

· 论 著 ·

FOXJ1 及 SATB-1 蛋白在三阴性乳腺癌组织中的表达及其对预后的影响

邓爽¹, 徐久东¹, 卢平², 冯国斌¹, 谢雨芹¹

1. 成都医学院第二附属医院 核工业四一六医院胸心乳腺外科, 四川 成都 610051;

2. 成都医学院第二附属医院 核工业四一六医院病理科, 四川 成都 610051

摘要: **目的** 探讨叉头框蛋白 J1 (FOXJ1) 与核基质结合区蛋白质 1 (SATB-1) 在三阴性乳腺癌组织中的表达以及对预后的意义。**方法** 收集 2007 年 7 月至 2014 年 7 月进行外科手术的 100 例三阴性乳腺癌患者的癌组织标本以及对应的 100 例癌旁组织标本。并采用免疫组化染色法检测癌组织与癌旁组织中 FOXJ1、SATB-1 蛋白表达水平, 分析二者与三阴性乳腺癌临床病理特征的关系, 采用 Cox 回归分析探讨三阴性乳腺癌患者预后影响因素。**结果** 癌组织 FOXJ1、SATB-1 蛋白阳性表达率分别为 40.00%、58.00%; 癌旁组织 FOXJ1、SATB-1 蛋白阳性表达率分别为 62.00%、39.00%, 两组 FOXJ1、SATB-1 蛋白阳性表达比较有统计学差异 ($P < 0.01$)。组织学 II ~ III 级、肿瘤低分化、淋巴结转移的患者 FOXJ1 阴性表达率、SATB-1 阳性表达率均较高 ($P < 0.01$)。FOXJ1 阳性和阴性表达的中位生存期分别为 52 个月、30 个月; SATB-1 阳性和阴性表达中位生存期分别为 31 个月、53 个月。单因素分析显示, 组织学 II ~ III 级、肿瘤低分化、有淋巴结转移、FOXJ1 阴性表达及 SATB-1 阳性表达的三阴性乳腺癌患者生存时间均显著缩短 ($P < 0.01$)。多因素 Cox 回归分析显示, 组织学 II ~ III 级、肿瘤低分化、淋巴结转移、FOXJ1 阴性表达、SATB-1 阳性表达均为影响三阴性乳腺癌预后的独立危险因素 ($P < 0.01$)。**结论** FOXJ1 在三阴性乳腺癌组织中表达水平较低, 而 SATB-1 表达水平较高, 二者与肿瘤的组织学分级、肿瘤分化程度、淋巴转移等病理变化密切相关, 可作为预测三阴性乳腺癌预后的重要指标。

关键词: 叉头框蛋白 J1; 核基质结合区蛋白质 1; 三阴性乳腺癌; 临床病理特征; 预后

中图分类号: R 737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2020)05-0593-04

Expression of FOXJ1 and SATB-1 protein in triple-negative breast cancer and their influence on prognosis

DENG Shuang*, XU Jiu-dong, LU Ping, FENG Guo-bin, XIE Yu-qin

* Department of Breast Surgery, the 2nd Affiliated Hospital of Chengdu Medical College,

Nuclear Industry 416 Hospital, Chengdu, Sichuan 610051, China

Corresponding author: XU Jiu-dong, E-mail: 20564130@qq.com

Abstract: Objective To investigate the expression of forkhead-box J1 (FOXJ1) and special AT-rich sequence-binding protein-1 (SATB-1) in triple-negative breast cancer (TNBC) tissue and their influence on prognosis. **Methods** The cancer tissue samples of 100 TNBC patients who received surgery from July 2007 to July 2014, and their corresponding adjacent tissue samples were collected. The expression levels of FOXJ1 and SATB-1 in cancer and adjacent tissues were detected by immunohistochemistry, and the relationship between them and the clinicopathological characteristics of TNBC was analyzed. The prognostic factors of TNBC patients were analyzed by Cox regression analysis. **Results** The positive rates of FOXJ1 and SATB-1 were 40.00% and 58.00% in cancer tissues, 62.00% and 39.00% in adjacent tissues, respectively. There was significant difference in the positive expression of FOXJ1 and SATB-1 between cancer and adjacent tissues ($P < 0.01$). The negative expression rate of FOXJ1 and the positive expression rate of SATB-1 in patients with grade II - III, low differentiation and lymph node metastasis were significantly higher ($P < 0.01$). The median survival time of FOXJ1 positive and negative expression was 52 months and 30 months respectively, and that of SATB-1 positive and negative expression was 31 months and 53 months respectively. Single-factor analysis showed that the survival time of TNBC

patients with grade II - III, low differentiation of tumor, lymph node metastasis, FOXJ1 negative expression and SATB-1 positive expression was significantly shorter ($P < 0.01$). Multivariate Cox regression analysis showed that grade II - III, low differentiation of tumor, lymph node metastasis, FOXJ1 negative expression and SATB-1 positive expression were independent risk factors for prognosis of TNBC ($P < 0.01$). **Conclusion** FOXJ1 expression is low and STAB-1 expression is high in TNBC tissues and they are closely related to pathological changes such as tumor histological grade, tumor differentiation degree, lymph node metastasis, and can be used as important indicators to predict the prognosis of TNBC.

Key words: Forkhead-box J1; Special AT-rich sequence-binding protein-1; Triple-negative breast cancer; Clinicopathological characteristic; Prognosis

Fund program: Scientific Research Project of Health and Family Planning Commission of Sichuan Province (18PJ494)

三阴性乳腺癌(TNBC)属于乳腺癌分子分型中的一种, 占有乳腺癌病理类型的 15% ~ 20%^[1]。三阴性乳腺癌主要表现为恶性程度高、侵蚀性强、容易复发及转移、预后较差, 其发病年龄逐渐年轻化, 而目前发病机制尚未明确, 但对内分泌治疗以及靶向治疗效果不敏感, 死亡率较高, 已成为目前临床上治疗较为困难的一种疾病^[2-5]。因此, 对三阴性乳腺癌, 探索有效的诊断标志物进行早期诊断, 改善预后是临床中急需解决的问题。叉头框蛋白 J1 (FOXJ1) 属于叉头框蛋白家族成员之一, 近年来发现 FOXJ1 能够在不同肿瘤中发挥重要的作用, 与细胞的增殖分化存在密切关系, 并可成为肿瘤早期诊断的重要分子^[6]。核基质结合区蛋白质 1 (SATB-1) 是一种组织特异性的核基质结合区结合蛋白, 并与参与染色体高级结构的形成以及组织特异性基因表达调控, 但近来新的研究发现, SATB-1 参与肿瘤基因的表达调节^[7-8]。因此, 本研究主要探讨 FOXJ1、SATB-1 蛋白在三阴乳腺癌组织中的表达以及临床预后意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2007 年 7 月至 2014 年 7 月在本院进行外科手术的 100 例三阴性乳腺癌患者的癌组织标本以及对应的 100 例癌旁组织标本。所有患者均为女性, 年龄 24 ~ 81 (55.52 ± 5.32) 岁。纳入标准: (1) 经病理检查后已确诊为三阴性乳腺癌; (2) 获得患者及家属的知情同意, 并签署知情同意书; (3) 进行手术治疗, 术前未进行放疗等相关治疗; (4) 临床资料完整。排除标准: (1) 合并其他严重恶性肿瘤; (2) 严重肝肾心功能不全; (3) 心脑血管疾病、代谢异常; (4) 既往精神病史。本研究已获得医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂 鼠抗人 FOXJ1 单克隆抗体产于美国 Proteintech 公司; 兔抗人 SATB-1 多克隆抗体购于美国 Abcam 公司; 免疫组化试剂盒、DAB 显色试剂盒均购于武汉博士德生物有限公司。

1.2.2 免疫组化染色法 采用免疫组织化学检测三阴性乳腺癌组织以及癌旁组织中的 FOXJ1、SATB-1 蛋白表达水平。所有标本均进行常规固定、包埋、切片, 并在脱蜡后使用 3% 过氧化氢阻断内源性过氧化物酶, 随后进行抗原修复, 加入稀释后的一抗, 4 ℃ 孵育过夜, 再加二抗孵育, 使用 DAB 盒显色, 苏木素复染, 氨水返蓝后冲洗, 脱水、透明以及封片, 最后用 PBS 代替一抗作为空白组对照, 一切操作均严格按照免疫组织化学试剂盒说明书进行。

1.2.3 结果判定^[9] 随机选取 5 个高倍镜视野(×400)计数 500。FOXJ1 蛋白定位于细胞核中, 阳性表达呈橘黄色, SATB-1 蛋白定位于细胞质中, 阳性表达呈淡黄色至棕黄色。并根据细胞染色强度与阳性细胞百分比进行综合评分。(1) 根据阳性细胞染色强度评分: 无色为 0 分, 弱染色为 1 分, 中等染色为 2 分, 强染色为 3 分。(2) 根据阳性细胞百分比进行评分: < 5% 为 0 分, 6% ~ 25% 为 1 分, 26% ~ 50% 为 2 分, 51% ~ 75% 为 3 分, ≥ 75% 为 4 分。(3) 将阳性细胞比例与着色强度相乘, 0 ~ 3 分为阴性表达, 4 ~ 12 分为阳性表达。结果由两位高年资的病理医师共同完成。

1.3 随访 所有患者出院后通过电话或者上门等方式进行为期 5 年的随访, 随访截止时间为 2019 年 7 月 30 日, 随访时间为 4 ~ 60 个月, 总生存时间为患者出院后至死亡或随访结束。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件进行数据分析。计数资料以例(%)表示, 采用 χ^2 检验; 采用 Kaplan-Meier 法估计不同临床特征患者的生存情况, 通过非条件单因素和多因素 Cox 比例风险回归模型分析影响三阴性乳腺癌患者预后因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 FOXJ1、SATB-1 蛋白表达情况的比较 癌组织 FOXJ1、SATB-1 蛋白阳性表达率分别为 40.00%、58.00%; 癌旁组织 FOXJ1、SATB-1 蛋白阳

性表达率分别为 62.00%、39.00%，两组 FOXJ1、SATB-1 蛋白阳性表达比较有统计学差异 ($P < 0.01$)。见表 1。FOXJ1、SATB-1 蛋白在三阴性乳腺癌组织中的表达病理图见图 1、图 2。

2.2 FOXJ1、SATB-1 蛋白阳性表达与三阴性乳腺癌临床特征的关系 FOXJ1、SATB-1 表达在三阴性乳腺癌患者的年龄、月经状态、肿瘤直径等临床病理特征比较无统计学差异 ($P > 0.05$)，但组织学 II ~ III 级、肿瘤低分化、有淋巴结转移的患者 FOXJ1 阴性表达率、SATB-1 阳性表达率均较高 ($P < 0.01$)。见表 2。

2.3 FOXJ1、SATB-1 蛋白与三阴性乳腺癌预后的关系 100 例三阴性乳腺癌患者随访时间为 4 ~ 60 个月，平均中位生存期 42 个月，其中 FOXJ1 阳性和阴性表达的中位生存期分别为 52、30 个月；SATB-1 阳性和阴性表达中位生存期分别为 31 个月、53 个月，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.4 影响三阴性乳腺癌患者预后的单因素分析 单因素分析显示，组织学 II ~ III 级、肿瘤低分化、有淋巴结转移、FOXJ1 阴性表达以及 SATB-1 阳性表达的三阴性乳腺癌患者生存时间均显著缩短 ($P < 0.01$)。见表 3。

2.5 影响三阴性乳腺癌预后的 Cox 多因素回归分析 多因素 Cox 比例风险回归分析显示，组织学 III 级、肿瘤低分化、淋巴结转移、FOXJ1 阴性表达、SATB-1 阳性表达均为影响三阴性乳腺癌预后的独立危险因素 ($P < 0.01$)。见表 4。

表 1 两组 FOXJ1、SATB-1 蛋白表达情况的比较 [例(%)]

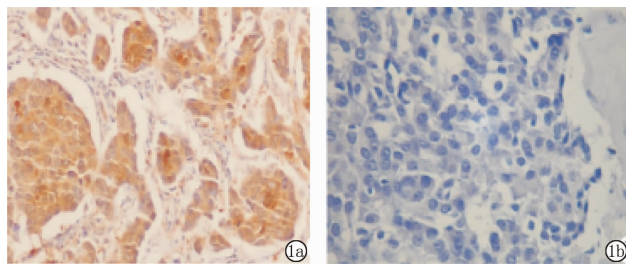
组别	例数	FOXJ1		SATB-1	
		阳性	阴性	阳性	阴性
癌组织	100	40(40.00)	60(60.00)	58(58.00)	42(42.00)
癌旁组织	100	62(62.00)	38(38.00)	39(39.00)	61(61.00)
χ^2 值		9.684		7.227	
P 值		0.002		0.007	

表 2 FOXJ1、SATB-1 蛋白阳性表达与三阴性乳腺癌临床特征的关系 (例)

临床特征	例数	FOXJ1			SATB-1		
		阳性 (n=40)	阴性 (n=60)	P 值	阳性 (n=58)	阴性 (n=42)	P 值
年龄							
≥50 岁	45	15	30	0.218	28	17	0.439
<50 岁	55	25	30		30	25	
月经状态							
绝经前	57	25	32	0.364	31	26	0.399
绝经后	43	15	28		27	16	
肿瘤直径							
≤5 cm	56	20	36	0.324	33	23	0.832
>5 cm	44	20	24		25	19	
组织学分级							
I 级	60	38	22	0.000	21	39	0.000
II ~ III 级	40	2	38		37	3	
分化程度							
低分化	37	5	32	0.000	33	4	0.000
中 + 高分化	63	35	28		25	38	
淋巴结转移							
有	39	3	36	0.000	35	4	0.000
无	61	37	24		23	38	

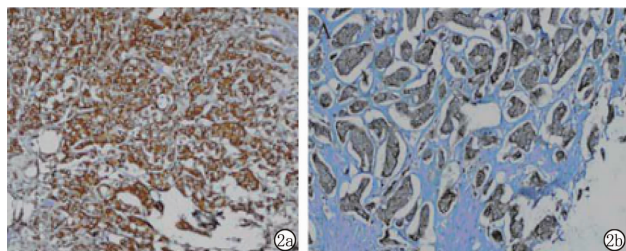
表 3 影响三阴性乳腺癌患者预后的单因素分析 (n = 100)

临床特征	例数	中位生存期(月)	χ^2 值	P 值
年龄				
≥50 岁	45	42	1.101	0.154
<50 岁	55	53		
月经状态				
绝经前	57	50	1.258	0.214
绝经后	43	40		
肿瘤直径				
≤5 cm	56	48	1.247	0.301
>5 cm	44	41		
组织学分级				
I 级	60	55	8.624	0.004
II ~ III 级	40	30		
分化程度				
低分化	37	29	10.214	0.001
中 + 高分化	63	49		
淋巴结转移				
有	39	35	8.572	0.006
无	61	51		
FOXJ1				
阳性	40	50	16.251	0.000
阴性	60	30		
SATB-1				
阳性	58	31	15.421	0.000
阴性	42	53		



注:1a:癌旁组织中阳性表达;1b:癌组织中阴性表达。

图 1 FOXJ1 蛋白在三阴性乳腺癌组织中表达病理图 (免疫组化染色, ×400)



注:2a:癌组织中阳性表达;2b:癌旁组织中阴性表达。

图 2 SATB-1 蛋白在三阴性乳腺癌组织中表达病理图 (免疫组化染色, ×400)

表 4 影响三阴性乳腺癌预后的 Cox 多因素回归分析

自变量	β	SE	Wald χ^2	P 值	HR(95% CI)
组织学分级 (Ⅲ~Ⅱ级 vs Ⅰ级)	1.542	0.325	14.212	0.000	4.67(2.47~8.84)
淋巴转移(有 vs 无)	1.325	0.145	12.251	0.000	3.76(1.59~4.50)
分化程度(低分化 vs 中+高分化)	0.989	0.112	15.324	0.000	2.69(2.16~3.35)
FOXJ1(阴性 vs 阳性)	1.124	0.117	16.521	0.000	3.08(2.45~3.87)
SATB-1(阳性 vs 阴性)	1.258	0.136	18.471	0.000	3.52(2.70~4.59)

3 讨论

FOXJ1 是一类 DNA 结合域具有翼状螺旋结构的转录基因,定位于 17q22-q25,编码 406 个氨基酸,能够与靶基因启动子上特异序列结合激活靶基因转录,被发现多种肿瘤中具有抑癌基因的作用,且在不同肿瘤中呈异质性表达^[10-12]。研究发现,FOXJ1 在肝癌中表达升高,在胃癌组织中表达降低^[13-14]。SATB-1 位于 3 号染色体 3p23 区,含有 763 个氨基酸,在细胞核内呈一种独特的笼状结构包绕异染色质,包含一个 PDZ 及 3 个 DNA 结合点^[15],同时与多种蛋白相互作用,参与组蛋白乙酰化、染色体重塑及甲基化等过程,能够调节细胞分化、凋亡并参与多种肿瘤的发展,既往研究中,SATB-1 主要是胸腺细胞中表达水平升高^[16-17]。有研究发现,SATB-1 在胃癌组织中高表达,并作为判断患者预后的新指标^[18]。

本研究结果显示,癌组织 FOXJ1 阳性表达率明显低于癌旁组织,SATB-1 阳性表达率明显高于癌旁组织,并且组织学Ⅱ~Ⅲ级、肿瘤低分化、淋巴结转移时,FOXJ1 阴性表达率、SATB-1 阳性表达率均较高,提示 FOXJ1 表达水平降低、SATB-1 表达水平升高能够反映三阴乳腺癌患者的严重程度。本研究经过为期 5 年的随访,三阴乳腺癌患者 FOXJ1 阳性和阴性表达的中位生存期分别为 52 个月、30 个月;SATB-1 阳性和阴性表达者中位生存期分别为 31 个月、53 个月,提示 FOXJ1、SATB-1 表达水平与患者的预后存在密切关系。为进一步了解影响患者预后的因素,本研究显示,组织学Ⅱ~Ⅲ级、肿瘤低分化、有淋巴结转移、FOXJ1 阴性表达及 SATB-1 阳性表达能导致三阴性乳腺癌患者生存时间显著缩短,且可作为影响三阴性乳腺癌预后的独立危险因素。

综上所述,FOXJ1 在三阴性乳腺癌组织中表达水平降低,而 SATB-1 表达水平升高,二者肿瘤的组织学分级、肿瘤分化程度、淋巴转移等病理变化密切相关,可作为预测三阴性乳腺癌预后的重要指标。但因本研究样本量较少和研究时间过短,更多结果有待更深入的研究。

参考文献

- [1] 李智勇,白雪.三阴性乳腺癌分子分型的研究进展[J].新医学,2018,49(2):77-81.
- [2] 吕金燕,王刚,王若雨,等.LETMI 蛋白在三阴性乳腺癌组织中的表达及与患者临床特征和预后的关系[J].癌症进展,2018,16(11):1404-1407.
- [3] 张露,郑荣生,汪子书,等.三阴性乳腺癌 90 例临床特征及生存情况分析[J].蚌埠医学院学报,2015,40(4):434-439.
- [4] 王海疆,蔡栋昊,栾艺,等.CEA、CA125、CA153、CYFRA 211 在三阴性乳腺癌中的诊断价值评价[J].热带医学杂志,2019,19(9):1082-1085,1060.
- [5] 孙振,周海红,郭红云,等.CARD9 蛋白在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J].肿瘤,2017,37(3):245-254.
- [6] 刘伟,朱帅,杜江.FOXJ1 在胃癌组织中的表达及意义[J].临床和实验医学杂志,2018,17(8):819-822.
- [7] 郭志成,刘渠贺,李望,等.特异性核基质结合区结合蛋白-1、细胞核增殖抗原基因在膀胱移行细胞癌组织的表达及其临床意义[J].中华实验外科杂志,2018,35(9):1598-1600.
- [8] 范利,毛立军,陈家存.特异性核基质结合区结合蛋白 1 及其与肿瘤[J].中华临床医师杂志(电子版),2013,7(24):11809.
- [9] 李延新,杜雄.FOXJ1 及 SATB-1 在胃癌组织中的蛋白表达情况及其与肿瘤分期、转移的相关性[J].实用癌症杂志,2018,33(1):14-16.
- [10] 王博,薛锋,刘娟妮,等.FOXJ1 基因与肿瘤相关性研究进展[J].陕西医学杂志,2017,46(10):1487-1488.
- [11] Stauber M,Weidemann M,Dittrich-Breiholz O,et al. Identification of FOXJ1 effectors during ciliogenesis in the foetal respiratory epithelium and embryonic left-right organiser of the mouse[J]. Dev Biol, 2017,423(2):170-188.
- [12] Wang J,Cai XQ,Xia LM,et al. Decreased expression of FOXJ1 is a potential prognostic predictor for progression and poor survival of gastric cancer[J]. Ann Surg Oncol,2015,22(2):685-692.
- [13] Liu KL,Fan JH,Wu J. Forkhead box protein J1 (FOXJ1) is overexpressed in colorectal cancer and promotes nuclear translocation of β -catenin in SW620 cells[J]. Med Sci Monit,2017,23:856-866.
- [14] 潘伟. ERK 通路蛋白、ANXA2 及 FOXJ1 蛋白表达与胃癌患者临床分期及预后的相关性研究[J].临床和实验医学杂志,2017,16(5):454-457.
- [15] 吕京滢,周晓军.核基质结合蛋白 SATB2 的鉴别诊断价值及其在恶性肿瘤中的作用研究进展[J].中华病理学杂志,2017,46(11):813-816.
- [16] 冯雨,李高峰.核基质结合区结合蛋白质 1 与肿瘤关系的研究进展[J].医学综述,2014,20(2):239-241.
- [17] 贾晓宁,王小娟,徐婷,等. SATB1 在肿瘤中的研究进展[J].全科口腔医学电子杂志,2017,4(10):11-12,14.
- [18] 胥颖,董丹丹,李科,等.核基质结合区结合蛋白质 1 在胃癌中的表达及其与临床病理特征的关系[J].实用医院临床杂志,2016,13(2):60-62.

收稿日期:2019-08-16 修回日期:2019-09-11 编辑:王娜娜