

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.19.017

非特殊型浸润性乳腺癌组织 ZEB2、SCUBE3 的表达及其临床意义研究*

王峰霞¹ 谢铭^{2Δ} 李英¹ 白文辉¹ 万颜婕³

(1 青海红十字医院乳腺科 青海 西宁 816000; 2 青海红十字医院肿瘤外科 青海 西宁 816000;

3 青海红十字医院妇科 青海 西宁 816000)

摘要 目的: 分析非特殊型浸润性乳腺癌 (IBC-NST) 组织中 E 盒结合锌指蛋白 2 (ZEB2)、信号肽-CUB-EGF 样结构域蛋白 3 (SCUBE3) 的表达及临床意义。**方法:** 采集 2018 年 3 月至 2020 年 12 月我院 168 例 IBC-NST 患者的癌组织及癌旁组织, 分析 ZEB2、SCUBE3 蛋白表达与临床病理特征和预后的关系。**结果:** 癌组织 ZEB2、SCUBE3 蛋白阳性表达率均显著高于癌旁组织 ($P < 0.05$)。IBC-NST 肿瘤最大直径 ≥ 2 、TNM 分期 III 期、淋巴结转移、Luminal B 型患者的 ZEB2、SCUBE3 蛋白阳性表达率占比分别高于 IBC-NST 肿瘤最大直径 < 2 、TNM 分期 I-II 期、淋巴结无转移和其它分型的患者 ($P < 0.05$)。ZEB2、SCUBE3 阳性表达患者 3 年无进展生存时间 (PFS) 率分别低于 ZEB2、SCUBE3 阴性表达患者 ($P < 0.05$)。**结论:** IBC-NST 组织中 ZEB2、SCUBE3 蛋白阳性表达率显著增高, 且 ZEB2、SCUBE3 蛋白阳性表达与 IBC-NST 患者肿瘤最大直径、TNM 分期、淋巴结转移、低 3 年 PFS 率密切相关。

关键词: 非特殊型浸润性乳腺癌; ZEB2; SCUBE3; 预后

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2024)19-3670-03

Expression and Clinical Significance of ZEB2 and SCUBE3 in Non-Specific Invasive Breast Cancer Tissues*

WANG Feng-xia¹, XIE Ming^{2Δ}, LI Ying¹, BAI Wen-hui¹, WAN Yan-jie³

(1 Department of Breast, Qinghai Red Cross Hospital, Xining, Qinghai, 816000, China;

2 Department of Surgical Oncology, Qinghai Red Cross Hospital, Xining, Qinghai, 816000, China;

3 Department of Gynecological Oncology, Qinghai Red Cross Hospital, Xining, Qinghai, 816000, China)

ABSTRACT Objective: To analyze the expression and clinical significance of E-box binding zinc finger protein 2 (ZEB2) and signal peptide-CUB-EGF-like domain protein 3 (SCUBE3) in non-specific invasive breast cancer (IBC-NST) tissues. **Methods:** The carcinoma and adjacent tissues were collected from 168 IBC-NST patients in our hospital from March 2018 to December 2020. The relationship between ZEB2 and SCUBE3 protein expression and clinicopathological features and prognosis was analyzed. **Results:** The positive expression rate of ZEB2 and SCUBE3 protein in cancer tissues was significantly higher than that in adjacent tissues ($P < 0.05$). The proportion of positive ZEB2 and SCUBE3 protein expression in IBC-NST tumor ≥ 2 cm, TNM staging stage, lymph node metastasis were higher than those with IBC-NST tumor < 2 cm, TNM stage I-stage, lymph node metastasis, and other types, respectively ($P < 0.05$). The 3-year progression-free survival time (PFS) rate of patients with positive ZEB2 and SCUBE3 expression was lower than those with ZEB2 and SCUBE3 negative expression, respectively ($P < 0.05$). **Conclusion:** The positive expression rates of ZEB2 and SCUBE3 protein in IBC-NST tissues are significantly increased, and the positive expression of ZEB2 and SCUBE3 protein is closely related to the tumor maximum diameter, TNM stage, lymph node metastasis and poor prognosis of IBC-NST patients.

Key words: Non-specific invasive breast cancer; ZEB2; SCUBE3; Clinical significance

Chinese Library Classification (CLC): R737.9 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2024)19-3670-03

前言

非特殊型浸润性乳腺癌 (IBC-NST) 是乳腺浸润性癌中常见类型, 具有间质增生、核分裂象增多等高度异质性, 但临床易与放射状瘢痕、硬化性腺病等混淆^[1]。因此, 临床需要高特异性

及高灵敏度的生物标志物。E 盒结合锌指蛋白 2 (ZEB2) 通过激活细胞上皮-间质转化 (EMT) 可加快癌细胞增殖、侵袭过程, 下调 ZEB2 可抑制乳腺癌细胞增殖活性, 诱导乳腺癌细胞凋亡^[2,3]。信号肽-CUB-EGF 样结构域蛋白 3 (SCUBE3) 属于表皮生长因子超家族, 可通过调控 EMT 过程来促进乳腺癌肿瘤细

* 基金项目: 青海省卫生健康委员会科研项目 (2019-wjzdx-65)

作者简介: 王峰霞 (1989-), 女, 本科, 主治医师, 从事乳腺癌方向的研究, E-mail: 17709787124@163.com

Δ 通讯作者: 谢铭 (1988-), 男, 本科, 副主任医师, 从事肿瘤外科方向的研究, E-mail: 18997287529@163.com

(收稿日期: 2024-05-16 接受日期: 2024-06-12)

胞增殖^[9],但目前关于 ZEB2、SCUBE3 与 IBC-NST 的关系报道较少,本研究分析二者在 IBC-NST 患者中的表达及临床意义,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2018 年 3 月至 2020 年 12 月我院 168 例 IBC-NST 患者,纳入标准:(1)符合 IBC-NST 诊断标准^[9];(2)术前未接受放疗或内分泌治疗;(3)患者资料完整且均知情同意。排除标准:(1)合并其他恶性肿瘤或其他严重脏器病变;(2)入组前 3 个月内接受激素类药物;(3)存在其他遗传性乳腺癌综合征;(4)其他特殊类型乳腺癌;(5)术后失访患者。168 例 IBC-NST 患者年龄 40-75 岁,平均(59.68±4.85)岁;TNM 分期: I-II 期 133 例,III 期 35 例;淋巴结转移 70 例。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学法检测 ZEB2、SCUBE3 蛋白表达 取患者癌组织及癌旁组织(距离癌组织>5 cm),石蜡切片脱蜡,以柠檬酸抗原高压修复 15 min,自然冷却 20 min,滴加过氧化物酶阻断剂,孵育 30 min 后使用聚丁二酸丁二醇酯(PBS)液冲洗。滴加 ZEB2 单克隆抗体、SCUBE3 单克隆抗体,4℃环境下

放置一晚后使用 PBS 液冲洗。除去 PBS 后使用二甲氨基苯甲醌(DAB)显色剂显色,流水冲洗,使用苏木素复染封片,于显微镜下观察拍照。

1.2.2 结果判定 每切片随机选择 5 个(400×)高倍视野,参考半定量法计分,若染色强度×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。

1.2.3 随访 患者出院后第 1-2 年每隔 3 个月随访 1 次,第 3 年每隔 6 个月随访 1 次,共随访 3 年,随访截止日期为 2023 年 12 月或死亡,记录患者无进展生存时间(PFS)。

1.3 统计学方法

采用 SPSS26.0 软件进行数据处理,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,用 t 检验;计数资料用百分比表示,采用 χ^2 检验;Kaplan-meier 生存曲线分析不同 ZEB2、SCUBE3 蛋白表达患者 3 年 PFS 率。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 IBC-NST 癌组织、癌旁组织 ZEB2、SCUBE3 蛋白表达阳性率对比

IBC-NST 癌组织 ZEB2 蛋白阳性表达率和 SCUBE3 蛋白阳性表达率均显著高于癌旁组织($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 IBC-NST 癌组织、癌旁组织 ZEB2、SCUBE3 蛋白表达阳性率对比[n(%)]

Table 1 Comparison of the positive rate of protein expression of ZEB 2 and SCUBE3 in IBC-NST cancer tissues and adjacent tissues [n (%)]

Groups	n	ZEB2		SCUBE3	
		Positive	Negative	Positive	Negative
Adjacent tissues	168	45(26.79)	123(73.21)	33(19.64)	135(80.36)
Cancer tissues	168	92(54.76)	76(45.24)	118(70.24)	50(29.76)
χ^2			27.225		86.902
P			0.000		0.000

2.2 IBC-NST 不同临床病理特征患者的 ZEB2、SCUBE3 蛋白表达对比

IBC-NST 肿瘤最大直径≥2、TNM 分期III期、淋巴结转移、Luminal B 型患者的 ZEB2、SCUBE3 蛋白阳性表达率占比分别高于 IBC-NST 肿瘤最大直径<2、TNM 分期 I-II 期、淋巴结无转移和其它分型的患者($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 IBC-NST 组织 ZEB2、SCUBE3 蛋白表达与预后的关系

随访 3 年发现,168 例 IBC-NST 患者 PFS 率为 68.85%(115/168),中位 PFS 为 30.23 个月。绘制 Kaplan-Meier 生存曲线,经 LogRank 检验,ZEB2 阳性表达患者 3 年 PFS 率为 57.61%(53/92),低于 ZEB2 阴性表达患者的 81.58%(62/76),差异有统计学意义($\chi^2=4.063, P=0.044$);SCUBE3 阳性表达患者 3 年 PFS 率为 59.32%(70/118),低于 SCUBE3 阴性表达患者的 90.00%(45/50),差异有统计学意义($\chi^2=4.845, P=0.028$)。见图 1。

3 讨论

ZEB2 是 EMT 的重要调控因子,ZEB2 表达失调可能通过调控 EMT 参与恶性肿瘤细胞发生、发展过程^[6]。本研究发现,IBC-NST 癌组织 ZEB2 阳性表达高于癌旁组织,肿瘤直径、

TNM 分期、淋巴结转移等病理特征更严重的患者 ZEB2 阳性表达占比更高,且 ZEB2 阳性表达患者 3 年 PFS 率更低。究其原因在于 ZEB2 高表达可提升导管上皮细胞黏附能力,造成锁骨下或腋窝淋巴结组织或基底膜组织浸润,促进淋巴结转移及癌细胞扩散,从而缩短患者生存时间;ZEB2 与 E-cadherin 基因结合,抑制 E-cadherin 转录,诱导肿瘤细胞 EMT,促进乳腺癌细胞转移、增殖,进而导致不良预后^[7,8]。SCUBE3 属于一组锚定在细胞膜表面的糖蛋白,沉默 SCUBE3 表达可通过降低 TGF- β 1 及其下游蛋白与 EMT 标志物表达,从而诱导癌细胞凋亡、抑制癌细胞生长^[9]。本研究发现,IBC-NST 癌组织 SCUBE3 阳性表达高于癌旁组织,肿瘤直径、TNM 分期、淋巴结转移等病理特征更严重的患者 SCUBE3 阳性表达占比更高,且 ZEB2 阳性表达患者 3 年 PFS 率更低。推测原因可能是 SCUBE3 可与钙黏蛋白形成复合物,降低肿瘤血管通透性,促进 EMT 过程及肿瘤血管生成,进而影响患者预后^[10,11];SCUBE3 通过与转化生长因子 β 受体相结合,启动 PI3K/AKT 信号通路,促进恶性细胞迁移、增殖^[12]。

综上所述,IBC-NST 组织 ZEB2、SCUBE3 蛋白阳性表达率高,且 ZEB2、SCUBE3 蛋白阳性表达与 IBC-NST 患者肿瘤最大直径、TNM 分期、淋巴结转移密切相关。

表 2 IBC-NST 不同临床病理特征患者的 ZEB2、SCUBE3 蛋白表达对比[n(%)]

Table 2 Comparison of ZEB2 and SCUBE3 protein expression in patients with different clinicopathological characteristics of IBC-NST [n(%)]

Clinicopathological characteristics	ZEB2			SCUBE3			
	Positive(n=92)	Negative(n=76)	χ^2, P	Positive(n=118)	Negative(n=50)	χ^2, P	
Age(years)	<50	29(31.52)	21(27.63)	0.301, 0.583	38(32.20)	12(24.00)	1.131, 0.288
	≥50	63(68.48)	55(72.37)		80(67.80)	38(76.00)	
Menstrual states	Non-menopause	28(30.43)	21(27.63)	0.158, 0.691	43(36.44)	16(32.00)	0.304, 0.581
	Menopause	64(69.57)	55(72.37)		75(63.56)	34(68.00)	
Tumor maximum diameter(cm)	<2	26(28.26)	39(51.32)	9.326, 0.002	35(29.66)	30(60.00)	13.627, 0.000
	≥2	66(71.74)	37(48.68)		83(70.34)	20(40.00)	
TNM stage	I - II	67(72.83)	66(86.84)	4.957, 0.026	88(74.58)	45(90.00)	5.066, 0.024
	III	25(27.17)	10(13.16)		30(25.42)	5(10.00)	
Lymph node metastasis	No	44(47.83)	54(71.05)	9.24, 0.002	62(52.54)	36(72.00)	5.470, 0.019
	Yes	48(52.17)	22(28.95)		56(47.46)	14(28.00)	
Operative method	Modified radical mastectomy	37(40.22)	35(46.05)	0.579, 0.447	50(42.37)	22(44.00)	0.038, 0.846
	Breast preservation surgery	55(59.78)	41(53.95)		68(57.63)	28(56.00)	
Molecular typing	Luminal A	15(16.30)	37(48.68)	26.389, 0.000	25(21.19)	27(36.00)	18.700, 0.000
	Luminal B	48(52.17)	16(21.05)		52(44.07)	12(24.00)	
	HER-2 overexpression	15(16.30)	16(21.05)		26(22.03)	5(10.00)	
	Triple-negative	14(15.22)	7(9.21)	15(12.71)	6(12.00)		

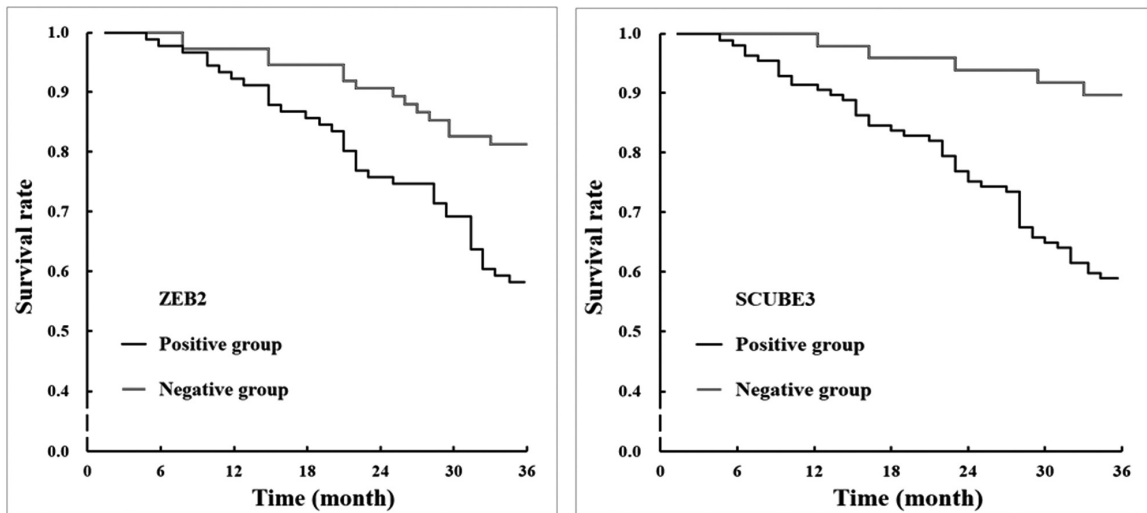


图 1 不同 ZEB2、SCUBE3 表达 IBC-NST 患者生存曲线

Fig.1 Survival curve of IBC-NST patients with different ZEB2 and SCUBE3 expressions

参考文献(References)

[1] 冯冰, 邹秋果, 梁振波, 等. 老年非特殊型浸润性乳腺癌超声征象与分子生物学指标的临床研究 [J]. 中华普外科手术学杂志电子版, 2024, 18(1): 48-51.

[2] Ichikawa MK, Endo K, Itoh Y, et al. Ets family proteins regulate the EMT transcription factors Snail and ZEB in cancer cells [J]. FEBS Open Bio, 2022, 12(7): 1353-1364.

[3] 徐云霞, 钱健, 汪芬华. 下调 ZEB2 对乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 中国妇幼保健, 2021, 36(15): 3589-3592.

[4] 原庆会, 谢刚, 王安群, 等. 信号肽-CUB-EGF 结构域蛋白 3 和特化蛋白 1 表达与乳腺癌患者临床病理特征及预后的关系[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2022, 29(1): 72-77.

[5] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2015 版)[J]. 中国癌症杂志, 2015, 25(9): 692-692.

[6] 陈偲, 李忠辉, 王颖. miR-198 通过靶向 ZEB2 调控 EMT 过程抑制肝癌细胞增殖和迁移的机制研究[J]. 现代检验医学杂志, 2022, 37(4): 7.

病中可发挥良好的疗效^[10]。

本次研究结果显示,耳穴埋豆联合柴术汤可有效控制肝郁脾虚型 T2DM 伴抑郁患者的糖代谢指标。柴术汤的成分包括茯苓、党参、香附、黄芪、白芍、郁金、白术、柴胡、陈皮、枳壳、甘草,其中茯苓养心安神、补心益脾,党参补中益气,黄芪补气固表,郁金、香附均有理气解郁之功,白芍镇静催眠,柴胡疏肝解郁、升阳举陷、和解表里,白术燥湿利水、健脾益气,陈皮、枳壳行气健脾、调中开胃,行气消积,甘草可调和上述中药材,全方有健脾疏肝、镇静安神的作用。耳穴埋豆选取的穴位有肝、脾、神门、三交、脑点等穴位,穴位受到刺激后,机体会调节神经体液从而应对外界刺激,有助于内分泌功能的恢复,达到调节糖代谢指标的效果^[11,12]。

本次研究结果显示,耳穴埋豆联合柴术汤可有效改善患者的炎症因子水平。柴术汤中的成分包括茯苓、党参、黄芪、柴胡、白术均有良好的抗炎作用^[4]。加上耳穴埋豆可减轻对 T2DM 疾病的影响,有助于控制 T2DM 患者的炎症状态。既往研究证实,T2DM 和抑郁存在某些共同的生理学异常,HPA 轴功能紊乱即为其中之一,T2DM 由于长期存在的高血糖和慢性未验证状态,可能导致上行性儿茶酚胺通路的激活,进一步激活 HPA 轴,使 CRH、ACTH、Cor 升高^[13]。本次研究结果显示,耳穴埋豆联合柴术汤可有效改善肝郁脾虚型 T2DM 伴抑郁患者 HPA 轴相关指标,侧面证实耳穴埋豆联合柴术汤可有效控制肝郁脾虚型 T2DM 伴抑郁患者病情,但有关具体的作用机制仍不十分清晰,值得进一步深入探讨。

综上所述,耳穴埋豆联合柴术汤可有效改善肝郁脾虚型 T2DM 伴抑郁患者炎症因子和 HPA 轴相关指标,控制血糖。

参考文献(References)

- [1] Mukherjee N, Chaturvedi SK. Depressive symptoms and disorders in type 2 diabetes mellitus [J]. *Curr Opin Psychiatry*, 2019, 32 (5): 416-421.
- [2] 张家林,原丹丹,裴瑞霞,等.静心更年期片治疗 2 型糖尿病合并抑郁的临床效果及对患者生活质量的影响[J]. *临床医学研究与实践*, 2023, 8(3): 112-114, 121.
- [3] 范青云,江婷,方朝晖,等.七味白术散合补阳还五汤对 2 型糖尿病患者颈动脉内中膜厚度和胰岛素抵抗的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2023, 23(21): 4105-4109.
- [4] 侯敏,崔志梅,朱欧鸽,等.耳穴埋豆联合柴术汤治疗 2 型糖尿病伴抑郁患者的疗效观察及对神经内分泌指标的影响[J]. *世界中西医结合杂志*, 2022, 17(10): 2087-2091.
- [5] 沈芝琴,赵海音.耳穴埋豆在 2 型糖尿病合并睡眠障碍患者中的临床效果及对糖代谢指标的影响研究[J]. *山西医药杂志*, 2022, 51(7): 727-730.
- [6] 中华医学会糖尿病学分会.中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)[J]. *中华糖尿病杂志*, 2021, 13(4): 315-409.
- [7] 中华医学会精神病学分会.中国精神障碍分类与诊断标准第三版(精神障碍分类)[J]. *中华精神科杂志*, 2001, 34(3): 184-188.
- [8] 张伯礼,吴勉华,田金洲,等.中医内科学[M]4 版.北京:中国中医药出版社,2017: 100-107.
- [9] 张杰文,林靖,季兵.逍遥散治疗肝郁脾虚型 2 型糖尿病共病抑郁障碍临床观察[J]. *河北中医*, 2021, 43(12): 1979-1983.
- [10] 杜燕,李辰琛,石丽君,等.耳穴埋豆联合自拟中药方治疗中风后抑郁疗效观察[J]. *辽宁中医杂志*, 2023, 50(4): 164-167.
- [11] 吴彩虹,彭天强.芳香疗法结合耳穴埋豆治疗卒中后抑郁[J]. *浙江临床医学*, 2021, 23(12): 1762-1764.
- [12] 李薇.探讨埋针技术配合耳穴埋豆对糖尿病患者血糖控制的影响[J]. *医学食疗与健康*, 2021, 19(23): 16-17.
- [13] 丁晴晴,张磊,高维国,等.2 型糖尿病患者下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴功能分析[J]. *中国糖尿病杂志*, 2021, 29(12): 911-915.
- [14] Huo Q, He X, Li Z, et al. SCUBE3 serves as an independent poor prognostic factor in breast cancer [J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21 (1): 268.
- [15] Qiu PC, Lu YY, Zhang S, et al. Reduction of SCUBE3 by a new marine-derived asterosaponin leads to arrest of glioma cells in G1/S [J]. *Oncogenesis*, 2020, 9(8): 71.
- [16] 骆傲然. SCUBE3 通过 TGFβ 信号通路促进肝癌细胞增殖的分子机制研究[D]. 重庆医科大学, 2019.
- [17] Yang X, Hu J, Shi C, et al. Activation of TGF-β1 Pathway by SCUBE3 Regulates TWIST1 Expression and Promotes Breast Cancer Progression[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2020, 35(2): 120-128.

(上接第 3672 页)

- [7] Yalim-Camci I, Balcik-Ercin P, Cetin M, et al. ETS1 is coexpressed with ZEB2 and mediates ZEB2-induced epithelial-mesenchymal transition in human tumors[J]. *Mol Carcinog*, 2019, 58(6): 1068-1081.
- [8] Shi D, Li Y, Fan L, et al. Upregulation Of miR-153 Inhibits Triple-Negative Breast Cancer Progression By Targeting ZEB2-Mediated EMT And Contributes To Better Prognosis[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12(13): 9611-9625.
- [9] Yang X, Hu J, Shi C, et al. Activation of TGF-β1 Pathway by SCUBE3 Regulates TWIST1 Expression and Promotes Breast Cancer