

STAT1、CXCL9及AR在三阴性乳腺癌中的表达及临床病理意义

孟 婷, 曾满芹, 董娴宁, 赵 静, 王成勤, 魏志敏*

青岛大学, 山东 青岛

收稿日期: 2023年1月8日; 录用日期: 2023年2月1日; 发布日期: 2023年2月8日

摘 要

目的: 探讨三阴性乳腺癌中信号转导及转录激活因子1 (STAT1)、趋化因子CXC配体9 (CXCL9)及雄激素受体(AR)的表达水平、相关性及其临床病理特征。方法: 收集已经确诊并经过改良根治手术切除的三阴性乳腺癌(TNBC)病例114例, 通过免疫组织化学染色(SP)的方法, 测定STAT1、CXCL9及AR它们在TNBC中的表达情况、相关性分析及其与临床相关资料的关系。结果: STAT1、CXCL9及AR在三阴性乳腺癌中的阳性率分别为90.4% (103/114)、3.5% (4/114)及11.4% (13/114); STAT1、CXCL9及AR它们三者表达不相关($P > 0.05$); STAT1与年龄相关($P < 0.05$), CXCL9与肿块的直径相关($P < 0.05$), 三者均与乳腺癌的组织学分级、淋巴结转移表达不相关($P > 0.05$)。结论: STAT1在三阴性乳腺癌(TNBC)中显著表达, 并且与年龄相关, 有望成为TNBC治疗及预后评价的重要靶标。

关键词

三阴性乳腺癌, STAT1, CXCL9, AR, 预后

Expression and Clinicopathological Significance of STAT1, CXCL9 and AR in Triple Negative Breast Cancer

Ting Meng, Manqin Zeng, Xianning Dong, Jing Zhao, Chengqin Wang, Zhimin Wei*

Qingdao University, Qingdao Shandong

Received: Jan. 8th, 2023; accepted: Feb. 1st, 2023; published: Feb. 8th, 2023

*通讯作者。

文章引用: 孟婷, 曾满芹, 董娴宁, 赵静, 王成勤, 魏志敏. STAT1、CXCL9及AR在三阴性乳腺癌中的表达及临床病理意义[J]. 临床医学进展, 2023, 13(2): 1378-1384. DOI: 10.12677/acm.2023.132190

Abstract

Objective: To investigate the expression level, correlation and clinicopathological features of signal transduction and transcription activator 1 (STAT1), chemokine CXC ligand 9 (CXCL9) and androgen receptor (AR) in triple-negative breast cancer. **Methods:** A total of 114 cases of triple negative breast cancer (TNBC) were collected. The expression of STAT1, CXCL9 and AR in TNBC, correlation analysis and their relationship with clinical data were measured by immunohistochemical staining (SP). **Results:** The positive rates of STAT1, CXCL9 and AR in triple-negative breast cancer were 90.4% (103/114), 3.5% (4/114) and 11.4% (13/114), respectively. The expressions of STAT1, CXCL9 and AR were not correlated ($P > 0.05$). STAT1 was significantly correlated with age ($P < 0.05$), CXCL9 was significantly correlated with the diameter of the tumor ($P < 0.05$), and all of them were not correlated with histological grade and lymph node metastasis expression of breast cancer ($P > 0.05$). **Conclusion:** STAT1 is significantly expressed in triple negative breast cancer (TNBC), and it is related to age, which is expected to be an important target for TNBC treatment and prognosis evaluation.

Keywords

Triple Negative Breast Cancer, STAT1, CXCL9, AR, Prognosis

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

乳腺癌是全球女性最常见的恶性肿瘤，在我国，乳腺癌的发病率呈现上涨的趋势，并且年龄更趋向年轻化，45~59岁是其高发年龄[1]，是危害妇女健康的主要疾病。随着人们对乳腺癌认知的提高、普查及筛查的全面开展，漏诊率越来越低；在医学工作者的不懈努力下，内分泌治疗、靶向治疗及放疗等手段在乳腺癌的治疗中都有着显著的效果。但对于雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)及人类表皮生长因子2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2)表达均为阴性的三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)这一特殊亚型来说，其缺乏有效的治疗靶点，目前仍以化疗作为治疗的主要手段。该类乳腺癌具有侵袭性强、预后差及复发风险高等临床特点，寻找其有效的治疗靶点刻不容缓。STAT1是STAT家族的信号转录因子之一，参与多种细胞及生长因子的调控，研究表明[2]，其在恶性肿瘤中也起着重要的调控作用。CXCL9是一种由Y干扰素诱导的趋化因子，参与肿瘤微环境的构成，来帮助肿瘤细胞的迁徙及入侵，那么其在三阴性乳腺癌的表达水平是怎样的还需进一步验证。AR是类固醇受体家族的一员，其在乳腺癌中属于高中水平的表达[3]，对乳腺癌的发病机制也起着重要的作用。本次研究对象为三阴性乳腺癌，探讨三种指标与临床病理特征及预后的关系，为进一步探讨三阴性乳腺癌的治疗靶点打下基础。

2. 材料与方法

2.1. 一般资料

收集2011年至2015年于青岛大学附属医院收治并确诊三阴性乳腺癌的女性患者114例，所有的病例临床资料完整，均为女性患者，年龄33~75岁，中位数年龄54岁，术前均未进行辅助化疗，均采取改

良根治手术切除, 其中收集到非特殊类型浸润性导管癌 104 例, 具有髓样特征的浸润癌 5 例, 具有鳞状细胞分化的浸润癌 3 例, 分泌性癌 2 例。三阴性乳腺癌的判定标本依然采用的是 2013 年 St.Gallen 乳腺癌国际会议[4]上规定的乳腺癌分类标准。

2.2. 免疫组织化学染色

采用免疫组化二步法的染色方法, 严格按照说明书进行试验, 抗体购买于, 实验试剂均有其提供。STAT1 染色结果判读标准[5]: 细胞核或细胞浆染色为棕黄色或棕褐色为阳性, 在高倍镜(400 倍)视野下随机选择 5 个不重复视野进行计数, 对阳性细胞百分数以及细胞染色强度进行综合判读, 参考 Axiotis 等标准, 最终分值是阳性率与染色强度之和。CXCL9 染色结果判读标准: 细胞浆染色棕黄色为阳性, 在高倍镜(400 倍)视野下随机选择 5 个不重复视野进行计数, 对阳性细胞百分数以及细胞染色强度进行综合判读, 最终分值是阳性率与染色强度之和。AR 染色结果判读标准: $\geq 10\%$ 的肿瘤细胞核不同程度着色即为阳性; 相反即为阴性。

2.3. 统计分析

应用 SPSS 26 软件统计包进行实验数据的分析, STAT1、CXCL9 及 AR 与临床病理特征之间的关系均采用了校正的 χ^2 Pearson 检验, $P < 0.05$ 具有统计学意义; STAT1、CXCL9 与 AR 三者之间的相关性分析采用 Spearson 分析。

3. 结果

3.1. STAT1、CXCL9 及 AR 在三阴性乳腺癌中的表达水平

STAT1 在三阴性乳腺癌中的阳性率为 90.4% (103/114); CXCL9 在三阴性乳腺癌的阳性率为 3.5% (4/114); AR 在三阴性乳腺癌的阳性率为 11.4% (13/114)。

3.2. STAT1、CXCL9 及 AR 的表达与三阴性乳腺癌的临床病理特征的关系

STAT1 与年龄相关($P < 0.05$), CXCL9 与肿块的直径相关($P < 0.05$), 三者均与乳腺癌的组织学分级、淋巴结转移表达不相关。见表 1。

Table 1. Relationship between expression of STAT1, CXCL9 and AR and clinicopathological features
表 1. STAT1、CXCL9 及 AR 的表达与临床病理特征的关系

		CXCL9				STAT1				AR			
		+	-	χ^2	P	+	-	χ^2	P	+	-	χ^2	P
年龄	<50 岁	2	46	0.106	1.000	46	1	4.412	0.045	5	45	0.174	0.677
	≥ 50 岁	2	64			58	9			8	56		
肿块直径	<2	6	26	10.980	0.019	27	3	2.029	0.473	3	26	1.475	0.528
	2~5	2	77			74	7			9	73		
	>5	1	2			2	1			1	2		
分级	I	0	1	0.118	1.000	1	0	1.211	0.510	0	1	1.189	0.513
	II	1	21			18	4			1	21		
	III	3	88			55	6			11	80		
淋巴结转移	有	1	52	0.770	0.622	47	5	0.000	1.000	6	47	0.317	0.752
	无	3	58			56	6			5	56		

3.3. CXCL9 与 AR 的关系

Spearman 分析相关数据得出, CXCL9 与 AR 在三阴性乳腺癌中的表达无相关性, $r = 0.122$, $P > 0.05$ 。见表 2。

Table 2. Relationship between CXCL9 and AR
表 2. CXCL9 与 AR 的关系

		CXCL9		合计	r	p
		+	-			
AR	+	1	11	12	0.122	0.286
	-	2	100	102		
合计		3	111	114		

3.4. CXCL9 与 STAT1 的关系

Spearman 分析相关数据得出, CXCL9 与 STAT1 在三阴性乳腺癌中的表达无相关性, $r = 0.054$, $P > 0.05$ 。见表 3。

Table 3. Relationship between CXCL9 and STAT1
表 3. CXCL9 与 STAT1 的关系

		CXCL9		合计	r	p
		+	-			
STAT1	+	3	100	103	0.054	1.000
	-	0	11	11		
合计		3	111	114		

3.5. STAT1 与 AR 的关系

Spearman 分析相关数据得出, STAT1 与 AR 在三阴性乳腺癌中的表达无相关性, $r = 0.014$, $P > 0.05$ 。见表 4。

Table 4. Relationship of STAT1 to AR
表 4. STAT1 与 AR 的关系

		STAT1		合计	r	p
		+	-			
AR	+	12	1	13	0.014	1.000
	-	92	9	101		
合计		104	10	114		

4. 讨论

三阴性乳腺癌又被称为“难治性乳腺癌”，是临床治疗的难点，也是许多乳腺癌专家研究的重点。通过不断的探索，我们发现其在分子水平是一种异质性[6]疾病，从 2011 年 Lenmann [7]等开始对三阴性

乳腺癌的基因表达谱进行聚类分析来确定其分子分型,越来越多的研究寻找更有价值的分型方法。虽然基因表达比如 mRNA 对三阴性乳腺癌的分子分型至关重要,但其由于成本高、难度大,目前不用于指导临床的实践治疗。随着不断的探索及实践,一种“复旦分型”为我们提供了新的思路,他们基于免疫组化的临床实用方法用于 TNBC 的分子分型;通过研究也证明了该分类方法与基因 mRNA 表达的基因分型有实质性的一致性,免疫组化分型与 mRNA 表达谱分型高度吻合[8] (符合度 76.7%)。本次研究主要选取了“复旦分型”其中的三项指标: STAT1、CXCL9 及 AR 作为研究目标,既然它们在 TNBC 的分型中有一定的价值,那么是否可以成为治疗 TNBC 的有效靶点也是本次研究的重点。

细胞因子在乳腺的正常发育与乳腺癌的发生发展中都起着重要的作用,参与免疫系统细胞的发育与成熟,具有抗癌与抑癌的双层作用,在癌症的发展中是一把双刃剑;信号转导与转录激活因子(STAT)是多种细胞因子信号级联反应中的重要转录因子。STAT 发挥作用是需要由细胞因子、激素和生长因子等细胞外配体触发,然后通过 Janus 酪氨酸激酶(JAK)-STAT 信号通路执行生物学功能,一方面可以参与正常的生理过程,另一方面也参与不良事件的产生,比如肿瘤的发生与发展。

信号转导与转录激活因子(STAT1)是 STATs 家族中最早发现的一个成员,研究表明,它与一些恶性肿瘤的发生发展有一定的关联,比如卵巢癌[9]、结直肠癌等;目前发现 STAT1、STAT2、STAT3、STAT5 在乳腺癌中都有表达,其中 STAT1 在三阴性乳腺癌中的表达水平较高。研究人员通过 Onconmine [10]数据库分析了 STATs 家族的 mRNA 的表达,发现与正常组织相比,乳腺癌组织中 STAT1 与 STAT2 的 mRNA 表达水平升高,本次研究 STAT1 在三阴性乳腺癌中的阳性率为 90.4%,与文献中的报道相统一,并且大部分的表达是在细胞核中,这可能与 STAT1 的表达调控通道有一定的关系。本次研究还发现,在年龄 ≥ 50 岁的人群中 STAT1 的阳性率要略高于 <50 岁的人群,文献对此报道的较少,但也有一些研究发现其表达与年龄无关,这可能与研究的对象,抽样的方法及等一些统计学因素有关。

先前的研究已经证实,激活的 STAT1 在癌细胞中充当肿瘤抑制因子,然而 Greenwood 等人观察到 STAT1 阳性的三阴性乳腺癌更具有侵袭性,这可能是由于 STAT1 可以上调各种促炎细胞因子、酶及各种趋化因子等来发挥作用。趋化因子可以作为细胞外配体来激活 STAT1,使其磷酸化来发挥作用,两者在乳腺癌的发生发展中可能存在某种关联,还有待进一步探索。

趋化因子被分为四个主要亚家族: CXC、CC、CX3C 和 XC,所有这些蛋白都通过与 G 蛋白连接的跨膜受体(称为趋化因子受体)相互作用来发挥其生物学效应。本次研究的 CXCL9 就是趋化因子的配体,先前的研究表明[11],CXCL9 是实体恶性肿瘤患者的良性预后指标;CXCL9 在 ER 阴性的乳腺癌中具有较高的表达水平,本次研究中,CXCL9 在三阴性乳腺癌的阳性率仅为 3.5%,表达水平较低,这与一些文献的结论不一致,所以需要我们进一步的探索研究。

本次研究发现,CXCL9 与肿块的直径有一定的关联,虽然 CXCL9 在三阴性乳腺癌中的表达水平较低,但是在阳性的样本中,其与肿物的直径成负相关,肿物直径越小其表达率越高,这可能意味着 CXCL9 会是三阴性乳腺癌良好预后的判断指标之一。

TNBC 与其他相关亚型相比具有更高的免疫原性,具有更高比例的肿瘤浸润淋巴细胞,肿瘤突变符合相对较高,与 PD-L1 的水平、T 细胞及 B 细胞的浸润相互关联,这使得免疫疗法成为了对抗这种疾病的有希望的选择。

雄激素受体(AR)是核受体家族的一员,研究表明,AR 在乳腺癌中的表达水平高达 80%~90%,可能是比 ER、PR 表达更为广泛的受体;现有的研究文献中 AR 在三阴性乳腺癌中的表达率高低不等,大部分在 11%~60% [12]之间。研究 mate [13]分析表明 27.96% (1315/4703)的 TNBC 患者表达 AR;本次研究 AR 在三阴性乳腺癌的阳性率为 11.4%,也在其中,但是属于一个较低的表达水平。

根据现有的文献,Giuseppina Rosaria Rita Ricciardi [14]基于一个小型的回顾系列研究,表明 AR 表达

是三阴性乳腺癌的独立预测因素,并且与更积极的临床病理特征有关。恩杂鲁胺[15]是一种在 AR 信号通路中起多种作用的 AR 拮抗剂,在晚期 AR 阳性的患者中,用此靶向治疗 78 例在治疗 24 周时其临床获益率为 28%,其中有 8%的患者达到了完全缓解,与 AR 阴性的 TNBC 患者相比,AR 阳性的患者有更高的无病生存期与总生存期,AR 阳性似乎是预后更加有利。在一群关于尼日利亚人群[16]的研究发现 47.5% 的 TNBC 的组织学类型为中级别,52.5%为高级别,未见低级别肿瘤;年龄和 AR 表达之间存在显著关联,在 AR 阳性肿瘤的受试者中,大多数患者(65.2%)年龄超过 50 岁,在 TNBC 中未观察到 30 岁以下患者的 AR 阳性。然而本次研究中,AR 与一些临床病理特征均无明显的相关性,我们建议谨慎解释我们的结果,对于 AR 在三阴性乳腺癌中的表达还有待进一步研究探索。

本次研究发现 STAT1、CXCL9 及 AR 它们三者表达不相关,在现有的文献中并无证明,对此,它们三者是否相关,研究是否有意义还需进一步证实。但是 STAT1 高阳性表达率为三阴性乳腺癌的新治疗方案和潜在治疗靶点提供了理论支持,非常值得进一步深入探究。

参考文献

- [1] 张雪,董晓平,管雅喆,等. 女性乳腺癌流行病学趋势及危险因素研究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2021, 48(1): 87-92.
- [2] Zhang, J., Xia, S., Liu, X., *et al.* (2022) STAT1 Mediates the Transcription of CircIFI30 and Promotes the Progression of Triple-Negative Breast Cancer by Up-Regulating CDCA4. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, **41**, 1-13. <https://doi.org/10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.2021039794>
- [3] 彭鸿彬,黄宇康,颜宁,陈迪. AR、Ki-67、p53、EGFR 检测对乳腺癌的预后评估价值[J]. 临床和实验医学杂志, 2022, 21(21): 2312-2315.
- [4] Serra, K.P., Ramalho, S., *et al.* (2014) The New Classification of Breast Cancers: Finding the Luminal A. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia*, **36**, 575-580. (In Portuguese)
- [5] Axiotis, C.A., Monteagudo, C., Merino, M.J., LaPorte, N. and Neumann, R.D. (1991) Immunohistochemical Detection of P-Glycoprotein in Endometrial Adenocarcinoma. *The American Journal of Pathology*, **138**, 799-806.
- [6] Celepli, P., Karabulut, S., Bigat, İ., Celepli, S. and Hücümenoğlu, S. (2022) CD47 Expression and Tumor-Associated Immune Cells in Breast Cancer and Their Correlation with Molecular Subtypes and Prognostic Factors. *Pathology-Research and Practice*, **238**, Article ID: 154107. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2022.154107>
- [7] Hu, R., Dawood, S., Holmes, M.D., *et al.* (2011) Androgen Receptor Expression and Breast Cancer Survival in Postmenopausal Women. *Clinical Cancer Research*, **17**, 1867-1874. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-2021>
- [8] Zhao, S., Ma, D., Xiao, Y., *et al.* (2020) Molecular Subtyping of Triple-Negative Breast Cancers by Immunohistochemistry: Molecular Basis and Clinical Relevance. *The Oncologist*, **25**, e1481-e1491. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2019-0982>
- [9] Li, X., Wang, F., Xu, X., Zhang, J. and Xu, G. (2021) The Dual Role of STAT1 in Ovarian Cancer: Insight into Molecular Mechanisms and Application Potentials. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **9**, Article 636595. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.636595>
- [10] Zhou, Y., Jiang, S., Yu, S., *et al.* (2022) Mining the Prognostic Significance and Immune Infiltration of STAT Family Members in Human Breast Cancer by Bioinformatics Analysis. *Gland Surgery*, **11**, 720-741. <https://doi.org/10.21037/gs-22-189>
- [11] Liang, Y.-K., Deng, Z.-K., Chen, M.-T., *et al.* (2021) CXCL9 Is a Potential Biomarker of Immune Infiltration Associated With Favorable Prognosis in ER-Negative Breast Cancer. *Frontiers in Oncology*, **11**, Article 710286. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.710286>
- [12] Vera-Badillo, F.E., Templeton, A.J., de Gouveia, P., *et al.* (2014) Androgen Receptor Expression and Outcomes in Early Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of the National Cancer Institute*, **106**, Article ID: djt319. <https://doi.org/10.1093/jnci/djt319>
- [13] Haruna, M., Daramola, A.O., Awolola, N.A., *et al.* (2022) Clinicopathological Features and Androgen Receptor Expression in Triple Negative Breast Cancer at Lagos, Nigeria. *Ecancer*, **16**, Article No. 1452. <https://doi.org/10.3332/ecancer.2022.1452>
- [14] Ricciardi, G.R.R., Adamo, B., Ieni, A., *et al.* (2017) Correction: Androgen Receptor (AR), E-Cadherin, and Ki-67 as Emerging Targets and Novel Prognostic Markers in Triple-Negative Breast Cancer (TNBC) Patients. *PLOS ONE*, **10**,

e0132647. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132647>

- [15] Sridhar, N., Glisch, C., Jawa, Z., *et al.* (2022) Androgen Receptor Expression in Patients with Triple Negative Breast Cancer Treated with Neoadjuvant Chemotherapy: A Single Institution Study. *Journal of Cancer*, **13**, 2472-2476. <https://doi.org/10.7150/jca.67536>
- [16] Li, Y., Zhang, H., Merkher, Y., *et al.* (2022) Recent Advances in Therapeutic Strategies for Triple-Negative Breast Cancer. *Journal of Hematology & Oncology*, **15**, Article No. 121. <https://doi.org/10.1186/s13045-022-01341-0>