

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.05.004

转录因子 FOXP1 在胃癌组织中的表达及意义*

刘 剑 尚 鑫 沙素梅 夏丽敏 吴开春[△]

(第四军医大学西京消化病医院肿瘤生物学国家重点实验室 陕西 西安 710032)

摘要 目的:检测 FOXP1 蛋白在胃癌组织及癌旁正常组织中的表达情况,并探讨其与胃癌患者病理参数及预后的关系。**方法:**采用免疫组织化学染色方法检测 90 例胃癌组织和相应癌旁正常组织中 FOXP1 的表达情况并进行评分,进一步统计分析 FOXP1 表达与胃癌患者临床病理参数以及预后的关系。**结果:**FOXP1 在胃癌组织中的表达显著低于癌旁正常组织($P<0.01$);对临床资料进行统计分析表明,在临床 III 期和 IV 期患者的胃癌组织中 FOXP1 的表达显著低于临床 I 期和 II 期的患者($P<0.05$);FOXP1 在低分化胃癌中的表达显著低于高、中分化胃癌($P<0.01$);FOXP1 表达阳性者术后总体生存率较表达阴性者高($P=0.145$),中位生存期长。**结论:**FOXP1 表达的减少可能参与了胃癌的发生发展,FOXP1 在胃癌中可能扮演抑癌基因的角色,FOXP1 可作为胃癌治疗的潜在靶点。

关键词:FOXP1 蛋白;胃癌;免疫组织化学;抑癌基因

中图分类号:R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)05-814-05

Expression and Significance of Forkhead Box P1 in the Tissues of Gastric Cancer*

LIU Jian, SHANG Xin, SHA Su-mei, XIA Li-min, WU Kai-chun[△]

(State Key Laboratory of Cancer Biology and Xijing Hospital of Digestive Disease, The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression and clinical significance of Forkhead box P1(FOXP1) protein in gastric cancer tissues and adjacent non-tumor tissues. **Methods:** Immunohistochemistry was used to detect the expression of FOXP1 in 90 gastric cancer tissues and paired adjacent non-tumor tissues. Statistic analyses were explored to value its correlation with the clinicopathological characteristics and prognosis. **Results:** FOXP1 expression was significantly decreased in gastric cancer tissues compared with the corresponding adjacent non-tumor tissues ($P<0.01$). Further analysis about its correlation with the clinicopathological characteristics showed that FOXP1 expression was significantly lower in patients of clinical III-IV stage than in I-II stage ($P<0.05$). The expression of FOXP1 was significantly lower in poorly differentiated gastric cancer than in moderately and well differentiated gastric cancer ($P<0.01$). Patients with FOXP1 positive expression had a better prognosis and longer median survival time than those with negative expression ($P=0.145$). **Conclusions:** The decreased FOXP1 expression may contribute to gastric cancer initiation and progression. FOXP1 may play its role as a tumor suppressor in gastric cancer. FOXP1 is a potential therapeutic target in gastric cancer.

Key words: Forkhead box P1(FOXP1); Gastric cancer; Immunohistochemistry; Tumor suppressor gene

Chinese Library Classification(CLC): R735.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)05-814-05

前言

转录因子 FOXP1 (forkhead box P1) 是 FOX 家族成员之一,其特征是拥有共同的 DNA 结合结构域。FOXP1 蛋白生物学功能广泛,在调节 B 细胞发育、单核细胞分化、促进心肌细胞和肺的发育过程中都发挥重要作用^[1-4]。近年研究发现,在多种肿瘤中 FOXP1 表达水平异常,发挥抑癌基因或癌基因的作用^[5]。然而,FOXP1 与胃癌关系的研究却很少。因此,我们采用免疫组织化学染色的方法检测 90 例胃癌组织和相应癌旁正常组织

中 FOXP1 的表达情况,分析 FOXP1 在胃癌中的表达模式及其与胃癌患者临床病理参数之间的关系以及对预后的影响,旨在探讨 FOXP1 在胃癌发生发展中可能发挥的作用,以期对胃癌的治疗和预后评价提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 一般资料

病例资料来自上海芯超生物科技有限公司组织芯片(HStm-Ade180Sur-02),包括生存期胃腺癌 90 例,癌组织和相

* 基金项目:国家重点基础研究发展计划"973 项目"(2010CB529302);国家自然科学基金项目(81272652;81172290;91129723)

作者简介:刘剑(1989-),男,硕士研究生,住院医师,主要研究方向:胃癌的诊断与治疗,

电话:15929779268, E-mail: liujianfmmu@foxmail.com

△通讯作者:吴开春,男,教授,博士生导师, E-mail: kaicwu@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2013-09-30 接受日期:2013-10-21)

应癌旁组织各 1 点,手术时间为 2008 年 2 月至 2008 年 8 月,随访至 2013 年 8 月,随访时间 5-5.5 年,每例病例均有详细的临床病理和预后随访资料。年龄为 42-83 岁,平均为 64.4 岁,其中男 62 例,女 28 例。按照临床分期分为:I、II 期 35 例,III、IV 期 55 例,按照病理分级分为:高、中分化 34 例,低分化 56 例。

1.2 试剂与方法

FOXP1 抗体(abcam 公司,货号 ab32010)为鼠抗人单克隆抗体,稀释比 1:100。采用 SP 免疫组织化学染色法,按照免疫组化染色试剂盒(北京中杉金桥)说明书操作,具体如下:切片 60℃ 烤片 30 min,二甲苯脱蜡、梯度酒精水化;柠檬酸盐缓冲液煮沸,抗原修复 2 min;3% H₂O₂ 封闭内源性过氧化物酶活性 10 min,冷却后 PBS 洗 3 次,每次 3 min;滴加正常山羊血清封闭液,室温孵育 30 min;倾去血清,滴加稀释后的一抗,置于湿盒中 4℃ 过夜;复温 60 min 后,PBS 洗 3 次,每次 3 min,滴加生物素标记山羊抗小鼠 IgG 室温孵育 20 min;PBS 洗 3 次,每次 3 min,滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液室温孵育 15 min,PBS 洗 3 次,每次 3 min;DAB 试剂(北京中杉金桥)显色,自来水冲洗,苏木素(碧云天)复染 2 min,切片梯度酒精脱水二甲苯透明后中性树胶封片。用 PBS 液替代一抗作为阴性对照。

1.3 免疫组织化学染色结果判断

由两位病理医师在不知道任何临床资料和病理资料的情

况下独立对免疫组化染色情况进行评分。显微镜下随机取 5 个视野,根据染色强度和染色面积进行评分。根据染色强度评分:基本不着色为 0 分,着色淡为 1 分,着色适中为 2 分,着色深为 3 分。根据染色面积评分:<5%为 0 分,5%-25%为 1 分,26%-50%为 2 分,51%-75%为 3 分,>75%为 4 分。以上两种评分的乘积作为最终染色得分,≤1 分视为阴性,≥2 分视为阳性。

1.4 统计学处理

应用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,分类变量相关性分析采用 X² 检验,生存率组间比较采用 Kaplan-Meier 法 log-rank 检验,单因素和多因素分析采用 Cox 比例风险回归模型。P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 FOXP1 在胃癌组织中的表达显著低于癌旁正常组织

对 90 例胃癌组织和癌旁正常组织组织芯片进行免疫组织化学染色,结果发现 FOXP1 在癌细胞及正常细胞中均可见胞核和胞质表达。在癌旁正常组织中 FOXP1 表达阳性率为 87.78%(79/90)。在胃癌组织中 FOXP1 表达阳性率为 35.55%(32/90),显著低于癌旁正常组织,差异具有统计学意义(P<0.01)(图 1,表 1)。

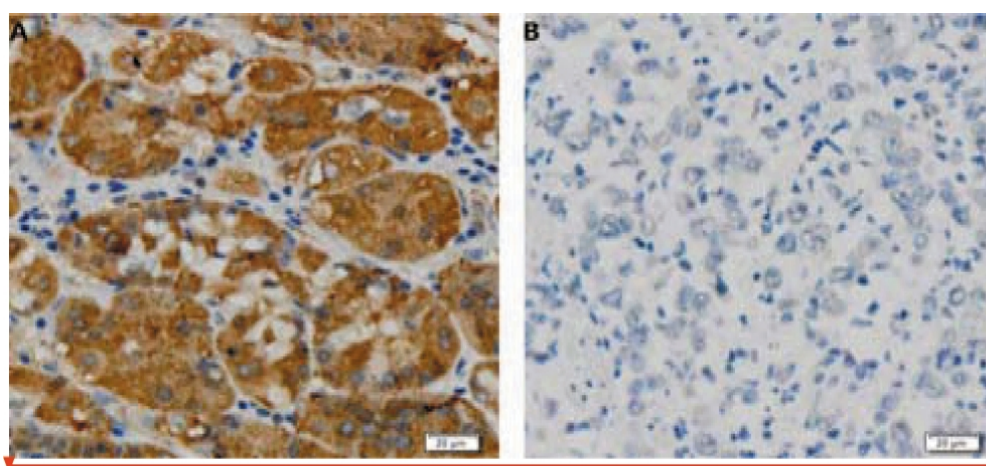


图 1 FOXP1 在胃癌组织及癌旁正常组织中的免疫组化染色

A FOXP1 在癌旁正常组织中呈强阳性表达 B FOXP1 在胃癌组织中呈阴性表达

Fig.1 FOXP1 expression in gastric cancer tissues and paired adjacent non-tumor tissues (IHC staining)

A High expression of FOXP1 in adjacent non-tumor tissues B Negative expression of FOXP1 in gastric cancer tissues

表 1 FOXP1 在胃癌组织及癌旁正常组织中的表达

Table 1 The expression of FOXP1 in gastric cancer tissues and paired adjacent non-tumor tissues

Group	Case(n)	FOXP1(Negative)	FOXP1 (Positive)	X ²	P Value
Gastric cancer tissues	90	58	32	51.92	<0.001
Adjacent non-tumor tissues	90	11	79		

2.2 FOXP1 在胃癌组织中的表达与胃癌患者临床病理参数的关系

对胃癌患者临床病理参数与 FOXP1 表达情况进行统计分析,结果发现 FOXP1 的表达与胃癌患者的临床分期、病理分级、T 分期和 N 分期显著相关(P<0.05),而与患者的年龄、性别、肿瘤大小和淋巴结转移情况无显著相关性(P>0.05)(表 2)。

在临床 III 期和 IV 期的胃癌标本中 FOXP1 的表达显著低于临床 I 期和 II 期的患者(P<0.05);FOXP1 在低分化胃癌中的表达显著低于高、中分化胃癌(P<0.01);在 T3 和 T4 期的患者标本中表达显著低于 T1 和 T2 期的患者(P<0.05);在 N2 和 N3 的标本中表达显著低于 N0 和 N1 的标本(P<0.05)。

2.3 FOXP1 在胃癌组织中的表达与胃癌患者生存期的关系

表 2 FOXP1 的表达与胃癌患者临床病理参数的关系

Table 2 Correlation between FOXP1 expression and clinicopathological characteristics of 90 patients

Clinicopathological variables		Case	Foxp1 Negative(n=58)	Foxp1 Positive(n=32)	P Value
Age(years)	≤ 60	32	23	9	0.274
	>60	58	35	23	
Gender	Male	62	43	19	0.147
	Female	28	15	13	
Maximal tumor size(cm)	≤ 5	39	24	15	0.614
	>5	51	34	17	
Clinical stage	I-II	35	18	17	0.039
	III-IV	55	40	15	
Pathological grade	Well/Moderate	34	16	18	0.007
	Poor	56	42	14	
T classification	T1-T2	11	4	7	0.037
	T3-T4	79	54	25	
N classification	N0-N1	35	17	18	0.012
	N2-N3	55	41	14	
Lymph node metastasis	No	25	13	12	0.126
	Yes	65	45	20	

对 90 例胃癌患者进行 Kaplan-Meier 生存分析, log-rank 检验发现 FOXP1 的表达与患者术后总体生存率差异无统计学意义 ($P>0.05$) (图 2), 但 FOXP1 表达阳性者术后总体生存率较表达阴性者高, FOXP1 表达阳性者中位生存期为 54 个月, FOXP1 表达阴性者中位生存期为 22 个月。单因素分析显示, 在 90 例胃癌病例中, 肿瘤大小、临床分期、T 分期、N 分期和有淋巴结转移与患者的预后相关 ($P<0.05$) (表 3)。将单因素分析中与预后相关的因素引入 Cox 回归模型进行多因素分析, 结果表明有无淋巴结转移是胃癌患者术后生存率的独立预测因素 ($P<0.05$) (表 3)。

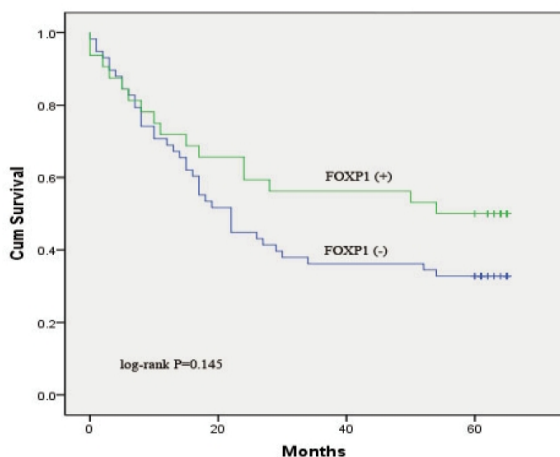


图 2 FOXP1 的表达与胃癌患者术后生存率的关系

Fig.2 The relationship between FOXP1 expression and the prognosis of gastric cancer patients

3 讨论

胃癌严重危害人类的生命健康, 是我国最常见的胃肠道肿瘤。虽然在世界范围内其发病率有所下降, 但每年仍有很多人死于胃癌^[6]。随着诊疗手段的发展, 胃癌患者的生存率有所提高, 但其总体疗效仍不令人满意。目前, 胃癌的发病机制远未阐明。胃癌的发生是一个非常复杂的生物学过程, 包括众多癌基因和抑癌基因的功能异常。因此, 研究胃癌发生发展的分子机制, 发现新的生物标志物, 显得尤为迫切。

FOXP1 基因定位于染色体 3p14.1, 其蛋白具有多种生物学功能, 包括调节 B 细胞发育、单核细胞分化、促进心肌细胞和肺的发育等^[1-4]。FOXP1 在不同肿瘤中临床意义不同^[5]。目前资料表明 FOXP1 在淋巴瘤发生中可能起到癌基因的作用。在粘膜相关淋巴组织 (MALT) 淋巴瘤中, 由于染色体转位和融合基因的产生, 导致其表达异常升高^[7], 与预后不良和恶性转归相关^[8]。在弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 中, FOXP1 高表达提示预后不良^[9-10]。乳腺癌中 FOXP1 表达缺失提示预后不良, 其可能与 FOX 家族的另外一个转录因子 FOXA1 以及雌激素受体 α ($ER\alpha$)、雌激素受体 β ($ER\beta$) 共同发挥作用, 起到抑癌基因的作用^[11-13]。在子宫内膜癌中, FOXP1 核表达缺失, 并且与 $ER\alpha$ 活性相关^[14]。在前列腺癌中, FOXP1 是雄激素调节基因, 与雄激素受体 (AR) 结合, 抑制其下游信号通路^[15]。在肾透明细胞癌 (CCRCC) 中, FOXP1 的表达与肿瘤分级以及 Ki67 表达负相关^[16]。FOXP1 作为 miR-1 的靶基因在肝癌的发生中起癌基因的作用^[17], 并且其表达升高是独立的预后预测因素^[18]。在口腔鳞癌中 (OSCC) 中 miR-504 表达升高进而抑制 FOXP1 表达, 使细胞的转移能力增强^[19]。FOXP1 表达减少在肺癌的发生中起到重要作用^[20], 在非小细胞肺癌 (NSCLC) 中 FOXP1 低表达是患者预后不良的独立预测因素^[21]。Banham 等^[22]检测了 21 例胃腺瘤中

表 3 生存率单因素和多因素分析

Table 3 Univariate and multivariate analysis of factors associated with survival

Variables	Univariate analysis			Multivariate analysis		
Age(years)	0.830	0.476-1.447	0.511			
Gender	0.838	0.481-1.462	0.534			
Maximal tumor size(cm)	0.473	0.268-0.833	0.009	0.610	0.610	0.096
Clinical stage	0.241	0.124-0.469	<0.001	0.422	0.422	0.576
Pathological grade	0.603	0.337-1.080	0.089			
T classification	0.299	0.093-0.958	0.042	0.769	0.769	0.707
N classification	0.249	0.128-0.486	<0.001	1.399	1.399	0.822
Lymph node metastasis	0.162	0.064-0.408	<0.001	0.287	0.287	0.044
FOXP1 expression	1.531	0.854-2.743	0.153			

FOXP1 的表达情况,发现其在胞质和胞核中均有表达。然而,FOXP1 在胃癌中的作用并不明确。因此,研究 FOXP1 在胃癌中的表达情况及其与胃癌患者临床病理参数以及预后的关系非常必要。

本研究通过免疫组织化学染色的方法检测 90 例胃癌组织和相应癌旁正常组织中 FOXP1 的表达情况,结果发现胃癌组织中 FOXP1 表达阳性率显著低于癌旁正常组织。分析 FOXP1 在胃癌中的表达及其与胃癌患者临床病理参数之间的关系以及对预后的影响,结果表明 FOXP1 的表达与胃癌患者的临床分期、病理分级、T 分期和 N 分期具有显著相关性,即在临床 I-II 期和 IV 期的患者中 FOXP1 的表达显著低于临床 I 期和 II 期的患者,在低分化胃癌中的表达显著低于高、中分化胃癌,在 T3 和 T4 期中的表达显著低于 T1 和 T2 期,在 N2 和 N3 中的表达显著低于 N0 和 N1。生存分析结果发现 FOXP1 的表达与患者术后总体生存率差异无统计学意义,可能是受本研究样本量较小的限制,但可以发现 FOXP1 表达阳性者术后总体生存率较表达阴性者高,FOXP1 表达阳性者中位生存期较表达阴性者长。这些结果均表明,FOXP1 表达减少提示患者临床分期越晚,病理分级的恶性程度越高,患者的预后越差。

综上所述,本研究结果表明了 FOXP1 在胃癌的发生发展中可能起到抑癌基因的作用,但其具体作用机制有待进一步阐明。提高 FOXP1 的表达有可能作为潜在的治疗靶点,阻止或延缓胃癌的发生,改善胃癌患者的预后。本研究为后期进一步研究 FOXP1 在胃癌发生发展中发挥作用的分子机制提供了有力的科学依据。

参考文献(References)

- [1] Hu H, Wang B, Borde M, et al. Foxp1 is an essential transcriptional regulator of B cell development [J]. Nat Immunol, 2006, 7(8): 819-826
- [2] Shi C, Zhang X, Chen Z, et al. Integrin engagement regulates monocyte differentiation through the forkhead transcription factor Foxp1 [J]. J Clin Invest, 2004, 114(3): 408-418
- [3] Wang B, Weidenfeld J, Lu M, et al. Foxp1 regulates cardiac outflow tract, endocardial cushion morphogenesis and myocyte proliferation and maturation [J]. Development, 2004, 131(18): 4477-4487
- [4] Shu W, Yang H, Zhang L, et al. Characterization of a New Subfamily of Winged-helix/Forkhead (Fox) Genes That Are Expressed in the Lung and Act as Transcriptional Repressors [J]. J Biol Chem, 2001, 276(29): 27488-27497
- [5] Katoh M, Igarashi M, Fukuda H, et al. Cancer genetics and genomics of human FOX family genes [J]. Cancer Lett, 2013, 328(2): 198-206
- [6] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics [J]. CA-Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90
- [7] Streubel B, Vinatzer U, Lamprecht A, et al. T (3;14)(p14.1;q32) involving IGH and FOXP1 is a novel recurrent chromosomal aberration in MALT lymphoma [J]. Leukemia, 2005, 19(4): 652-658
- [8] Sagaert X, Paepe P, Libbrecht L, et al. Forkhead Box Protein P1 Expression in Mucosa-Associated Lymphoid Tissue Lymphomas Predicts Poor Prognosis and Transformation to Diffuse Large B-Cell Lymphoma [J]. J Clin Oncol, 2006, 24(16): 2490-2497
- [9] Barrans SL, Fenton J, Banham A, et al. Strong expression of FOXP1 identifies a distinct subset of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) patients with poor outcome [J]. Blood, 2004, 104(9): 2933-2935
- [10] Craig VJ, Cogliatti SB, Imig J, et al. Myc-mediated repression of microRNA-34a promotes high-grade transformation of B-cell lymphoma by dysregulation of FoxP1 [J]. Blood, 2011, 117(23): 6227-6236
- [11] Ijichi N, Shigekawa T, Ikeda K, et al. Association of Double-Positive FOXA1 and FOXP1 Immunoreactivities with Favorable Prognosis of Tamoxifen-Treated Breast Cancer Patients [J]. Horm Cancer, 2012, 3(4): 147-159
- [12] Fox SB, Brown P, Han C, et al. Expression of the forkhead transcription factor FOXP1 is associated with estrogen receptor alpha and improved survival in primary human breast carcinomas [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(10): 3521-3527
- [13] Bates GJ, Fox SB, Han C, et al. Expression of the forkhead transcription factor FOXP1 is associated with that of estrogen receptor β in primary invasive breast carcinomas [J]. Breast Cancer Res Tr, 2007, 111(3): 453-459
- [14] Giatromanolaki A, Koukourakis MI, Sivridis E, et al. Loss of expression and nuclear/cytoplasmic localization of the FOXP1 forkhead transcription factor are common events in early endometrial cancer: rel-

- ationship with estrogen receptors and HIF-1 α expression [J]. Modern Pathol, 2005, 19(1): 9-16
- [15] Takayama K, Horie-Inoue K, Ikeda K, et al. FOXPI is an androgen-responsive transcription factor that negatively regulates androgen receptor signaling in prostate cancer cells[J]. Biochem Bioph Res Co, 2008, 374(2): 388-393
- [16] Toma MI, Weber T, Meinhardt M, et al. Expression of the Forkhead Transcription Factor FOXPI is Associated with Tumor Grade and Ki67 Expression in Clear Cell Renal Cell Carcinoma [J]. Cancer Invest, 2011, 29(2): 123-129
- [17] Datta J, Kutay H, Nasser MW, et al. Methylation Mediated Silencing of MicroRNA-1 Gene and Its Role in Hepatocellular Carcinogenesis [J]. Cancer Res, 2008, 68(13): 5049-5058
- [18] Zhang Y, Zhang S, Wang X, et al. Prognostic significance of FOXPI as an oncogene in hepatocellular carcinoma [J]. J Clin Pathol, 2012, 65(6): 528-533
- [19] Yang MH, Lin BR, Chang CH, et al. Connective tissue growth factor modulates oral squamous cell carcinoma invasion by activating a miR-504/FOXPI signaling[J]. Oncogene, 2011, 31(19): 2401-2411
- [20] Shimizu K, Kato A, Hinotsume D, et al. Reduced expressions of Foxp1 and Rassf1a genes in lung adenocarcinomas induced by N-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine in rats[J]. Cancer Lett, 2006, 236(2): 186-190
- [21] Feng J, Zhang X, Zhu H, et al. High Expression of FoxP1 Is Associated With Improved Survival in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer[J]. Am J Clin Pathol, 2012, 138(2): 230-235
- [22] Banham AH, Beasley N, Campo E, et al. The FOXPI winged helix transcription factor is a novel candidate tumor suppressor gene on chromosome 3p[J]. Cancer Res, 2001, 61(24): 8820-8829

• 重要信息 •

《分子影像学》第二版已正式出版发行

卜丽红¹ 戴薇薇²

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院医学影像科 150001; 2 人民卫生出版社医药教育出版中心第四编辑室)

由哈尔滨医科大学附属第四医院申宝忠教授主编的《分子影像学》第二版(ISBN:978-7-117-13344-9/R·13345)一书已于2010年9月14日由人民卫生出版社出版发行。《分子影像学》是国内第一部分子影像学大型专著。对于分子影像学的基本概念、基本原理、基本方法和应用概况都有精彩而详细的论述,充分体现了国际分子影像学的最新进展。

《分子影像学》第二版由著名医学影像学家、中国工程院院士刘玉清教授和美国分子影像学专家、美国医学科学院院士 Sanjiv Sam Gambhir 教授亲自作序。编委会包括美国哈佛大学、斯坦福大学等国外知名院校 7 名专家作为国外编委,国内多家知名大学、研究中心学术带头人 13 名作为国内编委,还包括国内外共 40 名专家参与编写。

全书共计 130 余万字,收录图片 378 幅,共分基础篇和应用篇。

基础篇共分 10 章,主要介绍了分子影像学的发展简史,分子成像的相关概念、基本原理、基本技术和设备等,内容较第一版更为精准、完善,覆盖面更加宽泛。着重针对探针合成这一当前分子成像研究的技术瓶颈,纳入了材料学、生物学和化学等相关技术内容。

应用篇共分 7 章,着重介绍了分子影像学技术的最新进展和应用情况,并详细介绍了分子成像在肿瘤、中枢神经系统和心血管系统疾病诊断中的应用情况,重点阐述了分子成像在监测基因治疗、活体细胞示踪以及新药研发等方面的最新研究进展,并就分子影像学向临床转化所面临的问题进行了深入剖析。

本书内容系统详实,深入浅出,图文并茂,可读性强。可供医学影像学专业、临床专业学生使用,并可为临床各学科研究生、临床医师及其他相关生命科学的研究人员提供参考。

《分子影像学》精装本定价 260 元,全国各大书店有售。