

本文引用:杨丽青,刘威. 乙醛脱氢酶 1 在乳腺癌转移淋巴结中的表达及其临床意义[J]. 新乡医学院学报, 2019,36(10):945-948. DOI:10.7683/xyxyxb.2019.10.010.

### 【临床研究】

# 乙醛脱氢酶 1 在乳腺癌转移淋巴结中的表达及其临床意义

杨丽青, 刘 威

(广州市红十字会医院,暨南大学医学院附属广州红十字会医院乳腺科,广东 广州 510220)

**摘要:** **目的** 探讨乙醛脱氢酶 1 (ALDH1) 在乳腺癌转移淋巴结中的表达及其临床意义。**方法** 收集 2012 年 2 月至 2014 年 1 月在广州市红十字会医院行乳腺癌手术患者的临床资料, 采用免疫组织化学染色法检测乳腺癌转移淋巴结 ( $n=47$ ) 和未转移淋巴结 ( $n=15$ ) 中 ALDH1 的表达, 分析转移淋巴结中 ALDH1 表达与乳腺癌患者临床病理特征及预后的关系。**结果** 乳腺癌转移淋巴结和未转移淋巴结中 ALDH1 阳性表达率分别为 36.17% (17/47)、6.67% (1/15), 转移淋巴结中 ALDH1 阳性表达率显著高于未转移淋巴结 ( $\chi^2=4.804, P<0.05$ )。乳腺癌转移淋巴结中 ALDH1 表达与患者肿瘤临床分期、肿瘤直径、雌激素受体、孕激素受体、人类表皮生长因子受体 2、Ki-67 表达及原发灶分子分型无关 ( $P>0.05$ ), 与肿瘤分级及淋巴结转移数有关 ( $P<0.05$ )。乳腺癌转移淋巴结 ALDH1 表达阳性患者和 ALDH1 表达阴性患者 5 a 生存率分别为 82.4% (14/17)、90.0% (27/30), 乳腺癌转移淋巴结 ALDH1 表达阳性患者与 ALDH1 表达阴性患者 5 a 生存率比较差异无统计学意义 ( $\chi^2=0.576, P>0.05$ )。**结论** 乳腺癌转移淋巴结中 ALDH1 表达与原发灶肿瘤分级、淋巴结转移数相关, 但转移淋巴结中 ALDH1 表达与患者预后无关。

**关键词:** 乳腺癌;淋巴结转移;乙醛脱氢酶 1

中图分类号: R737.9 文献标志码: A 文章编号: 1004-7239(2019)10-0945-04

## Expression of aldehyde dehydrogenase 1 in metastatic lymph node of breast cancer and its clinical significance

YANG Li-qing, LIU Wei

(Department of Breast, Guangzhou Red Cross Hospital, Medical College, Jinan University, Guangzhou 510220, Guangdong Province, China)

**Abstract:** **Objective** To study the expression of aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) in metastatic lymph nodes of breast cancer and its clinical significance. **Methods** The clinical data of breast cancer patients who underwent operation in Guangzhou Red Cross Hospital from February 2012 to January 2014 were collected. The expression of ALDH1 in 47 cases of metastatic lymph nodes and 15 cases of non-metastatic lymph nodes was detected by immunohistochemical staining method. The relationship between the expression of ALDH1 and clinic pathological parameters, prognosis of breast cancer patients was analyzed. **Results** The positive expression rate of ALDH 1 in metastatic and non-metastatic lymph nodes of breast cancer was 36.17% (17/47) and 6.67% (1/15), respectively. The positive expression rate of ALDH1 in metastatic lymph nodes was significantly higher than that in the non-metastatic lymph nodes ( $\chi^2 = 4.804, P < 0.05$ ). The expression of ALDH1 in metastatic lymph nodes of breast cancer was not related to clinical stage, tumor diameter, expression of estrogen receptor, progesterone, Ki-67 and human epidermal growth factor receptor 2 and the molecular typing of primary lesions ( $P > 0.05$ ), but it was related to tumor grade and lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). The 5-year survival rate of patients with positive expression of ALDH1 and negative expression of ALDH1 in metastatic lymph nodes of breast cancer was 82.4% (14/17), 90.0% (27/30), respectively; there was no significant difference in 5-year survival rate between patients with positive expression of ALDH1 and negative expression of ALDH1 in metastatic lymph nodes of breast cancer ( $\chi^2 = 0.576, P > 0.05$ ). **Conclusion** The expression of ALDH1 in metastatic lymph nodes of breast cancer is correlated with the grade of primary tumor and the number of lymph node metastases, but the expression of ALDH1 in metastatic lymph node is not correlated with the prognosis of patient.

**Key words:** breast cancer; lymph node metastasis; aldehyde dehydrogenase 1

DOI:10.7683/xxxyxzb.2019.10.010

收稿日期:2019-06-15

**基金项目:**广州市卫生健康科技项目(编号:20191A011016);暨南大学附属广州红十字会医院科研项目(编号:2018-08)。

作者简介:杨丽青(1976-),女,广东广州人,学士,护师,研究方向:乳腺癌的临床和护理。

通信作者:刘 威(1988-),男,广东梅州人,博士,主治医师,研究方向:乳腺癌临床研究;E-mail:lwei7@mail2.sysu.edu.cn

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤,具有高度异质性,不同类型的乳腺癌治疗效果、预后差异较大<sup>[1]</sup>。经过规范的诊治后,患者还是可能因为最终的复发、转移而死亡。因此,有人提出肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)理论,期待能解决恶性肿瘤复发和转移的问题。CSCs 理论认为,目前的治疗方法针对的靶细胞是已经分化的肿瘤细胞,并不能杀灭具有自我更新能力的 CSCs,残留的少量 CSCs 是肿瘤复发、转移的原因<sup>[2]</sup>。乙醛脱氢酶 1(aldehyde dehydrogenase 1, ALDH1)是一种烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADP)依赖性酶,具有催化乙醛氧化为乙酸的作用,在干细胞中呈现较高活性,是干细胞生长、分化的重要物质<sup>[3]</sup>。2007 年有研究者利用 ALDH1 鉴定和分离出乳腺癌干细胞,为乳腺癌的研究开辟了新方向<sup>[4]</sup>。目前的研究结果认为,ALDH1 的表达与乳腺癌患者的预后相关,是乳腺癌干细胞较理想的标志物之一<sup>[5]</sup>。但是,ALDH1 在乳腺癌转移淋巴结中的表达及其临床意义的相关研究较少。因此,本研究检测了 ALDH1 在乳腺癌转移淋巴结中的表达,探讨其在乳腺癌转移淋巴结中表达的临床意义。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2012 年 2 月至 2014 年 1 月在广州市红十字会医院行乳腺癌手术患者的临床资料,其中乳腺癌转移淋巴结患者 47 例,未转移淋巴结患者 15 例。病例纳入标准:(1)女性;(2)原发乳腺浸润性导管癌,无远处转移;(3)术前未进行抗肿瘤治疗;(4)患者行单侧乳腺癌改良根治术;(5)术后按相关指南进行规范诊疗,保存完整的临床病案资料。淋巴结转移患者 37~85 岁,中位年龄 60 岁;淋巴结未转移患者 40~78 岁,中位年龄 58 岁,淋巴结转移和未转移患者年龄比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

**1.2 主要试剂与仪器** 兔抗人 ALDH1 多克隆抗体购自英国 Abcam 公司,磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)、二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)购自北京索莱宝科技有限公司;光学显微镜购自日本尼康公司。

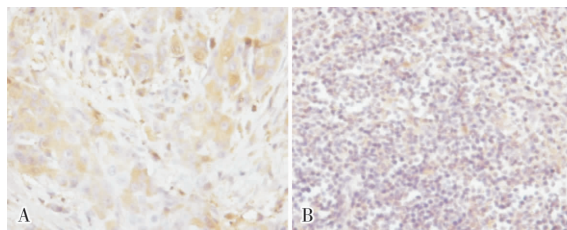
**1.3 免疫组织化学法检测乳腺癌转移淋巴结和未转移淋巴结中 ALDH1 的表达** 将 ALDH1 多克隆抗体稀释 100 倍。取常规石蜡包埋的淋巴结组织标本连续切片,片厚 4  $\mu\text{m}$ 。烤片、脱蜡、水化。切片放入微

波炉加热的乙二胺四乙酸抗原修复液(1:50 稀释)中进行抗原修复,加热沸腾后持续 10 min,随后自然冷却至常温。置于体积分数 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  中室温孵育 15 min。用山羊血清进行封闭,室温下孵育 30 min。滴加适量的 ALDH1 抗体,4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱湿盒内过夜。次日于 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温箱中复温 30 min。滴加适量的二抗,37  $^{\circ}\text{C}$  恒温箱孵育 30 min。滴加 DAB 显色剂(1:50 配制),控制反应时间(约 20 s),自来水冲洗 5 min。苏木精复染、自来水冲洗 5 min。盐酸乙醇分化约 5 s,自来水冲洗 20 min。梯度乙醇脱水,封片。参照 FROMOWITZ 等<sup>[6]</sup>的评分标准进行免疫组织化学评分,以镜下目标细胞的细胞质出现棕黄色或棕褐色颗粒为阳性表达,阴性表达细胞呈淡蓝色,400 倍高倍镜下根据观察到的阳性细胞染色程度和阳性细胞比例进行半定量分析。阳性细胞所占比例评分:无阳性细胞为 0 分,阳性细胞所占比例  $<25\%$  为 1 分,  $\leq 25\%$  阳性细胞所占比例  $\leq 50\%$  为 2 分,  $50\% <$  阳性细胞所占比例  $\leq 75\%$  为 3 分,阳性细胞所占比例  $>75\%$  为 4 分;染色程度:无染色计为 0 分,淡黄色计为 1 分,棕黄色计为 2 分,棕褐色计为 3 分。二者得分总和即为最后评分,最终评分 0~1 分为阴性,2~7 分为阳性。

**1.4 统计学处理** 应用 SPSS23.0 软件进行统计学分析,计数资料用百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验,采用 Kaplan-Meier 法进行生存分析; $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 乳腺癌患者淋巴结中 ALDH1 表达情况** 结果见图 1。47 例乳腺癌转移淋巴结中 ALDH1 阳性表达率为 36.17% (17/47);15 例未转移淋巴结中 ALDH1 阳性表达率为 6.67% (1/15);转移淋巴结中 ALDH1 阳性表达率显著高于未转移淋巴结,差异有统计学意义( $\chi^2=4.804, P<0.05$ )。



A:转移淋巴结;B:未转移淋巴结。

图 1 乳腺癌患者淋巴结中 ALDH1 表达情况(免疫组织化学染色,  $\times 400$ )

Fig. 1 Expression of ALDH1 in lymph node of breast cancer patients (immunohistochemistry staining,  $\times 400$ )

**2.2 乳腺癌患者转移淋巴结中 ALDH1 表达与临床病理特征的关系** 结果见表 1。乳腺癌转移淋巴结中 ALDH1 表达与患者肿瘤临床分期、肿瘤直径、雌激素受体 (estrogen receptor, ER)、孕激素受体 (progesterone, PR)、人类表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER-2)、Ki-67 表达情况及原发灶分子分型无关 ( $P > 0.05$ ), 与肿瘤分级及淋巴结转移数有关 ( $P < 0.05$ )。

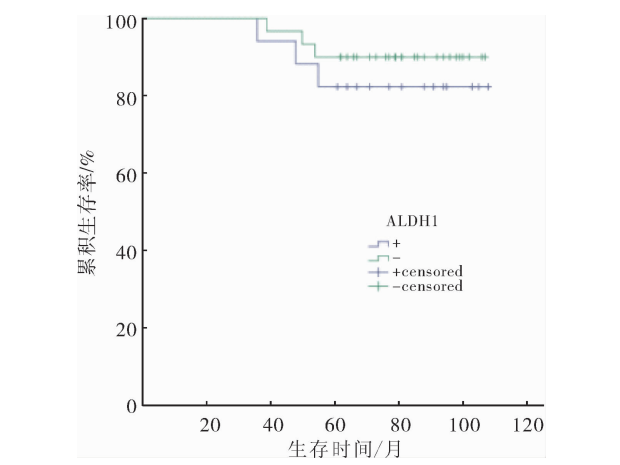
表 1 ALDH1 在乳腺癌转移淋巴结中的表达与患者临床病理特征的关系

Tab. 1 Relationship of the expression of ALDH1 in metastatic lymph nodes of breast cancer and clinicopathological features of patients

临床病理特征	n	ALDH1 阳性/例(%)	ALDH 阴性/例(%)	$\chi^2$	P
临床分期					
II 期	22	8(36.4)	14(63.6)	0.001	0.974
III 期	25	9(36.0)	16(64.0)		
肿瘤直径					
≤2 cm	16	4(25.0)	12(75.0)	1.484	0.476
2~5 cm	18	7(38.9)	11(61.1)		
>5 cm	13	6(46.2)	7(53.8)		
淋巴结转移数					
1~3 个	34	9(26.5)	25(73.5)	5.009	0.025
≥4 个	13	8(61.5)	5(38.5)		
肿瘤分级					
I 级	15	2(13.3)	13(86.7)	6.319	0.042
II 级	14	5(35.7)	9(64.3)		
III 级	18	10(55.6)	8(44.4)		
ER					
+	35	12(34.3)	23(65.7)	0.211	0.646
-	12	5(41.7)	7(58.3)		
PR					
+	33	13(39.4)	20(60.6)	0.499	0.480
-	14	4(28.6)	10(71.4)		
HER-2					
+	12	6(50.0)	6(50.0)	1.335	0.248
-	35	11(31.4)	24(68.6)		
Ki-67					
≥14%	36	14(38.9)	22(61.1)	0.492	0.483
<14%	11	3(27.3)	8(72.7)		
原发灶分子分型					
Luminal A 型	12	3(25.0)	9(75.0)	3.633	0.304
Luminal B 型	13	3(23.1)	10(76.9)		
HER2 过表达型	11	5(45.5)	6(54.5)		
三阴型	11	6(54.5)	5(45.5)		

**2.3 生存分析** 结果见图 2。乳腺癌转移淋巴结中 ALDH1 阳性表达患者和 ALDH1 阴性表达患者各死亡 3 例,5 a 生存率分别为 82.4% (14/17)、

90.0% (27/30),乳腺癌转移淋巴结 ALDH1 阳性表达患者与 ALDH1 阴性表达患者 5 a 生存率比较差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.576, P > 0.05$ )。



A:转移淋巴结;B:未转移淋巴结。  
图 2 ALDH1 表达阳性患者和 ALDH1 表达阴性患者生存期  
Fig. 2 Survival time of ALDH1 positive patients and ALDH1 negative patients

3 讨论

据统计,乳腺癌是世界范围内女性发病率最高的恶性肿瘤<sup>[7]</sup>。中国女性乳腺癌发病率和病死率低于欧美发达国家,但由于中国庞大的人口基数,每年仍有约 27.9 万的乳腺癌新发病例<sup>[8]</sup>。手术、化学治疗、内分泌治疗、靶向治疗、放射治疗、免疫治疗及综合治疗是乳腺癌的主要治疗方法。经过规范、合理的诊治,乳腺癌的预后有了明显改善,但最终还是有部分患者因出现复发、转移而死亡。因此,有学者提出 CSCs 理论,期待能解决恶性肿瘤复发、转移的问题。

CSCs 理论认为,乳腺癌细胞中存在数量极少的、具有自我更新和多向分化潜能的细胞亚群,这类细胞亚群称之为乳腺癌干细胞,乳腺癌干细胞与乳腺癌的耐药、复发、转移等密切相关<sup>[9-11]</sup>。研究表明,多种实体肿瘤干细胞和造血干细胞中 ALDH1 呈高表达<sup>[12-13]</sup>。国内有学者对 12 个研究进行荟萃分析,结果显示,ALDH1 在乳腺癌组织中的表达与其组织学分化差、ER 受体阴性、PR 受体阴性、HER-2 阳性呈正相关,且与总生存率呈负相关<sup>[5]</sup>,DEMIR 等<sup>[14]</sup>研究证实了该结果。总之,现有的研究认为,ALDH1 在乳腺癌的发生、发展中具有重要作用,参与乳腺癌干细胞的分化,是乳腺癌干细胞较理想的标志物之一。

但是,ALDH1 在乳腺癌转移淋巴结中的表达及

其临床意义未明。目前,国内外只有少量关于乳腺癌转移淋巴结中 ALDH1 表达情况的研究。SAKAKIBARA 等<sup>[15]</sup>的研究结果提示,乳腺癌转移淋巴结中 ALDH1 的高表达与患者不良预后相关;NOGAMI 等<sup>[16]</sup>研究发现,ALDH1 在腋窝转移淋巴结中的表达与原发灶组织学分级、腋窝淋巴结转移状态相关,而且在 1~3 个淋巴结转移的乳腺癌患者中与不良预后相关。国内有研究发现,乳腺癌前哨淋巴结中 ALDH1 的表达与乳腺癌原发灶的病理学类型、病理学分级、ER、PR、HER-2、分子分型、患者预后均无关,与肿瘤的腋窝淋巴结转移情况有关<sup>[17]</sup>。

本研究结果显示,ALDH1 乳腺癌转移淋巴结中的阳性表达率显著高于未转移淋巴结,提示 ALDH1 可能参与乳腺癌的转移。分析乳腺癌转移淋巴结中 ALDH1 的表达情况与患者临床病理特征的关系发现,乳腺癌转移淋巴结中 ALDH1 的表达与患者的临床分期、肿瘤直径、原发灶分子分型、ER、PR、HER-2 及 Ki-67 的表达情况无关,与肿瘤分级及淋巴结转移数有关,这与 NOGAMI 等<sup>[16]</sup>的研究结果一致。生存分析结果显示,乳腺癌转移淋巴结中 ALDH1 阳性表达患者与 ALDH1 阴性表达患者 5 a 生存率比较差异无统计学意义,表明乳腺癌转移淋巴结中 ALDH1 的表达与患者预后无关。本结果与 NOGAMI 等<sup>[16]</sup>的研究结论不一致,推测可能是本研究样本量较小,随访时间不够长导致的。未来期待扩大样本量、延长随访时间来进一步研究。

参考文献:

[1] OMARINI C, GUAITOLI G, PIPITONE S, *et al.* Neoadjuvant treatments in triple-negative breast cancer patients; where we are now and where we are going [J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 15 (10): 91-103.

[2] LIN C Y, BARRY-HOLSON K Q, ALLISON K H, *et al.* Breast cancer stem cells; are we ready to go from bench to bedside [J]. *Histopathology*, 2016, 68 (1): 119-137.

[3] TOMITA H, TANAKA K, TANAKA T, *et al.* Aldehyde dehydrogenase 1A1 in stem cells and cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (10): 11018-11032.

[4] BALICKI D. Moving forward in human mammary stem cell biology

and Breast cancer prognostication using ALDH1 [J]. *Cell Stem Cell*, 2007, 1 (5): 485-487.

[5] ZHOU L, JIANG Y, YAN T, *et al.* The prognostic role of cancer stem cells in breast cancer; a meta-analysis of published literatures [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 122 (3): 795-801.

[6] FROMOETZ F B, VIOLA M V, CHAO S, *et al.* Ras p21 expression in the progression of breast cancer [J]. *Hum Pathol*, 1987, 18 (12): 1268-1275.

[7] TOBIN N P, HARRELL J C, LOVROT J, *et al.* Molecular subtype and tumor characteristics of breast cancer metastases as assessed by gene expression significantly influence patient post-relapse survival [J]. *Ann Oncol*, 2015, 26 (1): 81-88.

[8] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, *et al.* Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68 (6): 394-424.

[9] BATLLE E, CLEVERS H. Cancer stem cells revisited [J]. *Nat Med*, 2017, 23 (10): 1124-1134.

[10] ALHAJJ M, WICHA M S, MORRISON S J, *et al.* Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100 (7): 3983-3988.

[11] 钟瑾怡, 成丛丛, 徐金媛, 等. 多柔比星通过 Stat3-Oct4/CD44 途径诱导三阴性乳腺癌 4T1 细胞干性的产生 [J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35 (2): 360-364.

[12] DACRUZ P A, LOPES C. Implications of different cancer stem cell phenotypes in breast cancer [J]. *Anticancer Res*, 2017, 37 (5): 2173-2183.

[13] LEVIB P, YILMAZO H, DUESTER G, *et al.* Aldehyde dehydrogenase 1a1 is dispensable for stem cell function in the mouse hematopoietic and nervous systems [J]. *Blood*, 2009, 113 (8): 1670-1680.

[14] DEMIR H, DULGAR O, GULLE B T, *et al.* Prognostic value of aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) in invasive breast carcinomas [J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2018, 18 (4): 313-319.

[15] SAKAKIBARA M, FUJIMORI T, MIYOSHI T, *et al.* Aldehyde dehydrogenase 1-positive cells in axillary lymph node metastases after chemotherapy as a prognostic factor in patients with lymph node-positive breast cancer [J]. *Cancer*, 2012, 118 (16): 3899-3910.

[16] NOGAMI T, SHIEN T, TANAKA T, *et al.* Expression of ALDH1 in axillary lymph node metastases is a prognostic factor of poor clinical outcome in breast cancer patients with 1-3 lymph node metastases [J]. *Br Cancer*, 2014, 21 (1): 58-65.

[17] 申美莹. ALDH1 在乳腺癌前哨淋巴结中表达的临床价值研究 [D]. 汕头: 汕头大学, 2015.

( 本文编辑: 孟 月 英文编辑: 孟 月 )