

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.06.009

## 内吞作用相关基因 FCHO2 在乳腺癌中的表达及功能分析

冯雪飞, 郝艳龙, 孟小燕, 郭艳琳, 翟元芳, 邹斌斌, 张玲(山西医科大学基础医学院 病理教研室, 细胞生理重点实验室, 山西 太原 030001)

**[摘要]** **目的:** 探讨内吞作用相关基因 FCHO2 在各亚型乳腺癌中的表达及其与乳腺癌患者的预后和免疫细胞浸润的相关性。**方法:** 应用免疫组化法和 bc-GenExMiner v5.0 数据库数据分析 FCHO2 在各亚型乳腺癌组织中的表达, 通过 GEO 和 TIMER 数据库数据分析 FCHO2 与各亚型乳腺癌患者预后和免疫细胞浸润的关系, 利用 STRING 和 GEPIA 数据库数据分析与 FCHO2 的互作蛋白网络和其与互作蛋白的相关性, 通过 UALCAN 和 DAVID 数据库数据对乳腺癌组织中 FCHO2 表达相关基因进行 KEGG 和 GO 分析。**结果:** 免疫组化法结果显示, FCHO2 在管腔型和 HER2<sup>+</sup> 乳腺癌组织中均呈高表达 (均  $P < 0.05$ ), 且与 HER2 和 Ki67 表达有关联 ( $P = 0.03$  和  $P = 0.007$ )。FCHO2 高表达的管腔型乳腺癌患者总生存期 (OS) 和无复发生存期 (RFS) 均明显缩短 (均  $P < 0.05$ )。FCHO2 蛋白与 EPS15 等多种蛋白表达相关且构成蛋白-蛋白互作网络。KEGG 和 GO 分析显示, 乳腺癌组织中 FCHO2 相关表达基因主要与昼夜节律、自噬等生物学过程有关, 涉及叉头框蛋白 O (FoxO) 和 TGF- $\beta$  等信号通路。FCHO2 表达与各亚型乳腺癌组织中的免疫细胞浸润相关 (均  $P < 0.05$ )。**结论:** FCHO2 在管腔型、HER2<sup>+</sup> 乳腺癌组织中呈高表达, 且与管腔型乳腺癌患者预后及免疫细胞浸润相关, 其可能成为乳腺癌治疗的潜在靶点。

**[关键词]** FCHO2; 内吞作用; 乳腺癌; 预后; 免疫细胞浸润; 生物信息学分析

**[中图分类号]** R737.9; R730.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)06-0598-09

## Expression and functional analysis of endocytosis-related gene FCHO2 in breast cancer

FENG Xuefei, HAO Yanlong, MENG Xiaoyan, GUO Yanlin, ZHAI Yuanfang, ZOU Binbin, ZHANG Ling (Key Laboratory of Cellular Physiology, Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the expression of endocytosis-related gene FCHO2 in different subtypes of breast cancer, and its relationship with the prognosis and immune cell infiltration of breast cancer patients. **Methods:** Immunohistochemical staining and bc-GenExMiner v5.0 database were used to analyze the expression of FCHO2 in different subtypes of breast cancer. The relationship between FCHO2 and the prognosis and immune cell infiltration of different subtypes of breast cancer patients was analyzed using GEO and TIMER database. The protein-protein interaction network of FCHO2 and its correlation with the interacting proteins were analyzed using STRING database and GEPIA database, respectively. KEGG and GO analysis of FCHO2-related genes in breast cancer tissues were performed using UALCAN and DAVID databases. **Results:** Immunohistochemical staining showed that FCHO2 in luminal and HER2<sup>+</sup> breast cancer tissues were highly expressed (both  $P < 0.05$ ), and correlated with the expressions of HER2 and Ki67 ( $P = 0.03$  or  $P = 0.007$ ). Both the OS and RFS of luminal breast cancer patients with high expression of FCHO2 were significantly decreased (both  $P < 0.05$ ). FCHO2 protein was related to the expressions of many proteins such as EPS15 and constituted the protein-protein interaction network. KEGG and GO analysis indicated that the expression of FCHO2-related genes in breast cancer tissues were mainly related to biological processes such as circadian rhythm and autophagy, and involved FoxO and TGF- $\beta$  signaling pathways. The expression of FCHO2 was correlated with immune cell infiltration in tissues of different subtypes of breast cancer. **Conclusion:** FCHO2 is highly expressed in luminal and HER2<sup>+</sup> breast cancer tissues, and is correlated with the patient prognosis and immune cell infiltration of luminal breast cancer. FCHO2 may become a potential target for breast cancer treatment.

**[Key words]** FCHO2; endocytosis; breast cancer; prognosis; immune cell infiltration; bioinformatics analysis

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(6): 598-606. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.06.009]

**[基金项目]** 国家自然科学基金 (No. 82303048); 山西省基础研究计划 (No. 20210302124185); 山西省科技创新人才团队 (青年) 项目 (No. 202204051001024)

**[作者简介]** 冯雪飞, 女 (1991—), 博士, 讲师, 主要从事肿瘤发生发展的研究。E-mail: fengxf824@sxmu.edu.cn

**[通信作者]** 张玲, E-mail: zhanglingty@sxmu.edu.cn

乳腺癌是影响女性最普遍和异质性严重的恶性肿瘤。癌症统计结果表明,乳腺癌居女性新增所有癌症病例首位<sup>[1]</sup>,在所有癌症病死率中高居第二(约占到了15%)<sup>[1]</sup>。根据分子分型分类,乳腺癌可分为管腔、人表皮生长因子2阳性(HER2<sup>+</sup>)和基底细胞样三种亚型<sup>[2]</sup>。不同亚型乳腺癌的治疗方式也不尽相同<sup>[2]</sup>。虽然,近年来生存率显著提高,但仍有一部分乳腺癌患者治疗效果不尽如人意<sup>[2-3]</sup>。因此,针对不同乳腺癌亚型,寻求特异性分子靶点进行精准治疗是一个挑战。多种内吞途径与癌症的发生发展和调控息息相关<sup>[4-5]</sup>。尤其是很多参与内吞作用和囊泡运输的蛋白质涉及多种癌症的发生发展<sup>[6]</sup>。目前,内吞抑制剂作为癌症患者的辅助治疗已应用在临床试验中<sup>[7-10]</sup>,但是内吞作用在乳腺癌的发展及治疗中的机制尚未被完全阐明。含FCH和Mu结构域的内吞接头蛋白2(FCH and mu domain containing endocytic adaptor 2, FCHO2),位于包覆网格蛋白的坑和包覆网格蛋白的囊泡中,参与网格蛋白外壳组装和依赖网格蛋白的内吞作用<sup>[11-14]</sup>。众多学者已证实,FCHO2参与一些肿瘤的发生进展。在弥漫大B细胞淋巴瘤中,FCHO2表达与免疫微环境调节有关<sup>[15]</sup>。在急性粒细胞白血病中,FCHO2表达越高,患者病死率越低<sup>[16]</sup>。白杨素通过激活G蛋白偶联雌激素受体和减少ROCK1、TAGLN2和FCHO2表达抑制胰腺癌进展<sup>[17]</sup>,但其与乳腺癌的关系未见报道。本研究基于免疫组化法和生物信息学分析了各种亚型乳腺癌中FCHO2的表达和临床意义,涉及的生物学进程及其与免疫细胞浸润的关系,为乳腺癌的研究和治疗提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 人乳腺癌组织标本收集和临床资料

收集2020年9月至2021年7月在山西省肿瘤医院手术切除的119例乳腺癌组织,其中管腔型57例,HER2阳性31例,三阴性乳腺癌(TNBC)31例和癌旁组织112例。所有患者在进行手术切除前均未接受过任何治疗,每位患者均有完整的临床资料,包括年龄、性别、手术时间、手术部位及组织病理资料[雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素(progesterone receptor, PR)、HER2状态等]。所有患者和家属均充分知情并签署了知情同意书,本研究方案获得山西省肿瘤医院伦理委员会批准(No. 2021SLL047)。

### 1.2 免疫组化法检测FCHO2蛋白在不同亚型乳腺癌组织中的表达

乳腺癌组织及癌旁组织经常规石蜡包埋、切片、脱蜡、水化后,经PBS清洗,在柠檬酸钠缓冲液中高

压抗原修复,自然冷却,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理,山羊血清封闭。兔抗FCHO2一抗(1:200;货号6871,ProSci公司)4℃下处理过夜,辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(SP-9001,中杉金桥公司)37℃下处理1h,DAB显色液(ZLI-9018,中杉金桥公司)显色,PBS冲洗,苏木精复染,脱水、透明、中性树胶封片,显微镜下观察、拍照。用Image J软件分析FCHO2蛋白的相对表达水平。

### 1.3 用数据库数据分析不同亚型乳腺癌组织中FCHO2 mRNA的表达水平

bc-GenExMiner v5.0数据库(<http://bcgenex.unicancer.fr/BC-GEM/GEM-requete.php>)是已发表的注释的乳腺癌转录组数据[DNA微阵列( $n=11\ 552$ )和RNA-seq( $n=5\ 023$ )]的统计挖掘工具<sup>[18]</sup>。FCHO2 mRNA表达分析利用RNA-seq数据集( $n=4\ 421$ )包括TCGA( $n=1\ 743$ )和SCAN-B( $n=3\ 678$ )采用“Expression”模块分析。

### 1.4 用数据库数据分析FCHO2 mRNA表达与不同亚型乳腺癌患者的预后关系

从GEO(Gene Expression Omnibus)数据库下载GSE20685数据集<sup>[19]</sup>,包含327个样本,分析FCHO2 mRNA表达与不同亚型乳腺癌患者预后的关系。

### 1.5 用数据库数据分别进行FCHO2互作蛋白网络和相关性分析

采用STRING数据库<sup>[20]</sup>(<https://string-db.org/>)分析FCHO2互作蛋白网络。采用GEPIA(Gene Expression Profiling Interactive Analysis)数据库<sup>[21]</sup>(<https://gepia.cancer-pku.cn/>)“Correlation”模块分析乳腺癌中FCHO2与互作蛋白的相关性。

### 1.6 用数据库数据分析乳腺癌组织中FCHO2相关基因的功能富集情况

在UALCAN(The University of Alabama at Birmingham Cancer Data Analysis Portal)网站(<https://ualcan.path.uab.edu/index.html>)<sup>[22]</sup>分析乳腺癌组织中与FCHO2相关性 $\geq 0.3$ 的基因。通过DAVID(The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery)数据库数据(<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>)<sup>[23]</sup>对基因集进行KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)和Go(Gene Ontology)分析。

### 1.7 用数据库数据分析FCHO2 mRNA表达与不同亚型乳腺癌中免疫细胞浸润的相关性

应用TIMER(Tumor Immune Estimation Resource)数据库(<https://cistrome.shinyapps.io/timer>)<sup>[24]</sup>中的“gene”模块分析乳腺癌中FCHO2与DC、B细胞、中性粒细胞、CD8<sup>+</sup>T细胞、巨噬细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞浸润的相关性。通

过 GEPIA2021 数据库(<http://gepia2021.cancer-pku.cn/index.html>)<sup>[25]</sup>“Proportion Analysis”模块分析 4 种免疫细胞(B 细胞、CD4<sup>+</sup> T 细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞、巨噬细胞)在乳腺癌组织中的比例;在“Sub-expression Analysis”模块分析 FCHO2 在乳腺癌组织 4 种免疫细胞(B 细胞、CD4<sup>+</sup> T 细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞、巨噬细胞)中的表达水平。

### 1.8 统计学处理

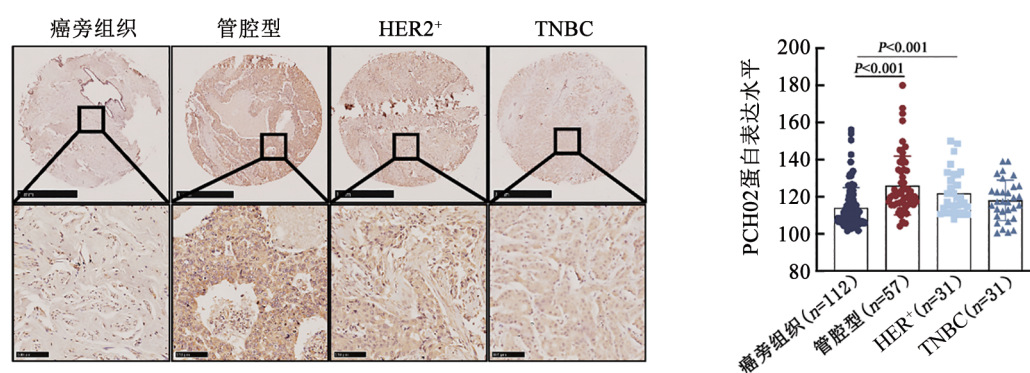
采用 GraphPad 8 软件进行数据处理和绘制统计图。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间差异比较采用配对 *t* 检验,Kaplan-Meier 法分析生存曲线,采用 Spearman 相关性分析互作蛋白之间的相关

性。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 FCHO2 蛋白在管腔型和 HER2<sup>+</sup>型乳腺癌中呈高表达

通过免疫组化法检测了三种类型的乳腺癌组织和癌旁组织中 FCHO2 蛋白的表达,结果(图 1)显示,FCHO2 蛋白主要定位于细胞膜和细胞质,在管腔型和 HER2<sup>+</sup>型乳腺癌组织中 FCHO2 蛋白的表达明显高于癌旁组织( $P < 0.001$ ),虽然 FCHO2 蛋白在 TNBC 中的表达也高于正常乳腺组织,但没有统计学意义( $P > 0.05$ )。



低倍标尺=1 mm;高倍标尺=100 μm。

图 1 不同亚型乳腺癌和癌旁组织中 FCHO2 蛋白的表达

### 2.2 FCHO2 蛋白表达与乳腺癌组织中 HER2、Ki67 阳性有关联而与其他临床病理特征无明显关联

使用卡方检验分析了 FCHO2 蛋白表达与乳腺癌患者临床病理特征的关系,结果(表 1)显示,FCHO2 蛋白表达与乳腺癌组织中 HER2 和 Ki67 表达均显著关联( $P = 0.05$  或  $P = 0.01$ ),但与 ER、PR 状态及患者的年龄、病理分期、远距离转移、淋巴结转移、肿瘤大小、肿瘤发生位置无明显关联。

### 2.3 FCHO2 mRNA 在不同亚型乳腺癌组织中的表达

通过 bc-GenExMiner v5.0 在线网站分析在不同亚型乳腺癌组织中 FCHO2 mRNA 表达情况,结果(图 2)显示,管腔 A 型乳腺癌组织中 FCHO2 mRNA 表达明显高于癌旁组织( $P < 0.05$ ),但管腔 B、HER2<sup>+</sup> 和基底细胞样型乳腺癌中 FCHO2 mRNA 表达低于癌旁组织(均  $P < 0.05$ )。不同亚型乳腺癌组织中 FCHO2 mRNA 表达水平的高低排序为:管腔 A > 管腔 B > HER2<sup>+</sup> > 基底细胞样(图 2A)。FCHO2 mRNA 在基底细胞样、TNBC、ER<sup>-</sup>、PR<sup>-</sup>、HER2<sup>-</sup> 乳腺癌组织中的表达均分别低于非基底细胞样、非 TNBC、ER<sup>+</sup>、PR<sup>+</sup>、HER2<sup>+</sup> 型乳腺癌(图 2B~F, 均  $P < 0.05$ )。FCHO2 mRNA 在淋巴结转移的乳腺癌组织中的表达明显高于未淋巴结转移的乳腺癌组织(图 2G,  $P < 0.05$ ),

>51 岁的乳腺癌患者的 FCHO2 mRNA 表达比 ≤51 岁乳腺癌患者高(图 2H,  $P < 0.05$ ),在 p53 突变的乳腺癌组织中 FCHO2 mRNA 表达低于 p53 非突变乳腺癌组织(图 2I,  $P < 0.05$ )。以上结果说明,FCHO2 mRNA 表达与乳腺癌患者的年龄、淋巴结转移及 p53 突变有关联。

### 2.4 FCHO2 mRNA 表达与所有乳腺癌患者的 RFS、管腔型乳腺癌患者的 OS 和 RFS 有关联

GEO 数据集(GSE20685)分析结果(图 3)显示,与 FCHO2 mRNA 低表达患者比较,FCHO2 mRNA 高表达患者的 OS 无明显变化(图 3A,  $P = 0.1004023$ ),但 RFS 明显缩短(图 3B,  $P < 0.05$ )。TNBC 患者 FCHO2 mRNA 表达高低与其 OS 和 RFS 均无明显关联(图 3C、D, 均  $P > 0.05$ )。在管腔型乳腺癌患者中 FCHO2 mRNA 高表达者其 OS 和 RFS 均明显缩短(图 3E、F, 均  $P < 0.05$ )。

### 2.5 FCHO2 蛋白互作(protein-protein interaction, PPI) 网络图的构建及相关性分析

采用 STRING 数据库数据构建了 FCHO2 的 PPI 网络,其中节点 11 个,51 条边,平均节点数 9.27,PPI 富集  $P$  值  $< 10^{-16}$ 。与 FCHO2 相互作用的蛋白有 EPS15、ITSN1、ITSN2、DAB2、TRIP10、AP2S1、

AP2B1、AP2M1、EPS15L1、EPN2(图4A)。接着在GEPIA网站分析了乳腺癌中FCHO2与这10种蛋白对应基因的相关性,结果(图4B~K)显示,FCHO2的表达与EPS15、ITSN1、ITSN2、DAB2、AP2B1、AP2M1、EPS15L1、EPN2表达呈正相关;FCHO2的表达与TRIP10,AP2S1表达呈负相关。

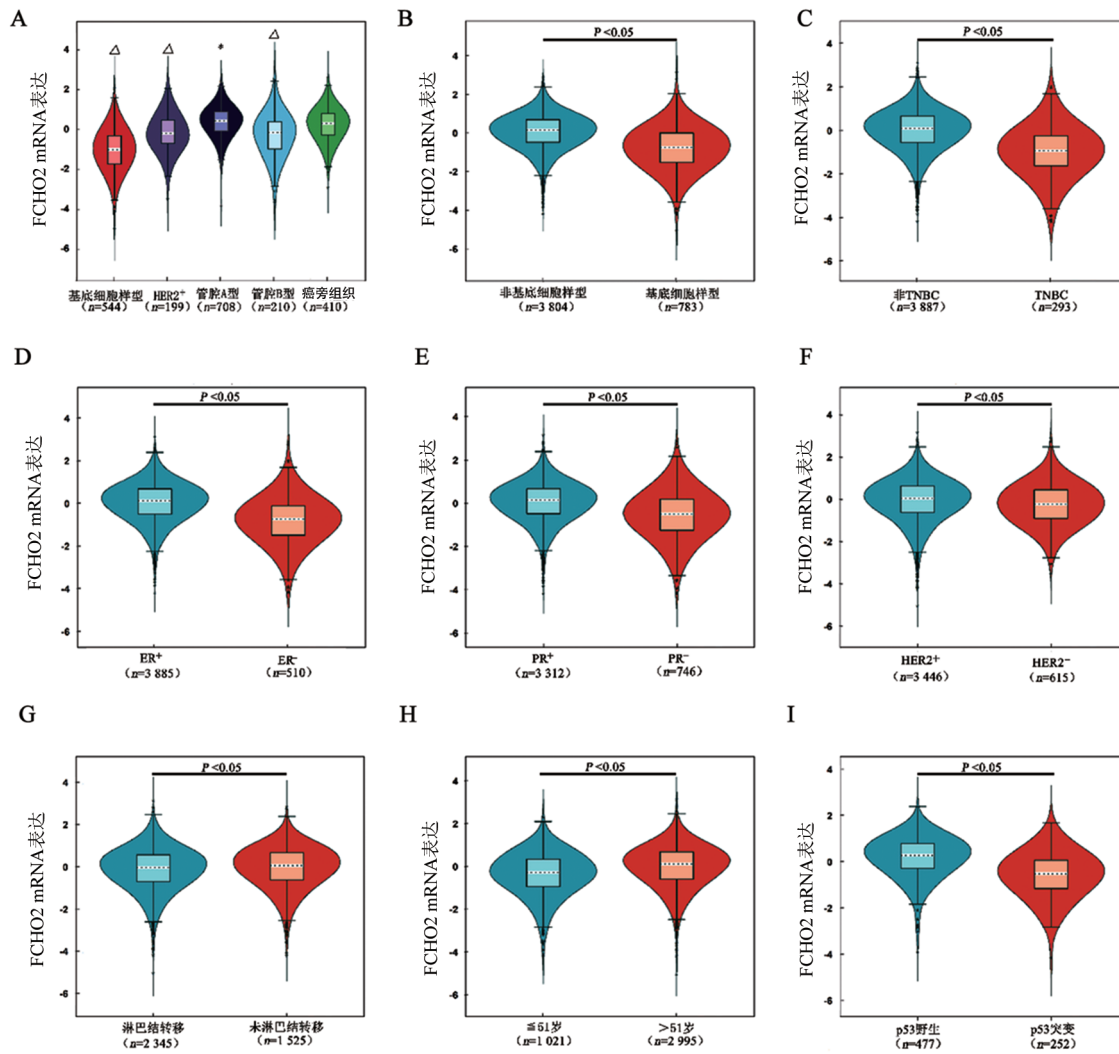
## 2.6 FCHO2与昼夜节律、蛋白水解、自噬、RNA降解等生物学过程有关

为了探索FCHO2的潜在功能,采用UALCAN数

据库筛选了乳腺癌中与FCHO2表达相关的基因(Pearson  $|R| \geq 0.3; n=4\ 354$ ),对这些差异基因进行KEGG和Go分析,结果(图5A、B)显示,FCHO2主要与昼夜节律、蛋白水解、自噬、RNA降解等生物学过程有关,并且其可能涉及叉头框O蛋白(forkhead box O, FoxO)、神经营养因子和TGF- $\beta$ 等信号通路。以上结果表明,FCHO2可能通过以上生物学过程与信号通路参与调控乳腺癌的发展进程。

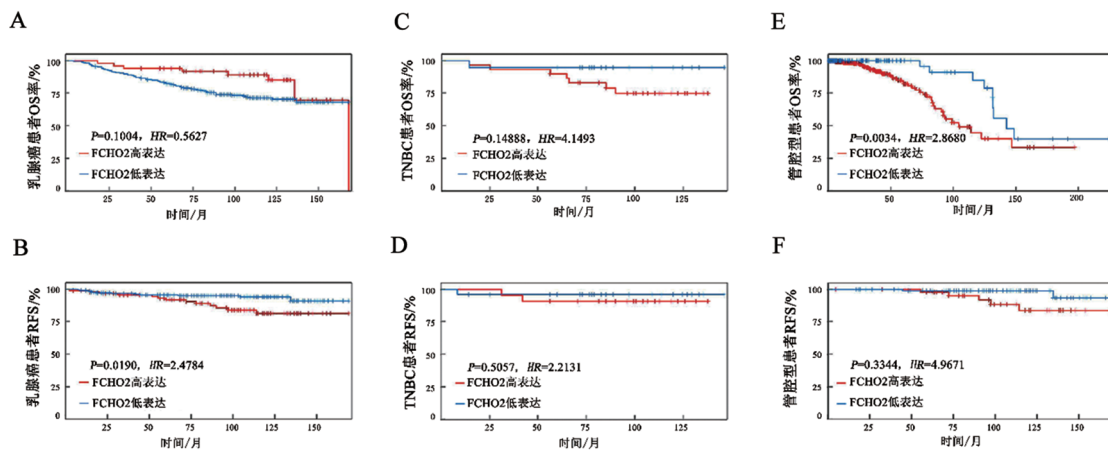
表1 FCHO2蛋白表达水平与乳腺癌患者临床特征的关系

病理特征	病例数/N	FCHO2表达		P值
		低表达[n(%)]	高表达[n(%)]	
<b>ER</b>				
阳性	63	35(59.3)	28(46.7)	0.230
阴性	56	24(40.7)	32(53.3)	
<b>PR</b>				
阳性	77	35(45.5)	42(54.5)	0.304
阴性	42	24(57.1)	18(42.9)	
<b>HER2</b>				
阳性	85	48(56.5)	37(43.5)	0.03
阴性	34	11(32.4)	23(67.6)	
<b>分期</b>				
I	2	0(00.0)	2(100.0)	0.296
II	47	21(44.7)	26(55.3)	
III	60	30(50.0)	30(50.0)	
<b>年龄/岁</b>				
<60	37	23(62.2)	14(37.8)	0.100
$\geq 60$	82	36(43.9)	46(56.1)	
<b>远距离转移</b>				
有	99	52(52.5)	47(47.5)	0.118
无	19	6(31.6)	13(68.4)	
<b>淋巴结转移</b>				
有	80	37(46.3)	43(53.8)	0.398
无	39	22(56.4)	17(43.6)	
<b>肿瘤直径/cm</b>				
$\geq 2$	78	42(53.8)	36(46.2)	0.275
<2	41	17(41.5)	24(58.5)	
<b>Ki67</b>				
阳性	72	28(38.9)	44(61.1)	0.007
阴性	47	31(66.0)	16(34.0)	
<b>位置</b>				
左	64	31(48.4)	33(51.6)	0.932
右	55	28(50.9)	27(49.1)	



A: FCHO2 mRNA 在不同亚型乳腺癌组织中的表达。与癌旁组织相比, \* $P < 0.05$ ; 与癌旁组织相比,  $\Delta P < 0.05$ ; B~I: FCHO2 mRNA 在基底细胞样和非基底细胞样(B)、TNBC 和非 TNBC(C)、ER<sup>+</sup>和 ER<sup>-</sup>(D)、PR<sup>+</sup>和 PR<sup>-</sup>(E)、HER2<sup>+</sup>和 HER2<sup>-</sup>(F)、淋巴结转移和未转移(G)、不同年龄(H)、P53 突变和未突变(I)乳腺癌组织中的表达情况。

图2 FCHO2 mRNA 在不同亚型、不同临床特征患者的乳腺癌组织中的表达



A、B: 所有乳腺癌患者的 OS(A)和 RFS(B); C、D: TNBC 患者的 OS(C)和 RFS(D); E、F: 管腔型乳腺癌患者的 OS(E)和 RFS(F)。

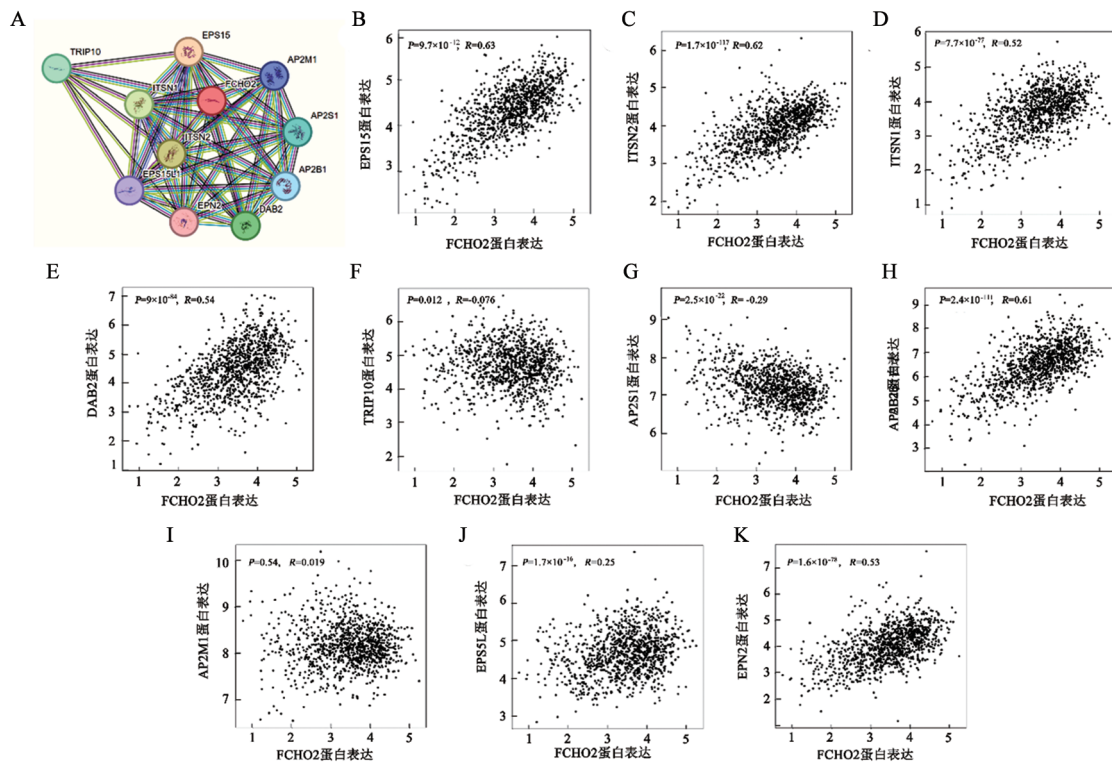
图3 FCHO2 mRNA 表达高低与不同亚型乳腺癌患者预后的关系

2.7 FCHO2 可能参与乳腺癌组织中免疫细胞的浸润和免疫调控过程

应用TIMER 数据库数据分析了各种亚型乳腺癌中 FCHO2 mRNA 表达与免疫细胞浸润的相关

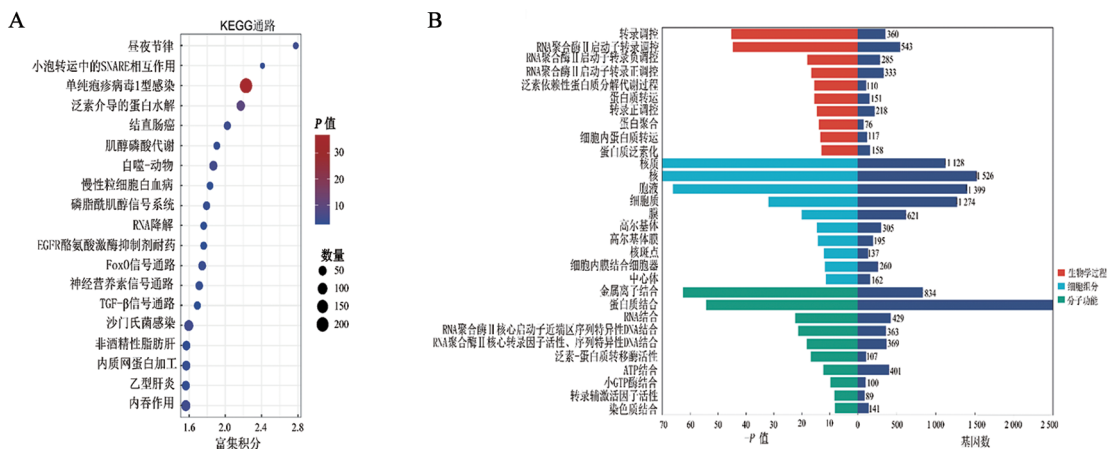
性,结果(图6A)显示,FCHO2 mRNA表达与基底细胞样型乳腺癌的肿瘤纯度呈负相关( $P<0.05$ );在所有乳腺癌和基底细胞样型乳腺癌中,FCHO2 mRNA表达与CD8<sup>+</sup>T细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和DC的浸润呈正相关( $P<0.05$ ),在HER2<sup>+</sup>乳腺癌中,FCHO2 mRNA表达仅与巨噬细胞免疫浸润呈正相关( $P<0.05$ ),在管腔型乳腺癌中,FCHO2 mRNA表达与6种免疫细胞的免疫浸润都呈正相关( $P<0.05$ )。接着应用GEPIA2021数据库数

据分析了FCHO2 mRNA在乳腺癌组织内B细胞、CD8<sup>+</sup>T细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞、巨噬细胞中的表达水平及这4种免疫细胞在乳腺癌组织中的比例,结果(图6B、C)显示,在乳腺癌中,FCHO2 mRNA在巨噬细胞中表达最高,在B细胞、CD8<sup>+</sup>T细胞和CD4<sup>+</sup>T细胞中表达较低;乳腺癌组织中CD4<sup>+</sup>T细胞比例最高,其次是CD8<sup>+</sup>T细胞和巨噬细胞,B细胞所占比例最低。以上结果表明,FCHO2可能参与乳腺癌的免疫调控。



A: FCHO2 蛋白 PPI 互作网络; B-K: FCHO2 蛋白表达与 EPS15(B)、ITSN2(C)、ITSN1(D)、DAB2(E)、TRIP10(F)、AP2S1(G)、AP2B1(H)、AP2M1(I)、EPS15L1(J)、EPN2(K) 蛋白表达的相关性分析。

图4 FCHO2 蛋白 PPI 网络构建及与互作蛋白的相关性分析



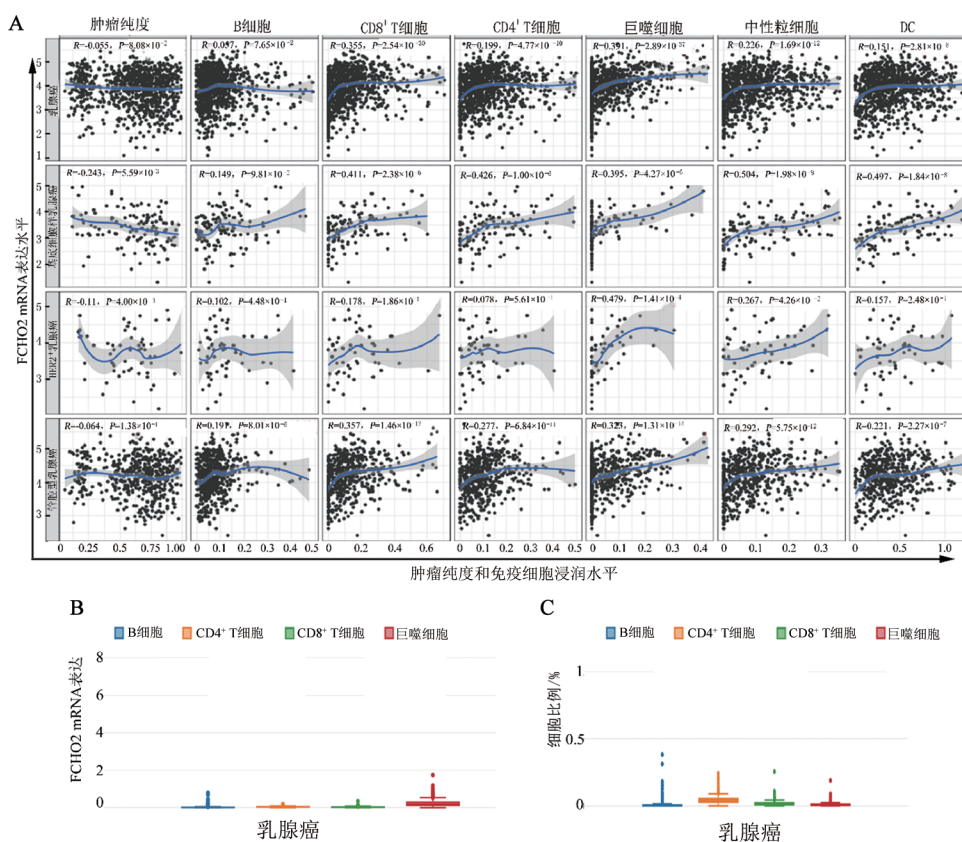
A~B: KEGG(A)和(B)GO(B)分析乳腺癌中FCHO2相关基因参与的生物学过程。

图5 FCHO2在乳腺癌中相关基因功能富集分析

### 3 讨论

目前,女性恶性肿瘤之首—乳腺癌患者生存期有了很大的提高,但因乳腺癌异质性强,仍有部分患者的治疗效果不佳。所以,找寻新的靶点用于乳腺癌的精准治疗非常迫切。文献<sup>[6-10]</sup>报道,参与内吞作用的蛋白与癌症进展有关,并且在临床中已有内吞抑制剂用于各种癌症患者的辅助治疗,但是,其还未

应用于乳腺癌治疗。文献<sup>[15-17]</sup>报道,与内吞作用相关的FCHO2与弥漫大B细胞淋巴瘤、胰腺癌及急性粒细胞白血病等肿瘤有关,但是其在乳腺癌中的表达及其功能还不清楚。因此,本研究通过免疫组化法和数据库就FCHO2与乳腺癌的关系展开系统性分析和研究,可能会对乳腺癌中探求内吞抑制剂提供有用线索。



A: FCHO2 mRNA 表达与肿瘤纯度、B 细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞、CD4<sup>+</sup> T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和 DC 浸润的相关性; B-C: FCHO2 mRNA 在乳腺癌组织内 B 细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞、CD4<sup>+</sup> T 细胞、巨噬细胞中的表达水平(B)及比例(C)。

图 6 FCHO2 与免疫细胞浸润的相关性

本研究首先通过免疫组化法检测 FCHO2 蛋白在不同亚型乳腺癌组织中的表达,结果表明,FCHO2 蛋白在管腔型和 HER2<sup>+</sup>型乳腺癌组织中的表达高于癌旁组织。数据库数据分析结果显示,与正常乳腺组织相比,FCHO2 mRNA 在管腔 A 型乳腺癌中表达高,但在管腔 B、HER2<sup>+</sup>和基底细胞样型乳腺癌组织中的表达低。以上结果表明,FCHO2 在各种亚型乳腺癌组织中的蛋白和 mRNA 表达不尽相同。这可能是由于胞外刺激信号的不同,组织类型的特异性,细胞周期的不同阶段,FCHO2 蛋白表达发生了改变,或者各种修饰导致 FCHO2 蛋白的亚细胞定位改变,从而影响了 FCHO2 蛋白表达<sup>[26-27]</sup>。FCHO2 蛋白在乳腺癌中的表达及其与乳腺癌患者临床病理特征的关系

表明,FCHO2 在乳腺癌中的表达与 HER2 有关。数据库数据显示,FCHO2 mRNA 表达和淋巴结转移与否及年龄有关,本实验的免疫组化结果显示与数据库趋势一致,但差异没有统计学意义,可能与本实验收集的病例数较少有关。数据库数据也显示 FCHO2 mRNA 表达与 p53 突变有关,但是,p53 突变越高的乳腺癌中 FCHO2 表达越低,这个可能是因为在全部类型的乳腺癌中进行统计的,没有对乳腺癌进行分亚型分析造成。p53 突变大部分发生在 TNBC 中<sup>[28]</sup>,但是 FCHO2 mRNA 表达在 TNBC 组织中的低于癌旁组织,所以在 TNBC 中,p53 突变越高的乳腺癌中 FCHO2 mRNA 表达越低。

接着本实验用 GEO 数据集数据分析,结果表

明,FCHO2 mRNA高表达的乳腺癌患者的RFS越差,管腔型乳腺癌患者的OS和RFS都越差。但是,FCHO2 mRNA的表达与TNBC的预后无明显相关性,这与前面FCHO2蛋白在管腔型乳腺癌中表达高,在TNBC中表达无差异的结果相一致。综合以上结果表明,FCHO2 mRNA表达与管腔型乳腺癌患者的OS和RFS相关。

通过STRING网站分析出与FCHO2相互作用的蛋白有EPS15,ITSN1,ITSN2,DAB2,TRIP10,AP2S1,AP2B1,AP2M1,EPS15L1,EPN2,这些蛋白都与内吞作用相关<sup>[4,6]</sup>。为了进一步了解FCHO2在乳腺癌中的生物学功能及机制,本实验对UALCAN数据库中筛选出乳腺癌中与FCHO2表达相关的基因进行KEGG和GO分析,结果表明,FCHO2主要与昼夜节律、蛋白水解、自噬、RNA降解等生物学进程有关,并且其可能涉及FOXO、神经营养因子和TGF- $\beta$ 等信号通路。卡方检验分析表明,FCHO2表达与Ki67有关,Ki67是细胞增殖的标志物<sup>[29]</sup>,暗示了FCHO2可能参与乳腺癌的增殖进程。但是这些后续需要更多的实验加以验证。

为了明确FCHO2与免疫细胞浸润的关系,本实验通过TIMER数据库数据分析发现,FCHO2表达与不同亚型乳腺癌免疫细胞浸润呈正相关。此结果提示FCHO2可能参与调控乳腺癌免疫微环境。

综上所述,FCHO2蛋白在管腔型和HER2<sup>+</sup>乳腺癌中表达高,且与患者的不良预后有关。FCHO2 mRNA的表达也与不同亚型乳腺癌的免疫细胞浸润的相关,可作为乳腺癌潜在的预后生物标志物。本研究也进一步了解了乳腺癌中FCHO2表达及其相关功能,但其具体生物学作用机制仍需进行更深入的基础和临床试验加以验证。

## [参 考 文 献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(1): 5-29. DOI: 10.3322/caac.21254.
- [2] NOLAN E, LINDEMAN G J, VISVADER J E. Deciphering breast cancer: from biology to the clinic[J]. *Cell*, 2023, 186(8): 1708-1728. DOI: 10.1016/j.cell.2023.01.040.
- [3] WHEELER S B, ROCQUE G, BASCH E. Benefits of breast cancer screening and treatment on mortality[J/OL]. *JAMA*, 2024, 331(3): 199[2024-02-10]. <https://doi.org/10.1001/jama.2023.26730>. DOI: 10.1001/jama.2023.26730.
- [4] MELLMAN I, YARDEN Y. Endocytosis and cancer[J/OL]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(12): a016949[2024-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24296170/>. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24296170/>. DOI: 10.1101/cshperspect.a016949.
- [5] GOH L K, SORKIN A. Endocytosis of receptor tyrosine kinases[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(5): a017459[2024-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23637288/>. DOI: 10.1101/cshperspect.a017459.
- [6] BANUSHI B, JOSEPH S R, LUM B, *et al.* Endocytosis in cancer and cancer therapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2023, 23(7): 450-473. DOI: 10.1038/s41568-023-00574-6.
- [7] CHEW H Y, DE LIMA P O, GONZALEZ CRUZ J L, *et al.* Endocytosis inhibition in humans to improve responses to ADCC-mediating antibodies[J]. *Cell*, 2020, 180(5): 895-914. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.019.
- [8] TREMBLAY C S, CHIU S K, SAW J, *et al.* Small molecule inhibition of Dynamin-dependent endocytosis targets multiple niche signals and impairs leukemia stem cells[J/OL]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 6211[2024-02-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7719179/>. DOI: 10.1038/s41467-020-20091-6.
- [9] PEREIRA P M R, MANDLEYWALA K, MONETTE S, *et al.* Caveolin-1 temporal modulation enhances antibody drug efficacy in heterogeneous gastric cancer[J/OL]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 2526[2024-02-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9085816/>. DOI: 10.1038/s41467-022-30142-9.
- [10] MCCLUSKEY A, DANIEL J A, HADZIC G, *et al.* Building a better dynasore: the dyngo compounds potently inhibit dynamin and endocytosis[J]. *Traffic*, 2013, 14(12): 1272-1289. DOI: 10.1111/tra.12119.
- [11] HENNE W M, BOUCROT E, MEINECKE M, *et al.* FCHO proteins are nucleators of clathrin-mediated endocytosis[J]. *Science*, 2010, 328(5983): 1281-1284. DOI: 10.1126/science.1188462.
- [12] SOCHACKI K A, DICKEY A M, STRUB M P, *et al.* Endocytic proteins are partitioned at the edge of the clathrin lattice in mammalian cells[J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(4): 352-361. DOI: 10.1038/ncb3498.
- [13] UMASANKAR P K, SANKER S, THIEMAN J R, *et al.* Distinct and separable activities of the endocytic clathrin-coat components Fcho1/2 and AP-2 in developmental patterning[J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(5): 488-501. DOI: 10.1038/ncb2473.
- [14] UEZU A, UMEDA K, TSUJITA K, *et al.* Characterization of the EFC/F-BAR domain protein, FCHO2[J]. *Genes Cells*, 2011, 16(8): 868-878. DOI: 10.1111/j.1365-2443.2011.01536.x.
- [15] CHEN W J, LIANG W J, HE Y J, *et al.* Immune microenvironment-related gene mapping predicts immunochemotherapy response and prognosis in diffuse large B-cell lymphoma[J/OL]. *Med Oncol*, 2022, 39(4): 44[2024-02-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/5649550/>. DOI: 10.1007/s12032-021-01642-3.
- [16] SHA K, LU Y, ZHANG P, *et al.* Identifying a novel 5-gene signature predicting clinical outcomes in acute myeloid leukemia [J]. *Clin Transl Oncol*, 2021, 23(3): 648-656. DOI: 10.1007/s12094-020-02460-1.
- [17] LIM H K, KWON H J, LEE G S, *et al.* Chrysin-induced G protein-coupled estrogen receptor activation suppresses pancreatic cancer [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(17): 9673[2024-02-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9456301/>. DOI: 10.3390/ijms23179673.
- [18] JÉZÉQUEL P, GOURAUD W, BEN AZZOUD F, *et al.* Be-GenExMiner 4.5: new mining module computes breast cancer differential gene expression analyses[J/OL]. *Database*, 2021, 2021: baab007[2024-02-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/>



- PMC7904047/. DOI: 10.1093/database/baab007.
- [19] KAO K J, CHANG K M, HSU H C, *et al.* Correlation of microarray-based breast cancer molecular subtypes and clinical outcomes: implications for treatment optimization[J/OL]. *BMC Cancer*, 2011, 11: 143[2024-02-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3094326/>. DOI: 10.1186/1471-2407-11-143.
- [20] SZKLARCZYK D, GABLE A L, NASTOU K C, *et al.* The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D605-D612. DOI: 10.1093/nar/gkaa1074.
- [21] TANG Z F, KANG B X, LI C W, *et al.* GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis [J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W556-W560[2024-02-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6602440/>. DOI: 10.1093/nar/gkz430.
- [22] 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): 649-658. DOI: 10.1016/j.neo.2017.05.002.
- [23] DENNIS G, SHERMAN B T, HOSACK D A, *et al.* DAVID: database for annotation, visualization, and integrated discovery[J/OL]. *Genome Biol*, 2003, 4(9): R60[2024-02-10]. <http://dx.doi.org/10.1186/gb-2003-4-9-r60>. DOI: 10.1186/gb-2003-4-9-r60.
- [24] LI T W, FU J X, ZENG Z X, *et al.* TIMER2.0 for analysis of tumor-infiltrating immune cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(W1): W509-W514. DOI: 10.1093/nar/gkaa407.
- [25] LI C W, TANG Z F, ZHANG W J, *et al.* GEPIA2021: integrating multiple deconvolution-based analysis into GEPIA[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(W1): W242-W246[2024-02-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8262695/>. DOI: 10.1093/nar/gkab418.
- [26] VOGEL C, MARCOTTE E M. Insights into the regulation of protein abundance from proteomic and transcriptomic analyses[J]. *Nat Rev Genet*, 2012, 13(4): 227-232. DOI: 10.1038/nrg3185.
- [27] TKACH J M, YIMIT A, LEE A Y, *et al.* Dissecting DNA damage response pathways by analysing protein localization and abundance changes during DNA replication stress[J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(9): 966-976. DOI: 10.1038/ncb2549.
- [28] POLLOCK N C, RAMROOP J R, HAMPEL H, *et al.* Differences in somatic TP53 mutation type in breast tumors by race and receptor status[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2022, 192(3): 639-648. DOI: 10.1007/s10549-022-06509-3.
- [29] ZHAO L, LI Y Y, LI C W, *et al.* Increase of poorly proliferated p63<sup>+</sup>/Ki67<sup>+</sup> basal cells forming multiple layers in the aberrant remodeled epithelium in nasal polyps[J]. *Allergy*, 2017, 72(6): 975-984. DOI: 10.1111/all.13074.

[收稿日期] 2024-02-12

[修回日期] 2024-05-08

[本文编辑] 向正华