基础研究 文章编号:0253-3626(2010)04-0497-04

FOXC1 蛋白在子宫颈癌及子宫内膜癌中的表达及意义

王露颖[1],杨正才[2],杨 竹[1]

(1. 重庆医科大学附属第二医院妇产科,重庆 400010;2. 重庆市秀山县卫生学校,重庆 409900)

【摘 要】目的:探讨 FOXC1 蛋白表达与子宫颈癌及子宫内膜癌的临床病理特征间相关性。方法:采用免疫组化 S-P 法检测 54 例子宫颈癌及 23 例子宫内膜癌石蜡组织中 FOXC1 蛋白的表达。结果:FOXC1 蛋白分别在 29(53.7 %)例子宫颈癌组织及 20(87.0 %)例子宫内膜癌组织中均有表达,且定位在细胞浆。FOXC1 阳性表达与宫颈癌组织学分级相关($P<0.05$),与宫颈癌的病理分型,FIGO(国际妇产科联盟 International Federation of Gynecology and Obstetrics)临床分期,宫颈肌层浸润及盆腔淋巴结转移之间无明显相关性($P>0.05$)。FOXC1 蛋白表达与子宫内膜癌病理类型,组织学分级,FIGO 手术病理分期,肌层浸润深度,宫颈受累情况及附件受累,盆腔淋巴结转移之间均无明显相关性($P>0.05$)。结论:FOXC1 蛋白可能参与了子宫颈癌的发生及发展过程,它可能与子宫内膜癌发生发展过程无关。

【关键词】转录因子 FOXC1;子宫颈癌;子宫内膜癌;免疫组化

【中国图书分类法分类号】R737.33 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-01-04

FOXC1 expression in cervical cancer and endometrial cancer

WANG Lu-ying, et al

(*Department of Gynecology and Obstetrics, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investingate potential correlations between FOXC1 expression and clinicopathologic features of endometrial cancer and cervical cancer. *Methods*: FOXC1 protein expression in 54 cases of cervical cancer and 23 of endometrial cancer were investigated with immunohistochemistry. *Results*: FOXC1 protein expression was observed in cancer tissues, including both endometrial and cervical cancer. Positive FOXC1 expression was revealed in 20 (87.0 %) of endometrial cancer and 29 (53.7 %) of cervical cancer. Significant correlation in retrospective study was observed between FOXC1 protein expression and histological grades ($P<0.05$) in cervical cancer. No significant association was shown between FOXC1 protein expression in cervical cancer and clinicopathological factors including pathological types, FIGO stages, lymph node metastasis and etc. No significant association was shown between FOXC1 protein expression in endometrial cancer and clinicopathological factors including pathological types, histological grades, FIGO stages, myometrial invasion and involvement of cervix and adnexa, and lymph node metastasis ($P>0.05$). *Conclusion*: FOXC1 may play a role in tumorigenesis of cervical cancer. FOXC1 may have no correlation with tumorigenesis of endometrial cancer.

【Key words】Transcriptional factor FOXC1; Cervical cancer; Endometrial cancer; Immunohistochemistry

子宫颈癌及子宫内膜癌均位居妇科恶性肿瘤前三之列。我国目前尚无全面调查资料,据统计上世纪 80 年代我国每年宫颈癌患者有 13.15 万,子宫内膜癌新增病例 1.59 万,两者之比为 1:8.3[1],近年来,虽有国内资料显示子宫颈癌发病率及死亡率较上世纪 70 年代有所下降,但子宫内膜癌发病率逐渐升高,且两种肿瘤发病都呈现年轻化倾向。可见,子宫颈癌及子宫内膜癌严重危害女性健康。

转录因子 FOXC1(以前称为 FREAC3 或者 FKHL7),作为叉头框转录因子基因家族(FOX 家族)的一员,与家族其他成员一样,它具有由 100 个氨基酸残基组成的保守 DNA 结合区域,呈螺旋翼状结构。FOXC1 是一个长度为 1.6 kb 的外显基因,位于人染色体 6p25 基因编码区[2,3],编码的蛋白质共 553 个氨基酸残基[4,5]。有研究报道,此基因突变与动物胚胎发育及人类 Axenfeld-Rieger 畸形密切相关[6-9]。此外,此基因可能参与了几种人类生殖道肿瘤发生发展的过程,如前列腺癌,子宫内膜癌及卵巢癌等[10,11]。但迄今,FOXC1 基因蛋白在子宫内膜癌及子宫颈癌中的表达及临床意义尚无实验研究报道。本研究旨在运用免疫组化的方法,检测子宫颈癌及子宫内膜癌中的 FOXC1 蛋白表达,并分析 FOXC1 表达与子宫颈癌及子宫内膜癌临床病理特征之间的相关性,以探讨 FOXC1 对其诊断及预后判断中可能存在的价值,为临床工作

作者介绍:王露颖(1982-),女,硕士,研究方向:妇科肿瘤。

通讯作者:杨 竹,女,教授,E-mail:cqyangz@vip.163.com。

基金项目:重庆市科委自然科学基金资助项目(编号:CSTC.2006BB5279);重庆市卫生局资助项目(编号:2007-2-122)。

提供参考。

1 材料和方法

1.1 组织标本来源

收集重庆医科大学附属第二医院病理科 2004 年 6 月~2008 年 6 月间存档的 54 例子宫颈癌及 23 例子宫内膜癌组织石蜡标本。所有病例均经病理科医师确诊。子宫颈癌患者平均年龄(45 ± 10)岁，子宫内膜癌患者平均年龄(55 ± 8)岁。根据其组织学来源，子宫颈癌病例包括 49 例宫颈鳞癌及 5 例宫颈腺癌；子宫内膜癌病例包括 18 例内膜样腺癌及 5 例其他类型癌(3 例浆液性乳头状癌，1 例粘液性癌，1 例腺棘癌)。根据组织学分级，子宫颈癌病例包括高分化 13 例，中分化 31 例，低分化 10 例；子宫内膜癌病例包括高分化 15 例，中～低分化 8 例。宫颈癌患者临床分期[按照国际妇产科联盟(International Federation of Gynecology and Obstetrics FIGO)1998 年修订的分期标准] Ⅰ期 33 例、Ⅱ期 21 例。子宫内膜癌患者手术病理分期[FIGO1989 年修订的分期标准] Ⅰ～Ⅱ期 17 例、Ⅲ～Ⅳ期 6 例。所有子宫颈癌及子宫内膜癌患者术前均为初发，未接受过放疗，化疗及激素治疗。

1.2 主要试剂

FOXC1 山羊抗人多克隆抗体(sc-21396)购自美国 SANTA CRUZ 公司，S-P 超敏试剂盒购自福州迈新生物技术有限公司，DAB 显色试剂盒购自北京中杉生物技术公司。

1.3 方法

采用免疫组织化学 S-P 连接法进行石蜡肿瘤组织中抗原检测。

所有肿瘤组织标本均经 10%甲醛固定，石蜡包埋，连续 5 μm 切片。切片常规脱蜡至水，采用过氧化酶阻断溶液室温孵育 10 min，在高压锅抗原热修复 10 min，一抗滴度 1:200，4℃孵育过夜，滴加生物素标记二抗室温孵育 10 min；加入链霉素抗生物素－过氧化物酶溶液，室温作用 10 min；DAB 显色，苏木精复染，脱水，透明，封片。每次试验用已知阳性的正常子宫内膜组织作阳性对照[10]，用 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.4 阳性结果判断标准

FOXC1 以细胞内出现棕黄色颗粒判为阳性。阳性对照片细胞浆出现棕黄色着色。阴性对照片无棕黄色着色。随机计数 10 个高倍视野的 1 000 个瘤细胞，阳性细胞 <30%为阴性表达，阳性细胞 >30%为阳性表达。

1.5 统计学方法

FOXC1 在不同组织中的表达及其与临床病理联系的参数采用 χ^2 检验或 Fisher 精确概率法进行统计学分析，以 $P \leqslant 0.05$ 为差异有统计学意义。

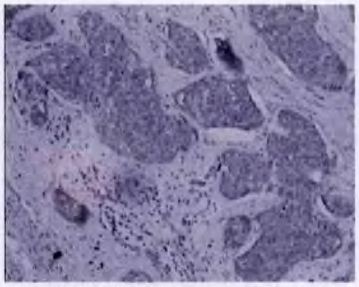
2 结 果

2.1 FOXC1 蛋白在子宫颈癌及子宫内膜癌组织中的表达

FOXC1 蛋白在 29(53.7 %)例子宫颈癌及 20(87.0 %)例子宫内膜组织，表达部位均定位在细胞浆，细胞核无 FOXC1 蛋白表达。见图 1～6。

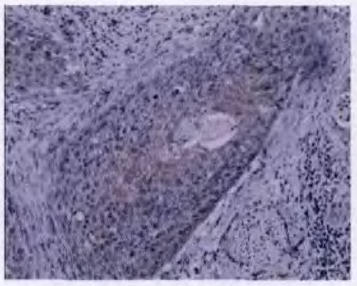
2.2 FOXC1 蛋白表达与子宫颈癌及子宫内膜癌的临床病理特征的关系

对 54 例子宫颈癌及 23 例子宫内膜癌患者的病案资料所做的回顾性研究结果见表 1 及表 2。



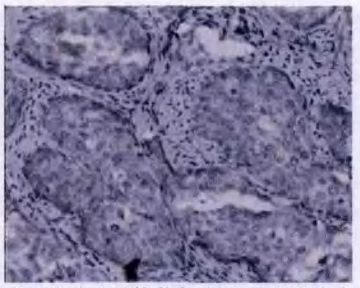
癌细胞浆中见棕黄色着色，细胞核中未见着色 (SP × 200)

图 1 高分化宫颈鳞癌组织组织免疫组化染色



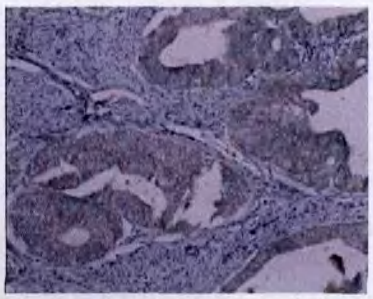
癌细胞浆中见棕黄色着色，细胞核中未见着色 (SP × 200)

图 2 中分化宫颈鳞癌组织组织免疫组化染色



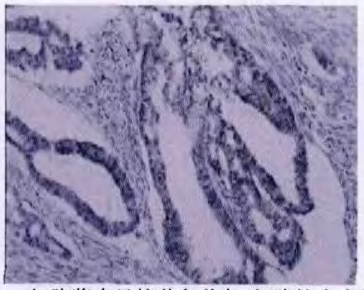
癌细胞浆中见棕黄色着色，细胞核中未见着色 (SP × 200)

图 3 低分化宫颈鳞癌组织免疫组化染色



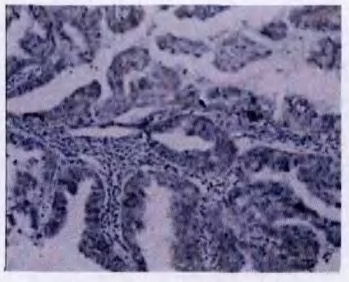
细胞浆中见棕黄色着色，细胞核中未见着色(SP × 200)

图 4 高分化子宫内膜癌组织免疫组化染色



细胞浆中见棕黄色着色，细胞核中未见着色(SP × 200)

图 5 中分化子宫内膜癌组织免疫组化染色



细胞浆中见棕黄色着色，细胞核中未见着色(SP × 200)

图 6 低分化子宫内膜癌组织免疫组化染色

表 1 FOXC1 蛋白在子宫颈癌中的表达与临床病理特征间的关系

变量		例数	FOXC1 蛋白表达		P
			(+)	(-)	
病理分型	鳞癌	49	25	24	0.225
	腺癌	5	4	1	
组织学分级	高	13	9	4	0.048
	中	31	18	13	
	低	10	2	8	
FIGO 临床分期	Ⅰ	33	17	16	0.451
	Ⅱ	21	12	9	
FIGO 分期Ⅰ期宫颈肌层浸润	<1/2	22	9	13	0.087
	≥1/2	11	8	3	
盆腔淋巴结转移*	阳性	8	5	3	0.419
	阴性	45	23	22	

注:*1 例宫颈鳞癌患者盆腔淋巴结转移资料丢失

表 2 FOXC1 蛋白在子宫内膜癌中的表达与临床病理特征间的关系

变量	例数	FOXC1 蛋白表达		P
		(+)	(-)	
病理类型				
内膜样腺癌	18	16	2	0.539
其他	5	4	1	
组织学分级				
高	15	12	3	0.257
中~低	8	8	0	
FIGO 手术病理分期				
Ⅰ~Ⅱ	17	15	2	0.616
Ⅲ~Ⅳ	6	5	1	
肌屋受累				
<1/2	13	11	2	0.602
≥1/2	10	9	1	
宫颈受累				
阳性	7	6	1	0.684
阴性	16	14	2	
附件受累				
阳性	2	2	0	0.751
阴性	21	18	3	
盆腔淋巴结转移				
阳性	2	2	0	0.751
阴性	21	18	3	

29 例 FOXC1 阳性表达的子宫颈组织中,宫颈鳞癌的阳性表达率为 51.0%,宫颈腺癌阳性表达率为 80%,此 2 组间,FOXC1 蛋白表达阳性率之间的差异无统计学意义($P>0.05$)。高分化宫颈癌组织中 FOXC1 蛋白表达的阳性率 69.2%,中分化癌组织中 FOXC1 阳性表达率为 58.1%,低分化癌组织中阳性表达率为 20%,此 3 组间差异有统计学意义($P<0.05$)。FIGO 临床分期Ⅰ期组织中 FOXC1 蛋白表达阳性率 51.5%,Ⅱ期为 57.1%,此 2 组间差异无统计学意义($P>0.05$),Ⅰ期患者中,宫颈肌层受累<1/2 FOXC1 蛋白表达阳性率 40.9%,≥1/2 的表达阳性率 72.7%,各组间差异无统计学意义($P>0.05$)。无盆腔淋巴结转移 FOXC1 蛋白表达阳性率 51.1%,有盆腔淋巴结转移的表达阳性率 62.5%,各组间差异无统计学意义($P>0.05$)。

20 例 FOXC1 阳性表达的子宫内膜癌组织中,内膜样腺癌的阳性表达率为 88.9%,其他癌阳性表达率为 80%,此 2 组间,FOXC1 蛋白表达阳性率之间的差异无统计学意义($P>0.05$)。

所有子宫内膜癌患者中,高分化癌组织中 FOXC1 蛋白表达的阳性率 80%,中~低分化癌组织中 FOXC1 阳性表达率为 100%,此 2 组间差异无统计学意义($P>0.05$)。FIGO 手术病理分期Ⅰ~Ⅱ期 FOXC1 阳性表达率为 88.2%,Ⅲ~Ⅳ期为 83.3%,此 2 组间差异无统计学意义($P>0.05$)。子宫肌层受累<1/2 FOXC1 蛋白表达阳性率 84.6%,≥1/2 FOXC1 蛋白表达阳性率 90%,各组间差异无统计学意义($P>0.05$)。宫颈受累 FOXC1 阳性表达率 85.7%,无宫颈受累阳性表达率 87.5%,2组间差别无统计学意义($P>0.05$)。附件受累 FOXC1 阳性表达率 100%,无附件受累阳性表达率 85.7%,2 组间差别无统计学意义($P>0.05$)。无腹腔淋巴结转移 FOXC1 蛋白表达阳性率 85.7%,有腹腔淋巴结转移 FOXC1 蛋白表达阳性率 100%,各组间差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨 论

本实验研究首次报道运用免疫组化的方法检测了子宫颈癌及子宫内膜癌组织中 FOXC1 蛋白的表达,并回顾性分析了 FOXC1 蛋白表达与子宫颈癌及子宫内膜癌的各项临床病理特征之间的相关性。结果证实 FOXC1 蛋白在子宫颈癌,子宫内膜癌组织中均有表达,且定位在细胞浆。FOXC1 蛋白在 29(53.7 %)例子宫颈癌组织中有表达。FOXC1 蛋白在 20(87.0 %)例子宫内膜癌组织中有表达。FOXC1 阳性表达与宫颈癌组织学分级相关($P<0.05$),与宫颈癌的病理分型,FIGO 临床分期,宫颈肌层浸润及盆腔淋巴结转移之间无明显相关性($P>0.05$)。FOXC1 蛋白表达与子宫内膜癌病理类型,组织学分级,FIGO 手术病理分期,肌层浸润深度,宫颈受累情况及附件受累,盆腔淋巴结转移之间均无明显相关性($P>0.05$)。结果提示 FOXC1 蛋白可能参与了子宫颈癌的发生及发展过程,它可能与子宫内膜癌发生发展过程无关。

有研究证实 FOXC1 蛋白是一种核定位的磷蛋白,其定位是由位于叉头框翼状螺旋域 C 端的核定位信号所决定的[12]。然而与 FOXC1 同家族的另一成员 FOXO1,未磷酸化时定位在细胞核内,而磷酸化后则定位在细胞浆内。当 FOXO1 受到上游因子 AKt 作用后,发生磷酸化失活,从而从细胞核向细胞浆转位,并作为包括 FAS 配体(TNF 家族亚成员 6)在内的多种基因的转录因子在信号通路中发挥作用[13-16]。

本实验的结果提示,子宫颈癌中 FOXC1 蛋白的表达增高与较好的组织学分级相关,可能提示较好的预后。组织学分化越差,FOXC1 蛋白表达率的下降越明显。但 FOXC1 蛋白在子宫颈癌及子宫内膜癌组织中的定位与近年的文献报道并不相符。尽管目前尚无研究证实 FOXC1 蛋白在子宫颈癌及子宫内膜癌中的表达是否具有与 FOXO1 相类似的机制,但对本实验结果的较为合理的解释是,未磷酸化的 FOXC1 蛋白,可能表达在细胞浆中,从而起到了肿瘤抑制的作用。本实验存在的局限在于,磷酸化的 FOXC1 抗体目前无法从商业的抗体公司获得,因此无法验证磷酸化的 FOXC1 蛋白是否在细胞核中表达。综上所述,FOXC1 基因可能在人类子宫颈癌发生、发展过程中也发挥着重要作用并可能作为一个灵敏的临床肿瘤指标来指导临床判断,但其作用机制有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] 吴爱如. 妇科恶性肿瘤的流行病学[J].中国肿瘤,1997,6(11):3-5.

[2] Mears A J,Jordan T,Mirzayans F,et al. Mutations of the forkhead/winged-helix gene,FKHL7,in patients with Axenfeld-Rieger anomaly [J]. Am J Hum Genet,1998, 63(5):1316-1328.

[3] Nishimura D Y,Swiderski R E,Alward W L,et al.The forkhead transcription factor gene FKHL7 is responsible for glaucoma phenotypes which map to 6p25 [J]. Nat Genet,1998,19(2):140-147.

[4] Gould D B,Mears A J,Pearce W G,et al. Autosomal dominant Axenfeld-Rieger anomaly maps to 6p25[J].Am J Hum Genet,1997,61(3):765-768.

[5] Mirzayans F,Mears A J,Guo S W,et al. Identification of the human chromosomal region containing the iridogoniodysgenesis anomaly locus by genomic-mismatch scanning [J].Am J Hum Genet,1997,61(1):111-119.

[6] Kume T,Deng K Y,Winfrey V,et al. The forkhead/winged helix gene Mf1 is disrupted in the pleiotropic mouse mutation congenital hydrocephalus [J].Cell,1998,93(6):985-996.

[7] Kidson S H,Kume T,Deng K Y,et al.The forkhead/winged-helix gene,Mf1,is necessary for the normal development of the cornea and formation of the anterior chamber in the mouse eye[J].Dev Biol,1999,211(2):306-322.

[8] Smith R S,Zabaleta A,Kume T,et al. Haploinsufficiency of the transcription factors FOXC1 and FOXC2 results in aberrant ocular development[J]. Hum Mol Genet,2000,9(7):1021-1032.

[9] Kume T,Deng K Y,Hogan B L.Murine forkhead/winged helix genes Foxc1 (Mf1) and Foxc2 (Mfh1) are required for the early organogenesis of the kidney and urinary tract [J].Development,2000,127(7):1387-1395.

[10] Zhou Y,Kato H,Asanoma K,et al.Identification of FOXC1 as a TGF-beta1 responsive gene and its involvement in negative regulation of cell growth [J]. Genomics,2002,80(5):465-472.

[11] Van der Heul-Nieuwenhuijsen L,Dits N F,Jenster G.Gene expression of forkhead transcription factors in the normal and diseased human prostate [J]. BJU Int,2009,103(11):1574-1580.

[12] Berry F B,Saleem R A,Walter M A.FOXC1 transcriptional regulation is mediated by N- and C-terminal activation domains and contains a phosphorylated transcriptional inhibitory domain[J]. J Biol Chem,2002,277(12):10292-10297.

[13] Brunet A, Bonni A, Zigmond M J,et al. Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a Forkhead transcription factor[J]. Cell, 1999, 96(6): 857-868.

[14] Tang E D,Nunez G,Barr F G,et al. Negative regulation of the forkhead transcription factor FKHR by Akt[J]. J Biol Chem,1999,274(24):16741-16746.

[15] Biggs W H,Meisenhelder J,Hunter T,et al.Protein kinase B/Akt mediated phosphorylation promotes nuclear exclusion of the winged helix transcription factor FKHR1[J].Proc Natl Acad Sci,1999,96(13):7421-7426.

[16] Kops G J, de Ruiter N D, De Vries-Smits A M,et al. Direct control of the Forkhead transcription factor AFX by protein kinase B[J].Nature, 1999, 398(6728): 630-634.

(责任编辑:冉明会)