

FoxM1 与 EMT 相关蛋白 E-cadherin 在结肠癌中的表达及其相关性研究

金成, 方钊德, 詹杰锋, 骆鑫军

浙江省诸暨市第四人民医院, 浙江 诸暨 311835

摘要: **目的** 探讨结肠癌组织中 FoxM1 和 EMT 相关蛋白 E-cadherin 的表达及其与临床病理特征的相关性。 **方法** 采用免疫组织化学 Envision 二步法检测 FoxM1 和 EMT 相关蛋白 E-cadherin 在 80 例结肠癌组织及其癌旁正常结肠粘膜组织中的表达情况, 分析二者表达与结肠癌临床病理特征的关系及其二者之间的相关性。 **结果** FoxM1 和 E-cadherin 在结肠癌组织中阳性率分别为 65.00% (52/80)、31.25% (25/80), 而癌旁组织中阳性率分别为 23.75% (19/80)、100.00% (80/80)。FoxM1 在结肠癌组织中的阳性表达率明显高于癌旁正常结肠组织 ($\chi^2 = 12.03, P < 0.05$), 而 E-cadherin 在结肠癌组织中的阳性表达率均明显低于癌旁正常结肠组织 ($\chi^2 = 98.59, P < 0.05$)。FoxM1 和 E-cadherin 在结肠癌组织中的表达均与肿瘤组织分化、Dukes 分级、淋巴结转移、浸润深度及远处转移密切相关 (均 $P < 0.05$), 且两者呈负相关 ($r_s = -0.628, P < 0.05$)。 **结论** FoxM1 高表达和 E-cadherin 低表达与结肠癌发生发展及增殖、浸润转移等临床病理学特征有较密切关系, FoxM1 的促结肠癌侵袭转移能力可能与下调 E-cadherin 的表达有关, 两者均可能成为结肠癌新的预后评估指标及潜在的治疗靶点。

关键词: 结肠癌; 免疫组织化学; FoxM1; E-cadherin

中图分类号: R735.3⁺5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2018)05-0594-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2018.05.023

结肠癌的发生发展是一个很复杂的过程, 涉及到众多因子的相互作用, 目前对结肠癌的发生及浸润、转移等发生机理仍不十分清楚, 一直是结肠癌研究的

作者简介: 金成 (1977-), 男, 浙江诸暨人, 本科学历, 副主任医师, 主要从事普外科工作。

关注点, 这对提高临床早诊断、评估预后的能力, 指导临床早期诊断和评估预后均具有重要意义^[1-2]。叉头框转录因子 M1 (forkhead box M1, FoxM1) 是 Forkhead 家族的一个细胞周期重要调控因子, 已被证实它能够促进多种肿瘤的形成、增殖、周期进展及浸润和转移等

医院相对较少, 因此当冠心病急性发作时患者无法及时就医。分析院前死亡分布的地点和时间发现, 绝大多数的院前死亡发生在家中^[12]。回顾吴芳和段惠玲^[13]的一项调查统计可见, 78.9% 的急性冠心病患者院前死亡发生在突发疾病后的 1 h 以内, 结合本次研究, 武汉市 2014 年冠心病急性发作 1 h 之内院前死亡所占比例为 62.22%, 2015 年为 65.50%、2016 年为 63.45%, 和上述调查一致。

综上所述, 目前武汉市 2014-2016 年 25~45 岁人群急性冠心病院前死亡率还较高, 且大多为年龄在 25~35 岁之间的青壮年, 居住地偏远、文化水平相对较低的未婚人群, 绝大多数院前死亡发生在疾病发病后的 1 h 内, 因此, 提倡需加强远郊及未婚居民的冠心病急性发作院前急救能力, 对于文化水平较低的居民采用其可接受和理解的方式进行急性冠心病急救措施的讲解, 开展居民健康知识宣教工作, 从而提高急性冠心病院前成功抢救率。

参考文献

- [1] 刘正华. 急性心脑血管疾病患者的院前急救分析[J]. 医学信息, 2015, 28(51): 304.
- [2] 李金秀, 赵秋利. 急性心肌梗死高危者院前延迟行为意向的现状及相关因素调查[J]. 大家健康(下旬版), 2013, 7(1): 2-3.
- [3] 冯江黎, 朱小芳, 梅祖胜, 等. 探讨院前急救在急性心肌梗死的临床救治效果及预后[J]. 今日健康, 2016, 15(3): 111-112.
- [4] 王明飞, 肖晓兰. 某城区 635 例院前死亡病例分析和院前急救探讨[J]. 中国病案, 2014, 15(1): 33-35.
- [5] 邓木兰, 李河, 石美玲, 等. 广州市番禺区农民急性冠心病事件发病率及 20 年变化趋势[J]. 中华心血管病杂志, 2014, 42(3): 236-241.
- [6] Dudas K, Lappas G, Stewart S, et al. Trends in out-of-hospital deaths due to coronary heart disease in Sweden 1991 to 2006[J]. Circulation, 2011, 123(1): 46-52.
- [7] 万浩, 李岩, 刘静, 等. 北京青年急性冠心病事件院前死亡流行病学研究[J]. 中华内科学杂志, 2012, 51(4): 274-278.
- [8] 池菊芳, 徐步云, 郭航远, 等. 区域协同急性胸痛患者的院前转运-绍兴模式[J]. 心脑血管病防治, 2016, 16(4): 318-319.
- [9] 吕志强, 郭晓东, 马立芝, 等. 218 例急诊患者死亡病因分析[J]. 中国病案, 2012, 13(1): 52-53.
- [10] 高燕琳, 苏健婷, 韦再花, 等. 2007-2009 年北京市 25 岁以上居民急性冠心病时间院前死亡特征分析[J]. 中华心血管病杂志, 2012, 40(3): 199-203.
- [11] 曹小燕, 张凤岭. 白云机场 162 例意识丧失患者的院前急救分析[J]. 临床医学工程, 2012, 19(2): 223-224.
- [12] 王雅南. 淄博市 1 361 例院前死亡病例分析[J]. 中国医学创新, 2012, 23(9): 150-151.
- [13] 吴芳, 段惠玲. 71 例急性心肌梗死患者院前急救与转运[J]. 吉林医学, 2012, 33(14): 3121-3122.

收稿日期: 2017-07-14

过程,同时其异常表达与肿瘤的恶性生物学行为密切相关^[3-4]。有研究发现 E-钙黏蛋白表达下降或者消失是上皮-间质转化(EMT)发生步骤中的第一步,肿瘤细胞的细胞表型由此转为间质细胞,从而能够发生侵袭和迁移^[5-6]。目前国内关于 FoxM1 和 E-cadherin 蛋白在结肠癌形成及发生浸润、转移过程中的作用仍少见报道。本研究应用免疫组织化学方法探讨 FoxM1 和 E-cadherin 蛋白在结肠癌组织中的表达及其与临床病理特征的相关性,旨在为临床治疗和预后的评估提供参考和理论依据。

1 对象与方法

1.1 对象 选取 2000 年 1 月-2016 年 12 月浙江省诸暨市第四人民医院手术切除、经病理证实且有完整临床资料的结肠癌石蜡标本 80 例,未经任何放疗、化疗及其它辅助方法治疗。入选标本中男 41 例,女 39 例;年龄 27~72(51.6±4.5)岁。另从入选的 80 例结肠癌标本中取癌旁正常结肠粘膜组织,距肿瘤大约 2 cm 处进行取材,且均经病理证实为正常粘膜组织。

1.2 方法 对结肠癌及癌旁正常结肠粘膜组织进行免疫组化 EnVision 法检测 FoxM1 和 E-cadherin 蛋白的表达情况。EnVision 试剂盒、DAB 显色试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司,FoxM1 和 E-cadherin 抗体均购自美国 PTC 公司。操作程序过程严格按照试剂说明书进行。染色结果判断:FoxM1 蛋白染色阳性表现为癌细胞核或细胞浆出现黄色或棕黄色颗粒状,E-cadherin 染色阳性表现为细胞膜及细胞浆内出现黄色或棕黄色颗粒。采用半定量评分法,染色强度:0 分,无色;1 分,染色弱但明显强于阴性对照;2 分,染色清晰,中等程度;3 分,染色程度强。阳性细胞数:0 分,无阳性细胞;1 分,阳性细胞≤25%;2 分,阳性细胞占 26%~50%;3 分,阳性细胞占 51%~75%;4 分,阳性细胞>75%。上述两项评分相加,0~1 分为(-),2~3 分为(±),4~5 分为(+),6~7 分为(++);(-)和(±)判为阴性,(+)和(++)判为阳性。

1.3 统计学方法 数据分析整理采用 SPSS 18.0 统计软件。FoxM1 和 E-cadherin 蛋白在不同组织和不同临床病理特征的表达比较采用卡方检验,二者之间的相关性分析采用 Spearman 等级相关检验。检验水准 α=0.05。

2 结果

2.1 结肠癌组织和癌旁组织中 FoxM1 和 E-cadherin 蛋白的表达比较 FoxM1 和 E-cadherin 在结肠癌组织中阳性率分别为 65.00%(52/80)、31.25%(25/80),而

癌旁组织中阳性率分别为 23.75%(19/80)、100.00%(80/80)。FoxM1 在结肠癌组织中的阳性表达率明显高于癌旁正常结肠组织($\chi^2=27.574,P<0.05$),而结肠癌组织中 E-cadherin 蛋白的阳性表达率均明显低于癌旁正常结肠粘膜组织($\chi^2=83.810,P<0.05$)。

2.2 FoxM1 和 E-cadherin 的表达与临床病理学特征的相关性 FoxM1 和 E-cadherin 在结肠癌组织中的表达均与肿瘤组织分化、Dukes 分级、淋巴结转移、浸润深度及远处转移密切相关($P<0.05$),而与性别、年龄、肿瘤直径无关。见表 1。

表 1 结肠癌组织中 FoxM1 和 E-cadherin 表达与临床病理学特征的关系(n,%)

| 临床病理学特征 | 例数 | FoxM1 | | E-cadherin | | |
|----------|----|-------------------------|------------|------------|-----------------------|----------------|
| | | 表达阳性 例数(%) | χ^2 值 | P 值 | 表达阳性 例数(%) | χ^2 值 P 值 |
| 性别 | | | 0.027 | 0.870 | | 0.008 0.928 |
| 男 | 41 | 27(65.9) | | | 13(31.7) | |
| 女 | 39 | 25(64.1) | | | 12(30.8) | |
| 年龄(岁) | | | 0.001 | 0.981 | | 0.045 0.832 |
| <50 | 37 | 24(64.9) | | | 12(32.4) | |
| ≥50 | 43 | 28(65.1) | | | 13(30.2) | |
| 肿瘤直径(cm) | | | 0.014 | 0.906 | | 0.001 0.976 |
| ≥5 | 35 | 23(65.7) | | | 11(31.4) | |
| <5 | 45 | 29(64.4) | | | 14(31.1) | |
| Dukes 分期 | | | 15.196 | 0.000 | | 14.895 0.000 |
| A~B | 45 | 21(46.7) ^a | | | 22(48.9) ^a | |
| C~D | 35 | 31(88.6) | | | 3(8.6) | |
| 组织分化 | | | 12.126 | 0.002 | | 24.717 0.000 |
| I | 12 | 4(33.3) ^a | | | 11(91.7) ^a | |
| II | 46 | 28(60.9) | | | 11(23.9) | |
| III | 22 | 20(90.9) | | | 3(9.0) | |
| 淋巴结转移 | | | 16.938 | 0.000 | | 13.502 0.000 |
| 有 | 30 | 28(93.3) ^a | | | 2(7.0) ^a | |
| 无 | 50 | 24(48.0) | | | 23(46.0) | |
| 浸润深度 | | | 55.800 | 0.000 | | 59.477 0.000 |
| 侵及浆膜及以外 | 52 | 49(94.2) ^a | | | 1(2.0) ^a | |
| 未及浆膜 | 28 | 3(10.7) | | | 24(85.7) | |
| 远处转移 | | | 8.358 | 0.004 | | 7.056 0.008 |
| 有 | 13 | 13(100.00) ^a | | | 0(0.00) ^a | |
| 无 | 67 | 39(58.2) | | | 25(37.3) | |

注:aP<0.05。

2.3 结肠癌组织中 FoxM1 和 E-cadherin 表达的相关性 FoxM1 和 E-cadherin 在结肠癌组织中表达的相互关系,显示两者具有密切相关性($r_s=-0.628,P<0.05$),呈负相关。见表 2。

表 2 结肠癌组织中 FoxM1 和 E-cadherin 表达的相关性

| FoxM1 | E-cadherin | | r_s 值 | P 值 |
|-------|------------|----|---------|-------|
| | 阳性 | 阴性 | | |
| 阳性 | 4 | 48 | -0.628 | <0.05 |
| 阴性 | 21 | 7 | | |

3 讨论

FoxM1 定位于 12p13.3 号染色体,是 Forkhead 蛋白家族中与增殖相关的特异性转录因子,具有调节细

胞周期的进展、调节细胞增殖、分化、维持基因组的稳定性等功能,不仅参与正常细胞的生长、增殖以及凋亡与 DNA 损伤修复等诸多病理过程,还参与肿瘤的发生。研究发现 FoxM1 在多种实体肿瘤中呈高表达,其中包括胃癌、肺癌、胰腺癌、乳腺癌、肝癌、前列腺癌和结肠癌等常见恶性肿瘤^[7-9],虽已阐明 FoxM1 势必在肿瘤的发生发展过程中扮演着重要作用,下调 FoxM1 的表达可以明显抑制肿瘤细胞的迁移侵袭^[10-11],但其详尽的致癌机制及其在肿瘤细胞迁移侵袭过程中的作用机制仍不清楚。本研究结果显示,FoxM1 在结肠癌组织中呈异常高表达,明显高于癌旁正常结肠粘膜组织中的表达($P<0.05$),证明了 FoxM1 作为一个强有力的致癌因子,可能参与了结肠癌的发生;而且 FoxM1 在结肠癌组织中的表达与肿瘤组织分化、Dukes 分级、淋巴结转移、浸润深度及远处转移密切相关($P<0.05$)。这进一步证实了 FoxM1 异常表达与结肠癌发生发展及增殖、浸润、转移等恶性生物学行为有较密切关系,可以推测深入探讨 FoxM1 的促进结肠癌增殖转移的作用,将为结肠癌提供新的治疗靶点。

EMT 相关蛋白 E-cadherin 是一种属于 I 型钙粘蛋白家族的跨膜糖蛋白,介导细胞与细胞之间相互黏附,其分子量为 120 kD,主要分布于同种上皮细胞膜上的细胞连接处。细胞中一旦出现 E-cadherin 表达下降或者缺失,细胞之间的黏附能力即出现减弱情况,细胞不能发生相互聚集或黏附,从而为肿瘤的侵袭与转移提供了基础条件。有研究发现^[12-13],肿瘤细胞中 E-cadherin、 β -catenin 等上皮型蛋白表达下降或者缺失时,细胞会发生 EMT。本研究结果发现,E-cadherin 在结肠癌组织中的阳性表达率均明显低于癌旁正常结肠组织($P<0.05$),提示 E-cadherin 的低表达在结肠癌的发生过程中起着重要促进作用;同时本研究结果发现 E-cadherin 的低表达与结肠癌的肿瘤组织分化、Dukes 分级、淋巴结转移、浸润深度及远处转移密切相关。提示 E-cadherin 的表达下降,不仅与结肠癌的发生密切相关,更在结肠癌浸润和转移过程中发挥着重要的作用。推测 E-cadherin 可以使肿瘤细胞间保持密切接触,抑制肿瘤细胞难以脱离原发灶进入周围组织和血管,当它表达下降或缺失时,肿瘤细胞具备了浸润和迁移的潜能,从而从原发灶脱落,并向相邻的组织或远处发生转移。说明 E-cadherin,可以作为判定结肠癌发生、发展以及浸润、转移的分子指标。

目前有研究发现,E-cadherin 可能是 FoxM1 的一个直接靶基因,FoxM1 可通过下调肿瘤组织中 E-cad-

herin 的表达,促进 EMT 的发生,从而参与肿瘤细胞侵袭转移的过程^[14-15]。本研究对 FoxM1 和 E-cadherin 在结肠癌组织中表达的关系进行分析,显示两者具有密切相关性($P<0.05$),呈负相关。提示 E-cadherin 可能是转录因子 FoxM1 的下游调节基因之一,FoxM1 可通过调控下降 E-cadherin 的表达,而参与 EMT 的发生,从而参与了肿瘤组织的发生发展过程。推测 FoxM1 的促结肠癌侵袭转移能力可能与下调 E-cadherin 的表达有关,但其具体相关机制仍需进一步的研究。

综上所述,FoxM1 高表达和 E-cadherin 低表达与结肠癌发生发展及增殖、浸润转移等临床病理学特征有较密切关系,FoxM1 的促结肠癌侵袭转移能力可能与下调 E-cadherin 的表达有关,两者均可能成为结肠癌新的预后评估指标及潜在的治疗靶点。

参考文献

- [1] 杨万广,王万鹏,张谢夫. ALDH1A2、MMP2 和 E-cadherin 在结肠癌组织中的表达及相关性[J]. 世界华人消化杂志,2013,21(4): 362-366.
- [2] Siegel R,Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics,2012[J]. CA Cancer J Clin,2012,62(1):10-29.
- [3] Myatt SS, Kongsema M, Man CW, et al. SUMOylation inhibits FoxM1 activity and delays mitotic transition [J]. Oncogene, 2014, 33(34): 4316-4329.
- [4] Zhang Z, Zhang G, Kong C. FoxM1 participates in PLK1-regulated cell cycle progression in renal cell cancer cells[J]. Oncol Lett, 2016, 11(4):2685-2691.
- [5] Fenouille N, Tichet M, Duties M, et al. The epithelial-mesenchymal transition (EMT) regulatory factor SLUG (SNAI2) is a downstream target of SPARC and AKT in promoting melanoma cell invasion [J]. PLoS ONE, 2012, 7(7):e40378.
- [6] Wang ZS, Shen Y, Li X, et al. Significance and prognostic value of Gli-1 and Snail/E-cadherin expression in progressive gastric cancer [J]. Tumour Biol, 2014, 35(2):1357-1363.
- [7] Halasi M, Gartel AL. FOX(M1) news-it is cancer[J]. Mol Cancer Ther, 2013, 12(3):245-254.
- [8] Khongkow P, Gomes AR, Gong C, et al. Paclitaxel targets FoxM1 to regulate KIF20A in mitotic catastrophe and breast cancer paclitaxel resistance [J]. Oncogene, 2016, 35(8):990-1002.
- [9] Park YY, Jung SY, Jennings NB, et al. FoxM1 mediates Dox resistance in breast cancer by enhancing DNA repair [J]. Carcinogenesis, 2012, 33(10):1843-1852.
- [10] Yang C, Chen H, Yu L, et al. Inhibition of FoxM1 transcription factor suppresses cell proliferation and tumor growth of breast cancer [J]. Cancer Gene Ther, 2013, 20(2):117-124.
- [11] 孔飞飞,袁海花,王炯铁,等. FoxM1 对非小细胞肺癌细胞迁移、浸润的影响[J]. 现代肿瘤医学,2013,21(11):2427-2431.
- [12] Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumor progression [J]. Nat Rev Cancer, 2002, 2(6):442-454.
- [13] Yuan W, Chen Z, Wu S, et al. Expression of Eph A2 and E-cadherin in gastric cancer: correlated with tumor progression and lymphogenous metastasis[J]. Pathol Oncol Res, 2009, 15(3):473-478.
- [14] Wierstra I. The transcription factor FoxM1c binds to and transactivates the promoter of the tumor suppressor gene E-cadherin [J]. Cell Cycle, 2011, 10(5):760-766.
- [15] Miao L, Xiong X, Lin Y, et al. Down-regulation of FoxM1 leads to the inhibition of the epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer cells [J]. Cancer Genet, 2014, 207(1):75-82.

收稿日期:2017-05-10