

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.04.011

肿瘤防治专题

乳腺癌组织中 UEV1A、UBE2N 表达与上皮间质转化的关系及临床预后价值

吴欣妍, 林小龙, 王健宝, 黄心瑜, 唐仁梅

基金项目: 海南省卫生计生行业科研项目(18A200073)

作者单位: 571400 海南省琼海市人民医院/海南省东部区域医疗中心乳腺甲状腺外科

通信作者: 王健宝, E-mail: 406243640@qq.com

【摘要】目的 分析乳腺癌组织中泛素结合酶变体 1A (UEV1A)、泛素连接酶 E2N (UBE2N) 的表达与上皮间质转化(EMT) 基因表达的相关性及临床预后意义。**方法** 选取 2016 年 2 月—2017 年 2 月琼海市人民医院/海南省东部区域医疗中心乳腺甲状腺外科诊治的乳腺癌患者 124 例为研究对象。采用实时荧光定量 PCR 法检测乳腺癌组织和癌旁组织中 UEV1A、UBE2N 及 EMT 通路基因 E-钙黏蛋白 (E-cad)、N-钙黏蛋白 (N-cad)、波形蛋白 (Vim)、Snail mRNA 的表达; 免疫组化法检测组织中 UEV1A、UBE2N 蛋白水平。比较不同临床病理特征乳腺癌患者癌组织中 UEV1A、UBE2N 蛋白水平差异。采用 Pearson 相关分析和 Spearman 秩相关分析乳腺癌组织中 UEV1A、UBE2N mRNA 与 EMT 相关基因表达的相关性, 以及癌组织 UEV1A 与 UBE2N 蛋白水平的相关性。Kaplan-Meier 生存分析 UEV1A、UBE2N 蛋白水平对乳腺癌患者生存预后的影响。多因素 Cox 回归分析影响乳腺癌患者生存预后的因素。**结果** 乳腺癌组织 UEV1A、UBE2N 及 N-cad、Vim、Snail mRNA 表达高于癌旁组织, E-cad mRNA 表达低于癌旁组织 ($t/P = 28.803/ < 0.001, 48.654/ < 0.001, 54.411/ < 0.001, 46.213/ < 0.001, 27.273/ < 0.001, 22.228/ < 0.001$)。癌组织中 UEV1A、UBE2N mRNA 表达与 N-cad、Vim、Snail mRNA 呈正相关 (UEV1A: $r = 0.694, 0.702, 0.806, P$ 均 < 0.001 ; UBE2N: $r = 0.717, 0.756, 0.803, P$ 均 < 0.001), 与 E-cad 呈负相关 ($r = -0.741, -0.756, P$ 均 < 0.001)。乳腺癌组织 UEV1A、UBE2N 蛋白表达阳性率高于癌旁组织 ($\chi^2/P = 68.896/ < 0.001, 64.851/ < 0.001$); 癌组织中 UEV1A 与 UBE2N 蛋白表达呈显著正相关 ($r/P = 0.785/ < 0.001$)。肿瘤 T2 ~ T4 期、有淋巴结转移乳腺癌患者癌组织中 UEV1A、UBE2N 蛋白表达阳性率分别高于 T1 期、无淋巴结转移患者 (UEV1A: $\chi^2/P = 29.803/ < 0.001, 4.015/ 0.045$; UBE2N: $\chi^2/P = 7.038/ 0.008, 8.572/ 0.003$)。UEV1A 阳性表达患者 5 年总体生存率低于阴性表达患者 ($\chi^2/P = 5.085/ 0.024$), UBE2N 阳性表达患者 5 年总体生存率低于阴性表达患者 ($\chi^2/P = 8.391/ 0.004$)。肿瘤 T2 ~ T4 期、合并淋巴结转移、UEV1A 阳性、UBE2N 阳性是影响乳腺癌患者生存预后的独立危险因素 [OR (95% CI) = 1.777 (1.299 ~ 2.432)、1.613 (1.193 ~ 2.181)、1.838 (1.302 ~ 2.596)、1.735 (1.224 ~ 2.459), P 均 < 0.001]。**结论** 乳腺癌组织 UEV1A、UBE2N 表达升高, 二者与肿瘤分期及淋巴结转移有关, 是影响乳腺癌患者预后的独立危险因素。

【关键词】 乳腺癌; 泛素结合酶变体 1A; 泛素连接酶 E2N; 上皮间质转化; 预后**【中图分类号】** R737.9**【文献标识码】** A

Relationship between expression of UEV1A, UBE2N and epithelial mesenchymal transformation in breast cancer and its clinical prognostic value

Wu Xinyan, Lin Xiaolong, Wang Jianbao, Huang Xinyu, Tang Renmei. Department of Breast and Thyroid Surgery, Qionghai People's Hospital/Hainan Eastern Regional Medical Center, Hainan Province, Qionghai 571400, China

Corresponding author: Wang Jianbao, E-mail: 406243640@qq.com

Funding program: Hainan Health and Family Planning Industry Scientific Research Project (18A200073)

【Abstract】 Objective To analyze the correlation between the expression of ubiquitin binding enzyme variant 1A (UEV1A), ubiquitin ligase E2N (UBE2N) and the expression of epithelial mesenchymal transformation (EMT) gene in breast cancer and its clinical prognostic significance. **Methods** One hundred and twenty-four breast cancer patients diagnosed and treated by Qionghai People's Hospital/Hainan Eastern Regional Medical Center from February 2016 to February 2017 were selected as the study subjects. The expressions of UEV1A, UBE2N and EMT pathway genes E-cadherin (E-cad), N-cadherin (N-cad), vim and Snail mRNA in breast cancer tissues and adjacent tissues were detected by real-time fluorescent

quantitative PCR; Immunohistochemical method was used to detect the levels of UEV1A and UBE2N proteins in tissues. To compare the difference of UEV1A and UBE2N protein levels in breast cancer patients with different clinicopathological characteristics. Pearson correlation analysis and Spearman rank correlation analysis were used to analyze the correlation between UEV1A, UBE2N mRNA and EMT related gene expression in breast cancer tissues, as well as the correlation between UEV1A and UBE2N protein levels in cancer tissues. Kaplan Meier survival analysis: The impact of UEV1A and UBE2N protein levels on the survival and prognosis of breast cancer patients. Multivariate Cox regression analysis of factors affecting the survival and prognosis of breast cancer patients. **Results** UEV1A, UBE2N, N-cad, Vim, and Snail mRNA expression in breast cancer tissues were higher than those in adjacent noncancerous tissues, while E-cad mRNA expression was lower than that in adjacent noncancerous tissues ($t/P=28.803/<0.001, 48.654/<0.001, 54.411/<0.001, 46.213/<0.001, 27.273/<0.001, 22.228/<0.001$). UEV1A and UBE2N mRNA expression were positively correlated with N-cad, Vim, and Snail mRNA expression in cancer tissues (UEV1A: $r=0.694, 0.702, 0.806, P<0.001$ for all; UBE2N: $r=0.717, 0.756, 0.803, P<0.001$ for all), and negatively correlated with E-cad mRNA expression ($r=-0.741, -0.756, P<0.001$ for both). The positive expression rate of UEV1A and UBE2N proteins in breast cancer tissues was significantly higher than that in adjacent noncancerous tissues ($\chi^2/P=68.896/<0.001, 64.851/<0.001$); there was a significant positive correlation between UEV1A and UBE2N protein expression in cancer tissues ($r/P=0.785/<0.001$). The positive expression rate of UEV1A and UBE2N proteins in breast cancer tissues was higher in patients with T2-4 stage and lymph node metastasis than in those with T1 stage and without lymph node metastasis (UEV1A: $\chi^2/P=29.803/<0.001, 4.015/0.045$; UBE2N: $\chi^2/P=7.038/0.008, 8.572/0.003$). Breast cancer patients with positive UEV1A expression had a lower 5-year overall survival rate than those with negative expression ($\chi^2/P=5.085/0.024$), and those with positive UBE2N expression had a lower 5-year overall survival rate than those with negative expression ($\chi^2/P=8.391/0.004$). T2-4 stage, lymph node metastasis, positive UEV1A expression, and positive UBE2N expression were independent risk factors affecting the survival prognosis of breast cancer patients [$OR(95\%CI)=1.777(1.299-2.432), 1.613(1.193-2.181), 1.838(1.302-2.596), 1.735(1.224-2.459), P<0.001$ for all]. **Conclusion** The expression of UEV1A and UBE2N in breast cancer tissue is increased, which are related to tumor stage and lymph node metastasis, and are independent risk factors affecting the prognosis of breast cancer patients.

【Key words】 Breast cancer; Ubiquitin binding enzyme variant 1A; Ubiquitin ligase E2N; Epithelial mesenchymal transformation; Prognosis

乳腺癌为女性最常见的恶性肿瘤,全球每年新发 226 万例^[1]。晚期患者由于肿瘤转移、耐药等因素,导致不良预后^[2]。泛素结合酶变体 1A (ubiquitin-conjugating enzyme variant 1A, UEV1A) 参与调节细胞周期、细胞分化等过程^[3]。Wu 等^[4]报道,乳腺癌中 UEV1A 的过表达能激活 AKT 通路,促进肿瘤增殖。泛素连接酶 E2N (ubiquitin conjugating enzyme E2N, UBE2N) 是一种 E2 泛素结合酶,参与 DNA 损伤修复、内质网应激等过程^[5]。研究表明,UBE2N 能够激活机体致癌先天免疫信号通路,促进急性髓系白血病的进展^[6]。乳腺癌与上皮间质转化 (epithelial mesenchymal transition, EMT) 有关,细胞丧失上皮性表型,向间质性表型转化,肿瘤细胞的侵袭和转移能力增强^[7]。现检测乳腺癌中 UEV1A、UBE2N 的表达与 EMT 的相关性及其对临床预后的意义,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2016 年 2 月—2017 年 2 月琼海市人民医院/海南省东部区域医疗中心乳腺甲状腺外科诊治的乳腺癌患者 124 例为研究对象。患者均为女

性,年龄 33 ~ 75 (58.4 ± 6.1) 岁;组织学分级:1 级 ~ 2 级 78 例,3 级 46 例;肿瘤直径: ≤ 3 cm 70 例, > 3 cm 54 例;肿瘤 T 分期:T1 期 38 例,T2 ~ T4 期 86 例;雌激素受体 (ER) 阳性 85 例,孕激素受体 (PR) 阳性 88 例,人表皮生长因子受体 2 (HER-2) 阳性 27 例;分子分型:Luminal A 型 47 例,Luminal B 型 40 例,HER-2 型 20 例,三阴性 17 例。本研究经医院伦理委员会批准 (20151108),患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①所有患者均接受乳腺癌改良根治术或乳腺癌保乳根治术治疗,经术后病理检查确诊为乳腺浸润性导管癌;②初次诊断和治疗,术前无新辅助化疗治疗史;③临床及随访资料完整。(2) 排除标准:①妊娠、哺乳期女性;②合并其他部位恶性肿瘤;③合并急性乳腺炎、乳腺脓肿等感染性疾病。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 荧光定量 PCR 检测 UEV1A、UBE2N 及 EMT 通路基因 mRNA 表达:术中留取患者乳腺癌和癌旁组

织约 40 mg,液氮中研磨,离心留取上清。采用 Trizol 法提取组织中总 RNA,微量分光光度计(Nano-drop1000,美国赛默飞公司)检测总 RNA 纯度,OD260/OD280 比值 1.8~2.1。将总 RNA 逆转录为 cDNA 后进行荧光定量 PCR 反应。PrimeScript RT Reagent 试剂盒购自日本 Takara 公司。SYBR GREEN Master Mix 试剂盒购自北京索莱宝公司。ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪购自美国 Applied Biosystems 公司。引物由华大公司设计合成。总反应体系 20 μl,包括 2 × SYBR Green 10 μl,逆转录产物 2 μl,双蒸水 6 μl,正反向引物各 1 μl。反应条件:95℃ 预变性 5 min、95℃ 变性 30 s、40℃ 退火 40 s、70℃ 延伸 30 s,变性退火延伸共 35 次循环。以 GAPDH 为内参,采用相对定量 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算 UEV1A、UBE2N 及 E-钙黏蛋白(E-cadherin, E-cad)、N-钙黏蛋白(N-cadherin, N-cad)、波形蛋白(Vimentin, Vim)、Snail mRNA 的相对表达量。引物序列见表 1。

1.3.2 免疫组化检测 UEV1A、UBE2N 蛋白表达:术中留取乳腺癌和癌旁组织约 100 mg,常规 10% 中性甲醛固定 12 h,石蜡包埋切片,UEV1A、UBE2N 一抗稀释比均为 1:1 000,按照常规免疫组化染色步骤染色。UEV1A 兔多克隆抗体购自美国 Invitrogen 公司。UBE2N 兔抗人单克隆抗体购自 Abcam 公司。中性树脂封片显微镜(日本 OLYMBUS, BX53 显微镜, ×200)下观察染色情况,并进行免疫组化染色评分 = 染色强度 × 染色面积,染色强度:0 分为无染色,1 分为浅黄色,2 分为棕褐色;染色面积:0 分为 < 25%, 1 分为 25%~50%, 2 分为 > 50%,免疫组化染色评分 < 2 分

为阴性, ≥2 分为阳性。

1.3.3 随访情况:所有研究对象自确诊日起开始以门诊或电话方式进行定期随访,第 1 年每 3 个月随访 1 次,第 2 年开始每半年随访 1 次,随访截至 2022 年 3 月 1 日。随访内容为患者生存情况及生存时间。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内比较采用配对 *t* 检验,组间比较采用两独立样本 *t* 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;各指标间相关性分析采用 Pearson 相关分析及 Spearman 秩相关分析;Kaplan-Meier(Log-rank 检验)生存分析 UEV1A、UBE2N 蛋白表达对乳腺癌患者生存预后的影响;多因素 Cox 回归分析影响乳腺癌患者预后的因素。*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌与癌旁组织 UEV1A、UBE2N 及 EMT 相关基因 mRNA 表达比较 乳腺癌组织 UEV1A、UBE2N 及 N-cad、Vim、Snail mRNA 表达高于癌旁组织,E-cad mRNA 表达低于癌旁组织,差异均有统计学意义(*P* < 0.01),见表 2。

2.2 癌组织中 UEV1A、UBE2N 与 EMT 相关基因 mRNA 表达的相关性 乳腺癌组织中 UEV1A mRNA 表达与 N-cad、Vim、Snail mRNA 表达呈正相关(*r* = 0.694、0.702、0.806, *P* 均 < 0.001),与 E-cad 呈明显负相关(*r* = -0.741, *P* < 0.001)。癌组织中 UBE2N mRNA 表达与 N-cad、Vim、Snail mRNA 表达呈正相关(*r* = 0.717、0.756、0.803, *P* 均 < 0.001),与 E-cad 呈负相关(*r* = -0.756, *P* < 0.001)。

表 1 UEV1A、UBE2N 及 EMT 通路基因引物序列

Tab. 1 UEV1A, UBE2N, and EMT pathway gene primer sequences

引物	上游引物	下游引物
UEV1A	5'-GCCCTAGACGAAGTGGGTC-3'	5'-GGCTGCAACTGCCTAATGAG-3'
UBE2N	5'-CGAACTGGACACACATACAGTG-3'	5'-CTGAGGATCTCTGGTTGTGCT-3'
E-cad	5'-TGTGACAAGGAATATGTGAGCC-3'	5'-TGAGCCCTCAGATTTGACCTG-3'
N-cad	5'-TCGGAAGCCTAACTACAGCGA-3'	5'-AGATGAGCATTGGCAGCGAG-3'
Vim	5'-ACTGCAACAAGGAATACCTCAG-3'	5'-GCACTGGTACTTCTTGACATCTG-3'
Snail	5'-ACTGCGACAAGGAGTACACC-3'	5'-GAGTGCCTTTCGATGGG-3'
GAPDH	5'-TGTGACAAGGAATATGTGAGCC-3'	5'-TGAGCCCTCAGATTTGACCTG-3'

表 2 乳腺癌与癌旁组织 UEV1A、UBE2N 及 EMT 相关基因 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of mRNA expression of UEV1A, UBE2N and EMT related genes between breast cancer and adjacent tissues

组别	<i>n</i>	UEV1A	UBE2N	E-cad	N-cad	Vim	Snail
癌旁组织	124	1.14 ± 0.34	0.93 ± 0.29	2.16 ± 0.68	0.65 ± 0.11	0.58 ± 0.09	0.62 ± 0.14
癌组织	124	3.27 ± 0.75	4.16 ± 0.68	0.77 ± 0.15	2.63 ± 0.39	2.12 ± 0.36	2.01 ± 0.55
<i>t</i> 值		28.803	48.654	22.228	54.411	46.213	27.273
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 乳腺癌组织与癌旁组织 UEV1A、UBE2N 蛋白表达比较 乳腺癌组织中, UEV1A、UBE2N 蛋白阳性染色位于细胞质和细胞膜,部分位于细胞核。乳腺癌组织 UEV1A 蛋白表达阳性率为 62.10% (77/124),高于癌旁组织的 11.29% (14/124) ($\chi^2 = 68.896, P < 0.001$);乳腺癌组织 UBE2N 蛋白表达阳性率为 64.52% (80/124),高于癌旁组织的 14.52% (18/124) ($\chi^2 = 64.851, P < 0.001$)。见图 1。Spearman 秩相关分析结果显示,癌组织中 UEV1A 与 UBE2N 蛋白表达呈显著正相关($r = 0.785, P < 0.001$)。

2.4 UEV1A、UBE2N 蛋白表达在不同临床病理特征乳腺癌患者中比较 肿瘤 T2 ~ T4 期、有淋巴结转移乳腺癌患者癌组织中 UEV1A、UBE2N 蛋白表达阳性率高于 T1 期、无淋巴结转移,差异有统计学意义(P 均 < 0.05),不同年龄、肿瘤直径、组织学分级、ER、PR、HER-2 及分子分型乳腺癌组织中 UEV1A、UBE2N 蛋白表达阳性率比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

2.5 UEV1A、UBE2N 蛋白表达与乳腺癌患者生存预后的关系 124 例乳腺癌患者,随访 4 ~ 60 个月,随访期间无失访,死亡 29 例,5 年总体生存率为 76.61% (95/124)。UEV1A 阳性表达患者 5 年总体生存率为 70.13% (54/77),低于阴性表达患者的 87.23% (41/47),差异有统计学意义($\chi^2 = 5.085, P = 0.024$);UBE2N 阳性表达患者为 68.75% (55/80),低于阴性

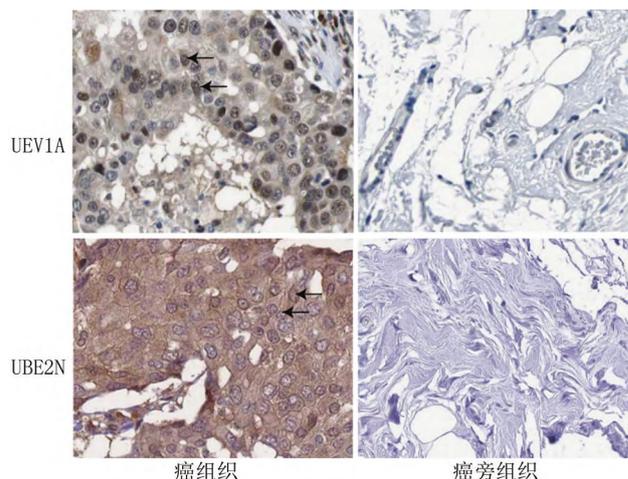


图 1 乳腺癌及癌旁组织中 UEV1A、UBE2N 蛋白表达(免疫组化染色, × 200)

Fig. 1 UEV1A, UBE2N protein expression in breast cancer and adjacent tissues (immunohistochemical staining, × 200)

表达患者的 90.91% (40/44),差异有统计学意义($\chi^2 = 8.391, P = 0.004$)。见图 2。

2.6 影响乳腺癌患者生存预后的多因素 Cox 回归分析 以乳腺癌患者随访期间是否发生死亡为因变量,以上述结果中 $P < 0.05$ 项目为自变量,纳入多因素 Cox 回归分析,结果显示,肿瘤 T2 ~ T4 期、合并淋巴结转移、UEV1A 阳性、UBE2N 阳性是影响乳腺癌患者生存预后的独立危险因素($P < 0.01$),见表 4。

表 3 UEV1A、UBE2N 蛋白表达在乳腺癌不同临床病理特征中比较 [例(%)]

Tab. 3 Comparison of UEV1A and UBE2N protein expression in different clinicopathological characteristics of breast cancer

项 目	例数	UEV1A 阳性	χ^2 值	P 值	UBE2N 阳性	χ^2 值	P 值
年龄	< 60 岁	41 (56.94)	1.936	0.164	43 (59.72)	1.724	0.189
	≥ 60 岁	36 (69.23)			37 (71.15)		
T 分期	T1 期	10 (26.32)	29.803	< 0.001	18 (47.37)	7.038	0.008
	T2 ~ T4 期	86 (77.91)			62 (72.09)		
肿瘤直径	≥ 3 cm	40 (57.14)	1.676	0.195	47 (67.14)	0.484	0.486
	< 3 cm	54 (68.52)			33 (61.11)		
组织学分级	3 级	32 (69.57)	1.733	0.188	33 (71.74)	1.667	0.197
	1 ~ 2 级	78 (57.69)			47 (60.26)		
淋巴结转移	有	47 (70.15)	4.015	0.045	51 (76.12)	8.572	0.003
	无	57 (52.63)			29 (50.88)		
ER	阳性	55 (64.71)	0.782	0.377	54 (63.53)	0.115	0.735
	阴性	39 (56.41)			26 (66.67)		
PR	阳性	56 (63.64)	0.305	0.581	57 (64.77)	0.009	0.926
	阴性	36 (58.33)			23 (63.89)		
HER-2	阳性	13 (48.15)	2.853	0.091	17 (62.96)	0.036	0.849
	阴性	97 (65.98)			63 (64.95)		
分子分型	Luminal A 型	30 (63.83)	2.446	0.485	32 (68.09)	0.554	0.907
	Luminal B 型	22 (55.00)			23 (57.50)		
	HER-2 型	12 (60.00)			14 (70.00)		
	三阴型	13 (76.47)			11 (74.71)		

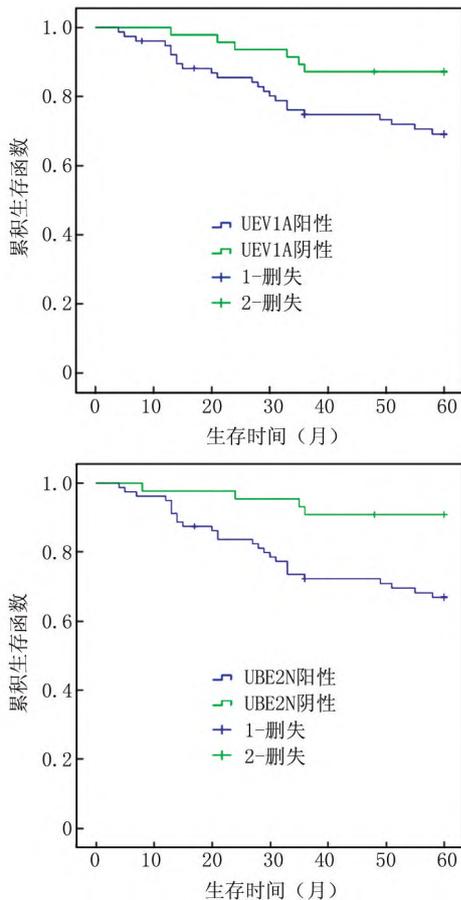


图 2 KM 生存曲线分析 UEV1A、UBE2N 蛋白表达与乳腺癌患者生存预后的关系

Fig. 2 KM survival curve analysis of the relationship between UEV1A, UBE2N protein expression and survival prognosis of breast cancer patients

表 4 多因素 Cox 回归分析影响乳腺癌预后的因素

Tab. 4 Multifactor Cox Regression Analysis of Factors Influencing the Prognosis of breast cancer

因素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
肿瘤 T2 ~ T4 期	0.575	0.160	12.915	<0.001	1.777	1.299 ~ 2.432
淋巴结转移	0.478	0.154	9.634	<0.001	1.613	1.193 ~ 2.181
UEV1A 阳性	0.609	0.176	11.973	<0.001	1.838	1.302 ~ 2.596
UBE2N 阳性	0.551	0.178	9.582	<0.001	1.735	1.224 ~ 2.459

3 讨论

乳腺癌是我国女性最常见的恶性肿瘤,2020 年我国女性乳腺癌死亡例数达 11.7 万例,病死率可达 17.1%^[8]。目前乳腺癌的治疗以手术、放化疗、内分泌治疗及靶向治疗为主,但临床治疗中仍有部分患者存在肿瘤复发转移的现象,导致预后不佳。深入研究乳腺癌疾病机制,寻找能够有效评估预后的肿瘤标志物,对实施个体化治疗方案具有重要意义。乳腺癌的

发生发展是一个涉及多个步骤的复杂过程,与遗传和环境因素密切相关。EMT 是胚胎发育、组织修复的基本过程,也是恶性肿瘤细胞获得侵袭转移能力的重要生物学过程。本研究中,乳腺癌中上皮性标志物 E-cad 表达下调,而间质性标志物 N-cad、Vim 及 Snail 表达上调,与既往研究报道一致^[9],EMT 发生后肿瘤细胞与周围组织的黏附能力降低,细胞呈现长梭形间充质形态,促进乳腺癌细胞获得迁移、侵袭及转移。

在 E2 泛素连接酶催化下,蛋白质第 63 位的赖氨酸连接泛素链,并被 26S 蛋白酶体识别降解,是细胞内蛋白翻译后修饰的重要方式。UEV1A 是 E2 泛素连接酶的辅助因子,介导参与细胞增殖、分化,DNA 损伤修复和应激反应等多种病理生理学过程,与感染、免疫及肿瘤等疾病的发生等密切相关^[4,10]。本研究中,乳腺癌中 UEV1A 表达升高,并与肿瘤分期及淋巴结转移有关,这与既往学者在体外细胞实验中报道结果一致^[11],提示 UEV1A 可能参与乳腺癌的发生发展。UEV1A 编码基因位于 20q13.2,既往研究发现,乳腺癌中该区域存在 DNA 扩增的现象,导致乳腺癌中 UEV1A 基因表达上调^[11]。Wu 等^[4]报道,UEV1A 的表达上调能够通过激活核因子 κ B,促进乳腺癌肿瘤细胞抗凋亡蛋白 BIM 的表达,抑制肿瘤细胞凋亡,促进肿瘤的过度增殖。此外,UEV1A 还能够通过促进肿瘤发生 EMT,增强肿瘤细胞的侵袭和迁移能力,导致肿瘤进展。Niu 等^[12]研究证实,乳腺癌细胞中过表达 UEV1A 后能够激活 AKT 信号通路,促进肿瘤干性的形成及上皮间质转化的发生,导致肿瘤侵袭和转移。本研究也观察到乳腺癌组织中 UEV1A 表达与间质性标志物呈正相关,而与上皮性标志物呈负相关,提示 UEV1A 能够促进乳腺癌 EMT 的发生。因此,乳腺癌中 UEV1A 可能作为一种促癌基因,其通过诱导肿瘤发生上皮间质转化,促进乳腺癌的肿瘤进展。本研究中,UEV1A 阳性表达乳腺癌患者预后较差,是影响患者不良预后的独立危险因素,提示乳腺癌组织中 UEV1A 表达可能作为新的肿瘤标志物,有助于预测乳腺癌患者的临床预后。研究发现,在顺铂耐药的肿瘤细胞中,UEV1A 能够被招募到 DNA 损伤位点,促进 DNA 损伤修复,导致化疗耐药性的形成^[4,13]。因此,UEV1A 可通过影响乳腺癌患者放化疗治疗的敏感性,影响患者的临床预后,以 UEV1A 为靶点的临床治疗可能有助于改善化疗耐药,增强肿瘤细胞对化疗的敏感性,是一种潜在的临床治疗方案,值得深入研究。

UBE2N 又称为 UBC13,是一种 E2 泛素连接酶,通过非经典泛素化途径调节 DNA 损伤修复过程。近年

来发现,UBE2N 在卵巢癌、膀胱癌等恶性肿瘤中表达异常上调,可促进细胞周期蛋白依赖性激酶 6 的表达,促进肿瘤细胞 G0/G1 期的进行,导致肿瘤进展^[14-15]。本研究中,乳腺癌组织中 UBE2N 表达升高,与不良临床病理特征有关,提示 UBE2N 促进乳腺癌的发生进展。乳腺癌中 UBE2N 的表达受微小 RNA 的转录后水平调节。研究表明,乳腺癌中 miR-590-3p 表达下调,导致 miR-590-3p 不能结合 UBE2N mRNA,UBE2N mRNA 稳定性升高,激活丝裂原活化蛋白激酶通路,导致肿瘤过度增殖^[16-17]。此外,UBE2N 还能够激活 EMT 通路,促进乳腺癌肿瘤进展。有研究发现,乳腺癌肿瘤细胞中 UBE2N 的表达能够激活转化生长因子 β 活化激酶 1 和 p38,导致转化生长因子 β 通路下游 SMAD 的活化,促进 EMT 的发生及肿瘤侵袭和转移,而利用 UBE2N 抑制剂治疗后,动物体内乳腺癌肿瘤细胞的转移能力显著受到抑制^[18]。此外,UBE2N 还介导组蛋白去乙酰化酶 1 泛素化和降解,抑制组蛋白 H4 赖氨酸 16 乙酰化,抑制肿瘤细胞上皮性标志物如 E-cad 表达,促进 EMT 的发生^[19]。这与本研究中观察到乳腺癌组织中 UBE2N 的表达与间质性标志物表达呈正相关,与上皮性标志物表达呈负相关的研究结果一致,提示 UBE2N 能够促进乳腺癌 EMT 的发生,促进乳腺癌的肿瘤进展。本研究中,UBE2N 阳性表达患者预后较差,表明 UBE2N 是一种乳腺癌预后相关肿瘤标志物。分析其原因,UBE2N 的表达升高能够促进肿瘤放疗中 DNA 损伤修复过程,降低对放疗的敏感性,导致患者不良预后。研究表明,结直肠癌中 UBE2N 能够与含有三方基序的 11 结合,促进 TAX1 结合蛋白 1 的活化,抑制铁蛋白吞噬,促进肿瘤细胞对吉西他滨等化疗药物耐药性形成^[20]。因此,乳腺癌中 UBE2N 是一种新的肿瘤标志物,有助于评估乳腺癌患者的临床预后。本研究发现,乳腺癌中 UEV1A 与 UBE2N 表达呈显著正相关,表明两者在乳腺癌肿瘤进展中可能发挥协同效应。Wu 等^[21]发现,UEV1A 能够与 UBE2N 结合形成复合物,催化靶蛋白 K63 位点的多泛素化修饰,促进核因子 κ B 入核,增加肿瘤细胞侵袭和转移能力。

综上所述,乳腺癌中 UEV1A、UBE2N 表达上调,两者表达与乳腺癌患者肿瘤 T 分期、淋巴结转移有关。UEV1A、UBE2N 可通过促进乳腺癌 EMT 的发生,导致乳腺癌疾病的发生发展。UEV1A、UBE2N 阳性表达乳腺癌患者生存预后较差,是影响患者不良预后的独立危险因素。但本研究存在一定的不足,本研究样本量有限,未对乳腺癌中 UEV1A、UBE2N 的具体机制进行研究,有待今后深入研究验证。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

吴欣妍:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;林小龙:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;王健宝:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;黄心瑜:进行统计学分析;唐仁梅:课题设计,论文撰写

参考文献

- [1] Youn HJ, Han W. A review of the epidemiology of breast cancer in Asia; Focus on risk factors[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2020, 21 (4): 867-880. DOI: 10. 31557/APJCP. 2020. 21. 4. 867.
- [2] 陈秀,李蕾,张鹤达,等. 钙磷蛋白表达在预测乳腺癌预后中的价值[J]. *中国肿瘤外科杂志*, 2022, 14(3): 238-243. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-4136. 2022. 03. 006. Chen X, Li L, Zhang HD, et al. The value of calpain expression in predicting the prognosis of breast cancer [J]. *Chinese Journal of Cancer Surgery*, 2022, 14 (3): 238-243. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-4136. 2022. 03. 006.
- [3] Elangovan M, Ka J, Pak B, et al. Ubiquitin-conjugating enzyme V variant 1 enables cellular responses toward fibroblast growth factor signaling in endothelium [J]. *FASEB J*, 2022, 36 (1): 2210-2218. DOI: 10. 1096/fj. 202100808RRR.
- [4] Wu Z, Niu T, Xiao W. Uev1A promotes breast cancer cell survival and chemoresistance through the AKT-FOXO1-BIM pathway [J]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19(9): 331-321. DOI: 10. 1186/s12935-019-1050-4.
- [5] 宫梦晓,邓鑫州,沈力,等. 沉默 UBE2N 对人喉鳞癌 hep-2 细胞放射敏感度的影响[J]. *肿瘤防治研究*, 2019, 46(7): 583-587. DOI: 10. 3971/j. issn. 1000-8578. 2019. 18. 1648. Gong MX, Deng XZ, Shen L, et al. Effect of silencing UBE2N on radio-sensitivity of human laryngeal squamous cell carcinoma hep-2 cells [J]. *Cancer Prevention and Treatment Research*, 2019, 46(7): 583-587. DOI: 10. 3971/j. issn. 1000-8578. 2019. 18. 1648.
- [6] Barreyro L, Sampson AM, Ishikawa C, et al. Blocking UBE2N abrogates oncogenic immune signaling in acute myeloid leukemia [J]. *Sci Transl Med*, 2022, 14 (635): 7695-7703. DOI: 10. 1126/scitranslmed. abb7695.
- [7] 吴婷月,陈雯敏,陈策实. 上皮间质转化与乳腺癌干细胞的关系[J]. *贵州医科大学学报*, 2022, 47(11): 1241-1263, 1273. DOI: 10. 19367/j. cnki. 2096-8388. 2022. 11. 001. Wu TY, Chen WM, Chen CS. The relationship between epithelial mesenchymal transformation and breast cancer stem cells [J]. *Journal of Guizhou Medical University*, 2022, 47 (11): 1241-1263, 1273. DOI: 10. 19367/j. cnki. 2096-8388. 2022. 11. 001.
- [8] Cao W, Chen HD, Yu YW, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: A secondary analysis of the global cancer statistics 2020 [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2021, 134 (7): 783-791. DOI: 10. 1097/CM9. 0000000000001474.
- [9] 张烽萍,齐高秀,丁康,等. ZFP36L1 通过激活 STAT3 信号通路抑制上皮间质转化减弱人乳腺癌细胞的增殖、侵袭和迁移[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2022, 38(8): 721-726. DOI: 10. 13423/j. cnki. cjcmi. 009398. Zhang FP, Qi GX, Ding K, et al. ZFP36L1 inhibits epithelial mesen-

- chymal transformation and weakens the proliferation, invasion and migration of human breast cancer cells by activating STAT3 signaling pathway[J]. *Journal of Cell and Molecular Immunology*, 2022, 38 (8): 721-726. DOI:10.13423/j.cnki.cjmi.009398.
- [10] Zhang Y, Li Y, Yang X, et al. Uev1A-Ubc13 catalyzes K63-linked ubiquitination of RHBDF2 to promote TACE maturation [J]. *Cell Signal*, 2018, 42 (8): 155-164. DOI: 10.1016/j.cellsig.2017.10.013.
- [11] Wu Z, Shen S, Zhang Z, et al. Ubiquitin-conjugating enzyme complex Uev1A-Ubc13 promotes breast cancer metastasis through nuclear factor- κ B mediated matrix metalloproteinase-1 gene regulation [J]. *Breast Cancer Res*, 2014, 16(4): 75-84. DOI:10.1186/bcr3692.
- [12] Niu T, Wu Z, Xiao W. Uev1A promotes breast cancer cell migration by up-regulating CT45A expression via the AKT pathway [J]. *BMC Cancer*, 2021, 21 (1): 1012-1019. DOI: 10.1186/s12885-021-08750-3.
- [13] Bai Z, Wei M, Li Z, et al. Drosophila Uev1a is dually required for Ben-dependent DNA-damage response and fly mobility [J]. *Cell Signal*, 2020, 74 (8): 1097-1105. DOI: 10.1016/j.cellsig.2020.109719.
- [14] Wambecke A, Ahmad M, Morice PM, et al. The lncRNA UCA1 modulates the response to chemotherapy of ovarian cancer through direct binding to miR-27a-5p and control of UBE2N levels [J]. *Mol Oncol*, 2021, 15(12): 3659-3678. DOI:10.1002/1878-0261.13045.
- [15] Yan H, Ren S, Lin Q, et al. Inhibition of UBE2N-dependent CDK6 protein degradation by miR-934 promotes human bladder cancer cell growth [J]. *FASEB J*, 2019, 33(11): 12112-12123. DOI: 10.1096/fj.201900499RR.
- [16] Song TT, Xu F, Wang W. Inhibiting ubiquitin conjugating enzyme E2 N by microRNA-590-3p reduced cell growth of cervical carcinoma [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2020, 36 (7): 501-507. DOI: 10.1002/kjm2.12204.
- [17] Chang J, Zhang Y, Ye X, et al. Long non-coding RNA (lncRNA) CASC9/microRNA (miR)-590-3p/sine oculis homeobox 1 (SIX1)/NF- κ B axis promotes proliferation and migration in breast cancer [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 8709-8723. DOI:10.1080/21655979.2021.1977555.
- [18] Wu X, Zhang W, Font-Burgada J, et al. Ubiquitin-conjugating enzyme Ubc13 controls breast cancer metastasis through a TAK1-p38 MAP kinase cascade [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111 (38): 13870-13879. DOI:10.1073/pnas.1414358111.
- [19] Shen T, Cai LD, Liu YH, et al. Ube2v1-mediated ubiquitination and degradation of Sirt1 promotes metastasis of colorectal cancer by epigenetically suppressing autophagy [J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11 (1): 95-103. DOI:10.1186/s13045-018-0638-9.
- [20] Shang M, Weng L, Xu G, et al. TRIM11 suppresses ferritinophagy and gemcitabine sensitivity through UBE2N/TAX1BP1 signaling in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236 (10): 6868-6883. DOI:10.1002/jcp.30346.
- [21] Wu Z, Neufeld H, Torlakovic E, et al. Uev1A-Ubc13 promotes colorectal cancer metastasis through regulating CXCL1 expression via NF- κ B activation [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(22): 15952-15967. DOI: 10.18632/oncotarget.24640.

(收稿日期:2022-12-17)

(上接 394 页)

- [17] 张文莉,王彩丽,冯彩霞,等. 宫颈鳞癌组织中 miR-448、KDM2B 表达水平与术后复发的相关性研究 [J]. *疑难病杂志*, 2022, 21 (4): 350-355. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2022.04.004.
- Zhang WL, Wang CL, Feng CX, et al. Correlation between the expression levels of miR-448 and KDM2B in cervical squamous cell carcinoma and postoperative recurrence [J]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2022, 21 (4): 350-355. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.04.004.
- [18] 赵芳,马德勇,王婷婷,等. 液基薄层细胞 p16 免疫组化检测对宫颈非典型鳞状上皮的分流价值 [J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(12): 1243-1247. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2020.12.014.
- Zhao F, Ma DY, Wang TT, et al. The value of p16 immunocytochemical stain of cervical cell in triaging cervical atypical squamous cells [J]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2020, 19(12): 1243-1247. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.12.014.
- [19] 马德勇,冯慧,王婷婷,等. 细胞 P16 联合液基细胞学检测对子宫颈癌和癌前病变筛查价值探讨 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2020, 36(11): 1116-1119. DOI: 10.19538/j.fk2020110118.
- [20] Wright TC Jr, Behrens CM, Ranger-Moore J, et al. Triaging HPV-positive women with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial [J]. *Gynecologic Oncol*, 2017, 144(1): 51-56. DOI:10.1016/j.ygyno.2016.10.031.
- [21] Wentzensen N, Clarke MA, Bremer R, et al. Clinical evaluation of human papillomavirus screening with p16/Ki-67 dual stain triage in a large organized cervical cancer screening program [J]. *JAMA Intern Med*, 2019, 179 (7): 881-888. DOI: 10.1001/jamainternmed.2019.0306.
- [22] Remila R, Yan W, Feng C, et al. Clinical evaluation of p16 INK4a immunocytology in cervical cancer screening: A population-based cross-sectional study from rural China [J]. *Cancer Cytopathol*, 2021, 129(9): 679-692. DOI:10.1002/cncy.22428.
- [23] Koliopoulos G, Nyaga VN, Santesso N, et al. Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population [J]. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2017, 8(8): CD008587. DOI: 10.1002/14651858.CD008587.pub2.
- [24] Barken SS, Rebolj M, Andersen ES, et al. Frequency of cervical intraepithelial neoplasia treatment in a well-screened population [J]. *Int J Cancer*, 2012, 130(10): 2438-2444. DOI: 10.1002/ijc.26248.

(收稿日期:2022-10-19)