

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.11.011

胸腺瘤组织 Slug、TdT、SOX9 蛋白表达与临床病理特征及预后的关系分析*

王晓敏¹ 陈亚龙² 雷光焰³ 李林¹ 晏俊¹ 王祥¹ 丁彩霞^{1Δ}

(1 西安交通大学医学院附属陕西省肿瘤医院病理科 陕西 西安 710061;

2 联勤保障部队临潼康复疗养中心检验科 陕西 西安 710600;

3 西安交通大学医学院附属陕西省肿瘤医院胸外科 陕西 西安 710061)

摘要目的:分析锌指转录因子(Slug)、末端脱氧核糖核苷酸转移酶(TdT)、Y染色体性别决定区相关高速泳动族框因子9(SOX9)蛋白表达与胸腺瘤患者临床病理特征及预后的关系。**方法:**选择2016年5月至2018年11月在本院接受手术切除的113例胸腺瘤组织及癌旁组织,利用免疫组织化学法测定Slug、TdT、SOX9蛋白阳性表达,分析Slug、TdT、SOX9蛋白表达与胸腺瘤患者临床病理特征、预后的关系。**结果:**胸腺瘤组织Slug、TdT、SOX9蛋白阳性表达率均高于癌旁组织($P<0.05$);胸腺瘤组织Slug、TdT、SOX9蛋白阳性表达在患者年龄、性别、肿瘤直径、是否合并重症肌无力、是否伴有大血管侵犯方面比较,差异无统计学意义($P>0.05$);胸腺瘤组织Slug、TdT、SOX9蛋白阳性表达在Masaoka-Koga分期、WHO分型方面比较,差异有统计学意义($P<0.05$);胸腺瘤组织Slug、TdT、SOX9蛋白阳性表达与Masaoka-Koga分期、WHO分型呈正相关($P<0.05$);113例胸腺瘤患者随访5年总生存率为81.42%(92/113),Slug阳性组5年生存率低于Slug阴性组(70.18% VS 92.86%),TdT阳性组5年生存率低于TdT阴性组(79.790% VS 89.57%),SOX9阳性组5年生存率低于SOX9阴性组(79.35% VS 90.48%)($\chi^2=9.669, 9.515, 17.008, P<0.05$);Cox比例风险回归模型分析发现,Masaoka-Koga分期(III期/IV期)、WHO分型(B2/B3)、Slug蛋白阳性表达、TdT蛋白阳性表达、SOX9蛋白阳性表达是影响胸腺瘤患者预后的独立危险因素(HR:3.518, 2.921, 4.536, 1.402, 2.921, $P<0.05$)。**结论:**胸腺瘤组织Slug、TdT、SOX9呈高表达,三者蛋白表达与患者Masaoka-Koga分期、WHO分型有关,且是影响胸腺瘤患者5年生存率的独立危险因素。

关键词:胸腺瘤; Slug; TdT; SOX9; 临床病理特征; 预后

中图分类号:R734.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2024)11-2062-06

Analysis of the Relationship between Protein Expression of Slug, TdT and SOX9 and Clinicopathological Features and Prognosis in Thymoma Tissues*

WANG Xiao-min¹, CHEN Ya-long², LEI Guang-yan³, LI Lin¹, YAN Jun¹, WANG Xiang¹, DING Cai-xia^{1Δ}

(1 Department of Pathology, Shaanxi Cancer Hospital Affiliated to Medical College of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710061, China; 2 Department of Clinical Laboratory, Joint Logistics Support Force Lintong Rehabilitation and Rehabilitation Center, Xi'an, Shaanxi, 710600, China; 3 Department of Thoracic Surgery, Shaanxi Cancer Hospital Affiliated to Medical College of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710061, China)

ABSTRACT Objective: The relationship between the expression of zinc finger transcription factor (Slug), terminal deoxyribonucleotidyl transferase (TdT), Y chromosome sex determination region related high-speed swimming frame factor 9 (SOX9) protein and clinicopathological features and prognosis of thymoma patients was analyzed. **Methods:** 113 cases of thymoma tissues and adjacent tissues surgically resected in our hospital were selected from May 2016 to November 2018. The positive expression of Slug, TdT and SOX9 protein was determined by immunohistochemistry. The relationship between the expression of Slug, TdT and SOX9 protein and the clinicopathological features and prognosis of thymoma patients was analyzed. **Results:** The positive expression rates of Slug, TdT and SOX9 protein in thymoma tissues were higher than those in adjacent tissues ($P<0.05$). There was no significant difference in the positive expression of Slug, TdT and SOX9 protein in thymoma tissues in terms of age, gender, tumor diameter, whether combined with myasthenia gravis and whether accompanied by macrovascular invasion ($P>0.05$). The positive expression of Slug, TdT and SOX9 protein in thymoma tissues was significantly different in Masaoka-Koga stage and WHO classification ($P<0.05$). The positive expression of Slug, TdT and SOX9 protein in thymoma tissues was positively correlated with Masaoka-Koga stage and WHO classification ($P<0.05$). The 5-year overall survival rate in 113 thymoma patients was 81.42% (92/113), the 5-year survival rate in Slug positive group was lower

* 基金项目:陕西省自然科学基金项目(2018JM7028)

作者简介:王晓敏(1968-),女,本科,副主任技师,研究方向:病理学技术,E-mail: wangxm5612@163.com

Δ 通讯作者:丁彩霞(1980-),女,硕士,副主任医师,研究方向:病理学诊断,E-mail: 304596499@qq.com

(收稿日期:2024-02-08 接受日期:2024-02-28)

than that in Slug negative group (70.18% VS 92.86%), the 5-year survival rate in TdT positive group was lower than that in TdT negative group (79.790% VS 89.57%), the 5-year survival rate in SOX9 positive group was lower than that in SOX9 negative group (79.35% VS 90.48%) ($\chi^2=9.669, 9.515, 17.008, P<0.05$). Cox proportional hazard regression model analysis showed that, Masaoka-Koga stage (stageIII/stageIV), WHO classification (B2/B3), positive expression of Slug protein, positive expression of TdT protein and positive expression of SOX9 protein were independent risk factors affecting the prognosis of thymoma patients (HR: 3.518, 2.921, 4.536, 1.402, 2.921, $P<0.05$). **Conclusion:** The expression of Slug, TdT and SOX9 in thymoma tissues are high, the expression of the three proteins are relate to the Masaoka-Koga stage and WHO classification, and they are independent risk factor affecting the 5-year survival rate of thymoma patients.

Key words: Thymoma; Slug; TdT; SOX9; Clinicopathological features; Prognosis

Chinese Library Classification(CLC): R734.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2024)11-2062-06

前言

胸腺瘤属于一种低度恶性肿瘤,发生率占全部纵膈肿瘤的20%-30%、成人前上纵膈肿瘤的50%左右^[1]。胸腺瘤以局部侵袭为特点,虽病灶为惰性增长,但仍具有潜在恶性^[2]。按照微观结构变化、胸腺瘤上皮细胞形态等将胸腺瘤分为A型、AB型、B1型、B2型等^[3]。由于胸腺瘤发病机制复杂,迄今尚未发现作为胸腺瘤患者预后相关的分子标志物,故积极探寻与肿瘤细胞侵袭、转移及患者预后相关的分子标志物具有重要意义。末端脱氧核糖核苷酸转移酶(TdT)属于DNA聚合酶之一,高表达于胸腺中,对胸腺瘤临床病理诊断有辅助作用^[4-5]。上皮-间充质转化(EMT)是肿瘤转移、侵袭的关键环节,而锌指转录因子(Slug)是EMT过程中重要的调控因子,与E-box结合可降低上皮细胞间黏附力,从而加快肿瘤侵袭、转移^[6]。此外,研究发现,胸腺瘤的发生、发展与经典Wnt/ β -catenin信号通路相关,而Y染色体性别决定区相关高速泳动簇框因子9(SOX9)既是该信号通路的下游靶基因,也是此信号通路的调节因子^[7-8]。国内已有研究证实,SOX9在胃癌^[9]、结直肠癌^[10]中发挥促癌作用,且其表达与肿瘤浸润深度、TNM分期及淋巴结转移相关。但目前临床关于TdT、Slug、SOX9在胸腺瘤组织中表达情况及与病理学特征、预后是否相关的报道较少。本研究就这一问题进行探讨,旨在分析胸腺瘤发病、预后的分子机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2016年5月至2018年11月在本院接受手术切除的113例胸腺瘤组织及癌旁组织(距胸腺瘤组织2cm的胸腺瘤旁组织,不含瘤细胞),男60例,女53例;年龄36-79岁,平均(61.36 \pm 4.25)岁;肿瘤直径: <5 cm 48例,5-10cm 49例, >10 cm 16例;Masaoka-Koga分期^[11]:I期/II期 77例,III期/IV期 36例;WHO分型:A/AB/B1型 66例,B2/B3型 47例;合并重症肌无力 14例,合并大血管侵犯 10例。(1)纳入标准:经头颅MRI、上腹部彩超等影像学检查排除远处转移;经病理诊断为胸腺瘤;Masaoka-Koga分期为I期、II期、III期、IV期;肿瘤为原发性病灶且术前、术中均未发现远处转移;初诊;有足够组织标本供检测;临床资料及随访资料完整。(2)排除标准:术前接受靶向药物治疗、放疗;未于本院治疗,仅为穿刺活检或手术活检;凝血功能障碍;保留标本组织染色不佳;合并全身性感染、血液系统疾病;有酒精、药物依赖史;伴有其他恶性肿瘤;失访。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学法 采集胸腺瘤组织、癌旁组织,多聚甲醛固定,石蜡包埋,切片,烤箱过夜。烘干后的切片常规二甲苯脱蜡2次,5 min/次,乙醇梯度洗脱脱水。用3%过氧化氢孵育10 min,PBS洗涤。将玻片置于含柠檬酸盐溶液的烧杯中,煮沸,抗原修复15 min,自然冷却20 min,蒸馏水浸洗3次,封闭。滴加Slug小鼠单克隆抗体(稀释比例为1:100,上海谷研实业有限公司,货号:FS-10-10212)、TdT小鼠单克隆抗体(稀释比例为1:50,美国GeneTex公司,货号:GTX43336)、SOX9小鼠单克隆抗体(稀释比例为1:250,上海必宝生物科技有限公司,货号:H00006662-M01),4 $^{\circ}$ C过夜,PBS洗涤3次。滴加购自于上海远慕生物科技有限公司生产的HRP标记的羊抗小鼠二抗(货号:JAC-115-035-003),37 $^{\circ}$ C孵育1 h,PBS洗涤3次。DAB显色5 min,苏木素复染2 min,蒸馏水冲洗30 min,1%盐酸酒精分化,0.5%氨水返蓝,封片,于显微镜下观察拍照。

1.2.2 免疫组化评定方法 每个实验结果均由1位试验人员及2位专业人员独立判断评定,评估方法为半定量法^[12],每切片随机选择10个(400 \times)高倍视野,计分标准:(1)阳性染色细胞百分比:0分为 $<10\%$,1分为10%-50%,2分为51%-75%,3分为 $>75\%$;(2)染色强度:0分为样品无着色,1分为浅黄色,2分为棕黄色,3分为棕褐色。若染色强度 \times 阳性染色细胞百分比的结果 ≥ 6 则为阳性表达,若乘积 <6 则为阴性表达。

1.3 随访

通过病房复查、门诊复查、电话回访、微信回访等方式对患者进行为期5年的随访,本次随访截止日期为2023年11月,死亡患者以死亡日期作为随访截止时间,记录胸腺瘤患者在随访期间的生存时间,以月为单位。

1.4 统计学方法

采用SPSS26.0软件进行数据处理,计数资料用百分比表示,采用 χ^2 检验;Slug、TdT、SOX9蛋白表达与临床病理特征的相关性采用Kendall的tau_b检验;采用Cox比例风险回归模型分析预后影响因素,用生存函数Kaplan-meier计算生存率, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 胸腺瘤组织、癌旁组织 Slug、TdT、SOX9 蛋白阳性表达率

胸腺瘤组织 Slug、TdT、SOX9 蛋白阳性表达率均高于癌旁组织($P<0.05$)。见表1。

表 1 胸腺瘤组织、癌旁组织 Slug、TdT、SOX9 蛋白阳性表达率对比[n(%)]

Table 1 Comparison of positive expression rates of Slug, TdT and SOX9 proteins in thymoma tissues and adjacent tissues[n(%)]

Groups	n	Slug	TdT	SOX9
Adjacent tissues	113	18(15.93)	42(37.17)	31(27.43)
Cancer tissues	113	57(50.44)	94(83.19)	92(81.42)
χ^2		30.353	49.927	66.378
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000

2.2 Slug、TdT、SOX9 蛋白表达与胸腺瘤患者临床病理特征的关系

胸腺瘤组织 Slug、TdT、SOX9 蛋白阳性表达在患者年龄、性别、肿瘤直径、是否合并重症肌无力、是否伴有大血管侵犯方面比较,差异无统计学意义($P>0.05$);胸腺瘤组织 Slug、TdT、

SOX9 蛋白阳性表达在 Masaoka-Koga 分期、WHO 分型方面比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。经 Kendall 的 tau_b 检验,胸腺瘤组织 Slug、TdT、SOX9 蛋白阳性表达与 Masaoka-Koga 分期、WHO 分型呈正相关($P<0.05$)。见表 2、表 3。

表 2 Slug、TdT、SOX9 蛋白表达与胸腺瘤患者临床病理特征的关系

Table 2 Relationship between Slug, TdT, SOX9 protein expression and clinicopathological features of thymoma patients

Clinicopathological features	Slug			TdT			SOX9			
	Positive (n=57)	Negative (n=56)	χ^2/P	Positive (n=94)	Negative (n=19)	χ^2/P	Positive (n=92)	Negative (n=21)	χ^2/P	
Age(yeras)	≤ 60	23(40.35)	22(39.29)	0.013/0.908	39(41.49)	6(31.58)	0.648/0.421	36(39.13)	9(42.86)	0.099/0.753
	>60	34(59.65)	34(60.71)		55(58.51)	13(68.42)		56(60.87)	12(57.14)	
Gender	Male	32(56.14)	28(50.00)	0.428/0.513	51(54.26)	9(47.37)	0.301/0.583	50(54.35)	10(47.62)	0.311/0.577
	Female	25(43.86)	28(50.00)		43(45.74)	10(52.63)		42(45.65)	11(52.38)	
Tumor diameter (cm)	<5	22(38.60)	26(46.43)	1.066/0.287	40(42.55)	8(42.11)	0.113/0.910	41(44.57)	7(33.33)	1.281/0.200
	5-10	25(43.86)	24(42.86)		41(43.62)	8(42.11)		40(43.48)	9(42.86)	
	>10	10(17.54)	6(10.71)		13(13.83)	3(15.79)		11(11.96)	5(23.81)	
Masaoka-Ko-gastage	Stage I /StageII	31(54.39)	46(82.14)	10.025/0.002	60(63.83)	17(89.47)	4.788/0.029	58(63.04)	19(90.48)	5.927/0.015
	Stage III/StageIV	26(45.61)	10(17.86)		34(36.17)	2(10.53)		34(36.96)	2(9.52)	
WHO classification	A/AB/B1	25(43.86)	41(73.21)	10.020/0.002	50(53.19)	16(84.21)	6.260/0.012	49(53.26)	17(80.95)	5.397/0.020
	B2/B3/	32(56.14)	15(26.79)		44(46.81)	3(15.79)		43(46.74)	4(19.05)	
Myasthenia gravis	Yes	8(14.04)	6(10.71)	0.287/0.592	12(12.77)	2(10.53)	0.012/0.911	12(13.04)	2(9.52)	0.006/0.940
	No	49(85.96)	50(89.29)		82(87.23)	17(89.47)		80(86.96)	19(90.48)	
Macrovascular invasion	Yes	6(10.53)	4(7.14)	0.091/0.763	9(9.57)	1(5.26)	0.026/0.872	7(7.61)	3(14.29)	0.299/0.585
	No	51(89.47)	52(92.86)		85(90.43)	18(94.74)		85(92.39)	18(85.71)	

2.3 Slug、TdT、SOX9 蛋白表达与胸腺瘤患者预后的关系

113 例胸腺瘤患者中位生存时间为 55.43 个月 (95%CI: 53.158-57.692), 随访 5 年总生存率为 81.42%(92/113)。绘制 Kaplan-Meier 生存曲线发现,Slug 阳性组、阴性组患者中位生存时间分别为 50.56 个月 (95%CI:46.327-54.795)、58.07 个月 (95%CI:55.858-60.284),5 年生存率分别为 70.18%(40/57)、92.86%(52/56),经 LogRank 检验,Slug 阳性组 5 年生存率低于

Slug 阴性组($\chi^2=9.669, P=0.002$),见图 1;TdT 阳性组、阴性组患者中位生存时间分别为 51.21 个月 (95%CI:47.201-55.220)、57.95 个月 (95%CI:55.833-60.059),5 年生存率分别为 79.79% (75/94)、89.57%(17/19),经 LogRank 检验,TdT 阳性组 5 年生存率低于 TdT 阴性组($\chi^2=9.515, P=0.002$),见图 2;SOX9 阳性组、阴性组患者中位生存时间分别为 52.07 个月 (95%CI: 48.20-55.94)、58.84 个月(95%CI:57.191-60.487),5 年生存率分

别为 79.35%(73/92)、90.48%(19/21)，经 LogRank 检验,SOX9 阳性组 5 年生存率低于 SOX9 阴性组($\chi^2=17.008, P=0.000$),见

表 3 相关性分析
Table 3 Correlation analysis

Indexs	Coefficient	Positive expression of Slug	Positive expression of TdT	Positive expression of SOX9
		protein	protein	protein
Masaoka-Koga stage	r	0.789	0.494	0.480
	P	0.000	0.000	0.000
WHO classification	r	0.397	0.479	0.459
	P	0.000	0.000	0.000

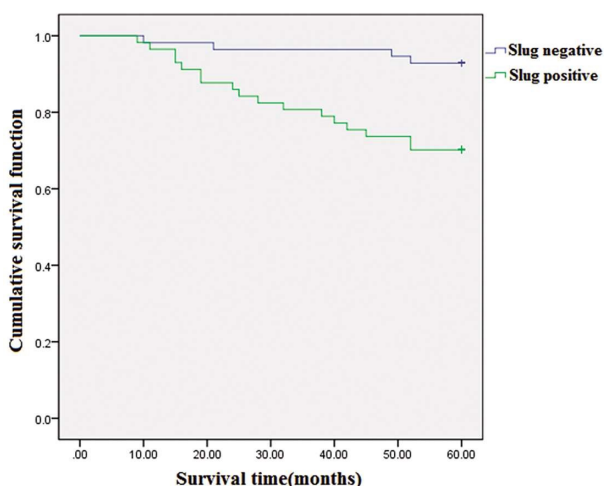


图 1 Slug 蛋白表达阳性、阴性组生存函数图

Fig. 1 Survival function diagram of Slug protein expression positive and negative groups

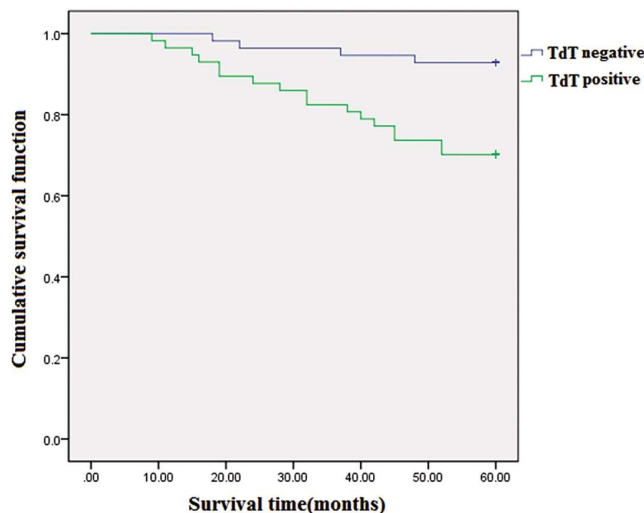


图 2 TdT 蛋白表达阳性、阴性组生存函数图

Fig.2 Survival function diagram of TdT protein expression positive and negative groups

2.4 影响胸腺瘤预后的危险因素分析

将胸腺瘤患者随访 5 年内生存时间作为应变量，单因素 Cox 回归分析发现, Masaoka-Koga 分期、WHO 分型、Slug 蛋白表达、TdT 蛋白表达、SOX9 蛋白表达与胸腺瘤患者的生存期有关($P<0.05$), 将上述变量纳入 Cox 比例风险回归模型, 进一步多因素结果分析发现, Masaoka-Koga 分期 (III 期 /IV 期)、WHO 分型 (B2/B3)、Slug 蛋白阳性表达、TdT 蛋白阳性表达、SOX9 蛋白阳性表达是影响胸腺瘤患者预后的独立危险因素 ($P<0.05$)。见表 4。

3 讨论

胸腺癌的发生、发展阶段复杂, 每个发展阶段均有着细胞信号传导通路异常、癌基因及抑癌基因失衡、细胞周期调节改变等不同的分子生物学改变^[13,14]。尽管现阶段临床治疗胸腺癌的方法越来越科学, 但部分患者治疗后依然存在 5 年生存率低、预后差等问题。因此, 探寻一稳定度高、特异度高的生物标志物以此反映患者病情进展、预测预后, 在临床治疗中具有重要意义。

TdT 属于一种 DNA 聚合酶, 在无 DNA 复制模板下, 可直接催化在 DNA 的 3' 羟基末端添加脱氧核糖核苷酸; 另外, 在抗体基因重排期间, 其可将核糖核苷酸加入至 B 细胞受体及 T 细胞受体 V、D、J 的外显子区^[15,16]。TdT 在未成熟的淋巴细胞中

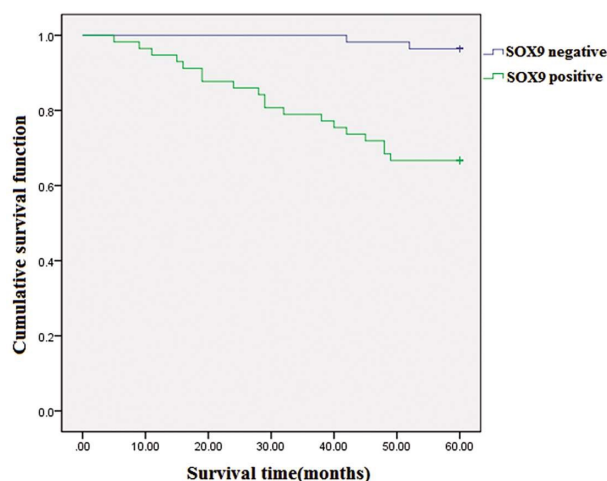


图 3 SOX9 蛋白表达阳性、阴性组生存函数图

Fig.3 Survival function diagram of SOX9 protein expression positive and negative groups

表达阳性, 也可见于淋巴瘤细胞型白血病, 常用于白血病及淋巴瘤的研究中, 在胸腺瘤中表达的报道较少^[17,18]。国内一项研究发现^[9], 胸腺瘤组织中 TdT 蛋白阳性表达率为 85.5%(71/83), 且其表达与患者病理分型相关, 其中 B3 型阳性表达率最低 (64.7%), AB 型、B1 型、B2+B1 型的阳性率表达最高 (均为

表 4 Cox 比例风险回归模型对胸腺瘤患者预后的单因素、多因素分析

Table 4 Cox proportional hazards regression model for univariate and multivariate analysis of the prognosis of thymoma patients

Indexs	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
Age	1.325	0.621-3.685	0.141	-	-	-
Gender	1.352	0.715-5.584	0.102	-	-	-
Tumor diameter	2.384	0.859-7.512	0.069	-	-	-
Masaoka-Koga stage	4.021	1.426-10.254	0.000	3.518	1.345-9.203	0.000
WHO classification	3.625	1.358-9.574	0.000	2.921	1.125-8.612	0.000
Myasthenia gravis	2.021	0.985-10.524	0.215	-	-	-
Macrovascular invasion	2.321	0.625-9.515	0.185	-	-	-
Slug protein expression	5.621	1.685-15.152	0.000	4.536	1.526-13.487	0.007
TdT protein expression	2.057	1.365-3.652	0.000	1.402	1.154-1.704	0.001
SOX9 protein expression	3.521	1.365-10.584	0.000	2.921	1.125-8.612	0.005

100%)。另一项研究指出^[20]，胸腺瘤患者的组织学分型与 Masaoka 分期有关，其中 A 型、AB 型、B1 型多为 Masaoka 分期的 I 期、II 期，B3 型多为 III、IV 期，B2 型多为 II 期、III 期。由此推测，胸腺瘤组织中 TdT 蛋白阳性表达率可能也与患者 Masaoka 分期相关，但目前国内外关于 TdT 表达与胸腺瘤患者肿瘤分期及其可否成为评估胸腺瘤患者预后的指标缺乏报道。本研究中，胸腺瘤组织 TdT 蛋白阳性率为 83.19%(94/113)，与肿瘤分期、分型呈正相关，进一步随访发现，TdT 阳性组 5 年生存率低于 TdT 阴性组，且建立 Cox 比例风险回归模型发现，TdT 阳性表达是影响胸腺瘤预后的独立危险因素(HR: 1.402, 95%CI: 1.154-1.704)，提示临床应高度警惕 TdT 阳性表达的胸腺瘤患者，需采取针对性治疗方案促进 TdT 转阴，以进一步提升患者的 5 年生存率。

研究发现，EMT 在胸腺瘤细胞转移、侵袭等过程中发挥重要作用，癌症干细胞的来源主要在于发生 EMT 的细胞，调控 EMT 信号传导可激活或抑制上皮基因，从而促使细胞获得转移、侵袭等特征^[21,22]。EMT 的主要特点在于细胞黏附分子 E-cadherin 缺失，而 Slug 作为 E-cadherin 启动子的抑制子，可通过抑制 E-cadherin 转录，进而加快肿瘤细胞侵袭、迁移进程^[23]。以往研究表明，Slug 表达与食管癌^[24]、乳腺癌^[25]、结直肠癌^[26]等肿瘤细胞增殖、侵袭及患者不良预后相关，但尚不清楚 Slug 在胸腺瘤组织中表达情况及作用机制。本研究结果发现，胸腺瘤组织 Slug 蛋白阳性表达率高于癌旁组织，胸腺瘤组织 Slug 蛋白阳性表达与 Masaoka-Koga 分期、WHO 分型呈正相关，且 Slug 蛋白阳性表达患者随访死亡率风险是阴性表达患者的 4.536 倍(95%CI: 1.526-13.487)，可见胸腺瘤组织 Slug 蛋白呈高表达，与患者分期、病理分型有关，可能参与胸腺瘤的发生、发展过程中，具体机制尚需进一步阐明。绘制 Kaplan-Meier 生存曲线发现，Slug 阳性组、阴性组患者中位生存时间分别为 50.56 个月、58.07 个月，5 年生存率分别为 70.18%、92.86%，表明 Slug 阳性患者的生存率更低、预后更差。Zhang^[27]等研究报道，胸腺瘤组织中 Slug 阳性表达率高于正常胸腺组织(51% VS

15%)，且远期随访发现，Slug 低表达胸腺瘤患者的 10 年生存率高于 Slug 高表达患者(P=0.002)，与本研究结论相似，进一步表明 Slug 可能是胸腺瘤患者潜在的诊断生物标志物及预后不良的预测指标。

国内外研究证实，Wnt/ β -catenin 信号通路激活与胸腺瘤的发生、发展相关，当 Wnt/ 信号通路被激活时， β -catenin 不被降解，而是进入细胞核并激活其目标基因表达，从而促进肿瘤细胞的扩散、增殖与转移^[28,29]。SOX9 属于高迁移率族蛋白转录因子成员，定位于染色体 17q24，在调节 Wnt/ β -catenin 信号通路中发挥关键作用。由此推测，SOX9 高表达可能与胸腺瘤发病机制相关。Yuan^[30]等利用免疫组化法测定 34 例胸腺瘤及 20 例胸腺癌组织中 SOX9 表达，结果发现，SOX9 在 Hassall 小体上皮细胞与 TET 肿瘤细胞的细胞核中高表达，SOX9 表达与组织学类型显著相关，该研究还发现，在 TETs 中 SOX9 的高表达可表示胸腺瘤的簇状细胞表型与免疫抑制微环境。本研究中，胸腺瘤组织 SOX9 蛋白阳性表达率高于癌旁组织(81.42% VS 27.43%)，且 SOX9 高表达与 Masaoka-Koga 分期、WHO 分型、预后密切相关，支持上述猜测，即 SOX9 高表达可能会促进胸腺瘤发生、增加患者死亡风险，推测原因可能与 SOX9 通过多种途径影响靶基因表达并参与肿瘤进展相关：(1)SOX9 通过激活阻遏蛋白，抑制黏蛋白 2(MUC2)、尾型同源盒转录因子 2(CDX2)转录，从而调控肿瘤细胞分化、增殖等恶性生物学行为；(2)作为转录因子之一，SOX9 可直接激活 B 细胞特异的莫洛尼白血病病毒插入位点 1 基因(BMI1)-细胞周期素依赖性激酶 4 抑制蛋白基因(INK4a)/可变转录因子基因(ARF 信号通路)，从而抑制肿瘤细胞衰老，促进肿瘤细胞增殖；(3)SOX9 可直接作用于 Wnt 通路的多种效应蛋白，调节 Wnt/ β -catenin 信号通路，进而发挥促癌作用^[31]。既往研究发现^[32]，SOX9 表达与化生性乳腺癌患者淋巴结转移、NM 高分期呈正相关，与无进展生存期呈负相关。本研究结果显示，SOX9 阳性组、阴性组患者 5 年生存率分别为 79.35%、90.48%，与上述研究结论相符，再次证实 SOX9 过度表达会影响恶性肿瘤患者的生存时间。

综上所述,胸腺瘤组织 Slug、TdT、SOX9 呈高表达,三者蛋白表达与患者 Masaoka-Koga 分期、WHO 分型有关,且是影响胸腺瘤患者 5 年生存率的独立危险因素。但本研究仍存在一定不足,如样本量较小、样本来源单一、分析影响预后时纳入因素不全面等,未来需扩大样本量、纳入更全面的因素,展开多中心的前瞻性研究;关于 Slug、TdT、SOX9 与胸腺瘤发生、预后影响的机制尚未完全阐明,后续需展开细胞实验或基础实验,以作进一步深入研究。

参考文献(References)

- [1] Koizumi T, Otsuki K, Tanaka Y, et al. National incidence and initial therapy for thymic carcinoma in Japan: based on analysis of hospital-based cancer registry data, 2009-2015 [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2020, 50(4): 434-439.
- [2] 沈洁,张怡帆,何健.基于增强 CT 影像组学特征鉴别诊断 B3 型胸腺瘤与胸腺癌[J]. *临床肺科杂志*, 2022, 27(10): 1539-1543.
- [3] Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al. WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart [M]. 4th. Lyon: IARC Press, 2015: 153-181.
- [4] 王圣中,刘晨熙,肖刚,等.多层螺旋 CT 特征对肿块样胸腺增生和低危胸腺瘤的鉴别诊断 [J]. *中国医学影像学杂志*, 2022, 30(4): 363-367, 372.
- [5] Angirekula M, Chang SY, Jenkins SM, et al. CD117, BAP1, MTAP, and TdT Is a Useful Immunohistochemical Panel to Distinguish Thymoma from Thymic Carcinoma[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(9): 2299.
- [6] 赵小晓,谢永辉,章宏峰.伴淋巴样间质的微结节型胸腺瘤 7 例临床病理分析[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2023, 28(5): 437-441.
- [7] Vodicka P, Krskova L, Odintsov I, et al. Expression of molecules of the Wnt pathway and of E-cadherin in the etiopathogenesis of human thymomas[J]. *Oncol Lett*, 2020, 19(3): 2413-2421.
- [8] 葛多保,王方,胡龔龔,等. SOX3, SOX9 在口腔鳞状细胞癌中的表达及其临床意义[J]. *蚌埠医学院学报*, 2022, 47(5): 631-634.
- [9] 张利利,张超贤,靳玉红,等. SOX9 蛋白在胃癌组织中的表达及与临床病理特征和预后的关系 [J]. *重庆医科大学学报*, 2020, 45(9): 1269-1273.
- [10] 陈江波,徐国帅. SOX9 和 RUNX3 在结直肠腺癌中的表达及其与临床病理因素的关系[J]. *中华普通外科杂志*, 2019, 34(12): 1083-1084.
- [11] 宋佳,张砚满,吴献华. 胸腺上皮性肿瘤体积与 WHO 分型及 Masaoka-Koga 分期的相关性研究 [J]. *交通医学*, 2022, 36(3): 281-283.
- [12] Gibson-Corley KN, Olivier AK, Meyerholz DK. Principles for valid histopathologic scoring in research[J]. *Vet Pathol*, 2013, 50(6): 1007-1015.
- [13] 张博,桂鑫,张凯,等. 51 例 Masaoka III~IV 期胸腺癌临床特征及预后分析[J]. *医学研究杂志*, 2023, 52(3): 97-101, 96.
- [14] Falkson CB, Vella ET, Ellis PM, et al. Surgical, Radiation, and Systemic Treatments of Patients With Thymic Epithelial Tumors: A Systematic Review[J]. *J Thorac Oncol*, 2023, 18(3): 299-312.
- [15] Jeong JH, Pyo JS, Kim NY, et al. Diagnostic Roles of Immunohistochemistry in Thymic Tumors: Differentiation between Thymic Carcinoma and Thymoma[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2020, 10(7): 460.
- [16] Fukumoto K, Fukui T, Kawaguchi K, et al. The tumor doubling time is a useful parameter for predicting the histological type of thymic epithelial tumors[J]. *Surg Today*, 2019, 49(8): 656-660.
- [17] 常子维,谈捷,李秋红,等. BCR-ABL 融合基因与免疫表型在急性 B 淋巴细胞白血病中的相关性研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2023, 23(1): 137-141.
- [18] 后书敏,邵静波. TdT 阴性的淋巴母细胞淋巴瘤 / 急性淋巴细胞白血病临床特点、诊断及预后研究进展[J]. *上海交通大学学报:医学版*, 2023, 43(1): 120-124.
- [19] 李彦玮,韩丽媛,滕飞. CD1a 及 TdT 在胸腺瘤组织中的表达及其相关性分析[J]. *免疫学杂志*, 2019, 39(10): 896-900.
- [20] 郑泽译,徐晓艳,李时荣,等. 63 例胸腺上皮性肿瘤 WHO 组织学分型结果回顾性分析 [J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2021, 41(8): 1735-1747.
- [21] Wu Z, Xue S, Zheng B, et al. Expression and significance of c-kit and epithelial-mesenchymal transition (EMT) molecules in thymic epithelial tumors (TETs)[J]. *J Thorac Dis*, 2019, 11(11): 4602-4612.
- [22] Petrini I, Sollini M, Bartoli F, et al. ED-B-Containing Isoform of Fibronectin in Tumor Microenvironment of Thymomas: A Target for a Theragnostic Approach[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(11): 2592.
- [23] 刘念念,缪旭,施健,等. 丙酮酸激酶 M2 通过活化信号转导和转录激活因子 3 影响皮肤鳞状细胞癌上皮间质转化过程[J]. *临床皮肤科杂志*, 2023, 52(11): 652-660.
- [24] 陈发章,王君,徐海珍,等. 雄黄抑制食管癌细胞增殖,侵袭并诱导细胞铁死亡[J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(1): 108-115.
- [25] Wu HT, Zhong HT, Li GW, et al. Oncogenic functions of the EMT-related transcription factor ZEB1 in breast cancer [J]. *J Transl Med*, 2020, 18(1): 51.
- [26] 潘峰平,陈一鹏,李彦,等. 锌指蛋白 545 对结直肠癌上皮间质转化和迁移侵袭的影响[J]. *浙江医学*, 2020, 42(7): 656-659.
- [27] Zhang T, Chen XU, Chu X, et al. Slug overexpression is associated with poor prognosis in thymoma patients[J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(1): 306-310.
- [28] 刘洪锋,孙波,李志,等. E-cadherin 和 β -catenin 在胸腺瘤侵袭转移过程中的表达及意义[J]. *徐州医科大学学报*, 2018, 38(7): 449-452.
- [29] Suster D, Miller JA, Pihan G, et al. Expression patterns for Bcl-2, EMA, β -catenin, E-cadherin, PAX8, and MIB1 in thymomas[J]. *Mod Pathol*, 2021, 34(10): 1831-1838.
- [30] Yuan X, Huang L, Luo W, et al. Diagnostic and Prognostic Significances of SOX9 in Thymic Epithelial Tumor [J]. *Front Oncol*, 2021, 11(28): 708735.
- [31] 罗丽云,赖灿辉,梁仁佩,等. 晚期胃癌中 miR-524-5p 与 SOX9 表达的相关性及其对化疗疗效和预后的影响 [J]. *国际肿瘤学杂志*, 2022, 49(1): 45-50.
- [32] 陈翔宇,王弦,胡月,等. 化生性乳腺癌中 SOX9, CD133 和 EpCAM 的表达及临床意义 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2022, 38(7): 789-795.