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

DOI: 10.13429/j.cnki.cjer.2020.05.005
基金项目：四川省卫生和计划生育委员会科研课题（18PJ494）
通讯作者：徐久东，E-mail：20564130@qq.com
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 SATB-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，占所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疗效不敏感,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,术前未进行放化疗等其他治疗；(4)临床资料完整。排除标准: (1)合并其它严重恶性肿瘤；(2)严重肝肾心功能不全；(3)心脏血管疾病,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单克隆抗体由美国ProteinTech公司；兔抗人SATB-1多克隆抗体购自美国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 采用免疫组化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°C孵育过夜,再加二抗孵育,使用DAB盒显色,苏木素复染,水洗后蓝染,脱水、透明以及封片,最后用PBS代替一抗作为空白对照,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(x400)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χ²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 肿瘤组织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
性表达率分别为62.00%、39.00%，两组FOX1、SATB-1蛋白阳性表达比较有统计学差异（*P* < 0.01）。见表1。FOX1、SATB-1蛋白在三阴性乳腺组织中的表达病理图见图1、图2。

### 2.2 FOX1、SATB-1蛋白阳性表达与三阴性乳腺癌临床特征的关系

FOX1、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FOX1阳性表达率、SATB-1阳性表达率均较高（*P* < 0.01）。见表2。

### 2.3 FOX1、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FOX1和阳性表达的中位生存期分别为52、30个月；SATB-1阳性表达的中位生存期分别为31个月、35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FOX1、SATB-1阳性表达以及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、FOX1、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FOX1、SATB-1蛋白表达情况的比较（例（%）） |
| 组别 | 例数 | FOX1 | SATB-1 |
| 比较 | 阳性 | 阴性 | 阳性 | 阴性 |
| 索组织 | 100 | 40（40.00） | 60（60.00） | 58（58.00） | 42（42.00） |
| 附组织 | 100 | 62（62.00） | 38（38.00） | 39（39.00） | 61（61.00） |
| χ²值 | 9.684 | 7.227 |
| P值 | 0.002 | 0.007 |

| 表2 FOX1、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 | FOX1 | SATB-1 |
| 年龄 | 阳性（n=40） | 阴性（n=40） | 阳性（n=58） | 阴性（n=42） |
| ≥50岁 | 45 | 15 | 30 | 28 | 17 | 0.218 | 0.439 |
| <50岁 | 55 | 25 | 30 | 30 | 25 |
| 月经状态 | 绝经前 | 57 | 25 | 32 | 31 | 26 |
| 绝经后 | 43 | 15 | 28 | 27 | 16 |
| 肿瘤直径 | ≤5 cm | 56 | 20 | 36 | 33 | 23 |
| >5 cm | 44 | 20 | 24 | 25 | 19 |
| 组织学分级 | Ⅰ级 | 60 | 38 | 22 | 21 | 39 |
| Ⅱ-Ⅲ级 | 40 | 2 | 38 | 37 | 3 |
| 分化程度 | 低分化 | 57 | 5 | 32 | 33 | 4 |
| 中+高分化 | 63 | 35 | 28 | 25 | 38 |
| 淋巴结转移 | 无 | 39 | 3 | 36 | 35 | 4 |
| 有 | 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） | χ²值 | P值 |
| 年龄 | 阳性 | 阴性 | 阳性 | 阴性 |
| ≥50岁 | 45 | 42 | 1.010 | 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 | 无 | 39 | 35 | 8.572 | 0.006 |
| 有 | 61 | 51 |
| FOX1 | 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:癌组织中阳性表达。

图1 FOX1蛋白在三阴性乳腺组织中表达病理图（免疫组化染色，×400）

注: 2a:癌组织中阳性表达；2b:癌旁组织中阳性表达。

图2 SATB-1蛋白在三阴性乳腺组织中表达病理图（免疫组化染色，×400）
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 区，编码 406 个氨基酸，能够与非编码启动子上特异性结合激活非编码转录，被发现在多种肿瘤中具有抑癌基因的作用，且在不同肿瘤中表达异质性 [10-12]。研究发现，FOXJ1 在肺癌中表达升高，但在胃癌中表达降低 [13-14]。SATB1 位于 3 号染色体 3p23 区，含有 763 个氨基酸，其在细胞核内呈一种独特的笼状结构，并形成染色质结构，可能与染色质转变以及 DNA 结合点 [15]，同时与多种蛋白相互作用，参与组成蛋白乙酰化、染色体重塑及甲基化等过程，能够调节细胞分化和凋亡，参与多种肿瘤的发展。既往研究中，SATB1 主要是胸腺细胞中表达水平升高 [16-17]。有研究发现，SATB1 在胃癌组织中高表达，并作为判断患者预后的风险指标 [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，SATB1 阳性表达率明显高于癌旁组织，并且 FOXJ1 II-III 级、癌旁组织低于癌旁组织，提示 FOXJ1 阳性表达率和 SATB1 阳性表达率均较高。提示 FOXJ1 表达水平降低，SATB1 表达水平升高，对于反映三阴性乳腺癌患者的严重程度。本研究结果与前期的研究一致，三阴性乳腺癌患者 FOXJ1 阳性和阴性表达的中位生存期分别为 52 个月、30 个月；SATB1 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/SATB1 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，FOXJ1 II-III 级、癌旁组织低于癌旁组织，提示 FOXJ1 阴性表达及 SATB1 阳性表达能够导致三阴性乳腺癌患者生存时间显著缩短，且可作为反映三阴性乳腺癌预后的独立危险因子。

综上所述，FOXJ1 在三阴性乳腺癌组织中表达水平降低，而 SATB1 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


收稿日期: 2019-08-16 修回日期: 2019-09-09 编辑: 王娴