DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20181207.004
网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.r.20181207.1040.008.html

Pim1 蛋白在乳腺不同病变组织中的表达差异及临床特征

刘雪嘉,肖区龙,伍 希,金 敏,谭 珊✉
(长沙医学院,湖南 长沙 410219)

[摘要] **目的**:探讨 Pim1 蛋白在健康人群、乳腺炎和乳腺癌患者乳腺组织中的表达差异和临床特征。**方法**:对我院空白组(39 例正常居民)、乳腺炎组(39 例乳腺炎患者)、癌旁组织组(39 例乳腺癌患者的癌旁组织)、腺癌组织组(39 例乳腺癌患者的乳腺癌组织)4 组对象进行研究,检测各组对象乳腺组织中 Pim1 蛋白表达水平的差异,分析乳腺癌患者临床病情对其 Pim1 蛋白表达水平的影响。**结果**:乳腺炎组、腺癌组织组、癌旁组织组患者 Pim1 蛋白表达与空白组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);癌旁组织组 Pim1 蛋白表达与腺癌组织组比较,差异有统计学意义($P<0.05$);Pim1 蛋白表达与乳腺癌患者的淋巴结转移、TNM 分期、ER 表达有关($P<0.05$),与患者的年龄、组织学分级、PR 及 Her-2 无关;以乳腺癌患者 Pim1 蛋白表达评定为因变量,以淋巴结转移、TNM 分期、ER 为自变量。影响乳腺癌患者 Pim1 蛋白表达的主要因素为:ER 表达($OR=4.759$)、淋巴结转移($OR=3.127$)、TNM 分期($OR=2.664$)。**结论**:Pim1 蛋白与乳腺炎、乳腺癌的发生发展存在密切关系,该指标检测可一定程度上评估患者乳腺炎症现状和癌变风险,对于乳腺癌早期诊断具有一定参考价值。

[关键词] Pim1 蛋白;乳腺炎;乳腺癌;表达差异
[中图分类号] R737.9 [文献标识码] A [文章编号] 1007-1237(2019)01-0037-04

Differential expression and clinical characteristics of Pim1 protein in different lesions of breast

LIU Xue-jia, XIAO Qu-long, WU Xi, JIN Min, TAN Shan ✉
(*Changsha medical university*, *Changsha*, *Hunan Province*, 410219)

[*Foundation Project*]: 2018 *National Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students* (201810823003)

[*Author*]: *LI Xuejia* (1997-), *Female*, *Changsha medical university*, *Changsha*, *Hunan Province*, 410219, *Email*: *liu89xuejia@163.com*.
[*Correspondence to*]: *Tan Shan*, *Master degree*, *Associate professor*.

Received: 2018-11-05 *Revised*: 2018-11-23 *JHMC*, 2019;25(1):0037-0040

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[ABSTRACT] **Objective**: To explore the expression differences and clinical features of Pim1 protein in breast tissue of healthy population, mastitis and breast cancer patients. **Methods**: Between September 2017 and September 2018, during the blank group (39 cases of normal people) in our hospital, mastitis group (39 patients with mastitis), tissue adjacent to carcinoma group (39 cases of patients with breast cancer tissue adjacent to carcinoma), adenocarcinoma tissue group (39 patients with breast cancer of breast tissue) four groups of objects, object detection of four groups of Pim1 protein expression in breast tissue level difference, analysis of patients with breast cancer clinical condition on its Pim1 protein expression level. **Results**: Com-

[基金项目] 2018 年国家级大学生创新创业训练计划项目(201810823003);长医教[2018]77 号-041
[作者简介] 刘雪嘉(1997-),女 ,湖南常德人,E-mail:liu89xuejia@163.com。
[通讯作者] 谭珊,硕士,副教授,副主任医师。
[收稿日期] 2018-11-05 [修回日期] 2018-11-23 网络出版时间:2018-12-10 13:23:36

pared with the blank group, there were statistically significant differences in the expression of Pim1 protein in the mastitis group, the adenocarcinoma group and the paracancerous tissue group($P<0.05$). The difference in the expression of Pim1 protein was statistically significant between the paracancerous group and the adenocarcinoma group($P<0.05$). Pim1 protein expression is associated with lymph node metastasis, TNM staging, and ER expression in breast cancer patients. Pim1 protein expression is independent of patient age, histological grade, PR and Her-2. Pim1 protein expression was evaluated as a dependent variable in breast cancer patients, with lymph node metastasis, TNM staging, and ER as independent variables. The main factors affecting the expression of Pim1 protein in breast cancer patients were: ER expression ($OR=4.759$), lymph node metastasis ($OR=3.127$), TNM staging ($OR=2.664$). **Conclusions**: Pim1 protein is closely related to the occurrence and development of mastitis and breast cancer. The detection of this indicator can assess the current situation of breast inflammation and the risk of cancer to a certain extent, which is of certain reference value for the early diagnosis of breast cancer.

[KEY WORDS] Pim1 protein; Mastitis; Breast cancer; Expression difference

乳腺癌是女性群体好发的恶性肿瘤，该疾病患病率仅次于宫颈癌，同时由于绝大多数临床患者采取切乳手术进行治疗，给患者外观形象和生活质量造成了严重不良影响[1,2]。随着人口老龄化加速和我国居民饮食结构、作息习惯的改变，我国乳腺癌患者发病率逐年升高，并有呈低龄化发展的趋势[3,4]。近年来，我国卫生主管部门为防治乳腺癌疾病，全国范围普遍加大了综合治疗力度和早期筛查范围，但由于乳腺癌早期的发病症状并不明显，加上检查手段的局限性，仍存在较大假阴性的患者，这导致部分患者错过最佳的治疗时机[5]。为此，如何能尽早并准确的判断乳腺癌疾病仍为当今研究热点和重点。生物标志是生物体内发生的与发病机制有关联的关键指示物，不同生物标记物其诊断疾病的敏感度和可靠性存在一定差别，Pim-1 蛋白作为近年来新发现的重要指示物之一，可能对 Pim-1 蛋白在乳腺癌形成、发展有重要影响[6,7]。

1 资料与方法

1.1 一般资料

随机选取 2017 年 9 月～2018 年 9 月期间，我院 39 例正常体检的居民、39 例乳腺炎患者、78 例乳腺癌患者进行研究，研究在本院进行了医学伦理委员会的审批和备案，所有对象知情并同意配合本次研究。乳腺炎诊断根据患者症状和体征进行判断，即乳房红肿热痛，体温高达 39℃或以上，血象白细胞数典型升高。乳腺癌诊断参照中国抗癌协会制定的《乳腺癌诊治指南(2017 版)》。纳入标准：入组的乳腺癌患者均为Ⅱ期乳腺癌，部分患者发生淋巴结转移；所有对象无精神疾病史，语言表达清楚；无血液系统疾病或其他系统疾病；无凝血功能障碍；无其他恶性肿瘤；无糖尿病、高血压等疾病；具有良好的沟通和表达能力。排除标准：哺乳期妇女或孕妇；接受过放化疗治疗或免疫治疗的患者；妊娠期或哺乳期妇女；近期有严重感染或自身有药物依赖的对象；临床资料不完整者。

1.2 分组及取样方法

39 例正常体检的居民纳入空白组，年龄 22～45 岁，平均(37.45±8.71)岁。39 例乳腺炎患者纳入乳腺炎组，年龄 25～47 岁，平均(36.98±7.42)岁；病因分布，急性化脓性乳腺炎 8 例(20.51%)、乳晕旁瘘管 21 例(53.85%)、浆细胞性乳腺炎 10 例(25.64%)。78 例乳腺癌患者中选择 39 例纳入腺癌组织组，取其肿瘤病理组织进行培养和检测，病理分型上，浸润性导管癌 19 例(48.72%)、浸润性小叶癌 6 例(15.38%)、导管内癌 4 例(10.26%)、粘液癌 3 例(7.69%)、乳头状癌 7 例(17.95%)。其余 39 例乳腺癌患者纳入癌旁组织组，取其癌旁组织进行培养和检测，病理分型上，浸润性导管癌 19 例(48.72%)、浸润性小叶癌 4 例(10.26%)、导管内癌 6 例(15.38%)、黏液癌 2 例(5.13%)、乳头状癌 8 例(20.51%)。具体方法具体如下：空白组(正常体检人群乳腺组织)对象局部麻醉状态下，取乳腺上皮细胞 MCF-10A 在含 10%胎牛血清的 DMEM/F12 培养基中培养。将培养基置于 37℃温度和 5%CO_2 的恒温培养箱中，间隔一日更换一次培养液，待细胞生长到 90%时融合进行传代。乳腺炎组(乳腺炎患者)、癌旁组织组(乳腺癌患者的癌旁组织)取样方法同空白组。腺癌组织组(乳腺癌患者的乳腺癌组织)患者局部麻醉下进行组织活检，乳腺癌细胞 MCF-7、T47D 和 SKBR-3 在含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基中培养乳腺癌细胞 MDA-MB-231 在含 10%胎牛血清的 L-15 培养基中培养，乳腺癌细胞 BT-549 在含 10%胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中培养。将培养基置于 37℃、5%CO_2 恒温培养箱中，间隔一日更换一次培养液，待细胞生长到 90%时融合进行传代。

1.3 数据采集

乳腺癌患者记录其人口学情况(年龄等)和基本病情(年龄、组织学分级、淋巴结转移、TNM 分期)。Pim1 蛋白表达含量检测：细胞核出现黄色颗粒为阳性染色，综合考虑阳性细胞半分比和着色强度半定量判断结果。研究者随机观察 5 组高倍视野，在没有背景着色条件下进行观察和计分，计分方法为 1 分(黄色)、2 分(棕黄色)、3 分(棕褐色)；0 分(阳性细胞占比≤1%)、1 分(1%～25%)、2 分(25%～50%)、3 分(50%～75%)、4 分(75%～100%)。总得分＝阳性细胞百分比×着色程度，根据得分区间评定表达水平高低，0～4 分为低表达、5～12 分为高表达。

1.4 统计学处理

所有数据采用 SPSS22.0 统计学软件进行分析处理。Pim1 蛋白表达情况采用百分比(%)表示，比较采用 χ^2 检

验。以乳腺癌患者 Pim1 蛋白表达水平为因变量，以淋巴结转移、TNM 分期、ER 为自变量，拟合回归方程，分析各因素对乳腺癌患者 Pim1 蛋白表达水平的综合影响，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组对象乳腺组织中 Pim1 蛋白表达水平的比较

乳腺炎组、腺癌组织组、癌旁组织组患者 Pim1 蛋白表达与空白组比较，差异均有统计学意义（$P<0.05$）；腺癌组织组、癌旁组织组患者 Pim1 蛋白表达与乳腺炎组比较，差异均无统计学意义（$P>0.05$）；癌旁组织组 Pim1 蛋白表达与腺癌组织组比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见表 1。

2.2 Pim1 蛋白表达与乳腺癌患者临床病理特征的关系

乳腺癌患者淋巴结转移、TNM 分期、ER 对 Pim1 蛋白表达水平的影响有统计学意义（$P<0.05$），而患者的年龄、组织学分级、PR、Her-2 对 Pim1 蛋白表达水平的影响无统计学意义（$P>0.05$）。见表 2。

表 1 各组对象乳腺组织中 Pim1 蛋白表达水平的比较 [n(%)]

指标	Pim1 蛋白表达水平		χ^2	P
	低表达	高表达		
空白组	30(76.92)	9(23.08)		
乳腺炎组	11(28.21)	28(71.79)[a]	29.939	<0.05
腺癌组织组	8(20.51)	31(79.49)[a]		
癌旁组织组	17(43.59)	22(56.41)[ac]		

注：与空白组比较，[a]$P<0.05$；与乳腺炎组比较，[b]$P<0.05$；与腺癌组织组比较，[c]$P<0.05$。

表 2 Pim1 蛋白表达与乳腺癌患者临床病理特征的关系 [n(%)]

临床病理特征		n	Pim1 蛋白表达水平		χ^2	P
			低表达	高表达		
年龄(岁)	<51	21	14(66.67)	7(33.33)	0.506	0.477
	≥51	18	10(55.56)	8(44.44)		
组织学分级	Ⅰ或Ⅱ级	23	17(73.91)	6(26.09)	1.325	0.250
	Ⅲ级	16	9(56.25)	7(43.75)		
淋巴结转移	无	17	7(41.18)	10(58.82)	5.279	<0.05
	有	22	17(77.27)	5(22.73)		
TNM 分期	Ⅰ或Ⅱ期	26	16(61.54)	10(38.46)	4.052	<0.05
	Ⅲ或Ⅳ期	13	12(92.31)	1(7.69)		
ER	阳性	22	19(86.36)	3(13.64)	6.955	<0.05
	阴性	17	8(47.06)	9(52.94)		
PR	阳性	18	11(61.11)	7(38.89)	0.003	0.959
	阴性	21	13(61.90)	8(38.10)		
Her-2	阳性	32	20(62.50)	12(37.50)	0.199	0.656
	阴性	7	5(71.43)	2(28.57)		

2.4 乳腺癌患者 Pim1 蛋白表达水平影响因素的的回归分析

以乳腺癌患者 Pim1 蛋白表达水平为因变量，以淋巴结转移、TNM 分期、ER 为自变量。拟合二分类 Logistic 回归方程，拟合的方程有统计学意义（Chi-Square 检验，$P<0.05$），各影响因素对 Pim1 蛋白表达水平影响大小依次为：ER 表达（$OR=4.759$）、淋巴结转移（$OR=3.127$）、TNM 分期（$OR=2.664$）。见表 3。

表 3 乳腺癌患者 Pim1 蛋白表达水平影响因素的的回归分析

因变量	B	S.E	χ^2	P	OR	OR95%CI
淋巴结转移	1.14	0.42	7.367	<0.05	3.127	1.373～7.122
ER	1.56	0.68	5.263	<0.05	4.759	1.255～18.043
TNM 分期	0.98	0.43	5.194	<0.05	2.664	1.147～6.189

3 讨论

原癌基因 Pim1 位于第 6 号染色体长臂上，是 Pim 家族成员之一，该家族成员的氨基酸序列同源性很高而且蛋白功能相近，包括 Pim1、Pim2、Pim3 3 个成员[9]。Pim 家族编码的产物 Pim 蛋白激酶具有丝/苏氨基酸蛋白激酶活性，是丝/苏氨酸激酶家族的重要组成部分[10,11]。目前该家族的 3 个成员中数 Pim1 的功能研究最多，其编码的丝氨酸/苏氨酸激酶可以通过调节 MYC 基因转录活性、磷酸化多种代谢底物和抑制促凋亡蛋白来发挥致癌活性[12]。Pim1 基因发挥多方面的生物学功能，包括肿瘤的发生发展、细胞周期、凋亡、代谢、自噬以及胚胎干细胞干性维持等多个方面[13,14]。在本研究中，笔者以健康人群、乳腺炎患者和乳腺癌患者为研究对象，分析了 Pim1 蛋白在乳腺不同病变组织中的表达差异和临床特征。

研究发现，与空白组比较，乳腺炎组、腺癌组织组、癌旁组织组患者 Pim1 蛋白表达的差异均有统计学意义，同时，癌旁组织组与腺癌组织组比较，Pim1 蛋白表达的差异有统计学意义。国内多项研究发现[15,18]，Pim1 蛋白在胰腺癌、肝癌、食管鳞状细胞癌、胃癌等消化系统肿瘤中均有高水平表达，而在前列腺癌、淋巴组织肿瘤上也有特征性升高。说明 Pim1 蛋白表达水平与人体多种肿瘤形成、进展、预后均有密切关联。甚至 Pim1 蛋白相关基因还可以参与多种肿瘤细胞增殖、凋亡、癌变的调控过程。同时，Pim-1 可以间接性的恢复乳腺癌细胞中抗凋亡信号，因此其表达水平一定程度上表征了乳腺组织恶变风险，这也就不难解释健康人群、乳腺炎患者、乳腺癌患者三类人群中 Pim-1 蛋白表达含量的具体差异了。而乳腺癌患者癌变组织和癌旁组织中 Pim1 蛋白表达水平的差异可能与其影响到癌细胞

侵袭和迁移能力有关，具体机制也需进一步深入研究。但是值得注意的是，Pim-1 蛋白或 Pim 激酶的过度表达，可以提高细胞对化学物质的敏感性，甚至在乳腺癌患者进行化疗过程中诱发对化学药物的抵抗，因此乳腺癌患者治疗前也有必要检测周边组织 Pim1 蛋白含量，为采取最合理的治疗方法提供依据。

还有研究发现在非小细胞肺癌中的 Pim1 mRNA 表达水平下调，这说明 Pim1 在不同肿瘤中所起的作用会受到多种因素的影响[19,20]。本研究结果发现，在健康人群中 Pim1 高表达率仅为 23.08%，而在乳腺癌患者体内 Pim1 高表达率达到了 79.49%，此外，乳腺炎细胞和癌旁组织中 Pim1 的高表达率分别为 71.79%、56.41%。这一结果正好证实了 Pim1 在不同病变组织中的表达不是一层不变的，乳腺癌组织中 Pim1 蛋白表达阳性率显著高于非典型增生的乳腺组织和正常乳腺组织。出现这一结果的原因可能与乳腺癌的浸润性发展有关。有研究发现[21]，在人乳腺上皮细胞中使用免疫荧光法检测 Pim1 蛋白表达，并使用软琼脂培养法进行了进一步证实，发现 Pim1 蛋白表达上调可以增加大部分人乳腺上皮细胞的致瘤性。

此外，本研究还分析了 Pim1 蛋白表达与乳腺癌患者临床病理特征的关系，结果发现 Pim1 蛋白表达与乳腺癌患者的淋巴结转移、TNM 分期、ER 表达有关，与王文然等[6]研究结果一致，而 Pim1 蛋白表达与患者的年龄、组织学分级、PR 以及 Her-2 无关，与刘琼雯等[9]研究结果存在差别，具体原因仍需进一步研究。同时，影响乳腺癌患者 Pim1 蛋白表达水平的各因素影响力从大到小依次为：ER 表达、淋巴结转移、TNM 分期，该结果提示患者病情对 Pim1 蛋白表达结果具有决定性作用，乳腺癌患者随着病情进展，其 Pim1 蛋白表达会显著增加，而 Pim1 蛋白表达水平达到一定阈值，可以表征患者病情发生恶化。

综上所述，Pim1 蛋白与乳腺炎、乳腺癌的发生发展存在密切关系，可以作为一个新的抗癌治疗的靶点，同时其与乳腺癌形成的关系为早期诊断和进一步治疗乳腺癌提供了理论依据。

参考文献

1 楚爱景，程旭锋，赵慧朵，等. 柴芍乳癖颗粒对乳腺增生模型大鼠血清激素水平和乳腺组织中 VEGF 和 bFGF 蛋白表达水平的影响及其意义[J].吉林大学学报(医学版)，2018，5(5)：1005-1009，1118-1119.

2 殷倩倩，马东慎，魏瑜，等.不同分子亚型乳腺癌细胞系中 RUNX3 蛋白表达及定位研究[J].中国病理生理杂志，2018，34(9)：1603-1609.

3 韩晓翠，李百隆，于立辉，等.盐霉素通过下调 miR-221 抑制乳腺癌 MCF-7 细胞增殖的实验观察[J].临床与实验病理学杂志，2018，(9)：962-967.

4 熊萱，张远，李一，等.乳腺导管癌差异表达基因的生物信息学分析[J].贵州医药，2018，42(9)：1027-1030，1153.

5 李平，任斌，李洪利，等. MiR-150-5p 通过靶向调控 Rab1A 抑制乳腺癌细胞 MDA-231 的上皮-间质转化[J].中国生物化学与分子生物学报，2018，34(9)：997-1003.

6 王文然，郭瑞，张华. 乳腺恶性肿瘤间质中 α-SMA 表达及与其临床病理特征的关系[J].实用癌症杂志，2018，33(9)：1393-1395，1406.

7 El-Nassan HB，Naguib BH，Beshay EA.Synthesis of new pyridothienopyrimidinone and pyridothienotriazolopyrimidine derivatives as pim-1 inhibitors [J].J Enzyme Inhib Med Chem，2018 ，33(1)：58-66.

8 张茂娜，张弘，张雷，等.微小 RNA-326 靶向 CARD10 抑制乳腺癌细胞的增殖和侵袭[J].山西医科大学学报，2018，(9)：1063-1067.

9 刘琼雯，李秋雨，孙松，等. HIF-2α 和 Twist2 在乳腺癌中的表达及其与预后的关系[J].中国现代医学杂志，2018，28(26)：45-50.

10 盛文文. 凋亡抑制因子 Livin 和 Survivin 在乳腺癌中的表达及临床意义[J].泰山医学院学报，2018，39(9)：986-988.

11 师贞宗，汪令成，李金友，等. IncRNA MT1JP 抑制乳腺癌细胞增殖并促进乳腺癌凋亡研究[J].临床和实验医学杂志，2018，17(17)：1843-1847.

12 黄蓉，夏朝霞，杨峥，等. 乳腺癌组织中 SKA2 mRNA 和蛋白的表达水平及其与临床病理特征的相关性[J].浙江医学，2018，40(17)：1922-1925.

13 许亚梅. 丙泊酚下调 ERK 信号通路对乳腺癌细胞增殖和转移能力的影响[J].解放军预防医学杂志，2018，36(8)：1032-1035.

14 Chojnacki K，Wińska P，Wielechowska M，et al. Biological properties and structural study of new aminoalkyl derivatives of benzimidazole and benzotriazole，dual inhibitors of CK2 and PIM1 kinases [J]. Bioorg Chem，2018，80 ：266-275.

15 陈琢，孔艺然. 沉默 UHRF1 对乳腺癌细胞增殖和转移的影响[J].实用肿瘤学杂志，2017，31(6)：512-518.

16 欧阳林旗，王胜峰，魏凤，等. 15-PGDH 诱导药物逆转人乳腺癌 MCF-7/ADR 细胞耐药作用及机制[J].中国药学杂志，2018，53(16)：1352-1358.

17 高丽娜，张萌萌，李丹丹，等. 乳腺导管癌组织 CUL4A 蛋白表达及其临床意义[J].青岛大学医学院学报，2017，53(5)：543-545，550.

18 陈建丽，陈晓文，张永喜. ACTL6A 蛋白在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J].广东医科大学学报，2017，35(6)：625-627.

19 Zhu HH，Wang XT，Sun YH，et al. Pim1 overexpression prevents apoptosis in cardiomyocytes after exposure to hypoxia and oxidative stress via upregulating cell autophagy [J]. Cell Physiol Biochem，2018，49(6)：2138-2150.

20 欧阳雨晴，胡涵，章国良. 葡萄糖调节蛋白和细胞色素 P450 酶在肿瘤化疗耐药中的研究进展[J].中国临床药理学杂志，2017，33(24)：2637-2641.

21 Aouidate A，Ghaleb A，Ghamali M，et al. 3D QSAR studies，molecular docking and ADMET evaluation，using thiazolidine derivatives as template to obtain new inhibitors of PIM1 kinase [J]. Comput Biol Chem ，2018，74 ：201-211.