

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.09.017

胃癌组织中转录因子叉盒蛋白 C1 表达与肿瘤临床生物学行为及预后的关系

万爱民¹, 李 冬^{2△}

(同济大学附属同济医院检验科, 上海 200065)

摘要:目的 探讨胃癌组织中转录因子叉盒蛋白 C1(FOXC1)表达与肿瘤临床生物学行为及预后的关系,并对 FOXC1 与干细胞标志物 CD44 和醛脱氢酶 1(ALDH1)的关系进行分析。方法 采用免疫组织化学法检测 FOXC1、CD44、ALDH1 在胃癌及癌旁中的表达,整理患者的临床病理资料并进行随访。结果 FOXC1、CD44 及 ALDH1 在胃癌组织中的阳性表达率高于癌旁组织($P < 0.05$)。FOXC1 与患者淋巴结转移、TNM 分期有相关性($P < 0.05$)。FOXC1 阳性表达患者总体生存率为 7.69%,明显低于 FOXC1 阴性表达患者(56.25%)。Cox 比例风险回归分析显示,FOXC1 阳性表达是胃癌患者预后的独立危险因素($P < 0.05$)。FOXC1 与 CD44 呈正相关($P < 0.05$)。结论 FOXC1 与胃癌的侵袭转移有关,FOXC1 阳性表达是胃癌预后不良的标志。

关键词:胃癌; 转录因子叉盒蛋白 C1; 转移; 预后

中图分类号:R735.2

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)09-1215-03

Expression of forkhead box protein C1 in gastric cancer and its relationship with clinical prognosis

WAN Aiming¹, LI Dong^{2△}

(Department of Clinical Laboratory, Tongji Hospital of Tongji University, Shanghai 200065, China)

Abstract: Objective To explore the relationship between the expression of forkhead box protein C1 (FOXC1) protein and clinical biological behavior, prognosis of gastric cancer, and to analysis of the relationship among FOXC1 protein and CD44 and ALDH1 of putative cancer stem cell biomarkers. **Methods** Expressions of FOXC1, CD44 and ALDH1 proteins in gastric cancer and paracancerous tissues were tested by immunohistochemistry. Data of clinicopathological characteristics and follow-up were also collected. **Results** The expressions of FOXC1, CD44 and ALDH1 proteins in gastric cancer were higher than in paracancerous tissue (all $P < 0.05$). The expression of FOXC1 in gastric cancer was associated with the lymph node metastasis and TNM stage (all $P < 0.05$). Cumulative survival rate in patients with FOXC1 positive was 7.69%, and the negative was 56.25% ($P < 0.05$). Multivariate Cox analysis revealed that the positive expression of FOXC1 was an independent risk factor affecting the prognosis of patients ($P < 0.05$). The expression of FOXC1 was positive associated with CD44 ($P < 0.05$). **Conclusion** FOXC1 is involved in the metastasis of gastric cancer, and positive expression of FOXC1 may be an independent risk factor for the prognosis of patients with gastric cancer.

Key words: gastric cancer; forkhead box protein C1; metastasis; prognosis

胃癌属于最常见的恶性肿瘤之一,也是癌症患者死亡的重要原因。虽然手术和放化疗技术不断得到发展,但是胃癌患者的病死率仍然处于较高水平,患者的预后主要取决于被诊断时胃癌所处的阶段,因此,了解胃癌进展的发病机制并探索新的诊断和治疗方法迫在眉睫^[1]。

转录因子叉盒蛋白 C1(FOXC1)属于叉盒蛋白(FOX)家族的一员,调控许多生物学行为,包括代谢、发育、分化、增殖、凋亡和细胞迁移^[2-4]。除此之外,FOXC1 被发现与许多肿瘤的发生、发展关系密切,但是 FOXC1 与胃癌的关系尚不明确^[2,4-5]。本研究采用免疫组织化学法分析 FOXC1 与胃癌临床生物学行为

及预后的关系,探讨 FOXC1 在胃癌组织中的意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 100 例胃癌组织(胃癌组)和 80 例癌旁组织(癌旁组)的组织芯片(上海芯超生物科技有限公司,产品编号:HstmA180Su08),包括完整的临床病理资料和随访资料,手术时间为 2006 年 7 月至 2007 年 4 月,随访时间 2015 年 7 月,随访 8.2~9.0 年,死亡 69 例,患者术前均未接受过放射治疗和化学治疗。

1.2 主要试剂 FOXC1 兔抗人多克隆抗体、CD44 兔抗人多克隆抗体、醛脱氢酶 1(ALDH1)兔抗人多克

隆抗体及鼠抗兔二抗均购于美国西格玛(Sigma)公司。GTVision™ III 抗鼠兔通用型免疫组织化学检测试剂盒购于上海吉泰生物有限公司。

1.3 方法 免疫组织化学染色检测 FOXC1、CD44 及 ALDH1 的表达,综合低倍镜下染色强度和高倍镜下阳性细胞百分数进行半定量分析^[6],染色强度评分标准:几乎未着色为 0 分,着色强度较弱为 1 分,中等着色强度为 2 分,染色强度很强为 3 分。阳性细胞百分率评分标准:计数 500 个细胞,阳性细胞 <10% 为 0 分,10%~40% 为 1 分,41%~70% 为 2 分,>70% 为 3 分,两者相乘 0~4 定义为阴性,5~9 定义为阳性,以硫酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为阴性对照,以试剂盒提供的组织作为阳性对照。

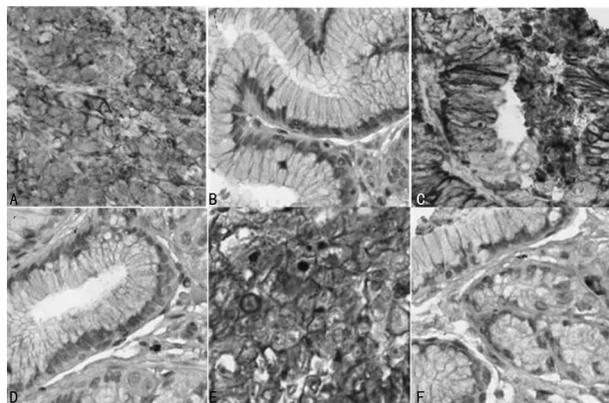
1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行处理,采用 Pearson χ^2 检验、Spearman 进行相关性分析、Kaplan-Meier 法进行生存分析,Cox 比例风险模型对预后相关因素进行分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 胃癌组织中 FOXC1、CD44 及 ALDH1 的表达 FOXC1、CD44 及 ALDH1 阳性表达率在胃癌组中均高于癌旁组 ($\chi^2 = 22.78, 13.52, 28.67, P < 0.05$)。见表 1、图 1。

表 1 FOXC1、CD44 及 ALDH1 的表达情况[n(%)]

组别	n	FOXC1	CD44	ALDH1
癌旁组	80	14(17.5)	12(15.0)	8(10.0)
胃癌组	100	52(52.0)	40(40.0)	47(47.0)
χ^2		22.78	13.52	28.67
P		<0.05	<0.05	<0.05



注:A 为 FOXC1 在胃癌组织中的阳性表达;B 为 FOXC1 在癌旁组织中的阴性表达;C 为 CD44 在胃癌组织中的阳性表达;D 为 CD44 在癌旁组织中的阴性表达;E 为 ALDH1 在胃癌组织中的阳性表达;F 为 ALDH1 在癌旁组织中的阴性表达

图 1 FOXC1、CD44 及 ALDH1 在胃癌组织及癌旁组织中的表达情况

2.2 胃癌组织中 FOXC1 的表达与肿瘤生物学的关系 经 Pearson χ^2 检验,淋巴结转移阳性胃癌患者

FOXC1 表达高于淋巴结转移阴性患者,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 7.416, P < 0.05$);TNM III~IV 期胃癌患者 FOXC1 阳性率高于 TNM I~II 期患者,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 14.321, P < 0.05$)。胃癌组织中 FOXC1 的表达与患者的性别、年龄、肿瘤直径、浸润深度、分化程度,以及病理类型均无关。见表 2。

表 2 胃癌组织中 FOXC1 的表达与胃癌临床病理生物学行为的关系[n(%)]

临床生物学特征	n	FOXC1	χ^2	P
性别			0.014	0.907
男	64	33(51.6)		
女	36	19(52.8)		
年龄(岁)			0.083	0.774
≥60	66	35(53.0)		
<60	34	17(50.0)		
肿瘤大小(cm)			0.037	0.848
≤5	51	27(52.9)		
>5	49	25(51.0)		
浸润深度			1.442	0.230
T1、T2	20	8(40.0)		
T3、T4	80	44(55.0)		
分化程度			0.852	0.356
高/中分化	35	16(45.7)		
低/未分化	65	36(55.4)		
病理分型			4.283	0.117
腺癌	75	35(46.7)		
未分化癌	13	10(76.9)		
印戒细胞癌	12	7(58.3)		
淋巴结转移			7.416	0.006
阴性	27	8(29.6)		
阳性	73	44(60.3)		
TNM 分期			14.321	<0.001
I~II	43	13(30.2)		
III~IV	57	39(68.4)		

2.3 胃癌组织中 FOXC1 的表达与预后的关系 FOXC1 阳性表达患者总体生存率为 7.69%,阴性表达患者总体生存率为 56.25%,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 38.3, P < 0.05$),Kaplan-Meier 生存分析显示,FOXC1 阳性表达患者的总体生存率低于阴性表达的患者(图 2)。Cox 比例风险回归分析显示,FOXC1 的阳性表达是胃癌患者预后的独立危险因素,见表 3。

2.4 胃癌组织中 FOXC1、CD44 及 ALDH1 表达之间的相关分析 经 Spearman 检验分析显示,FOXC1 与 CD44 呈正相关,差异有统计学意义 ($r = 0.376, P < 0.05$)。FOXC1 与 ALDH1 及 CD44 与 ALDH1 均无明显相关性 ($r = 0.045, P = 0.655; r = 0.165, P =$

0.140)。

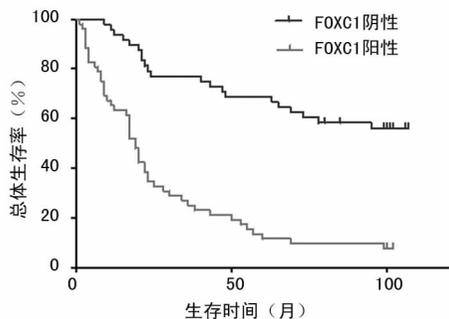


图 2 胃癌中 FOXC1 表达与预后关系的 K-M 曲线

表 3 FOXC1 的表达与预后的多因素分析

因素	B	SE	Wald	df	P	Exp(B)
FOXC1	2.275	0.342	44.274	1	<0.001	9.729
TNM 分期	1.231	0.310	15.816	1	<0.001	0.292

3 讨论

目前胃癌患者的 5 年生存率仍然不容乐观,肿瘤复发和转移是胃癌患者死亡的主要原因^[7]。因此,寻找胃癌患者可靠的诊断、预后标志物和有效的治疗靶点迫在眉睫。

本研究发现,FOXC1 在胃癌组织中的表达明显高于癌旁组织,表明 FOXC1 可能参与了胃癌的发生,其高表达可能导致胃上皮细胞突变和过度增殖,从而形成肿瘤。本研究结果表明,肿瘤细胞越趋于淋巴结转移,肿瘤组织中 FOXC1 的阳性表达率越高,提示 FOXC1 与胃癌淋巴结转移具有相关性,和以往的研究报道一致,FOXC1 高表达与淋巴结转移及不良预后相关,提示 FOXC1 可能具有促进胃癌转移的功能;TNM 分期越高,肿瘤组织中 FOXC1 表达越高,提示 FOXC1 与胃癌发展密切相关^[2-4]。生存分析结果表明,FOXC1 阳性表达患者总体生存率低于阴性者,多因素回归分析显示,胃癌组织中 FOXC1 的表达是胃癌患者的总体生存时间的独立危险因素,提示 FOXC1 阳性可能是胃癌预后差的标志物。

越来越多的证据表明,肿瘤的复发和转移与肿瘤干细胞的存在有关,肿瘤干细胞相较于普通肿瘤细胞更具有侵袭性,最为人所熟知的干细胞标志物 CD44 属于跨膜糖蛋白,与肿瘤细胞黏附、血管生成、细胞迁移及细胞增殖都有相关性,干细胞标志物 ALDH1 广泛参与细胞分化、解毒及耐药^[8-10]。之前有研究报道 CD44 与 ALDH1 相互作用与肿瘤的发生密切相关^[11]。为进一步了解 FOXC1 与胃癌转移的关系,本研究还检测了胃癌组织中干细胞标志物 CD44 和 ALDH1 的表达,胃癌组织中 CD44 的阳性表达率显著高于癌旁组织,ALDH1 的阳性表达率明显高于癌旁组织。相关性分析显示,FOXC1 与 CD44 呈正相关,说

明 FOXC1 与 CD44 在胃癌转移中可能起到协同作用,对此需要进一步研究。

参考文献

- [1] SHIN V Y, CHU K M. MiRNA as potential biomarkers and therapeutic targets for gastric cancer [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(30):10432-10439.
- [2] XIA L, HUANG W, TIAN D, et al. Overexpression of forkhead box C1 promotes tumor metastasis and indicates poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. Hepatology, 2013, 57(2):610-624.
- [3] SUN J, ISHII M, TING MC, et al. Foxc1 controls the growth of the murine frontal bone rudiment by direct regulation of a Bmp response threshold of Msx2 [J]. Development, 2013, 140(5):1034-1044.
- [4] WEI L X, ZHOU R S, XU H F, et al. High expression of FOXC1 is associated with poor clinical outcome in non-small cell lung cancer patients [J]. Tumour Biol, 2013, 34(2):941-946.
- [5] SIZEMORE S T, KERI R A. The forkhead box transcription factor FOXC1 promotes breast cancer invasion by inducing matrix metalloproteinase 7 (MMP7) expression [J]. J Biol Chem, 2012, 287(29):24631-24640.
- [6] YOO Y, KONG G, LEE M. Metastasis-associated protein 1 enhances stability of hypoxia-inducible factor-1alpha protein by recruiting histone deacetylase 1 [J]. EMBO J, 2006, 25(6):1231-1241.
- [7] LI Y, GONG J, ZHANG Q, et al. Dynamic monitoring of circulating tumour cells to evaluate therapeutic efficacy in advanced gastric cancer [J]. Br J Cancer, 2016, 114(2):138-145.
- [8] YU Z, PESTELL T G, LISANTI M P, et al. Cancer stem cells [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2012, 44(12):2144-2151.
- [9] HUANG C F, XU X R, WU T F, et al. Correlation of ALDH1, CD44, OCT4 and SOX2 in tongue squamous cell carcinoma and their association with disease progression and prognosis [J]. J Oral Pathol Med, 2014, 43(7):492-498.
- [10] SEINO S, SHIGEISHI H, HASHIKATA M, et al. CD44 (high) /ALDH1 (high) head and neck squamous cell carcinoma cells exhibit mesenchymal characteristics and GSK3beta-dependent cancer stem cell properties [J]. J Oral Pathol Med, 2016, 45(3):180-188.
- [11] ORTIZ R C, LOPES N M, AMOR N G, et al. CD44 and ALDH1 immunoexpression as prognostic indicators of invasion and metastasis in oral squamous cell carcinoma [J]. J Oral Pathol Med, 2018, 47(8):740-747.