin 表达 |           |
|----------|---------------------|-----------|
|          | 阳性 (n=42)           | 阴性 (n=38) |
| 阳性       | 40                  | 11        |
| 阴性       | 2                   | 27        |

### 3 讨论

乳腺癌是发生乳腺腺上皮组织的恶性肿瘤,其病因尚未明确,临床多采用手术、放疗、化疗、内分泌治疗、免疫治疗等综合疗法,可有效改善患者的病情,但仍有部分患者因病情恶化而出现侵袭转移,从而造成复发和不良预后,尤其是侵犯心、脑、肺等重要器官,常危及患者的生命安全<sup>[5,6]</sup>。

有研究显示, Foxp3 是一种肿瘤免疫微环境标志性因子,早期发现其特异性表达于 CD4+CD25+调节性 T 细胞,参与细胞发育和免疫抑制功能的发挥,其异常表达会影响肿瘤免疫微环境中免疫监视和防御功能,尤其是会抑制 CD4+CD25+调节性 T 细胞的增殖、促进肿瘤细胞免疫逃逸,从而增加肿瘤侵袭转移的风险<sup>[7]</sup>。而相关研究表明,上皮细胞的生物学改变在肿瘤侵袭转移中具有重要的作用,如细胞极性消失、丧失细胞间连接、细胞游走等,而  $\beta$ -catenin 对上皮细胞生物学改变起关键调控作用,尤其是其异常表达会调控细胞间的黏附能力而促进癌细胞的侵袭转移<sup>[8]</sup>。

本研究中,乳腺癌组织中 Foxp3、 $\beta$ -catenin 表达阳性率明显高于癌旁正常组织,此结果与 Recouvreux<sup>[9]</sup>研究相似,表明 Foxp3、 $\beta$ -catenin 与乳腺癌的发生有关。这可能是由于在乳腺癌的发生过程中,癌细胞会影响其周围环境<sup>[14,15]</sup>,尤其是会引起机体免疫监视和防御功能障碍,刺激 Foxp3 等表达而导致其免疫逃逸,加之其异常增殖会对其周围组织进行渗透和分化而引起上皮细胞的生物学改变,刺激  $\beta$ -catenin 等表达而使其可快速生长增殖。同时,本研究中,乳腺癌组织中 Foxp3、 $\beta$ -catenin 表达与临床分期、病理分级、淋巴结转移有关,乳腺癌组织中 Foxp3 与  $\beta$ -catenin 表达呈正相关,进一步说明了 Foxp3、 $\beta$ -catenin 与乳腺癌的发生发展有关,且二者表达呈正相关。这可能是由于病情较严重的乳腺癌患者,其恶性程度较高而使其对周围环境的影响作用更显著,导致 Foxp3 的异常表达更严重,更显著地抑制了 CD4+CD25+调节性 T 细胞的增殖而促进了乳腺癌细胞的免疫逃逸、快速增殖,并可能会因促使乳腺癌细胞的快速增殖而增强了其阻止自身凋亡和衰老能力,进而影响  $\beta$ -catenin 的表达,使乳腺癌

细胞极性消失、丧失细胞间连接、细胞游走等,从而促进了乳腺癌的侵袭转移行为。此外,本研究的生存曲线分析显示, Foxp3、 $\beta$ -catenin 表达阳性者 1 年生存率明显低于 Foxp3、 $\beta$ -catenin 表达阴性者,表明 Foxp3、 $\beta$ -catenin 与乳腺癌患者的生存预后有关。这可能是由于 Foxp3 表达阳性的乳腺癌患者,其机体免疫抑制、肿瘤周围免疫微环境紊乱状态更严重,导致乳腺癌细胞更易发生免疫逃逸而能够更显著地生长及侵袭转移;而  $\beta$ -catenin 表达阳性的乳腺癌患者,则可能由于其乳腺癌细胞间的黏附能力更薄弱,更易导致乳腺癌细胞的脱落转移;因此, Foxp3 或  $\beta$ -catenin 表达阳性者,其体内的乳腺癌细胞更易增殖生长及侵袭转移,从而更易出现复发而导致生存预后欠佳。

综上所述, Foxp3、 $\beta$ -catenin 与乳腺癌的发生发展有关,二者表达呈正相关,提示检测二者表达可作为评估乳腺癌临床预后的重要指标,可能是新的分子标志物,成为治疗的新靶点。

#### 【参考文献】

- [1] 李平,王小康,顾园,等.CD4+CD25+Foxp3+调节性 T 细胞在乳腺癌组织中的变化及其意义[J].中华实验外科杂志,2015,32(10):2523~2525.
- [2] 单浩,沈娟,盛以泉,等.FZD7 与  $\beta$ -catenin 在不同亚型乳腺癌中的表达意义及两者间的关系[J].中国妇幼保健,2018,33(13):2942~2944.
- [3] 王新昭,左文述,刘琪,等.2013 年 St Gallen 乳腺癌会议国际专家共识荟萃[J].中华肿瘤防治杂志,2013,20(23):1859~1864.
- [4] 陶德友,吴丽平,胡金喜.Foxp3、NRP1 和 NRP2 在乳腺浸润性导管癌中的表达及意义[J].浙江医学,2016,38(14):1142~1145.
- [5] 赵文明,周炳娟,李金梅,等.HIF-1 $\alpha$  Glut-1 表达与乳腺癌分化程度及分子亚型的关系[J].河北医学,2018,24(3):353~357.
- [6] Srebnij A, Isajevs S, Eglitis J, et al. Distribution and clinicopathological features of breast cancer histological subtypes in Latvia[J]. Proc Latv Acad Sci, 2015, 69(12):14~19.
- [7] Lin SC, Gan ZH, Yao Y. The prognostic value of forkhead box P3 expression in operable breast cancer a largescale metaanalysis[J]. PLoS One, 2015, 10(8):e0136374.
- [8] King ML, Lindberg ME, Stodden GR, et al. WNT7A/ $\beta$ -catenin signaling induces FGF1 and influences sensitivity to niclosamide in ovarian cancer[J]. Oncogene, 2015, 34(26):3452~3462.
- [9] Recouvreux MS, Grasso EN, Echeverria PC, et al. RUNX1 and FOXP3 interplay regulates expression of breast cancer related genes. [J]. Oncotarget, 2016, 7(6):6552~6565.