肿瘤诊断与治疗 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.000677

FOXP3在结肠癌癌细胞中的表达及临床意义

邱 磊，邵 华，苗永昌
连云港市第二人民医院胃肠外科，连云港 222006）

[摘 要]目的：研究叉头样螺旋转录因子（transcription factor forkhead box P3，FOXP3）在结肠癌癌细胞中的表达及其与总生存率（overall survival rate，OS）的关系。方法：采用组织芯片及免疫组化技术检测 90 例原发性结肠腺癌癌细胞 FOXP3 的表达，分析其临床意义。结果：结肠癌癌细胞表达 FOXP3（+）的病例较癌细胞 FOXP3（-）的病例预后差（χ^2=4.427，P=0.035）；淋巴结阳性组癌细胞 FOXP3 阳性率高于淋巴结阴性组（χ^2=11.244，P=0.000）；TNM 分期越早癌细胞 FOXP3 阳性率越低（χ^2=7.603，P=0.006）。结论：结肠癌癌细胞表达 FOXP3（+）可能是结肠癌预后的一个独立危险因素。

[关键词]结肠癌；叉头样螺旋转录因子；免疫组织化学；组织芯片
[中图分类号]R735.3+5 [文献标志码]A [收稿日期]2014-12-09

Expression and significance of FOXP3 in colon cancer cells

Qiu Lei, Shao Hua, Miao Yongchang
(Department of Gastrointestinal Surgery, The Second People's Hospital of Lianyungang City)

[Abstract] ***Objective***: To investigate the relationship between transcription factor forkhead box P3 (FOXP3) cells in colon cancer and overall survival (OS). ***Methods***: The FOXP3 cells was detected by tissue microarray and immunohistochemistry staining technique to evaluate the prognostic effects. Paraffin blocks of operation resection of primary adenocarinoma of colon were obtained from ninety patients. ***Results***: Colon carcinoma cells expressing FOXP3 (+) had poorer prognosis than those expressing FOXP3 (-) (χ^2=4.427, P=0.035). The frequency of the presence of FOXP3 (-) positive cancer cells was higher in patients with lymphatic invasion (χ^2=11.244, P=0.000) and lower in patients with early TNM stage (χ^2=7.603, P=0.006). ***Conclusion***: Colon carcinoma cell expressing FOXP3 (+) is a promising independent predictor for OS in colon carcinoma.

[Key words] colon carcinoma; transcription factor forkhead box P3; immunohistochemistry; tissue microarray

叉头样螺旋转录因子（transcription factor forkhead box P3，FOXP3）一直被认为是调节性 T 细胞（regulatory T cells，Tregs）最主要的表面标记蛋白[1]。最近的研究发现[2]，FOXP3 也表达于包括结肠癌在内的多种恶性肿瘤细胞中，但其与总生存率的相关性尚未见报道。

1 材料和方法

1.1 研究对象

90 例结肠腺癌组织芯片购自上海芯超生物科技有限公司。患者手术前均未行放射治疗、化学治疗、生物治疗及中西医结合治疗。术后随访时间 4.3~5.3 年。其中男性 47 例，女性 43 例；年龄 24~90 岁，平均 69 岁；按国际肿瘤淋巴转移分类（TNM）标准分期，Ⅰ/Ⅱ期组 58 例，Ⅲ/Ⅳ期组 32 例；病理分级Ⅰ级/Ⅰ~Ⅱ级/Ⅱ级组 56 例，Ⅱ~Ⅲ级/Ⅲ级组 34 例；淋巴结转移 37 例，无淋巴结转移 53 例；结肠内单一癌灶组 82例，结肠内多个癌灶组 8 例。所有患者均行结肠癌根治手术和（或）辅以放化疗，病理组织学诊断明确。

1.2 主要试剂

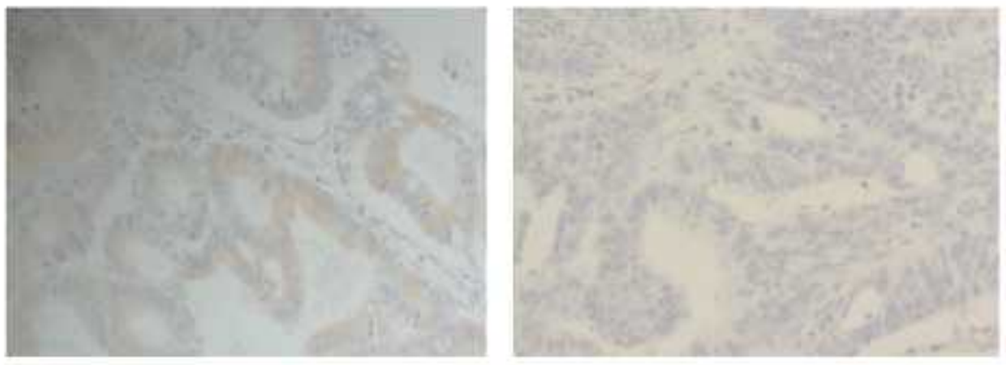
链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶（SP）试剂盒（SP-9002，美国 ZYMED 公司）及 3，3-二氨基联苯胺（DAB）（ZLI-9031，美国 Invitrogen 公司）均购自北京中杉金桥生物科技有限公司，鼠抗人-FOXP3 抗体（ab20034 clone 236A/E7，美国 Abcam 公司）。

1.3 免疫组化法检测结肠癌癌细胞 FOXP3 的表达

采用免疫组化 SP 法进行检测，步骤严格按照 SP 试剂盒说明书进行操作，其中抗 FOXP3 一抗工作液（1:100）4 ℃过

作者介绍：邱 磊，Email：qiulei.0301241@163.com，
研究方向：胃肠疾病的诊断与治疗。
通信作者：苗永昌，Email：lygmiao@sina.com。
优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150708.2254.004.html（2015-07-08）

夜。癌细胞 FOXP3（+）为癌巢内癌细胞胞质染成棕黄色。每个组织点随机观察 5 个高倍镜视野（400×），发现癌细胞染色即为癌细胞 FOXP3（+）表达，见图 1。



A. 癌细胞 FOXP3（+）　　B. 癌细胞 FOXP3（-）

图 1　免疫组化 SP 法观察癌组织（400×）中癌细胞是否表达 FOXP3

Fig.1　Expression status of FOXP3 in the cytoplasm of colon cancer cells

1.4　统计学处理

采用 SPSS 16.0 软件进行统计学处理，两独立样本比较采用卡方检验或 Fisher 确切概率法，累计生存时间和累计生存率计算采用 Kaplan-Meier 法，生存检验采用 log-rank 检验，生存分析采用 Cox 比例风险模型。各指标的 cutoff 值选取中位数（median）。检验水准 $\alpha=0.05$（双侧）。

2　结　果

2.1　各组癌细胞 FOXP3 表达分析

年龄、性别、病理分级、肿瘤大小及肿瘤个数分组中，癌细胞 FOXP3 阳性率无明显差异（$P>0.05$）；淋巴结阳性组癌细胞 FOXP3 阳性率高于淋巴结阴性组（$\chi^2=11.244$，$P=0.000$）；TNM 分期越早癌细胞 FOXP3 阳性率越低（$\chi^2=7.603$，$P=0.006$），见表 1。

2.2　预后因素分析

本研究全部病例，1 年 OS 为 87.8%，3 年 OS 为 65.6%，5 年 OS 为 55.6%。Cox 比例风险分析发现，肿瘤病理分级（HR=1.936，$P=0.033$）、肿瘤大小（HR=2.145，$P=0.017$）、肿瘤个数（HR=2.854，$P=0.012$）、是否侵犯淋巴结（HR=3.849，$P=0.000$）、TNM 分期（HR=3.049，$P=0.000$）以及癌细胞是否表达 FOXP3（HR=2.102，$P=0.040$）影响临床预后，见表 2。其中癌细胞 FOXP3（+）组病例预后较癌细胞 FOXP3（-）组预后差（$\chi^2=4.427$，$P=0.035$），见图 2。

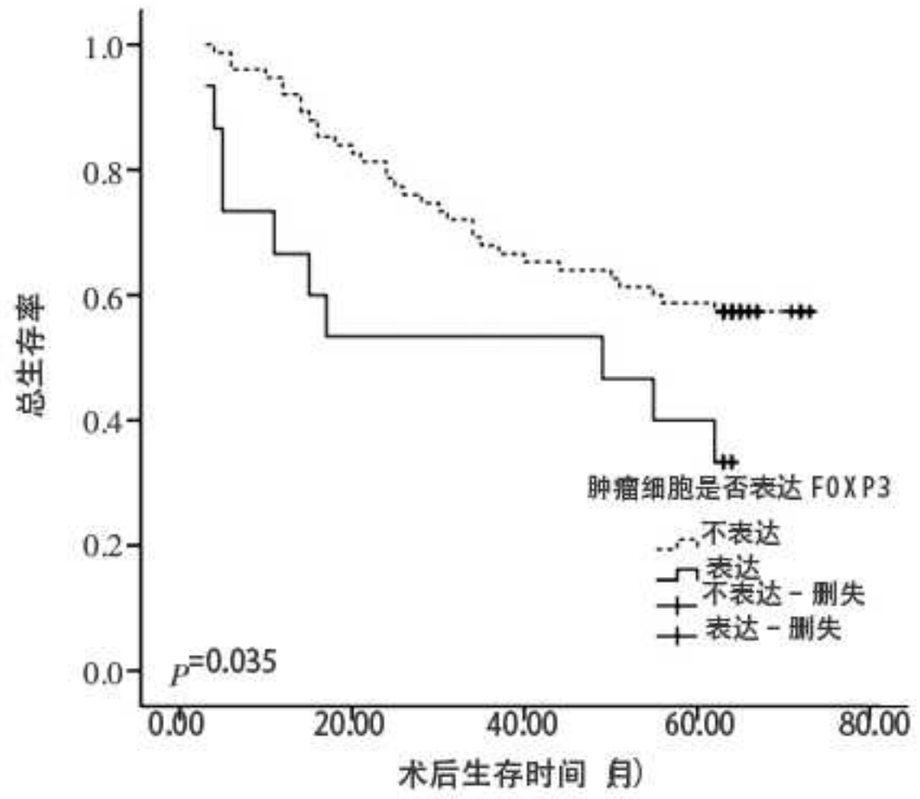


图 2　Kaplan-Meier 法分析癌细胞是否表达 FOXP3 的生存分析

Fig.2　Kaplan-Meier survival analyses on the expression of FOXP3 in cancer cells

表 1　各组癌细胞 FOXP3 表达分析

Tab.1　Expression of FOXP3 expression in cancer cells

组别		癌细胞 FOXP3 的表达		χ^2 值	P 值
		FOXP3（+）	FOXP3（-）		
年龄	<70	6（14.0%）	37（86.0%）	0.436	0.509
	≥70	9（19.1%）	38（80.9%）		
性别	男	5（10.6%）	42（89.4%）	2.574	0.109
	女	10（23.3%）	33（76.7%）		
病理分级	Ⅰ+Ⅰ~Ⅱ+Ⅱ	6（10.7%）	50（89.3%）	3.782	0.052
	Ⅱ~Ⅲ+Ⅲ	9（26.5%）	25（73.5%）		
肿瘤大小	<35 cm³	8（17.8%）	37（82.2%）	0.080	0.777
	≥35 cm³	7（15.6%）	38（84.4%）		
肿瘤个数	1个	13（15.9%）	69（84.1%）	0.439	0.508
	2个	2（25.0%）	6（75.0%）		
是否侵犯淋	是	12（32.4%）	25（67.6%）	11.244	0.000
巴结	否	3（5.7%）	50（94.3%）		
TNM分期	Ⅰ+Ⅱ	5（8.6%）	53（91.4%）	7.603	0.006
	Ⅲ+Ⅳ	10（31.2%）	22（68.8%）		

表 2　COX 比例风险分析

Tab.2　Univariate Cox proportional regression analysis

变量	Hazard Ratio	95%*CI*	*P* 值
病理分级（Ⅰ+Ⅰ~Ⅱ+Ⅱ vs. Ⅱ~Ⅲ+Ⅲ）	1.936	1.056 to 3.551	0.033
肿瘤大小（<35 cm³ vs. ≥ 35 cm³）	2.145	1.148 to 4.009	0.017
肿瘤个数（1 个 或 2 个）	2.854	1.261 to 6.459	0.012
是否侵犯淋巴结（否 或 是）	3.849	2.034 to 7.282	0.000
TNM 分期（Ⅰ+Ⅱ vs. Ⅲ+Ⅳ）	3.049	1.651 to 5.630	0.000
癌细胞是否表达 FOXP3（否 或 是）	2.102	1.033 to 4.280	0.040

3 讨 论

FOXP3 是 forkhead/winged-helix 转录因子家族的一个新成员，最近研究发现 FOXP3 可以表达于多种人类恶性肿瘤细胞中，其既可以作为抑癌因子发挥抑制肿瘤生长的作用[3]，亦可在一些肿瘤中发挥生长促进子的功能[4-5]。

FOXP3 位于 CCR7 和 CXCR4 转录起始位点的上游区域，后两者的受体在肿瘤的侵袭和转移中起着重要的作用，FOXP3 可能通过对 CCR7 和 CXCR4 或其他基因表达的调节或分泌某些细胞因子，达到影响肿瘤的侵袭和改变肿瘤细胞对微环境反应的目的。另外，FOXP3 ♀调节性 T 细胞被证实与结直肠癌预后密切相关[6]。FOXP3 在肿瘤细胞中的表达可能使肿瘤细胞表现出与调节性 T 细胞相同的作用，即可以通过抑制 $CD4^+CD25^-$T 细胞增殖，达到逃避效应 T 细胞对肿瘤细胞的有效杀伤，进而帮助肿瘤细胞逃避免疫监视，促进肿瘤的发生、发展及转移[7]。

本研究结果显示，在 90 例检测的结肠腺癌中癌细胞 FOXP3 总阳性率为 16.7%，表达于癌细胞质。与之前报道的包括结肠癌在内的多种恶性肿瘤细胞 FOXP3 阳性表达率存在差异[2]，提示 FOXP3 在癌细胞中的阳性表达不仅与肿瘤的类型有关，即使同一类型的肿瘤亦可能因不同因素（病理类型、肿瘤分期等）而致表达的结果亦有差异。本实验还发现，有淋巴结转移患者癌细胞 FOXP3 阳性率明显高于无淋巴结转移者；肿瘤 TNM 分期越晚癌细胞 FOXP3 阳性率越高。病理分级中虽然中低分化比高分化癌细胞 FOXP3 阳性率高，但差异无统计学意义（$P=0.052$），可能因为样本例数不足。相关研究亦发现 FOXP3 在肿瘤细胞中的高表达与肿瘤周围神经、血管、淋巴的侵袭有密切关系，能够促进肿瘤发生淋巴结转移和远处转移[8]。说明 FOXP3 表达与肿瘤的进展有密切关系。随着 TNM 分期变晚、肿瘤发生远处转移，肿瘤的范围进一步扩大，使结肠腺癌癌细胞有较多的机会直接或借助相关细胞因子间接接触机体的免疫细胞，刺激 $CD4^+CD25^-$T 细胞转化为 $CD4^+CD25^+$调节性 T 细胞，进而出现 FOXP3 高表达。FOXP3 高表达于 TNM 晚期、中低分化者，提示肿瘤分期、分型越差，FOXP3 抑制自身反应性 T 细胞的增殖效应越显著，进而说明 FOXP3 在维持免疫耐受方面发挥重要的作用。通过 Cox 比例风险分析进一步显示，癌细胞 FOXP3 ♀的病例较癌细胞 FOXP3 ♂的病例预后差。提示 FOXP3 可能在结肠腺癌的发生、发展和转移过程中发挥重要的促进作用。提示癌细胞 FOXP3 ♀可能是结肠癌预后的一个独立危险因素。

尽管结肠癌在临床与基础研究方面均取得了长足的进步，但是总体而言结肠癌的死亡率并没有显著改善。本研究提示通过检测 FOXP3 可以反映结肠癌的进展情况。但由于例数有限，其能否成为预测结肠癌预后的新的分子标记物，有待进一步证实。

参 考 文 献

[1] Hori S，Nomura T，Sakaguchi S.Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3[J].Science，2003，299（5609）：1057-1061.

[2] Martin F，Ladoire S，Mignot G，et al.Human FOXP3 and cancer[J].Oncogene，2010，29（29）：4121-4129.

[3] McInnes N，Sadlon TJ，Brown CY，et al.FOXP3 and FOXP3-regulated microRNAs suppress SATB1 in breast cancer cells[J].Oncogene，2012，31（8）：1045-1054.

[4] Zeng C，Yao Y，Jie W，et al.Up-regulation of FOXP3 participates in progression of cervical cancer[J].Cancer Immunol Immunother，2013，62（3）：481-487.

[5] Hao Q，Li W，Zhang C，et al.TNFα induced FOXP3- NfκB interaction dampens the tumor suppressor role of FOXP3 in gasrtic cancer cells[J].Biochem Biophys Res Commun，2013，430（1）：436-441.

[6] 康淑群，赵 娜，焉 鹏，等.结直肠癌组织中调节性 T 细胞的浸润及临床意义[J].中华实验外科杂志，2011，28（1）：148.

[7] Niu J，Jiang C，Li C，et al.Foxp3 expression in melanoma cells as a possible mechanism of resistance to immune destruction[J].Can Immu，2011，60（8）：1109-1118.

[8] Wincrdal ME，Marits P，Wincrdal M，et al.FOXP3 and survival in urinary bladder canner[J].Bju International，2011，108（10）：1672-1678.

（责任编辑：冉明会）