

FOXA1 蛋白和 Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白在卵巢癌组织中的表达及临床意义

何灵燕 陈绍娟 应莹

[摘要] 目的 分析上皮性卵巢癌(EOC)组织中叉头框蛋白 A1(FOXA1)与 Wnt/ β -catenin 信号通路相关因子 β -连环素(β -catenin)的表达情况,并探讨其临床意义。方法 收集 60 例 EOC 癌组织标本(EOC 组),42 例上皮性卵巢良性肿瘤组织标本(良性组),以及 30 例正常卵巢上皮组织标本(对照组),采用免疫组织化学法检测标本中 FOXA1 与 β -catenin 蛋白表达;分析 FOXA1 与 β -catenin 蛋白表达与 EOC 临床病理特征、预后的关系。结果 EOC 组患者癌组织中 FOXA1 阳性表达率明显高于良性组和对照组, β -catenin 阳性表达率低于良性组和对照组,差异均有统计学意义(χ^2 分别=19.59、21.37、11.78、25.70, P 均 <0.05);EOC 患者癌组织 FOXA1 阳性表达率与 FIGO 分期、肿瘤大小、淋巴结转移相关(χ^2 分别=7.25、7.55、8.16, P 均 <0.05); β -catenin 阳性表达率与 FIGO 分期、淋巴结转移、病理分级相关(χ^2 分别=27.80、5.71、6.17, P 均 <0.05);FOXA1 阳性组总生存率低于 FOXA1 阴性组, β -catenin 阳性组总生存率高于 β -catenin 阴性组,差异均有统计学意义(χ^2 分别=5.98、4.75, P 均 <0.05);FIGO 分期 III/IV 期、合并淋巴结转移、病理分级 G3、FOXA1 阳性是 EOC 患者总生存率的危险因素, β -catenin 阳性是保护因素(HR 分别=2.39、2.13、1.51、3.40、0.68, P 均 <0.05)。结论 EOC 患者癌组织中 FOXA1 阳性表达、 β -catenin 阴性表达可能预示着卵巢癌分期晚、存在淋巴结转移以及预后不良。

[关键词] 卵巢癌; Wnt/ β -catenin 信号通路; 叉头框蛋白 A1; β -连环素; 预后

Expression and clinical significance of FOXA1 and Wnt/ β -catenin signaling pathway-related proteins in ovarian cancer tissues HE Lingyan, CHEN Shaojuan, YING Ying. Department of Medical Oncology, Lishui Central Hospital, Lishui 323000, China.

[Abstract] **Objective** To analyze the expression of forkhead box protein A1 (FOXA1) and Wnt/ β -catenin signaling pathway-related factor (β -catenin) in epithelial ovarian cancer (EOC) tissues, and to explore their clinical significance. **Methods** Sixty EOC tissues (EOC group), 42 epithelial ovarian benign tumor tissues (benign group) and 30 normal epithelial ovarian tissues (control group) were collected. The expression of FOXA1 and β -catenin proteins in the above tissue samples was detected by immunohistochemistry. The relationship between the expression of FOXA1 and β -catenin protein and the clinicopathological features, prognosis of EOC patients was analyzed. **Results** The positive expression rate of FOXA1 in EOC group was significantly higher than that in benign group and normal control group, while positive expression rate of β -catenin was lower than that in benign group and normal control group ($\chi^2=19.59, 21.37, 11.78, 25.70, P<0.05$). The positive expression rate of FOXA1 in cancer tissues of EOC patients was related with FIGO staging, tumor size and lymph node metastasis ($\chi^2=7.25, 7.55, 8.16, P<0.05$). The positive expression rate of β -catenin was related with FIGO staging, lymph node metastasis and pathological grading ($\chi^2=27.80, 5.71, 6.17, P<0.05$). The overall survival (OS) status in FOXA1 positive group was lower than that in FOXA1 negative group, which was worse in β -catenin positive group than β -catenin negative group ($\chi^2=5.98, 4.75, P<0.05$). The results showed that FIGO stage III/IV, lymph node metastasis, pathological grading G3, positive FOXA1 were independent risk factors of OS in EOC patients, and positive β -catenin was protective factor ($HR=2.39, 2.13, 1.51, 3.40, 0.68, P<0.05$). **Conclusion** The positive expression of

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2023.010.006

作者单位: 323000 浙江丽水, 丽水市中心医院肿瘤内科(何灵燕、陈绍娟), 肾内科(应莹)

FOXA1 and negative expression of β -catenin in cancer tissues of EOC patients may indicate late ovarian cancer stage, lymph node metastasis and

poor prognosis.

[Key words] ovarian cancer; Wnt/ β -catenin signaling pathway; forkhead box protein A1; β -catenin; prognosis

卵巢癌是常见的生殖系统肿瘤,具有发病隐匿、进展快等特点,其中上皮性卵巢癌(epithelial ovarian cancer, EOC)约占90%以上^[1,2]。卵巢癌患者早期无明显的临床症状和体征,缺乏特异性的诊断方法,据统计约70%~80%的卵巢癌患者发现时即为晚期阶段,5年存活率只有20%~30%左右^[3]。尽管近年来随着肿瘤治疗理念和策略的进一步更新和完善,EOC的短中期预后有所改善,但远期生存率仍不理想。鉴于准确的预后评估能为临床决策提供依据,研究能准确提示EOC预后的分子标志物则具有重要临床价值。研究发现,Wnt/ β -catenin信号通路在卵巢癌中异常激活,与卵巢癌的发生发展、侵袭、转移和耐药紧密相关^[4]。叉头框蛋白A1(forkhead box protein A1, FOXA1)与乳腺癌、前列腺癌等多种癌症的发生、发展密切相关^[5,6]。本次研究旨在检测EOC患者癌组织FOXA1和 β -catenin表达情况,并探讨其与EOC预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2019年3月至2021年3月丽水市中心医院收治的60例行手术治疗的EOC患者的病理组织标本(EOC组),年龄34~77岁,平均年龄(56.84±10.46)岁;纳入标准包括:①符合EOC诊断标准^[7],并经病理确诊;②术前无放疗和化疗史者;③接受《卵巢恶性肿瘤诊断与治疗指南》中的标准治疗方案^[8]。并剔除:①合并其他原发性肿瘤者;②对标准治疗依从性不佳者;③随访资料缺失者。另收集同期42例上皮性卵巢良性肿瘤组织标本(良性组)及30例正常卵巢上皮组织标本(对照组)。本次研究经医院伦理委员会审批通过,患者对研究知情同意。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学法(immunohistochemistry, IHC)检测FOXA1和 β -catenin蛋白 选取包埋的组织标本4 μ m切片至防脱玻片上,60℃恒温箱中烤片2h,脱蜡修复后采用免疫组化Envision法染色,免疫组化抗体包括:兔抗人FOXA1单克隆抗体(由英国abcam公司生产)、兔抗人 β -catenin多克隆抗体(由英国abcam公司生产)。应用DAB显色,常规脱水、封片。使用已知阳性切片为阳性对照,PBS替代FOXA1、 β -catenin一抗为阴性对照。高倍镜下随

机取5个切片视野判读。判定标准:FOXA1主要定位于细胞核,统计阳性细胞百分比并赋予分值,0%、1%~10%、11%~30%、31%~50%和51%~100%分别计为0~4分;根据染色强度赋予分值,无色、浅黄色、黄色和棕色分别计0~3分;当阳性细胞百分比与染色强度分值乘积<3为FOXA1阴性表达, ≥ 3 为FOXA1阳性表达^[9]。 β -catenin主要表达于细胞膜,以细胞膜棕褐色或棕黄色染色判定为 β -catenin阳性细胞,切片视野内大于10%的阳性细胞则为 β -catenin阳性表达^[10]。

1.2.2 随访 术后随访观察3年,以电话及门诊复查方式进行,统计患者随访期内预后情况,以总生存率作为主要观察终点。

1.3 统计学方法 采用SPSS 20.0软件进行数据分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。组间计量资料比较采用 t 检验;计数资料比较采用 χ^2 检验。生存分析采用Kaplan-Meier法;使用COX回归模型分析EOC患者总生存率的影响因素。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组织的FOXA1和 β -catenin蛋白表达见封二图1、表1

由封二图1可见,FOXA1蛋白在细胞核中呈阳性表达,细胞质及细胞膜均未见染色; β -catenin在正常卵巢组织中定位于细胞膜,在细胞质及细胞核呈弱阳性或阴性表达。

表1 不同组织的FOXA1和 β -catenin蛋白表达/例(%)

组别	<i>n</i>	FOXA1阳性表达	β -catenin阳性表达
EOC组	60	41(68.33)*#	18(30.00)*#
良性组	42	10(23.81)	27(64.29)
对照组	30	5(16.67)	26(86.67)

注:*:与对照组比较, $P < 0.05$;#:与良性组比较, $P < 0.05$ 。

由表1可见,EOC组患者癌组织中FOXA1阳性表达率明显高于良性组和对照组织标本,差异均有统计学意义(χ^2 分别=19.59、21.37, P 均<0.05), β -catenin阳性表达率低于良性组和对照组织标本,差异均有统计学意义(χ^2 分别=11.78、25.70, P 均<0.05)。

2.2 FOXA1和 β -catenin蛋白表达与EOC患者临床

病理特征的关系见表2

表2 FOXA1和 β -catenin蛋白表达与EOC患者临床病理特征的关系/例

项目	n	FOXA1		β -catenin	
		阳性	阴性	阳性	阴性
年龄					
≥50岁	18	13	5	5	13
<50岁	42	28	14	13	29
肿瘤大小					
≥5cm	32	27	5	9	23
<5cm	28	14	14	9	19
FIGO分期					
I/II期	23	11	12	16	7
III/IV期	37	30	7	2	35
淋巴结转移					
是	20	9	11	2	18
否	40	32	8	16	24
病理类型					
浆液性癌	38	26	12	11	27
黏液性癌	15	10	5	5	10
子宫内膜样癌	7	5	2	2	5
病理分级					
G1/G2	32	21	11	14	18
G3	28	20	8	4	24

由表2可见,EOC患者FOXA1阳性率与年龄、病理类型、病理分级无关(χ^2 分别=0.18、0.05、0.23, P 均>0.05),EOC患者癌组织FOXA1阳性表达率与FIGO分期、肿瘤大小、淋巴结转移相关(χ^2 分别=7.25、7.55、8.16, P 均<0.05); β -catenin阳性率与年龄、肿瘤大小、病理类型无关(χ^2 分别=0.06、0.12、0.11, P 均>0.05), β -catenin阳性表达率与FIGO分期、淋巴结转移、病理分级相关(χ^2 分别=27.80、5.71、6.17, P 均<0.05)。

2.3 FOXA1和 β -catenin蛋白表达与EOC患者预后的关系 观察期内,60例EOC患者中27例死亡,33例存活。FOXA1阳性组总生存率(43.90%,18/41)低于FOXA1阴性组(78.95%,15/19), β -catenin阳性组总生存率(77.78%,14/18)高于 β -catenin阴性组(45.24%,19/42),两组比较,差异均有统计学意义(χ^2 分别=5.98、4.75, P 均<0.05)。

2.4 EOC患者预后生存的COX回归分析见表3、表4

表3 影响EOC患者总生存率的COX单因素分析

临床特征	HR	95%CI	P
年龄(<50 vs.≥50岁)	0.71	0.49~1.91	>0.05
肿瘤直径(<5cm vs.≥5cm)	1.88	1.05~3.36	<0.05
FIGO分期(I/II vs. III/IV)	3.73	2.11~6.61	<0.05
淋巴结转移(否 vs. 是)	3.93	2.19~7.06	<0.05
病理类型(非浆液性癌 vs. 浆液性癌)	0.76	0.58~2.58	>0.05
病理分级(G1/G2 vs. G3)	2.41	1.18~3.98	<0.05
FOXA1(阴性 vs. 阳性)	3.26	2.20~4.87	<0.05
β -catenin(阴性 vs. 阳性)	0.70	0.21~0.92	<0.05

由表3可见,肿瘤直径≥5cm、FIGO分期III/IV期、合并淋巴结转移、病理分级G3、FOXA1阳性、 β -catenin阳性是EOC患者的总生存率的影响因素(P 均<0.05)。

表4 影响EOC患者总生存率的COX多因素分析

临床特征	HR	95%CI	P
肿瘤直径(<5cm vs.≥5cm)	0.63	0.45~1.82	>0.05
FIGO分期(I/II vs. III/IV)	2.39	1.12~4.72	<0.05
淋巴结转移(否 vs. 是)	2.13	1.07~4.27	<0.05
病理分级(G1/G2 vs. G3)	1.51	1.10~3.36	<0.05
FOXA1(阴性 vs. 阳性)	3.40	1.98~5.88	<0.05
β -catenin(阴性 vs. 阳性)	0.68	0.20~0.95	<0.05

由表4可见,FIGO分期III/IV期、合并淋巴结转移、病理分级G3、FOXA1阳性是EOC患者总生存率的危险因素, β -catenin阳性是EOC患者不良预后的保护因素(P 均<0.05)。

3 讨论

FOXA1是FOX蛋白家族的关键成员,不仅与代谢调节相关,还是细胞内信号调节相关基因的启动子,参与调控细胞核类固醇受体的信号传导通路^[6]。已有研究显示,FOXA1是乳腺癌细胞中雌激素信号转导通路中不可或缺的一员,FOXA1表达已被证实是乳腺癌患者的预后因素^[11,12]。Wang等^[13]研究结果显示,与配对的正常卵巢组织标本相比,EOC癌组织中FOXA1 mRNA表达明显升高。本次研究中,EOC组FOXA1阳性表达率明显高于良性组和对照组,而且随着EOC患者FIGO分期进展及出现淋巴结转移,FOXA1阳性表达率也呈现升高趋势,提示EOC癌组织中FOXA1过表达可能与EOC侵袭、转移相关。本次研究发现FOXA1阳性组总生存率较阴性更差,COX回归分析结果提示FOXA1阳性表达是

EOC患者总生存率的危险因素,提示FOXA1可能是一种新的EOC生物标志物和治疗靶点。

Wnt/ β -catenin通路是高等动物的发育过程中至关重要的一环,该通路主要与细胞的增殖、分化等生理过程密切相关,在多种癌症中可发现其不同程度的异常表达^[4]。 β -catenin是该通路传导过程中的重要调控因子,在多种肿瘤的研究中, β -catenin基因的突变导致Wnt/ β -catenin通路异常激活^[5]。本次研究中, β -catenin在EOC癌组织中的阳性表达率显著低于良性组和对照组(P 均 <0.05),提示 β -catenin表达异常改变可能在EOC的发生发展中发挥重要作用。进一步分析发现, β -catenin阳性表达率与FIGO分期、淋巴结转移、病理分级相关,随着EOC患者FIGO分期进展、出现淋巴结转移以及分化程度降低, β -catenin阳性表达率呈降低趋势。FIGO分期、淋巴结转移状态和病理分级是判断EOC恶性程度和预后的重要指标。研究表明, β -catenin参与调节细胞介导的黏附作用, β -catenin表达异常可能导致细胞间黏附作用异常,从而加剧肿瘤细胞的侵袭和转移^[6]。可见 β -catenin也可用于评估EOC患者预后。本次研究生存分析提示与 β -catenin阴性组相比, β -catenin阳性组的预后相对更好,COX回归分析结果显示, β -catenin阳性是EOC患者总生存率的保护因素,说明通过检测 β -catenin表达对于EOC患者预后具有提示意义。

综上所述,FOXA1和 β -catenin蛋白在EOC癌组织中异常表达,FOXA1阳性表达、 β -catenin阴性表达可能预示着EOC分期晚、存在淋巴结转移以及预后不良,FOXA1和 β -catenin可能是新的EOC生物标志物和治疗靶点。本次研究的局限性在于随访时间有限,尚不能提示FOXA1和 β -catenin表达与EOC患者远期预后的联系。

参考文献

- 1 Torre LA, Trabert B, DeSantis CE, et al. Ovarian cancer statistics, 2018[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(4): 284-296.
- 2 Peres LC, Cushing-Haugen KL, Köbel M, et al. Invasive epithelial ovarian cancer survival by histotype and disease stage[J]. J Natl Cancer Inst, 2019, 111(1): 60-68.
- 3 Doherty JA, Jensen A, Kelemen LE, et al. Current gaps in ovarian cancer epidemiology: The need for new population-based research[J]. J Natl Cancer Inst, 2017, 109(10): 144.
- 4 Javadi S, Ganeshan DM, Qayyum A, et al. Ovarian cancer, the revised FIGO staging system, and the role of imaging [J]. Am J Roentgenol, 2016, 206(6): 1351-1360.
- 5 Tachi K, Shiraiishi A, Bando H, et al. FOXA1 expression affects the proliferation activity of luminal breast cancer stem cell populations[J]. Cancer Res, 2016, 107(3): 281-289.
- 6 Wang LL, Xiu YL, Chen X, et al. The transcription factor FOXA1 induces epithelial ovarian cancer tumorigenesis and progression[J]. Tumor Biol, 2017, 39(5): 101042831770621.
- 7 Gao S, Chen S, Han D, et al. Forkhead domain mutations in FOXA1 drive prostate cancer progression[J]. Cell Res, 2019, 29(9): 770-772.
- 8 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会. 卵巢恶性肿瘤诊断与治疗指南(第四版)[S]. 中国实用妇科与产科杂志, 2018, 34(7): 739-749.
- 9 Ma W, Jiang J, Li M, et al. The clinical significance of forkhead box protein A1 and its role in colorectal cancer[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(3): 2625-2631.
- 10 Su MC, Wang CC, Chen CC, et al. Nuclear translocation of β -catenin protein but absence of β -catenin and APC mutation in gastrointestinal carcinoid tumor[J]. Ann Surg Oncol, 2016, 13(12): 1604-1609.
- 11 BenAyed-Guerfali D, Dabbèche-Bouricha E, Ayadi W, et al. Association of FOXA1 and EMT markers (Twist1 and E-cadherin) in breast cancer[J]. Mol Bio Rep, 2019, 46(3): 3247-3255.
- 12 Song B, Park SH, Zhao JC. Targeting FOXA1-mediated repression of TGF- β signaling suppresses castration-resistant prostate cancer progression[J]. J Clin Invest, 2018, 129(2): 569-582.
- 13 Wang K, Guan C, Fang C, et al. Clinical significance and prognostic value of Forkhead box A1 expression in human epithelial ovarian cancer[J]. Oncol Lett, 2018, 15(4): 4457-4462.
- 14 Lou Y, Jiang H, Cui Z, et al. Linc-ROR induces epithelial-to-mesenchymal transition in ovarian cancer by increasing Wnt/ β -catenin signaling[J]. Oncotarget, 2017, 8(41): 69983-69994.
- 15 Zheng CH, Wang JB, Lin Q, et al. CDK5RAP3 suppresses Wnt/ β -catenin signaling by inhibiting AKT phosphorylation in gastric cancer[J]. J Experl Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 59.
- 16 Nguyen VHL, Hough R, Bernaudo S, et al. Wnt/ β -catenin signalling in ovarian cancer: Insights into its hyperactivation and function in tumorigenesis[J]. J Ovar Res, 2019, 12(1): 122.

(收稿日期 2023-05-23)

(本文编辑 高金莲)