

• 论 著 •

FOX M1 表达水平与晚期非小细胞肺癌临床病理特征及靶向药物疗效的关系*

张 琰¹, 乔文斌², 单 莉^{1△}

(新疆医科大学附属肿瘤医院: 1. 肺内科一病区; 2. 检验科, 乌鲁木齐 830011)

摘要:目的 探讨非小细胞肺癌(NSCLC)叉头框转录因子 M1(FOX M1)的表达水平及其与临床病理特征、靶向药物疗效之间的关系。方法 收集新疆医科大学附属肿瘤医院 2011—2014 年病理确诊的 NSCLC 80 例,采用免疫组化方法检测组织中 FOX M1 的表达水平,并结合临床病理特征、靶向药物疗效进行分析。结果 FOX M1 表达的阳性率为 41.25%。不同年龄、性别、分期及吸烟史的 NSCLC 患者 FOX M1 蛋白的表达差异无统计学意义($P>0.05$)。不同分化程度、淋巴结转移状态的 NSCLC 患者 FOX M1 蛋白的表达差异有统计学意义($P<0.05$)。FOX M1 蛋白表达阳性的患者使用靶向药物的无进展生存时间较 FOX M1 蛋白表达阴性患者短($P<0.05$)。结论 FOX M1 的表达与病理分化程度及淋巴结转移有关,FOX M1 表达阳性的患者使用靶向药物的无进展生存时间较表达阴性的患者短。

关键词:非小细胞肺癌; 叉头框转录因子; 无疾病进展期

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.14.015

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)14-1913-03

The relationship of FOX M1 expression and the clinical pathological factors and clinical response to target-therapy in advanced non-small cell lung cancer*

ZHANG Yan¹, QIAO Wenbin², SHAN Li^{1△}

(1. The First Department of Pulmonary Medicine; 2. Department of Clinical Laboratory, Cancer Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China)

Abstract: Objective To explore the expression of FOX M1 in non-small cell lung cancer(NSCLC) and the relationship between FOX M1 expression and the clinical pathological factors, clinical response to target-therapy in NSCLC remained unknown. **Methods** A total of 80 NSCLC patients were recruited into this study, FOX M1 expression was assessed by immunohistochemistry and analyzed with the clinical pathological factors and clinical response to target-therapy. **Results** The positive rate of FOX M1 expression was 41.25%. The positive expression of FOX M1 had no significant difference in patients with different age, gender, cancer staging, smoking history($P>0.05$), but had significant difference in patients with different degree of differentiation, lymph node metastasis($P<0.05$). Survival time in patients with positive FOX M1 expression was significant shorter than that with negative FOX M1 expression($P<0.05$). **Conclusion** The expression of FOX M1 closely correlated with patients histological differentiation, lymph node metastasis, progress-free survival time in patients with positive FOX M1 expression was significantly shorter than those with negative FOX M1 expression.

Key words: non-small cell lung cancer; FOX M1; progress-free survival

肺癌是全世界范围内病死率最高的恶性肿瘤,预后极差,美国肺癌总体 5 年生存率为 15%,我国仅为 10%,并且肺癌发病率在大多数国家仍在持续上升^[1]。肺癌的治疗逐渐成为人们关注的焦点。手术、放疗和化疗一直是非小细胞肺癌(NSCLC)的主要治疗方法。近些年来,以表皮生长因子受体(EGFR)为靶标的分子靶向药物问世,为肺癌的个体化治疗带来了新的希望。肺癌细胞中 EGFR 酪氨酸激酶编码区基因突变是靶向药物发挥作用的一个必要前提条件^[2-3],对 EGFR 敏感突变型的 NSCLC, Gefitinib 有效率可高达 80%以上,而野生型则基本没有效果。这一研究成果发表后相继被其他研究所证实^[4-6]。临床实践证明并非所有 EGFR 敏感突变的 NSCLC 患者都能从 EGFR-酪氨酸激酶抑制剂(TKI)中获益,有些患者则会在使用 TKI 初始治疗有效后出现获得性耐药,还有一些患者则发生了原发性耐药。叉头转录因子家族是由一类含有翼螺旋的 DNA 结合域的转录因子组成,该家族成员在器官的发育及细胞的分化和增殖中发挥着极为重要的作用^[7]。由于

叉头框转录因子 M1(FOX M1)参与了对多种肿瘤生长的调控,已经被证实其与 NSCLC 患者的预后、铂类耐药关系密切,但目前关于 FOX M1 表达的差异与 EGFR-TKI 疗效的关系鲜有报道。本研究中主要应用免疫组化的方法检测 NSCLC 中 FOX M1 表达情况,探讨其与 NSCLC 临床病理特征及靶向治疗之间的联系,为 NSCLC 预后的评估及靶向药物的治疗提供新的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集新疆医科大学附属肿瘤医院 2011—2014 年经组织病理证实,同时经 EGFR 基因检测为敏感突变的 NSCLC 患者 80 例进入本研究。组织学分型、分级采用 2004 年世界卫生组织公布的肺恶性上皮性肿瘤组织分类, TNM 分期采用国际肺癌研究学会(IASLC)2009 年第 7 版分期。80 例患者中男 48 例,女 32 例;年龄 33~81 岁,中位年龄 60 岁;病理类型均为腺癌;分期为ⅢB~Ⅳ期、ⅢB 期 53 例,Ⅳ期 27 例;淋巴结转移 52 例,无淋巴结转移 28 例;病理分级中

* 基金项目:新疆医科大学科研创新基金项目(XYDCX201466)。

作者简介:张琰,女,副主任医师,主要从事胸部肿瘤的诊疗研究。

△ 通信作者, E-mail: shanlinew319@163.com。

高分化 42 例,低分化 38 例;有吸烟史 45 例,无吸烟史 35 例。以上 80 例患者经组织病理学确诊后,行 EGFR 基因检测证实为敏感突变患者,检测方法为探针扩增增阻突变系统 (ARMS),根据美国国立综合癌症网络(NCCN)诊疗规范,一线给予 EGFR-TKI 治疗。本组病例于 2011 年 2 月开始随访,采用电话和门诊随访相结合的方式,生存时间按月计算,采用无进展生存时间(PFS)作为 EGFR-TKI 疗效评价指标,时间为肿瘤疾病患者从接受治疗开始到观察到疾病进展或者发生因为任何原因的死亡之间的这段时间。整个随访工作于 2014 年 12 月止。随访时间为 4~30 个月,随访成功率为 96%。

1.2 仪器与试剂 兔抗人 FOXM1 多克隆抗体购自美国 Sigma 公司,通用型 SP 试剂盒、DAB 显色试剂盒、HRP 标记山羊抗兔二抗购自上海拜力生物科技有限公司,倒置显微镜购自日本 Olympus 公司。

1.3 免疫组化染色 选取石蜡标本进行 4 μm 连续切片,然后行免疫组化染色,步骤参考试剂盒说明书。用已知的阳性切片作为阳性对照,PBS 代替一抗作为阴性对照。FOXM1 蛋白的阳性表达主要表现为细胞核内呈现棕黄色或棕褐色颗粒,同时细胞质内也可呈现少量棕黄色颗粒,因此以细胞核或细胞质内出现棕黄色颗粒为阳性细胞的判断标准。

1.4 FOXM1 表达检测结果的判断标准 每份标本选择 5 个高倍视野,根据细胞质染色的程度和阳性染色细胞百分比进行综合评分。细胞质染色程度评分标准:不着色为 0 分,淡黄色为 1 分,黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。阳性染色细胞百分比评分标准:阳性细胞小于 1% 为 0 分,1%~10% 为 1 分,11%~50% 为 2 分,>50% 为 3 分。染色程度评分与阳性染色细胞百分比评分的乘积大于或等于 4 分为 FOXM1 阳性表达,0~3 分为 FOXM1 阴性表达。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,PFS 的比较采用 Kaplan-Meier 法。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

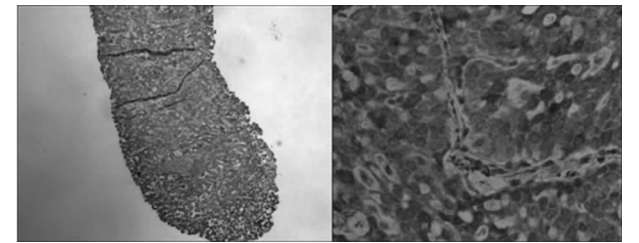
2 结 果

2.1 免疫组化结果 FOXM1 蛋白定位于细胞质或细胞核,呈棕黄色或棕褐色颗粒。在 80 例患者中,阳性表达 33 例,阴性表达 47 例,阳性表达率为 41.25%(33/80)。见图 1、2。

2.2 FOXM1 蛋白的表达与 NSCLC 患者临床病理特征的关系 不同年龄、性别、分期及吸烟史的 NSCLC 患者 FOXM1 蛋白的表达差异无统计学意义($P>0.05$);不同分化程度、淋巴结转移状态的 NSCLC 患者 FOXM1 蛋白的表达差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

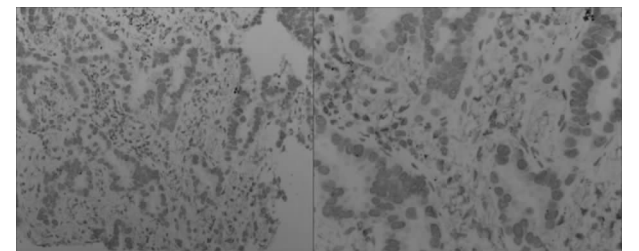
表 1 FOXM1 蛋白的表达与 NSCLC 患者临床病理特征的关系				
项目	FOXM1 表达(n)		χ^2	P
	阴	阳		
年龄(岁)	47	33		
≥60	23	18	0.244	0.621
<60	24	15		
性别				
男	27	21	0.309	0.578
女	20	12		
分化程度				
高、中级别	30	12	5.865	0.015

续表 1 FOXM1 蛋白的表达与 NSCLC 患者临床病理特征的关系				
项目	FOXM1 表达(n)		χ^2	P
	阴	阳		
分期	低级别	17	21	
	Ⅲ B	29	24	1.054 0.305
	Ⅳ	18	9	
淋巴结转移	无转移	22	6	6.984 0.008
	有转移	25	27	
吸烟	是	25	20	0.433 0.510
	否	22	13	
PS 评分(分)	0~1	19	16	0.512 0.474
	2	28	17	



注:A 为低倍镜下 FOXM1 表达阳性;B 为高倍镜下 FOXM1 表达阳性。

图 1 免疫组化检测肺腺癌组织中 FOXM1 的阳性表达



注:A 为低倍镜下 FOXM1 表达阴性;B 为高倍镜下 FOXM1 表达阴性。

图 2 免疫组化检测肺腺癌组织中 FOXM1 的阴性表达

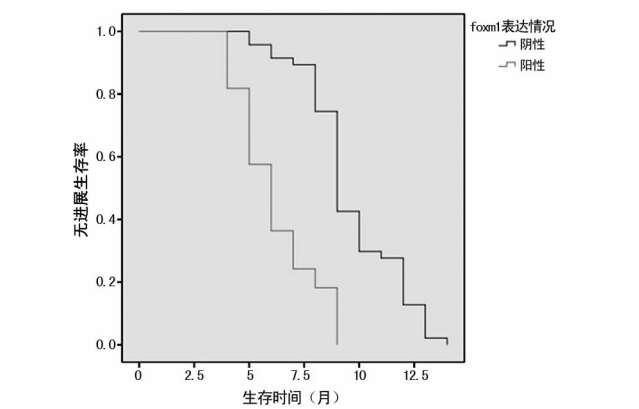


图 3 无进展生存期

2.3 FOXM1 蛋白的表达与 EGFR-TKI 疗效的关系 所有患者均为 ARMS 法检测 EGFR 敏感突变的 NSCLC 患者,一线采用 EGFR-TKI 治疗,以 PFS 作为其靶向治疗的疗效评价,FOXM1 蛋白表达阳性和阴性表达患者的中位 PFS 分别为 6 个月和 9 个月($P<0.05$)。见图 3。

3 讨论

根据既往的研究表明,FOXM1 为经典的增殖因子,在细胞周期中参与了多个基因的转录,除了在细胞的 DNA 复制及有丝分裂的过程中起到至关重要的作用,还在细胞的增殖、分化及器官发育等方面起到举足轻重的作用。FOXM1 功能的缺失可能阻碍了细胞的分化,进而会引起细胞发生恶性改变^[8]。既往的数据阐明,FOXM1 不仅参与了肿瘤细胞的各个期别的生长,同时通过对肿瘤细胞增殖的调控,进而在肿瘤的发生及发展进程中发挥作用,其中包括有肿瘤细胞的浸润及转移、新生血管的形成。FOXM1 的高表达不但能够促进肿瘤的形成,并且可以使诸多的恶性肿瘤的临床分期增高,浸润及转移的程度增大,淋巴转移可能性大,从而使治疗和预后效果均减弱。由此可见,对 FOXM1 在恶性肿瘤组织中表达的检测,能够为肿瘤的诊断、治疗与预后提供重要的依据。本研究的 80 例患者中,FOXM1 阳性表达 33 例,阴性表达 47 例,阳性表达率为 41.25%(33/80)。不同年龄、性别、分期及吸烟史的 NSCLC 患者 FOXM1 蛋白的表达差异无统计学意义($P>0.05$);不同分化程度、淋巴结转移状态的 NSCLC 患者 FOXM1 蛋白的表达差异有统计学意义($P<0.05$)。FOXM1 蛋白表达阳性和阴性表达患者使用 EGFR-TKI 的中位 PFS 分别为 6 个月和 9 个月,FOXM1 蛋白表达阳性患者的 PFS 较 FOXM1 蛋白表达阴性患者短($P<0.05$)。

现阶段,越来越多的靶向药物涌入了 NSCLC 的治疗中,由于其高效、低毒,因此靶向药物治疗已成为 NSCLC 治疗的新方向,在肿瘤的增殖过程中细胞信号传导和其他生物学途径可作为 NSCLC 预防和治疗的新靶标,部分研究致力于以 FOXM1 为靶点探索 NSCLC 治疗的新方法。EGFR 信号通路在调控细胞的生长、迁徙、凋亡、浸润及其他许多生理过程中均发挥重要的作用,并已证实在多种肿瘤中明显活化^[9]。当受体和配体相互结合后,受体细胞内一部分的酪氨酸残基发生自身磷酸化或转磷酸化,进而激活其下游包括 ERK、PI3K/Akt 等在内的多条信号通路,并最终导致细胞的增殖并抑制程序性细胞死亡^[9]。现已有部分研究发现过表达的 FOXM1 能够促使胰腺癌细胞发生上皮间质转化(EMT)^[10],同时研究还发现 FOXM1 也是影响乳腺癌和肺癌细胞 EMT 过程中的重要因子,极有可能是维持这两种肿瘤间质表型的重要因子。FOXM1 的高表达能促使细胞发生 EMT,细胞呈现间质类型特征,如上皮类型标志物 E-cadherin 的表达降低、细胞的迁移能力增强、间质类型标志物 N-cadherin 的表达水平升高等现象。既往多种研究已经表明 FOXM1 的高表达是诱导肿瘤发生上皮间质转化的重要因素之一。国外部分研究证实了 EMT

是 NSCLC 对 EGFR-TKI 原发耐药的机制之一。由于 FOXM1 的高表达能够促使上皮来源的肿瘤细胞出现 EMT 现象,笔者设想若能证实 FOXM1 的表达在 EGFR 突变的 NSCLC 患者中存在差异,且这种差异与 EGFR-TKI 的疗效存在密切关系,由此可以通过检测 FOXM1 的表达水平来预测 EGFR-TKI 在 EGFR 突变的 NSCLC 患者中的疗效及预后。当然,包括 FOXM1 在内的各种相关基因调控作用很有可能是一种复杂的网络调控,各种相关基因之间的关系并不是单纯的点对点的调控模式,而是一种更为错综复杂的网络调控模式。希望随着临床研究的深入发展及探索,以上研究能够为 NSCLC 的临床治疗,特别是靶向药物的治疗指明新的方向。

参考文献

- [1] Torre LA, Siegel RL, Jemal A. Lung cancer statistics[J]. Adv Exp Med Biol, 2016, 893: 1-19.
- [2] 曹新广, 吕慧芳, 陈贝贝, 等. Axl 调控的 miRNA 表达在 NSCLC 吉非替尼获得性耐药中的意义[J]. 郑州大学学报(医学版), 2015, 50(5): 651-654.
- [3] 王鹏, 刘长庭. 非小细胞肺癌中 microRNA 与 EGFR-TKI 获得性耐药机制的研究进展[J]. 肿瘤学杂志, 2016, 22(3): 161-166.
- [4] Mu XL, Li LY, Zhang XT, et al. Gefitinib-sensitive mutations of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase domain in Chinese patients with non-small cell lung cancer[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(12): 4289-4294.
- [5] Vijayalakshmi R, Krishnamurthy A. Targetable driver mutations in non-small cell lung cancer[J]. India J Surg Oncol, 2011, 2(3): 178-188.
- [6] Hsu KH, Chen KC, Yang TY, et al. Epidermal growth factor receptor mutation status in stage I lung adenocarcinoma with different image patterns[J]. Thorac Oncol, 2011, 6(6): 1066-1072.
- [7] Zhao Y, Li Z. Interplay of estrogen receptors and FOXA factors in the liver cancer[J]. Mol Cell Endocrinol, 2015, 418(3): 334-339.
- [8] Liu Y, Zhao Y, Skerry B, et al. Foxa1 is essential for mammary duct formation[J]. Genesis, 2016, 26(10): 1002.
- [9] 冯炜红, 杜学明. 非小细胞肺癌患者表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂耐药机制及其治疗方案的研究进展[J]. 实用心脑血管病杂志, 2016, 24(12): 1-4.
- [10] 刘金洋, 葛春林. FoxM1 与胰腺癌相关研究的现状[J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(15): 2499-2502.

(收稿日期: 2017-02-08 修回日期: 2017-04-08)

(上接第 1912 页)

al. Splenectomy as a curative treatment for immune thrombocytopenia: a retrospective analysis of 233 patients with a minimum follow up of 10 years[J]. Haematologica, 2013, 98(6): 875-880.

- [15] 吴功强, 罗秋, 莲陈瑾. 重组人血小板生成素联合环孢素 A 治疗难治性 ITP 的疗效观察[J]. 浙江临床医学, 2015, 17(6): 892-893.

(收稿日期: 2017-01-23 修回日期: 2017-03-29)