

乳腺癌血清 UBE2C 表达及其意义

魏震^{1,2}, 苕琬梅¹, 王前¹, 张惠卿¹

(1. 承德医学院, 河北承德 067000; 2. 保定市第一中心医院, 河北保定 071000)

摘要: [目的] 探讨乳腺癌患者血清 UBE2C 的表达及临床意义。[方法] 收集保定市第一中心医院乳腺癌患者 42 例、乳腺良性结节 18 例, 同期选择体检健康人 20 例为对照组, 运用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定并比较术前乳腺癌患者、乳腺良性结节、正常健康人血清 UBE2C 蛋白含量。分析乳腺癌患者血清 UBE2C 表达水平与年龄、肿瘤直径、淋巴结转移、ER、PR、病理类型、组织学分级、病理分期 (TNM)、临床分期、分子类型、Her-2 等临床病理特征相关性。ELISA 法测定乳腺癌患者术后 7d 血清 UBE2C 蛋白含量, 并与术前水平比较。[结果] 乳腺癌患者血清 UBE2C 表达的平均浓度 ($841.64 \pm 134.03 \text{ pg/ml}$) 高于乳腺良性结节患者 ($286.49 \pm 32.74 \text{ pg/ml}$) 和健康对照组 ($268.11 \pm 51.02 \text{ pg/ml}$)。乳腺癌患者血清中 UBE2C 表达水平与年龄、肿瘤直径、淋巴结转移、ER、PR 无显著性相关 ($P > 0.05$), 但与病理类型、组织学分级、病理分期 (TNM)、临床分期、分子类型、Her-2 等显著性相关 ($P < 0.05$)。[结论] 乳腺癌患者血清 UBE2C 蛋白水平升高, 与乳腺癌的病程进展联系密切, 有望成为乳腺癌患者不良预后的指标之一。

关键词: 乳腺癌; UBE2C; 血清

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X (2019) 05-0423-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.05.B009

Expression of Serum UBE2C in Breast Cancer and Its Significance

WEI Zhen^{1,2}, CHANG Wan-mei¹, WANG Qian¹, ZHANG Hui-qing¹

(1. Chengde Medical College, Chengde 067000, China;

2. Chengde Medical College, Baoding First Central Hospital, Baoding 071000, China)

Abstract: [Objective] To investigate the expression and clinical significance of serum UBE2C in breast cancer patients. [Methods] Forty two patients with breast cancer and 18 patients with benign breast nodules were enrolled from the Baoding First Central Hospital, and 20 healthy subjects served as the control group. The levels of serum UBE2C in breast cancer patients before and after operation were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the UBE2C levels in patients with benign breast nodules and normal healthy subjects were also measured. The correlation of serum UBE2C levels with age, tumor size, lymph node metastasis, ER, PR, pathological type, histological grade, pathological staging (TNM), clinical stage, the types of molecules, Her-2 and other clinicopathological features was analyzed. [Results] The serum UBE2C level in breast cancer patients before operation ($841.64 \pm 134.03 \text{ pg/ml}$) was significantly higher than that in benign breast nodules ($286.49 \pm 32.74 \text{ pg/ml}$, $P < 0.05$) and healthy controls ($268.11 \pm 51.02 \text{ pg/ml}$, $P < 0.05$), and it was not significantly decreased after surgery ($829.58 \pm 149.24 \text{ pg/ml}$, $P > 0.05$). Serum UBE2C levels in breast cancer were not correlated with age, tumor size, lymph node metastasis, ER and PR, but significantly correlated with pathological type, histological grade, pathological stage (TNM), clinical stage, molecular type and Her-2. [Conclusion] Serum UBE2C level is elevated in breast cancer patients, and it is related closely to progression of breast cancer.

Subject words: breast cancer; UBE2C; serum

泛素偶联酶 UBE2C 主要通过介导一种泛素连接酶 E3—APC/C 特异性泛素化, 从而参与细胞有丝

分裂的调控, 起到调节细胞周期进展的重要作用。研究证实 UBE2C 在包括乳腺癌在内的多种肿瘤细胞组织中高度表达, 并且 UBE2C 过表达能够促进肿瘤增殖和侵袭, 并与肿瘤的预后、药物敏感性相关。我们将通过对比乳腺癌、乳腺良性结节患者和正常健康人群血清中 UBE2C 表达的水平, 分析术前血清

基金项目: 河北省卫计委科研基金 (20171069)

通信作者: 张惠卿, 主任医师, 硕士研究生导师, 博士; 保定市第一中心医院普外科, 河北省保定市长城北大街 320 号 (071000);
E-mail: zhang13931386542@sohu.com

收稿日期: 2018-08-09; **修回日期:** 2018-11-13

UBE2C 与乳腺癌患者临床病理特征、术前与术后血清 UBE2C 表达水平的变化,探讨血清 UBE2C 检测对乳腺癌患者的临床诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集保定市第一中心医院 2017 年 3 月至 2018 年 5 月手术治疗并最终病理确诊的乳腺癌患者 42 例,年龄 27~75 岁,中位年龄 45 岁;乳腺良性结节 18 例,年龄 20~48 岁,中位年龄 34 岁;同期保定市第一中心医院健康体检中心健康体检者 20 例作为对照,年龄 20~75 岁,中位年龄 47 岁。本研究经医院医学伦理委员会批准。

纳入标准:(1)女性患者,均具备完整的病例和随访资料;(2)研究前均未采取任何放、化疗及临床干预措施者;(3)对本次研究知情并签订知情同意书。

排除标准:(1)乳腺癌术后病理分期、分子分型不明确者;(2)合并其他恶性肿瘤或合并其他肝肾功能损伤等疾病者;(3)健康研究对象一年内有手术史或既往有肿瘤病史,采血前 3 个月内有药物服用史或住院治疗病史者;(4)不配合者。

1.2 血清收集与处理

采取所有患者术前 1d、术后第 7d 以及正常健康人的外周静脉血各 3~5ml,采集后均立即用离心机 4000r/min 转速离心 7min 后将血清分离放在 -80℃冰箱备测。使用酶联免疫吸附法测定,仪器为英国 Lnfinit M200 系列酶联免疫检测仪,试剂盒由上海常升生物科技有限公司提供。所有操作均严格按照说明书进行操作。

1.3 主要操作步骤及指标

分别设空白孔、标准孔、待测样品孔。在酶标包被板上标准品准确加样 50μl,待测样品孔中先加样品稀释液 40μl,然后再加待测样品 10μl,轻轻摇匀后用封板膜封板后置于 37℃温水中使抗体与抗原充分反应。温育 30min 后每孔加满洗涤液(30 倍浓缩液蒸馏水稀释 30 倍)重复洗涤 5 次,拍干后加酶标试剂 50μl 再次 37℃温水中温育 30min。重复洗涤 5 次拍干后加入显色剂,37℃避光显色 10min 后每孔加终止液 50μl,终止反应。15min 内 450nm 波长依序测量各孔的吸光度(OD 值)。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 21.0 对数据进行分析。计量资料均采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,经方差齐性检验,符合方差齐性的两组间指标比较采用两独立样本 *t* 检验;多组间比较采用单因素方差分析,进一步采用 LSD 法行两两比较。不符合方差齐性的多组间比较采用 Welch 检验,进一步采用 Games-Howell 法两两比较。手术前后不同时点指标比较采用配对样本 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 UBE2C 蛋白含量比较

乳腺癌组血清 UBE2C 蛋白含量明显高于乳腺良性结节和正常对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);乳腺良性结节组与正常对照组差异无统计学意义($P > 0.05$)(Table 1)。

Table 1 Serum UBE2C level in three groups

Group	N	UBE2C(pg/ml)
Breast cancer group	42	841.64±134.03
Breast nodules group	18	286.49±32.74
Healthy controls	20	268.11±51.02

2.2 血清 UBE2C 表达水平与临床病理特征相关性

不同年龄、不同肿瘤直径、淋巴结是否转移以及 ER、PR 间血清 UBE2C 表达的水平均无统计学差异($P > 0.05$)。浸润性导管癌血清 UBE2C 表达水平明显高于其他类型($P < 0.05$)。Ⅲ级患者血清 UBE2C 表达水平明显高于 I~II 级($P < 0.05$)。Ⅲ~IV 期患者血清 UBE2C 表达水平明显高于 I~II 期($P < 0.05$)。Her-2 阳性患者血清 UBE2C 表达水平明显高于 Her-2 阴性患者($P < 0.05$)。不同分子类型患者血清 UBE2C 表达水平差异有统计学意义($P < 0.05$)。Luminal A 型患者血清 UBE2C 表达水平明显高于 Her-2 (+)、Basal-like、Luminal B 型患者,Her-2(+)患者血清 UBE2C 表达水平明显高于 Basal-like、Luminal B 型患者, Basal-like 患者血清 UBE2C 表达水平明显高于 Luminal B 型患者 $P < 0.05$)(Table 2)。

2.3 手术前后血清 UBE2C 表达水平比较

手术前后患者血清 UBE2C 表达的水平差异无统计学意义(841.64±134.03pg/ml vs 829.58±149.24pg/ml, $t=1.590$, $P=0.119$)。

Table 2 Correlation between serum UBE2C concentration and clinicopathological features

Index	N (%)	UBE2C(pg/ml)	t/F	P
Age(years old)				
<50	16(38.1)	823.63±110.43	0.679	0.501
≥50	26(61.9)	852.73±147.68		
Tumor size(cm)				
<2cm	19(45.2)	830.96±161.98	0.465	0.645
≥2cm	23(54.8)	850.47±108.78		
Pathological type				
Invasive ductal	16(61.9)	904.24±130.11	2.526	0.016
Other types	26(38.1)	803.12±123.50		
Histological grade				
I ~ II	27(64.3)	805.43±127.48	2.494	0.017
III	15(35.7)	906.82±123.89		
TNM stage				
I ~ II	23(54.8)	802.22±114.57	2.193	0.034
III ~ IV	19(45.2)	889.37±143.13		
Clinical stage				
I ~ II	19(45.2)	790.64±130.60	2.363	0.023
III ~ IV	23(54.8)	883.78±124.19		
Types of molecules				
Luminal A	8(19.0)	991.99±99.37	14.593	<0.001
Her-2(+)	11(26.2)	896.94±104.19		
Basal-like	10(23.8)	808.75±100.88		
Luminal B	13(31.0)	727.63±77.99		
Lymph metastasis				
No	24(57.1)	848.97±160.34	0.405	0.687
Yes	18(42.9)	831.86±91.47		
ER				
Negative	22(52.4)	835.86±146.89	0.290	0.774
Positive	20(47.6)	847.99±121.80		
PR				
Negative	27(64.3)	837.93±132.44	0.238	0.813
Positive	15(35.7)	848.32±141.28		
Her-2				
Negative	17(40.5)	784.51±133.07	2.407	0.021
Positive	25(59.5)	880.49±122.48		

3 讨 论

泛素偶联酶 (UBE2C) 又名泛素结合酶 10 (UBH10),它是 E2 基因家族中第 10 个被识别的泛素偶联酶成员,其基因位于染色体 20q13.12,是泛素结合酶复合体的重要组成部分,作为泛素结合酶家族(E2)的重要成员,其在泛素蛋白酶途径(UPS)中起着关键作用。UPS 通路的紊乱会导致一些癌基因和肿瘤抑制基因编码的蛋白的异常降解,进而导致

这些蛋白在体内的异常积累。因此,泛素蛋白酶途径系统与癌症的发生和发展密切相关^[1]。

2003 年 Okamoto 等^[2]用 RT-PCR 法检测 25 种人类正常组织、24 种肿瘤细胞株和肿瘤细胞中 RNA 的表达情况,结果显示 UBE2C 蛋白在多数肿瘤细胞中出现高表达,在正常组织中均为低表达或者不表达。随后 Chen 等报道泛素蛋白酶途径可能与乳腺癌有关^[3]。目前已经报道 UBE2C 在胃癌、结直肠癌、胰腺癌、宫颈癌、膀胱癌、食管鳞状细胞癌、肺癌、乳腺癌等多种癌症组织中过表达,尤其是恶性程度高、分化程度低、转移倾向高的癌症,往往表现为 UBE2C 高表达、患者低生存率^[4,5]。多项研究证实了 UBE2C 在乳腺癌组织中的过表达,并且数据证实其可以作为乳腺癌患者独立的预后指标^[6]。

本实验通过 ELISA 法检测乳腺癌患者外周血清中 UBE2C 蛋白的浓度,研究结果表明,UBE2C 在正常健康人群、乳腺良性结节患者外周血清中浓度较低,在乳腺癌患者外周血清中浓度较高($P<0.05$)。Parris 等^[7]证实浸润性乳腺癌组织中 UBE2C 表达高于正常乳腺组织,并表示 UBE2C 的预后价值在高危早期乳腺癌和淋巴结阳性乳腺癌样本中具有重要意义。Wagner 等^[8]也指出乳腺癌组织中的 UBE2C 表达量要比正常组织高 19 倍,随后国内 Wang 等也证实 UBE2C 表达在正常乳腺组织和乳腺癌组织中存在明显差异^[9]。本实验在血清中研究结果与之前的在组织中的相关报道一致^[10]。这可能说明生理状态下 UBE2C 常处于低表达水平,UBE2C 水平升高可对肿瘤细胞的增殖、侵袭及减少细胞凋亡起到促进作用。

本实验中分析显示术前 1d 乳腺癌患者外周血清 UBE2C 蛋白浓度与肿瘤直径大小、淋巴结转移情况并无相关性($P>0.05$),与患者年龄、ER、PR 无显著性相关($P>0.05$),但与病理类型、组织学分级、病理分期(TNM)、临床分期、分子类型、Her-2 显著性相关($P<0.05$)。UBE2C 可作为判断乳腺癌的潜在标志物^[11],有望成为乳腺癌靶向治疗中新的靶点等研究提供一些依据。

通过检测术前 1d,术后 7d 乳腺癌患者外周血清 UBE2C 蛋白浓度,42 例乳腺癌患者术前 1d 外周血清 UBE2C 蛋白的平均浓度为 (841.64±134.03)pg/ml,术后 7d 外周血清 UBE2C 蛋白的平均浓度为

(829.58 ± 149.24) pg/ml ($P > 0.05$), 可能术后 7d 机体还处于应激状态, 机体损伤可能对血清中 UBE2C 蛋白浓度有一定的影响, 另外由于时间的局限性, 样本量较少可能也有一定影响。Berlingier 等^[12]认为抑制乳腺癌细胞系中 Her-2 表达可诱导 UBE2C 水平降低, 在通过 RNA 干扰阻断 UBE2C 蛋白质后, 可实现对乳腺癌细胞生长抑制, 表明抑制 UBE2C 可能是治疗侵袭性乳腺癌的治疗前景。

综上所述, 乳腺癌患者外周血清中 UBE2C 蛋白水平提高, 与病理类型、组织学分级、病理分期 (TNM)、临床分期、分子类型、Her-2 等相关。UBE2C 与乳腺癌的病程进展联系密切, 有望成为乳腺癌患者术前检查、不良预后的可靠指标之一。外周血采取方便、快捷、成本低, 并且还可以定量监测, 因此动态监测乳腺癌患者血清中 UBE2C 蛋白的浓度还可能作为患者复发或者药物敏感性的指标之一。

参考文献:

- [1] Chanlu X, Chris P, Mu Y, et al. Ubiquitin-conjugating enzyme E2C: a potential cancer biomarker [J]. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2014, 47(1): 113–117.
- [2] Okamoto Y, Ozaki T, Kou M, et al. UBCH10 is the cancer-related E2 ubiquitin-conjugating enzyme [J]. *Cancer Research*, 2003, 63(14): 4167–4173.
- [3] Chen L, Madura K. Increased proteasome activity, ubiquitin-conjugating enzymes, and eEF1A translation factor detected in breast cancer tissue [J]. *Cancer Research*, 2005, 65(13): 5599–5606.
- [4] Zhong JL, Huang CZ. Ubiquitin proteasome system research in gastrointestinal cancer [J]. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 2016, 8(2): 198–206.
- [5] Cacciola NA, Calabrese C, Malapelle U, et al. UBCH10 expression can predict prognosis and sensitivity to the antineoplastic treatment for colorectal cancer patients [J]. *Molecular Carcinogenesis*, 2016, 55(5): 793–807.
- [6] Wang C, Pan YH, Shan M, et al. Knockdown of UBCH10 enhances the chemosensitivity of dual drug resistant breast cancer cells to epirubicin and docetaxel [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(3): 4698–4712.
- [7] Parris TZ, Kovács A, Aziz L, et al. Additive effect of the AZGP1, PIP, S100A8 and UBE2C molecular biomarkers improves outcome prediction in breast carcinoma [J]. *International Journal of Cancer*, 2014, 134(7): 1617–1629.
- [8] Wagner KW, Sapinoso LM, El-Rifai W, et al. Overexpression, genomic amplification and therapeutic potential of inhibiting the UBCH10 ubiquitin conjugase in human carcinomas of diverse anatomic origin [J]. *Oncogene*, 2004, 23(39): 6621–6629.
- [9] Wang YP, Yin ZQ, Chen XH, et al. Expression of UBCH10 in breast cancer tissue-chips and its clinical significance [J]. *Journal of Surgery Concepts & Practice*, 2008, 13(2): 149–152. [王银平, 殷志强, 陈雪华, 等. UbcH10 在乳腺癌中的表达及意义 [J]. *外科理论与实践*, 2008, 13(2): 149–152.]
- [10] Qin T, Li M. Roles of UBE2C in breast cancer and its clinical significance [J]. *Journal of International Oncology*, 2015, 42(10): 766–768. [秦涛, 李曼. 泛素耦联酶 2C 在乳腺癌中的作用及意义 [J]. *国际肿瘤学杂志*, 2015, 42(10): 766–768.]
- [11] Chou CP, Huang NC, Jhuang SJ, et al. Ubiquitin-conjugating enzyme UBE2C is highly expressed in breast microcalcification lesions [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e93934.
- [12] Berlingieri MT, Pallante P, Sboner A, et al. UBCH10 is overexpressed in malignant breast carcinomas [J]. *European Journal of Cancer*, 2007, 43(18): 2729–2735.