

网络出版时间: 2020-9-4 13:56 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20200903.1447.011.html>

AP1S1 基因在乳腺癌中的表达与临床意义

刘宇^{1,2}, 单本杰^{1*}, 沈国栋^{2,3}, 沈夏波¹, 胡世莲^{2,3}, 潘跃银¹

摘要 目的 探究衔接因子相关蛋白复合体 1, $\sigma 1$ 亚基 (AP1S1) 基因在乳腺癌中的表达与临床意义。方法 采用 GEPIA 和 UALCAN 在线数据库中公开的乳腺癌患者手术组织与癌旁组织(正常对照)中 AP1S1 表达水平的数据,分析 AP1S1 表达水平与乳腺癌患者临床预后之间的关系。收集在甲乳外科行乳腺根治术或改良根治术并且其临床资料完整的蜡块标本 110 例,采用免疫组化方法检测 AP1S1 在乳腺癌组织中的表达。体外实验采用平板克隆、CCK-8 与细胞划痕实验分析 AP1S1 的表达对乳腺癌细胞增殖、转移的影响。结果 通过 GEPIA 与 UALCAN 数据分析显示乳腺癌组 AP1S1 表达水平高于正常对照组 ($P < 0.01$), AP1S1 的表达水平与总体生存期 (OS) 和无病生存期 (DFS) 存在关联 ($P < 0.05$), 并且与乳腺癌患者组织肿瘤分期相关 ($P < 0.05$), 与年龄、肿瘤分型及淋巴结转移等无相关性。临床病例分析验证了 AP1S1 表达与乳腺癌肿瘤大小及 AJCC 分期密切相关 ($P < 0.05$), 与年龄、淋巴结转移、雌激素受体 (ER) 状态、孕激素受体 (PR) 状态、人表皮生长因子受体-2 (HER2) 状态无相关性 ($P > 0.05$)。细胞功能实验结果显示 AP1S1 基因表达会促进乳腺癌细胞的增殖、克隆形成及迁移能力。结论 AP1S1 基因在乳腺癌组织中高表达,其表达水平与乳腺癌患者的预后相关;而且 AP1S1 基因表达能够促进乳腺癌细胞增殖、克隆形成与迁移能力。

关键词 乳腺癌; AP1S1; 肿瘤分期; 临床预后

中图分类号 R 737.9

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)10-1535-07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.10.011

乳腺癌是全球女性最常见的恶性肿瘤之一,也是导致肿瘤死亡的主要原因。近年来的技术进步使得乳腺癌患者的生存期延长^[1]。然而乳腺癌具有

高度遗传异质性特征,某些类型的乳腺癌细胞具有高度侵袭转移性^[2],且容易复发,造成患者术后缓解若干年仍可死于远处转移。因此,如何早期预测患者预后仍然是急需解决的难题。

衔接因子相关蛋白复合体 1, $\sigma 1$ 亚基 (AP-1 complex subunit sigma-1A, AP1S1) 是属于接头蛋白复合体 1 (adaptor protein complex 1, AP-1) 受体分子上的一种连接蛋白,在高尔基体中参与蛋白质分选^[3]。AP1S1 在皮肤和脊髓发育中的关键作用,目前已知与 AP1S1 相关的疾病包括智力障碍、肠病、耳聋、周围神经病、角化病和小矮星综合征等疾病^[4]。AP1S1 在肿瘤领域研究较少,尤其与乳腺癌发生发展是否有关还未见报道,该研究旨在探讨 AP1S1 基因表达与乳腺癌患者预后的相关性。

1 材料与方法

1.1 临床样本 按照安徽医科大学附属省立医院医学研究伦理委员会批准方案,收集 2005~2016 年在本院甲乳外科行乳腺癌根治术或改良根治术并且病理诊断明确的蜡块标本组织 110 例。所有病例都是经安徽医科大学附属省立医院病理科专业医师诊断,临床分期是根据美国癌症联合委员会 (AJCC) 癌症分期手册第 7 分类标准。

1.2 细胞株与试剂 人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 与 SKBR3 购自中国医学科学院肿瘤医院。胎牛血清 (FBS) 购自美国 Clark 公司; RPMI1640 培养基购自美国 Corning 公司; 胰酶消化液、TRIzol 试剂购自上海生工生物技术有限公司; 抗 AP1S1 抗体购自上海 Invitrogen 公司; 总 RNA 抽提试剂盒购自德国 Analytik Jena 公司; siRNA、逆转录反应试剂盒及荧光定量 PCR (qPCR) 试剂盒购自上海吉玛生物科技有限公司; CCK-8 试剂盒购自日本同仁公司。

1.3 方法

1.3.1 生物信息学分析 利用在线数据处理软件 GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn/>)^[5] 与 UALCAN (<http://ualcan.path.uab.edu/>)^[6] 分析美国 TCGA (the cancer genome atlas) 数据库中 AP1S1 在乳腺癌组与正常对照组的表达水平,并且通过 Kaplan-

2020-06-21 接收

基金项目: 中央引导地方科技发展专项 (编号: 2019b12030026、2019b11030012); 安徽省重点研究与开发计划项目 (编号: 1704a0802148)

作者单位: 安徽医科大学附属省立医院¹ 肿瘤内科、³ 老年医学科, 合肥 230001

² 肿瘤免疫与营养治疗安徽省重点实验室, 合肥 230001

作者简介: 刘宇,男,硕士研究生;

潘跃银,男,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: yu-eyinpan1965@163.com

* 对本文具有同等贡献

Meier 生存分析、Log-Rank 检验 AP1S1 表达水平与患者总体生存期(overall survival, OS)和无病生存期(disease free survival, DFS)的相关性。

1.3.2 细胞培养 MDA-MB-231 和 SKBR3 乳腺癌细胞株培养于含 10% FBS 的 RPMI1640 培养基,置于 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度条件下培养。

1.3.3 质粒转染 转染前 24 h,接种适当数量的细胞至细胞培养板中,每孔中加入不含抗生素的培养基,使转染时的细胞密度能够达到 30% ~ 50%。按产品说明书配置 siRNA-lipo2000 混合液,将 siRNA-lipo2000 混合液加入含有细胞的 400 μ l 培养基的培养孔中,轻轻混匀;培养 4 ~ 6 h 后,将孔中含 siRNA-lipo2000 混合液的培养基移去,更换新鲜培养基;将培养板置于 37 °C 的 CO₂ 培养箱中培养 24 ~ 96 h;效果检测:转染完成后 24 ~ 72 h 均可进行 siRNA 沉默效果检测,最佳检测时间与细胞类型、转染试剂、检测目的等相关。RNA 水平的检测:mRNA 是检测 siRNA 沉默效率的最佳指标,siRNA 转染后 24 ~ 72 h 即可检测到靶基因 mRNA 表达降低,检测方法宜采用 qPCR 检测方法。

1.3.4 免疫组化 将石蜡包埋的病例标本连续切片后按免疫组化流程常规操作,使用抗 AP1S1 抗体(稀释比例 1 : 1 000)在 4 °C 孵育过夜;洗涤后使用适当的 HRP 标记二抗孵育 1 h,使用 DAB 溶液着色,最后用苏木精复染。组织染色强度采用 0、1、2、3 计数,分别代表不存在、弱、中、强;分布评分采用阳性染色百分比 < 5% 得分为 0, 5% ~ 25% 得分为 1, 25% ~ < 50% 得分为 2, $\geq$ 50% 得分为 3;将强度和分布得分的总和用于确定表达水平,分数 1 或 0 表示低表达,分数 $\geq$ 2 表示高表达。

1.3.5 荧光定量 PCR 采用 TRIzol 提取组织和细胞中的总 RNA,将 RNA 反转成 cDNA,然后 PCR 扩增,扩增的参数设置如下:95 °C、8 min 预变性;95 °C、10 s, 65 °C、18 s, 72 °C、16 s,共 40 个循环,U6 作为内参。引物如下:AP1S1 (F: 5'-GGAGCTGATCCACCGATACG-3', R: 5'-CCTCTTGCAGTAGGTCAGC-3')、U6 (F: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', R: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3')。

1.3.6 Western blot 实验 配胶和上样电泳:根据配方配制分离胶,待分离胶凝倒掉 ddH₂O 后,用滤纸条吸干水分。样品上样:蛋白样品临上样前高速离心,上样时取上清液。80 V 电压跑浓缩胶,120 V 跑分离胶。转膜:准备滤纸 10 张和 PVDF 膜 1 张;配 transfer buffer (5 ml 20 $\times$ transfer buffer, 20 ml 甲

醇,加水至 100 ml);先加入甲醇,放入 PVDF 膜,浸泡 30 s 后转移到转膜液中待用。然后将 PVDF 膜和滤纸在 transfer buffer 中浸透。电泳结束后,在滤纸上再倒少量 transfer buffer,然后膜在下、胶在上,放置在滤纸上。在胶上倒少量 transfer buffer,设置 12 V、48 min 开始转膜。封闭:PVDF 膜放入封闭液,4 °C 封闭过夜。一抗孵育:用 PBST 稀释一抗,待封闭完成后,用 PBST 漂洗 2 次。孵育抗体:在培养板的板盖上铺封口膜,将抗体滴加在封口膜的一端,镊子取出 PVDF 膜,PVDF 膜一端接触抗体后,再向膜上加抗体液,水平置于 4 °C 冰箱中,孵育过夜。二抗孵育:按 1 : 2 000 的比例稀释二抗。摇床上 PBST 洗膜 3 次,每次 10 min。用相同的方法孵育二抗。显影:Thermo 公司 Supersignal 试剂 A、B 等体积混匀在试管中,滴在 PVDF 膜上,GE 公司 Las 4000mini 显影拍照。

1.3.7 CCK-8 实验 96 孔板中每孔接种 2×10^3 个 SKBR3 和 MDA-MB-231 细胞,100 μ l 培养基培养过夜,然后使用 AP1S1 特异 siRNA 与对照分别转染细胞,48 h 后每孔加入 10 μ l CCK-8 溶液,孵育 2 h 后放入酶标仪中检测 450 nm 吸光度,计算细胞相对生长率 = 实验组 OD 值 / 对照组 OD 值 $\times$ 100%。

1.3.8 平板克隆实验 将转染 AP1S1 特异 siRNA 与对照 siRNA 的 MDA-MB-231 细胞株,消化细胞计数后分别以每皿种植 100 个细胞的密度培养 2 ~ 3 周,当培养皿中出现肉眼可见的克隆时终止培养,洗涤后加 4% 多聚甲醛固定 15 min,加适量吉姆萨染液 10 ~ 30 min,然后用流水缓慢洗去染色液,拍照并计数细胞克隆。

1.3.9 细胞划痕实验 将转染 AP1S1 特异 siRNA 与对照 siRNA 的 MDA-MB-231 细胞株分别接种到 6 孔板中,待细胞贴壁生长至融合度约为 80% 时,用 200 μ l 无菌枪头沿孔中轴线轻轻划痕,然后用 PBS 洗涤细胞 2 次以除去漂浮细胞,加入新鲜培养基后放入细胞培养箱培养;分别选择 0、20 h 时间点拍照,观察划痕愈合情况并测量细胞迁移距离。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件进行分析,AP1S1 表达与乳腺癌病例参数的关系采用卡方检验。荧光定量 PCR 与细胞划痕结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组之间比较采用独立样本 *t* 检验。每项实验至少重复 3 次, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AP1S1 在乳腺癌组织中表达上调和预后的相

关性 在 GEPIA 网页上在线分析 TCGA 数据库中 1 085 例乳腺癌组和 291 例正常对照组 AP1S1 基因的表达水平 结果显示 AP1S1 在乳腺癌组的表达水平高于正常对照组 ($P < 0.01$) ,见图 1A。随后利用 UCLCAN 软件分析 1 097 例乳腺癌组和 114 例正常对照组中 AP1S1 的表达水平 结果证实了乳腺癌组中 AP1S1 表达水平高于正常对照组 ($P < 0.05$) ,见图 1B。根据 AP1S1 表达高低分析 TCGA 数据库中乳腺癌患者的 OS 和 DFS ,结果表明 AP1S1 高表达患者的 OS 与 DFS 均比低表达患者缩短 (P 值分别为 0.001 3、0.008 3) (图 1C、1D)。

2.2 AP1S1 的表达与病例参数的相关性 在 UALCAN 公开数据库中检索 AP1S1 表达与乳腺癌患者的病理亚型、年龄、肿瘤分期或者淋巴结转移之间的相关性 结果提示 AP1S1 表达水平与肿瘤分期相关 随着肿瘤分期升高 ,AP1S1 的表达水平也越高 ($P < 0.05$) ,但与病理亚型、年龄、淋巴结转移状态无相关性 ($P > 0.05$) ,见图 2。

2.3 临床标本检测 AP1S1 的表达水平纳入 110 例乳腺癌组织标本进行免疫组化检测 结果显示有

53 例 AP1S1 高表达 57 例 AP1S1 低表达(图 3); 进一步把 AP1S1 表达与病例参数联系起来统计分析 ,发现 AP1S1 表达水平与肿瘤大小及 AJCC 分级相关 ($P < 0.05$) ,而与年龄及淋巴结转移状态、雌激素受体 (ER) 状态、孕激素受体 (PR) 状态、人表皮生长因子受体-2 (HER2) 状态无相关性 ($P > 0.05$) ,见表 1。

2.4 AP1S1 表达下调会抑制乳腺癌细胞的增殖与转移 使用 2 种 AP1S1 siRNA 与对照 siRNA 分别转染 MDA-MB-231 和 SKBR3 细胞株。采用 qPCR 方法验证 siRNA 转染效果 结果显示: 在 MDA-MB-231 细胞系中 AP1S1 平均相对表达量为 ($0.826 7 \pm 0.035 1$) ,siRNA1 组平均相对表达量为 ($0.213 3 \pm 0.040 4$) ,差异有统计学意义 ($t = 19.84$, $P < 0.000 1$) ; siRNA2 组中平均相对表达量为 ($0.320 0 \pm 0.030 0$) ,差异有统计学意义 ($t = 19.00$, $P < 0.000 1$) 。在 SKBR3 细胞系中 AP1S1 平均相对表达量为 ($0.7567 \pm 0.035 1$) ,siRNA1 组中 AP1S1 平均相对表达量为 ($0.233 3 \pm 0.040 4$) ,差异有统计学意义 ($t = 16.93$, $P < 0.000 1$) ; siRNA2 组 AP1S1 平均相对表达量为 ($0.430 0 \pm 0.040 0$) ,差异有统计学意

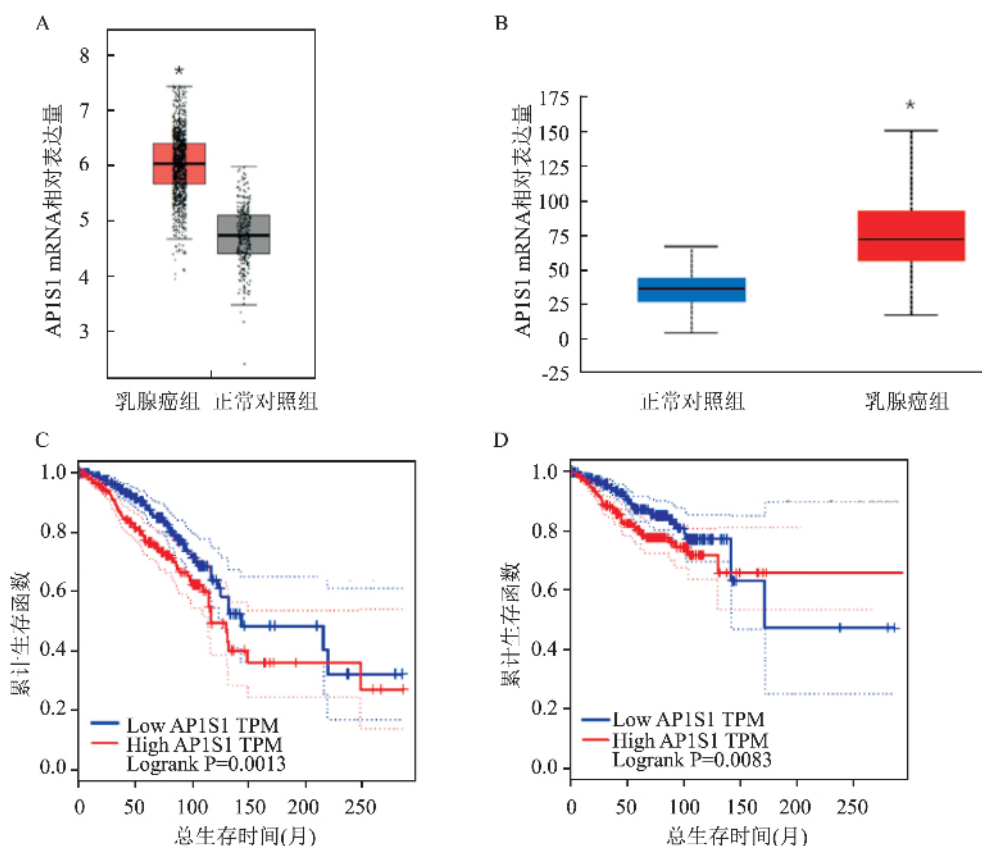


图 1 公开数据分析显示 AP1S1 在乳腺癌组织中表达升高

A: GEPIA 数据库预测结果; B: UALCAN 数据库预测结果; 与正常对照组比较: * $P < 0.05$; C: GEPIA 数据分析 AP1S1 表达高低与患者 OS 的相关性; D: GEPIA 数据分析 AP1S1 表达高低与患者 DFS 的相关性

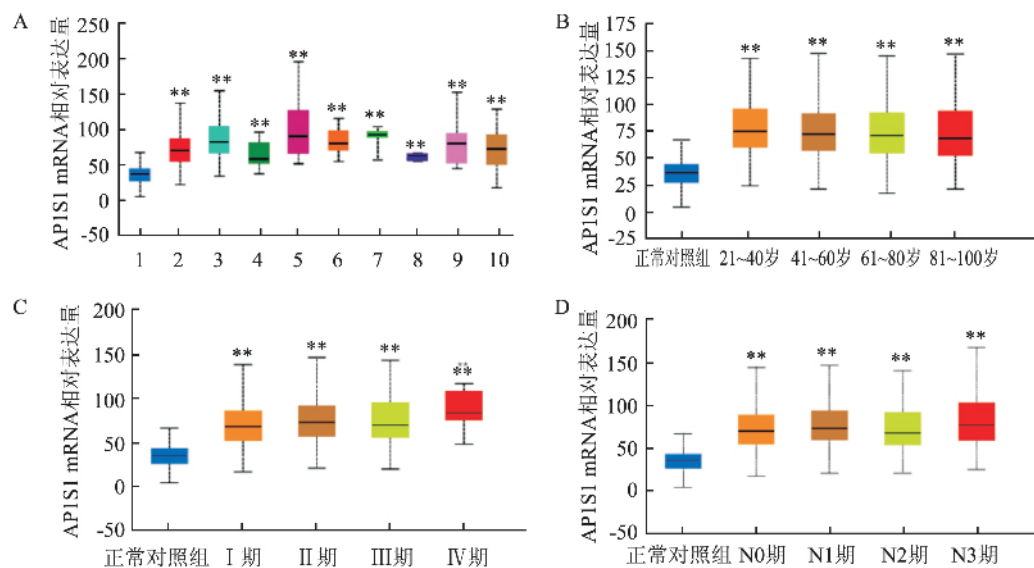


图2 乳腺癌临床特征与 AP1S1 表达水平的关系

A: 乳腺癌病理分型与 AP1S1 表达的关系 1: 正常对照组; 2: 激素受体阳性组; 3: HER2 过表达组; 4: 三阴性 - 基底样亚型 1 组; 5: 三阴性 - 基底样亚型 2 组; 6: 三阴性 - 免疫调节亚型组; 7: 三阴性 - 管腔雄激素受体亚型组; 8: 三阴性 - 间充质干细胞样亚型组; 9: 三阴性 - 间充质亚型组; 10: 三阴性 - 不确定亚型组; B: 患者年龄与 AP1S1 表达的关系; C: 肿瘤分期与 AP1S1 表达的关系; D: 淋巴结转移数目与 AP1S1 表达的关系; 与正常对照组比较: ** $P < 0.01$

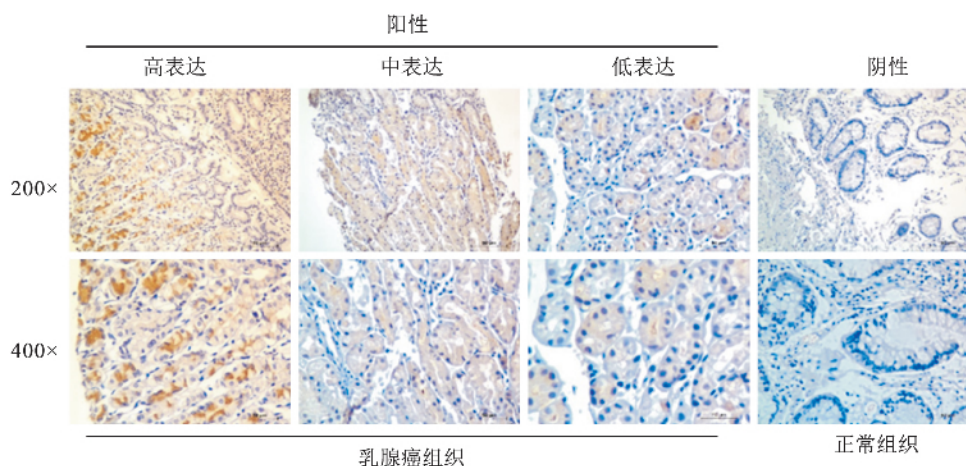


图3 临床标本分析 AP1S1 在乳腺癌组织中的表达

义 ($t = 10.63$, $P = 0.0004$) (图 4A)。利用 Western blot 验证 siRNA1 处理 MDA-MB-231 和 SKBR3 细胞株 AP1S1 蛋白表达水平, 结果显示使用 siRNA1 处理的两种细胞株的 AP1S1 蛋白表达水平均降低 (图 4B)。CCK-8 检测结果显示 2 种 AP1S1 siRNA 处理的 MDA-MB-231 和 SKBR3 细胞较对照细胞的增殖速率均降低 (图 4C)。平板克隆结果显示 AP1S1 siRNA1 组的 MDA-MB-231 和 SKBR3 细胞较对照 NC 组的克隆数减小 (图 4D)。细胞划痕实验结果表明, MDA-MB-231 平均迁移距离为 (169.00 ± 17.06) mm, siRNA1 组平均迁移距离为 ($80.67 \pm$

14.64) mm, 差异具有统计学意义 ($t = 6.806$, $P = 0.002$); SKBR3 平均迁移距离为 (150.67 ± 13.05) mm, siRNA1 组平均迁移距离为 (82.67 ± 9.71) mm, 差异具有统计学意义 ($t = 7.240$, $P = 0.002$) (图 4E)。

3 讨论

近 20 年来, 以手术为主要治疗方法, 化疗、放疗、内分泌治疗及靶向治疗为辅助的多学科综合治疗模式得到了长足的发展^[7], 但是长期以来缺乏有效的预后预测手段来指导患者个体化治疗, 以至于

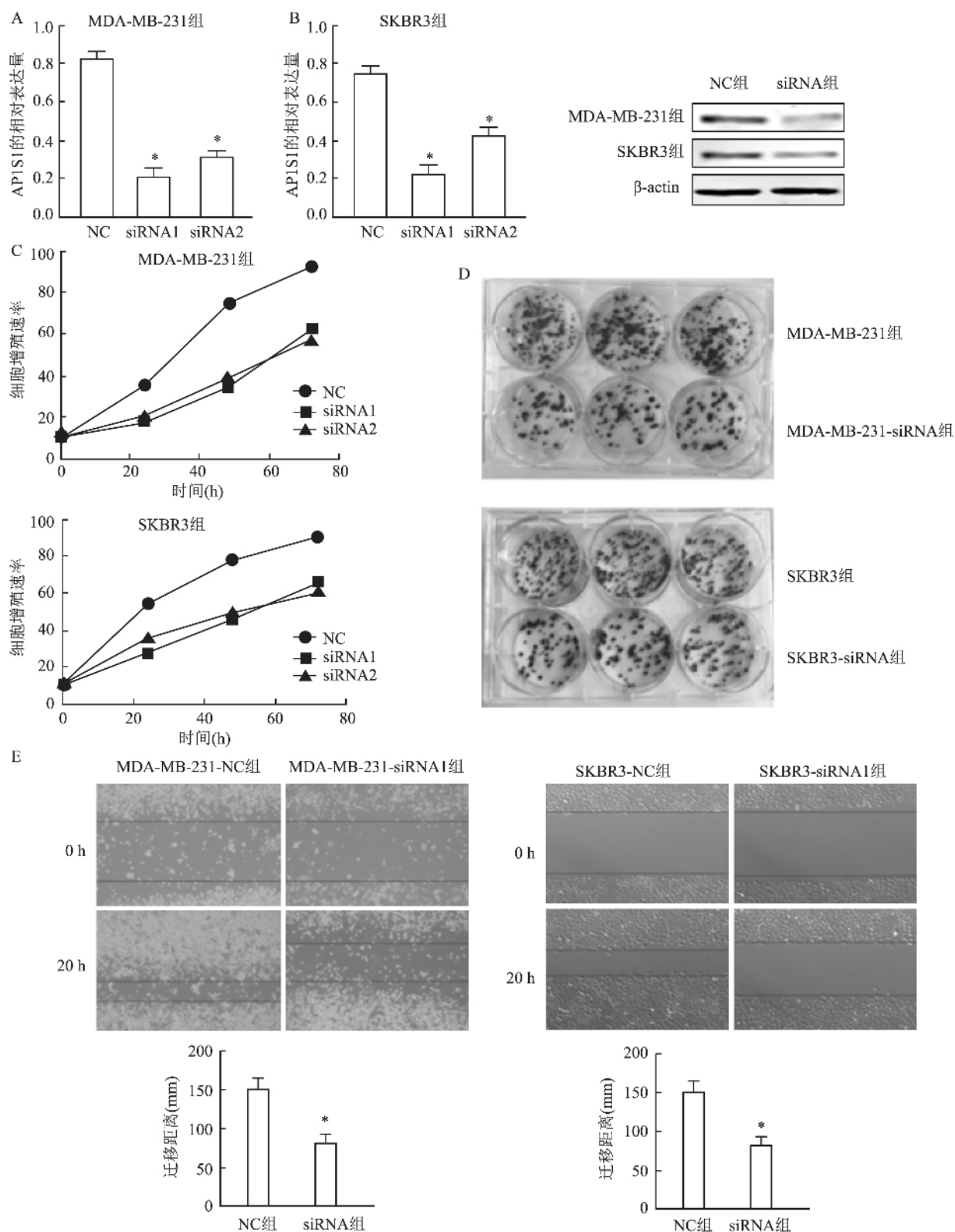


图4 AP1S1表达下调会抑制乳腺癌细胞的增殖与转移

A: qPCR 检测乳腺癌细胞株 AP1S1 表达敲低效果; B: Western blot 检测乳腺癌细胞株 AP1S1 表达敲低效果; C: CCK-8 实验检测乳腺癌细胞增殖情况; D: 平板克隆实验检测乳腺癌细胞克隆形成情况; E: 细胞划痕实验检测乳腺癌细胞迁移情况 ×40; 与 NC 组比较: * $P < 0.05$

相当一部分化疗获益较少的低风险患者也不得不接受化疗。所以研究人员开展了多基因检测技术,用

来评估患者复发风险和辅助化疗获益程度,并且多基因检测技术可以进一步提高传统的病理分型和免

表1 AP1S1 表达与乳腺癌病例参数的关系

病例参数	n	AP1S1 表达		χ^2 值	P 值
		低 (n=57)	高 (n=53)		
年龄(岁)				0.031	0.859
<50	53	27	26		
≥50	57	30	27		
肿瘤大小(cm)				7.551	0.006
≤5	92	53	39		
>5	18	4	14		
淋巴结转移				3.211	0.073
无	47	29	18		
有	63	28	35		
AJCC 分级				6.215	0.013
I + II 期	73	44	29		
III + IV 期	37	13	24		
ER 状态				1.208	0.272
阴性	28	12	16		
阳性	82	45	37		
PR 状态				1.178	0.278
阴性	42	19	23		
阳性	68	38	30		
HER2 状态				1.651	0.199
阴性	75	42	33		
阳性	35	15	20		

疫组化分型的预测价值,在提供预后信息、判断药物治疗敏感性方面具有非常大的发展空间^[8]。但是这些基因对于患者的生存预后并不完善,需要我们提供更多的与预后有关的基因。因此通过生物信息学筛选出了 AP1S1 这个与生存预后有着密切关系的基因。

有关 AP1S1 在肿瘤领域的研究尚不多见,有报道 AP1S1 可能成为急性骨髓性白血病(acute myeloid leukemia, AML)和前列腺癌的癌基因表达和 DNA 甲基化状态的综合标志物^[9],也可能通过上调 ERBB2 与多形性胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)发生发展,同时高表达水平的 AP1S1 会预示 GBM 患者的 OS 较短^[10]。鉴于 AP1S1 在乳腺癌中的表达与生物学功能尚不清楚,本研究首先通过 GEPIA 和 UALCAN 在线数据库分析 AP1S1 在肿瘤组织与正常对照组织表达水平的差异,结果显示 AP1S1 在乳腺癌组织中呈高表达。进一步利用 UALCAN 数据库分析 AP1S1 表达水平与临床参数的相关性,显示肿瘤分期越晚,其 AP1S1 表达水平越高;通过 GEPIA 在线分析显示 AP1S1 高表达乳腺癌患者的 OS 与 DFS 也下降。为验证上述结果,使用临床病理标本分析证实了 AP1S1 表达水平与乳腺癌肿瘤大小及病理分期呈正相关($P < 0.05$)。为了解 AP1S1 基因表达的生物学意义,使用 siRNA 技

术下调 MDA-MB-231 和 SKBR3 细胞株 AP1S1 的表达,通过细胞平板克隆与 CCK-8 实验发现乳腺癌细胞的 AP1S1 表达下调后,其增殖与克隆形成速度均降低;接着采用细胞划痕实验检测 AP1S1 表达敲低对 MDA-MB-231 和 SKBR3 细胞迁移能力的影响,结果表明 AP1S1 表达下调会导致乳腺癌细胞的迁移能力降低。这些实验结果提示 AP1S1 对于乳腺癌应该是一种促癌基因和患者预后不良因素。其中 AP1S1 表达的临床意义及其促癌的分子机制需要更深入的研究。

综上,本研究表明 AP1S1 基因在乳腺癌组织中高表达,其表达水平与乳腺癌患者的预后相关;而且 AP1S1 基因表达能够促进乳腺癌细胞增殖、克隆形成与迁移能力。

参考文献

- [1] Zhao X, Rørdland E A, Tibshirani R, et al. Molecular subtyping for clinically defined breast cancer subgroups [J]. *Breast Cancer Res* 2015, 17(1): 29.
- [2] Jhan J R, Andrechek E R. Triple-negative breast cancer and the potential for targeted therapy [J]. *Pharmacogenomics* 2017, 18(17): 1595–609.
- [3] Martinelli D, Dionisi-Vici C. AP1S1 defect causing MEDNIK syndrome: a new adaptinopathy associated with defective copper metabolism [J]. *Ann N Y Acad Sci* 2014, 1314: 55–63.
- [4] Incecik F, Bisgin A, Yllmaz M. MEDNIK syndrome with a frame shift causing mutation in AP1S1 gene and literature review of the clinical features [J]. *Metab Brain Dis* 2018, 33(6): 2065–8.
- [5] Tang Z, Li C, Kang B, et al. GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses [J]. *Nucleic Acids Res* 2017, 45(W1): W98–102.
- [6] Chandrashekar D S, Bashel B, Balasubramanya S A H, et al. UALCAN: a portal for facilitating tumor subgroup gene expression and survival analyses [J]. *Neoplasia* 2017, 19(8): 649–58.
- [7] McDonald E S, Clark A S, Tchou J, et al. Clinical diagnosis and management of breast cancer [J]. *J Nucl Med* 2016, 57 Suppl 1: 9S–16S.
- [8] Baker H. 21-gene assay identifies patients who can avoid chemotherapy [J]. *Lancet Oncol* 2015, 16(15): e531.
- [9] Mallik S, Zhao Z. Towards integrated oncogenic marker recognition through mutual information-based statistically significant feature extraction: an association rule mining based study on cancer expression and methylation profiles [J]. *Quant Biol* 2017, 5(4): 302–27.
- [10] Alshabi A M, Vastrad B, Shaikh I A, et al. Identification of crucial candidate genes and pathways in glioblastoma multiforme by bioinformatics analysis [J]. *Biomolecules* 2019, 9(5): 201.

网络出版时间: 2020-9-4 13:57 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20200903.1447.012.html>

卡波肉瘤相关疱疹病毒细胞抗原片的制备

文志¹, 周畅¹, 华玮², 董凯旋², 叶磊², 郑豪², 徐涵², 王林定¹

摘要 目的 成功制备了卡波肉瘤相关疱疹病毒(KSHV)的细胞抗原片,并验证其有效性,为检测KSHV血清标本提供了一种可行的办法。方法 培养了能够稳定表达卡波肉瘤相关疱疹病毒核相关抗原(LANA)的BCBL-1细胞。BCBL-1细胞是感染过KSHV并且细胞基因组中包含KSHV

基因的细胞。待细胞生长活力旺盛且状态良好时,收集细胞并用4%的多聚甲醛固定到预先处理好的抗原片上,完成封闭、待测血清的孵育和荧光二抗的孵育后,通过免疫荧光显微镜观察检测结果。结果 通过免疫荧光技术发现,感染过KSHV的患者血清样本能观察到荧光标记的二抗激发的荧光,而未感染过KSHV的标本则没有观察到荧光标记的二抗激发的荧光。结论 成功制备了能用于检测血清的卡波肉瘤相关疱疹病毒的细胞抗原片,为进一步研究卡波肉瘤相关疱疹病毒的流行病学提供方法。

关键词 卡波肉瘤相关疱疹病毒; LANA; 细胞抗原片; 免疫荧光

中图分类号 R 373.9

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)10-1541-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.10.012

2020-05-28 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81271837); 安徽省自然科学基金(编号: 1708085MH193); 2019年度安徽医科大学科研基金(编号: 2019xkj020)

作者单位: 安徽医科大学¹基础医学院微生物教研室、²第二临床医学院, 合肥 230032

作者简介: 文志, 男, 硕士研究生;

王林定, 男, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: wanglinding@ahmu.edu.cn

Expression and clinical significance of AP1S1 gene in breast cancer

Liu Yu^{1,2}, Shan Benjie¹, Shen Guodong^{2,3}, et al

(¹Dept of Oncology, ²Dept of Geriatrics, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001;

³Anhui Key Laboratory of Cancer Immunization and Nutrition Therapy, Hefei 230001)

Abstract **Objective** To investigate the expression and clinical significance of AP-1 complex subunit sigma-1A (AP1S1) gene in breast cancer. **Methods** The relationship between the expression level of AP1S1 and the clinical prognosis of breast cancer patients was analyzed using the data in surgical tissues and adjacent tissues of breast cancer patients published in the online databases of GEPIA and UALCAN. 110 cases of wax block specimens with complete clinical data and complete clinical data were collected. The expression of AP1S1 in breast cancer tissues was detected by immunohistochemistry. *In vitro* experiments were performed using plate clones, CCK-8 and cell scratch experiments to analyze the effect of AP1S1 expression on the proliferation and metastasis characteristics of breast cancer cells. **Results** Through the analysis of GEPIA and UALCAN data, it was found that the expression level of AP1S1 in breast cancer tissues was significantly higher than that in normal breast tissues ($P < 0.01$). The expression level of AP1S1 was significantly associated with overall survival (OS) and disease-free survival (DFS) ($P < 0.05$), and it was closely related to the tumor stage of breast cancer patients ($P < 0.05$), and had no obvious correlation with age, tumor classification and lymph node metastasis. Clinical case analysis confirmed that AP1S1 expression was closely related to breast cancer tumor size and AJCC stage ($P < 0.05$), and had no significant correlation with age, lymph node metastasis, estrogen receptor (ER) status, progesterone receptor (PR) status, and human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) status ($P > 0.05$). The results of cell function experiments showed that the expression of AP1S1 gene could promote the proliferation, colony formation and migration ability of breast cancer cells. **Conclusion** AP1S1 gene is highly expressed in breast cancer tissues, and its expression level is related to the prognosis of breast cancer patients. Moreover, AP1S1 gene expression can promote breast cancer cell proliferation, colony formation and migration ability.

Key words breast cancer; AP1S1; tumor staging; clinical prognosis