

文章编号 1006-8147(2019)05-0510-04

论著

宫颈癌组织中 Foxm1、ANGPTL4 蛋白表达及临床意义

陈辉¹, 樊茹佳², 丁继侠¹

(1. 河南工业大学医院妇科, 郑州 450001; 2. 河南省人民医院妇产科, 郑州 450003)

摘要 目的:探讨宫颈癌组织中 Foxm1、ANGPTL4 蛋白表达及临床意义。方法:选取 2017 年 1 月-2018 年 3 月河南省人民医院保存的宫颈癌组织标本 72 例,同时选取正常宫颈组织标本 35 例作为对照组,采用免疫组化检测 Foxm1、ANGPTL4 蛋白表达水平。结果:宫颈癌组织 Foxm1 和 ANGPTL4 蛋白阳性表达率为 63.89%和 75.00%,明显高于对照组($P<0.05$);FIGO 分期 II 期、肌层浸润 $\geq 1/2$ 、中低分化宫颈癌 Foxm1 蛋白阳性表达率分别为 89.47%、84.62%和 79.07%,明显高于 I 期、肌层浸润 $<1/2$ 、高分化患者($P<0.05$);有脉管浸润宫颈癌 ANGPTL4 蛋白阳性表达率为 95.24%,明显高于无脉管浸润($P<0.05$);Foxm1 与 ANGPTL4 蛋白表达呈正相关($r_s=0.301, P<0.05$)。结论:宫颈癌组织中 Foxm1、ANGPTL4 蛋白呈高表达,在疾病发生发展中可能有重要作用。

关键词 宫颈癌; Foxm1; ANGPTL4; 临床意义

中图分类号 R737.33

文献标志码 A

Expression and clinical significance of Foxm1 and ANGPTL4 protein in cervical cancer tissues

CHEN Hui¹, FAN Ru-jia², DING Ji-xia¹

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Henan University of Technology Hospital, Zhengzhou 450001, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Henan People's Hospital, Zhengzhou 450003, China)

Abstract Objective: To investigate the expression and clinical significance of Foxm1 and ANGPTL4 in cervical cancer. **Methods:** From January 2017 to March 2018, 72 specimens of cervical cancer and 35 specimens of normal cervical tissue were selected as controls; the expression of Foxm1 and ANGPTL4 protein was detected by immunohistochemical staining. **Results:** The positive rates of Foxm1 and ANGPTL4 protein in cervical cancer tissues were 63.89% and 75.00%, which were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$); The positive expression rates of Foxm1 protein in stage II, myometrial invasion $\geq 1/2$, and moderately and poorly differentiated cervical cancer were 89.47%, 86.84% and 79.07% respectively, which were significantly higher than those in stage I, myometrial invasion $<1/2$ and well differentiated patients ($P<0.05$); The positive expression rate of ANGPTL4 protein in cervical carcinoma with vascular invasion was 95.24%, which was significantly higher than that without vascular invasion ($P<0.05$); We found a positive correlation between Foxm1 and ANGPTL4 protein expression ($r_s=0.301, P<0.05$). **Conclusion:** Foxm1 and ANGPTL4 proteins are highly expressed in cervical cancer tissues, and may play an important role in the development of diseases.

Key words cervical cancer; Foxm1; ANGPTL4; clinical significance

宫颈癌是发生在宫颈阴道部或移行带及宫颈管内膜交界处的恶性肿瘤,是发病率较高的妇科恶性肿瘤之一^[1]。宫颈癌的发病与多种因素有关。早婚早育、人乳头状瘤病毒感染、性激素失调及宫颈糜烂症等均为宫颈癌的重要发病诱因。流行病学研究^[2]提示,宫颈癌的发病率具有明显的年轻化趋势,为提高其治疗效果,了解其具体发病机制具有重要意义。研究^[3]发现, Foxm1 蛋白在肝癌、基底细胞癌、肺癌及乳腺癌的组织中均存在明显的高表达,并提示 Foxm1 蛋白可能是肿瘤发生、发展过程中重要调控分子之一,但关于宫颈癌中 Foxm1 的研究较为缺乏。ANGPTL4 可以激活整合素 $\beta 1$ 及 $\beta 5$ 调控 FAK 和 PAK 通路使

表皮角质形成细胞迁移,这也为肿瘤细胞的转移研究提供了理论基础。本研究探讨了宫颈癌组织中 Foxm1、ANGPTL4 蛋白表达水平及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月-2018 年 3 月河南省人民医院保存的宫颈癌组织标本 72 例,年龄 35~62 岁,中位年龄 50~42 岁。纳入标准:(1)均经病理学确诊;(2)术前未接受放化疗等治疗;(3)临床病理资料保存完整。排除标准:合并有其他恶性肿瘤。同时选取正常宫颈组织标本 35 例作为对照,年龄 34~64 岁,中位年龄 51.50 岁。

1.2 实验方法 取适量宫颈癌组织石蜡包埋后连续切片,免疫组化染色法检测 Foxm1、ANGPTL4 蛋白表达, DAB 显色。Foxm1 蛋白抗体(批号:20160821)及 ANGPTL4 蛋白抗体(批号:20161102), DAB 显色

基金项目 2016 年度河南省医学科技攻关计划项目(201602184)

作者简介 陈辉(1979-),女,主治医师,硕士,研究方向:妇产科;通信作者:樊茹佳, E-mail: fanrujia@126.com。

盒及 SP 试剂盒均购于南京建成生物研究所。磷酸盐缓冲液代替一抗及阳性片分别作为阴性和阳性对照,高倍显微镜下观察 Foxm1、ANGPTL4 蛋白表达情况,具体染色方法严格依照 SP 试剂盒说明书进行。

Foxm1 主要定位于细胞质和细胞核,ANGPTL4 主要定位于细胞质,呈黄色表达。采用半定量积分法:(1)石蜡切片常规脱蜡、水化及抗原修复;(2)滴加 3% H₂O₂ 溶液;(3)用正常山羊血清封闭;(4)滴加兔小鼠 NF200 特异性一抗 (1:100),4℃ 孵育过夜;(5)次日 37℃ 复温,滴加生物素标记羊抗小鼠 IgG 及辣根酶标记链酶卵白素工作液;(6)镜控 DAB 显色,苏木素复染,盐酸酒精分化,碳酸锂返蓝,最后梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,高倍显微镜观察。

对染色强度和阳性细胞比例进行评分:(1)染色强度:无着色为 0 分,淡黄色为 1 分,黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;(2)阳性细胞比例:≤10% 为 0 分,11%~25% 为 1 分,26%~50% 为 2 分,51%~75% 为 3 分,>75% 为 4 分。(1)+(2)之和,≥4 分为阳性表达^[4-5]。

1.3 统计学处理 统计分析采用 SPSS19.0 软件,计数资料比较使用 χ^2 检验,相关分析采用 Spearman 秩相关分析。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 宫颈癌和正常宫颈组织 Foxm1、ANGPTL4 蛋白表达 宫颈癌组织 Foxm1 和 ANGPTL4 蛋白阳性表达率明显高于对照组,差异比较有统计学意义 ($P<0.05$),见表 1 和图 1、2。

表 1 宫颈癌和正常宫颈组织 Foxm1、ANGPTL4 蛋白表达

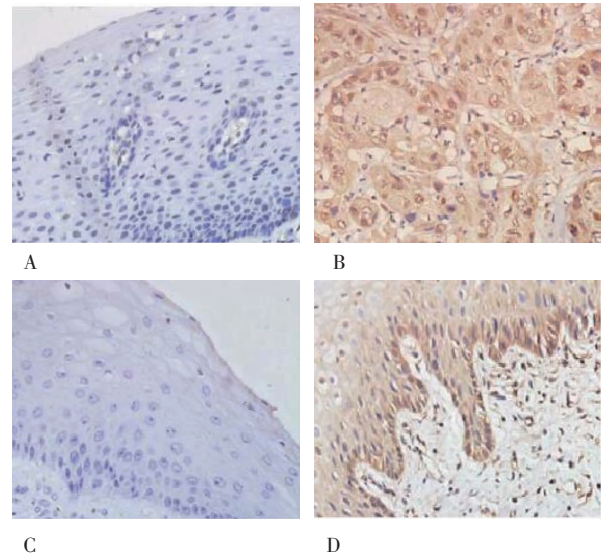
Tab 1 Expression of Foxm1 and ANGPTL4 in Cervical Carcinoma and Normal Cervical Tissues

组织	例数	Foxm1 蛋白阳性 表达率(%)	ANGPTL4 蛋白阳性 表达率(%)
宫颈癌	72	46(63.89)	54(75.00)
正常宫颈	35	5(14.29)	4(11.43)
χ^2		23.230	38.343
P		0.000	0.000

表 2 Foxm1、ANGPTL4 蛋白表达与宫颈癌临床病理特征的关系

Tab 2 Relationship between expression of Foxm1 and ANGPTL4 protein and clinicopathological features of cervical cancer

临床病理特征	例数	Foxm1 蛋白阳性表达率(%)	χ^2	P	ANGPTL4 蛋白阳性表达率(%)	χ^2	P
年龄/岁							
≤50	32	22(68.75)	0.590	0.442	23(71.88)	0.300	0.584
>50	40	24(60.00)			31(77.5)		
FIGO 分期							
I	34	12(35.29)	22.832	0.000	24(70.59)	0.669	0.413
II	38	34(89.47)			30(78.95)		
肌层浸润							
<1/2	33	13(39.39)	15.844	0.000	25(75.76)	0.019	0.891
≥1/2	39	33(84.62)			29(74.36)		



A:正常宫颈组织 Foxm1 表达;B:宫颈癌组织 Foxm1 表达;C:正常宫颈组织 ANGPTL4 表达;D:宫颈癌组织 ANGPTL4 表达($\times 400$)

图 1 宫颈组织免疫组化染色图

Fig 1 Immunohistochemical staining of cervical tissue

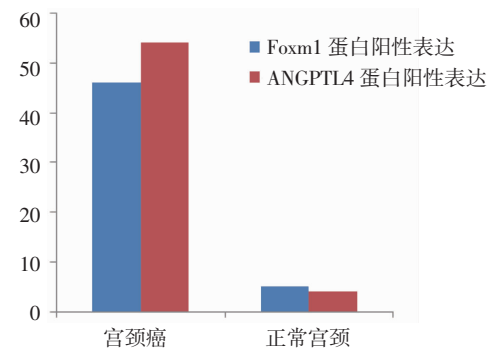


图 2 宫颈癌和正常宫颈组织 Foxm1、ANGPTL4 蛋白阳性表达

Fig 2 Positive expression of Foxm1 and ANGPTL4 protein in cervical cancer and normal cervical tissues

2.2 Foxm1、ANGPTL4 蛋白表达与宫颈癌临床病理特征的关系 FIGO 分期 II 期、肌层浸润 $\geq 1/2$ 、中低分化宫颈癌 Foxm1 蛋白阳性表达率明显高于 I 期,肌层浸润 $<1/2$ 、高分化患者 ($P<0.05$),有脉管浸润宫颈癌 ANGPTL4 蛋白阳性表达率明显高于无脉管浸润 ($P<0.05$),见表 2。

续表 2 Foxm1、ANGPTL4 蛋白表达与宫颈癌临床病理特征的关系

Tab 2 Relationship between expression of Foxm1 and ANGPTL4 protein and clinicopathological features of cervical cancer

临床病理特征	例数	Foxm1 蛋白阳性表达率(%)	χ^2	<i>P</i>	ANGPTL4 蛋白阳性表达率(%)	χ^2	<i>P</i>
组织类型							
鳞癌	51	32(62.75)	0.099	0.753	39(76.47)	0.202	0.653
腺癌	21	14(66.67)			15(71.43)		
分化程度							
高分化	29	12(41.38)	10.664	0.001	23(79.31)	0.285	0.593
中低分化	43	34(79.07)			31(72.09)		
脉管浸润							
有	21	14(66.67)	0.099	0.753	20(95.24)	6.476	0.011
无	51	32(62.75)			34(66.67)		
肿瘤直径							
>4 cm	29	18(62.07)	0.070	0.792	22(75.86)	0.019	0.890
≤4 cm	43	28(65.12)			32(74.42)		
淋巴结转移							
有	27	16(59.26)	0.401	0.526	22(81.48)	0.968	0.325
无	45	30(66.67)			32(71.11)		

2.3 相关性分析 经Spearman 秩相关分析,结果显示:Foxm1 与 ANGPTL4 蛋白表达呈正相关($r_s=0.301$, $P<0.05$),见表 3。

表 3 相关性分析

Tab 3 Relevance analysis

Foxm1 蛋白	ANGPTL4 蛋白		r_s	<i>P</i>
	阳性	阴性		
阳性	39	7	0.301	0.010
阴性	15	11		

3 讨论

宫颈癌发病率在全世界女性恶性肿瘤中居第二位,占有女性恶性肿瘤发病的 13%。而现阶段关于宫颈癌的发生、发展机制仍存在分歧。肿瘤的侵袭转移是恶性肿瘤的主要特征,是引起恶性肿瘤患者死亡的主要原因,其过程复杂多变,且由多个因素动态分段调控。Foxm1 蛋白含有多个糖蛋白配体及丝氨酸结构,可激活机体氧化应激蛋白酶,促进改变机体肿瘤微环境,进而加速癌细胞的持续增殖^[8-9]。Foxm1 的过度富集,能够转录调控增加 p53 或 p16 等癌基因的转录活性,促进肿瘤蛋白高翻译。最新的研究^[10-11]提示 Foxm1 主要在胎儿平滑肌组织、肝肾组织及部分神经间质表达,但在人体分化组织阳性表达率较低,此外 Foxm1 蛋白可降低乳腺癌的化疗敏感性,进而增加了乳腺癌治疗后的复发率。ANGPTL4 蛋白水解后的片段与整合素 β 结合后,能激活相关通路以减弱细胞间的相关联系,造成血管内皮细胞屏障功能障碍,进而利于肿瘤细胞对血管的附着和侵蚀,增强血管通透性,促进肿

瘤的发生、发展^[12-15]。

本研究结果显示,宫颈癌组织中 Foxm1 和 ANGPTL4 蛋白阳性表达率为 63.89%和 75.00%,明显高于对照组($P<0.05$)。上述结果中表明宫颈癌患者 Foxm1 和 ANGPTL4 蛋白的高表达。Foxm1 的促癌机制主要分为以下几点^[16-18]:(1)Foxm1 可促进环氧化酶 2 的高表达;(2)细胞周期紊乱是肿瘤的重要特征,而 Foxm1 能够对细胞周期进行调控;(3)Foxm1 能够促进血管内皮生长因子的高表达,该机制在胃癌的发生、发展过程中已经得到了证实;(4)Foxm1 还可能通过 DNA 复制障碍等相关机制促进细胞恶变。ANGPTL 水解后形成 cANGPTL4,其首先与细胞外基质作用,抑制内皮细胞粘附并调控肌动蛋白骨架,进而促进肿瘤滋养血管生成及内皮细胞迁移,有利于细胞的生长、转移及侵袭。

本研究 Foxm1、ANGPTL4 蛋白表达与宫颈癌临床病理特征的关系结果显示,FIGO 分期Ⅱ期、肌层浸润 $\geq 1/2$ 、中低分化宫颈癌 Foxm1 蛋白阳性表达率分别为 89.47%、84.62%和 79.07%,明显高于Ⅰ期、肌层浸润 $<1/2$ 、高分化患者;有脉管浸润宫颈癌 ANGPTL4 蛋白阳性表达率为 95.24%,明显高于无脉管浸润。上述结果提示宫颈癌组织中 Foxm1、ANGPTL4 在疾病发生发展中可能有重要作用并能够促进宫颈癌的病情发展,这可能与 Foxm1 能够促进病情诱导因子的表达,进而促进宫颈上皮细胞对宫颈癌组织及基底膜组织的浸润有关。此外,研究^[19-20]发现 ANGPTL4 在结直肠癌中的高表达与肿瘤分级、浸润程度及淋巴结转移呈显著正相关关系,该

结果与宫颈癌的发展、浸润及分期具有一致性。

本研究进一步发现 Foxm1 与 ANGPTL4 蛋白表达呈正相关,该结果再次证实 Foxm1 与 ANGPTL4 蛋白具有密切联系,两者共同促进宫颈癌的发生、发展,但两者相互作用的具体机制尚不明晰,还需要进一步研究探讨。此外,可能宫颈癌患者自身还存在一定的特异性,关于 Foxm1 与 ANGPTL4 蛋白的具体机制尚需要足够样本量研究,以提高研究数据的准确性和科学性。综上所述,宫颈癌组织中 Foxm1、ANGPTL4 蛋白呈高表达,在疾病发生发展中可能有重要作用。

参考文献:

- [1] 聂丹,刘玲,夏纪毅,等.血管生成素样蛋白 4(ANGPTL4)敲低抑制宫颈癌 SiHa 细胞增殖并促进其凋亡[J].细胞与分子免疫学杂志,2016,32(4):488
- [2] 吴欣,黄健,刘畅,等.1,25-二羟维生素 D3 对 2 型糖尿病肾病患者血管生成素样蛋白 4 水平的影响[J].实用医学杂志,2017,33(13):2201
- [3] 徐龙鑫,刘镜,张麟,等.关岭黄牛 ANGPTL4 基因多态性与生长性状关联分析[J].江苏农业科学,2016,44(9):51
- [4] 孙瑶,吕红彬,周琦,等.血管生成素样蛋白 4(ANGPTL4)在增生型糖尿病视网膜病变患者血清和玻璃体中的表达[J].眼科新进展,2017,37(1):49
- [5] 李文浩,刘秀,李少斌,等.藏绵羊 ANGPTL4 基因第 3 内含子、第 6 外显子多态性分析[J].江西农业大学学报,2017,39(3):443
- [6] Kubo H,Kitajima Y,Kai K,et al. Regulation and clinical significance of the hypoxia-induced expression of ANGPTL4 in gastric cancer[J]. Oncol Letters,2016,11(2):1026
- [7] 陈凌燕,尹卫东,唐朝克. LPL 和 Angptl4 在糖尿病性心脏病发生发展中作用的研究新进展[J].生理科学进展,2017,19(5):328
- [8] Zhu X,Guo X,Wu S,et al. ANGPTL4 correlates with NSCLC progression and regulates epithelial-mesenchymal transition via ERK pathway[J]. Lung,2016,194(4):637
- [9] 陈重九,范思邈,郑瑞茂.血管生成素样蛋白-4 在动脉粥样硬化过程中的双重作用[J].生理科学进展,2016,17(5):380
- [10] Ren Z. The ANGPTL3-4-8 model,a molecular mechanism for triglyceride trafficking[J]. Open Biology,2016,6(4):150272
- [11] 刘秀婵,白人骁. ANGPTL3 与 ANGPTL4 在类风湿关节炎患者血清中的表达意义[J].中国实验诊断学,2016,20(10):1740
- [12] Abid K,Trimeche T,Mili D,et al. ANGPTL4 variants E40K and T266M are associated with lower fasting triglyceride levels and predicts cardiovascular disease risk in Type 2 diabetic Tunisian population[J]. Lip Health Dis,2016,15(1):63
- [13] Dong D,Jia L,Zhou Y,et al. Serum level of ANGPTL4 as a potential biomarker in renal cell carcinoma[J]. UrolOncol,2017,35(5):279
- [14] Gomez P E,Liabotis-Fontugne A,Durand M,et al. ANGPTL4-79. tential biomarkere risk in Type 2 diabetic Tunisian population[J]. Lip Health Dis,2016,15(1):63
- [15] 王立娟,刘晨,许元文. ANGPTL4 对苯肾上腺素诱导的心肌纤维化的调控[J].实用医学杂志,2017,33(12):1939
- [16] 吴翠霞,张艳红,葛小花,等.高危型 HPV 感染与宫颈癌前病变与宫颈癌的相关性研究[J].中华医院感染学杂志,2016,26(11):2568
- [17] 彭俊,黄勇.90 例年轻宫颈癌患者临床特征及术后复发和预后相关因素分析[J].实用妇产科杂志,2016,32(1):42
- [18] 李双,李雄,张媛,等.宫颈癌的手术-病理分期和评分系统的建立和验证[J].现代妇产科进展,2016,25(11):801
- [19] 宋亮,谢思遐,战军,等.652 例早期宫颈癌患者临床病理特征分析及选择低危患者条件探讨[J].实用妇产科杂志,2016,32(2):126
- [20] 陈晓露,张波,吴蓉宜. CK26、VEGF 和 p53 蛋白表达对宫颈癌患者预后的预测价值研究[J].重庆医学,2016,45(8):1083

(2018-09-28 收稿)

(上接第 509 页)

- [7] 唐伟娜,杨瑞青.生物标志物在肺癌“实时”疗效评估中的研究进展[J].临床肺科杂志,2017,22(3):560
- [8] 孙颖哲,孙静,朴俊杰,等.射波刀治疗非小细胞肺癌脑转移近期疗效分析[J].传染病信息,2017,30(1):41
- [9] 王静,贾敬好,杨海芳,等.三维适形/调强放疗结合化疗联合 DC-CIK 免疫治疗 II、III 期非小细胞肺癌疗效探讨[J].中华肿瘤防治杂志,2016,11(s1):115
- [10] 苏胜发,胡银祥,欧阳伟炜,等.非寡转移 IV 期非小细胞肺癌化疗同期胸部三维放疗预后分析[J].中华肿瘤防治杂志,2017,24(5):322
- [11] 和劲光.替吉奥联合奈达铂及同步三维适形放射治疗 III 期非小细胞肺癌效果观察[J].山东医药,2016,56(13):78
- [12] 沙莎,霍明昌,王茂玉,等.替吉奥联合 3D-CRT 与微波热疗治疗老年局部晚期食管癌的临床观察[J].中国药房,2016,27(26):3702
- [13] 曹建忠,梁玉,刘宝,等.放射治疗在老年人 III 期非小细胞肺癌中的临床价值及其预后因素分析[J].中华老年医学杂志,2016,35(9):951
- [14] 徐升,张军宁,甘广辉.放疗技术对早期周围型非小细胞肺癌老年患者剂量影响的研究[J].中国地方病防治杂志,2017,11(7):767

(2018-09-26 收稿)