

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.24.008

FOXM1 转录因子在人宫颈癌组织中的表达及其临床意义*

刘波¹, 黄世峰², 袁虹^{3△}

(重庆医科大学附属第一医院:1. 烧伤科/医疗美容科;2. 检验科;3. 妇产科 400016)

摘要:目的 探讨 FOXM1 转录因子在宫颈癌组织中的表达水平及其临床意义。方法 采用免疫组织化学染色法,检测 38 例宫颈癌,22 例宫颈上皮内瘤样病变(CIN I~III)和 17 例正常宫颈组织中 FOXM1 和 Ki-67 的表达水平。结果 FOXM1 在正常宫颈、CIN 和宫颈癌组织中的异常表达率分别为 5.88%、63.6% 和 92.1%;FOXM1 异常表达水平与宫颈癌患者的病理分化程度、临床分期、术后复发以及 Ki-67 表达水平平均高度相关。结论 FOXM1 可能与宫颈癌组织的异常增殖、恶性进展、分期和预后相关。

关键词:FOXM1;宫颈癌;免疫组织化学

中图分类号:R730.231

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)24-3143-03

Expression of FOXM1 transcription factor and its clinical significance in cervical cancer*

Liu Bo¹, Huang Shifeng², Yuan Hong^{3△}

(1. Department of Burn and Esthetic Surgery, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;

2. Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;

3. Department of Obstetrics and Gynecology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To detect the expression of FOXM1 transcription factor in cervical cancer tissues and to evaluate its clinical significance. Methods Immunohistochemical staining was employed to detect the expression of both FOXM1 and Ki-67 in a variety of cervical tissues respectively from 38 patients with cervical cancer, 22 with cervical intraepithelial neoplasia (ranging from CIN I to CIN III) and 17 with normal cervical epithelium. Results Abnormal expression rate of FOXM1 was respectively 5.88%, 63.6% and 92.1% in normal cervix, CIN and cervical cancer; Deregulated FOXM1 expression in cervical cancer tissues was significantly correlated with patients' pathological differentiation, clinical stage, post-operational recurrence and Ki-67 expression level. Conclusion FOXM1 expression may be correlated with the deregulated proliferation, malignant progression, staging and prognosis in cervical cancer.

Key words: FOXM1; cervical cancer; immunohistochemistry

宫颈癌是女性主要恶性肿瘤之一,其发病率在发达国家位于恶性妇科肿瘤第 3 位,在中国则位于第 2 位^[1]。每年全世界 50 余万新发病例中大约 1/3 来自中国。人乳头瘤病毒(HPV)感染在宫颈癌发病中起重要作用,是宫颈癌的重要危险因素^[2-3],但单纯 HPV 感染并不足以引起宫颈上皮细胞的恶性转化^[4]和宫颈癌的发生^[5]。因此,推测在宫颈组织低级别病变,即宫颈上皮内瘤样病变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)向侵袭性宫颈癌转化的过程中必定涉及其他影响癌基因、抑癌基因或信号转导通路的细胞遗传学改变。

FOXM1 转录因子是 FOX 基因家族中的一个重要成员,仅特异性表达于增殖期细胞中,在细胞增殖、分化和凋亡过程中发挥关键性作用^[6]。FOXM1 与胚胎发育、衰老、再生和肿瘤等许多生理过程均有密切关系,可通过对细胞周期相关因子的调控而促进细胞周期 G1 期向 S 期、G2 期向 M 期过渡,并诱导细胞发生有丝分裂^[7]。新近的研究证实,FOXM1 异常表达与多种人类恶性肿瘤包括肝癌^[8]、乳腺癌^[9]、肺癌^[10]和膀胱癌^[11]等的发生和发展均有密切关系,是肿瘤增殖所必需的转录因子,其表达水平常与肿瘤的恶性进展程度相关,已成为

临床肿瘤治疗的一个新靶点^[12]。然而,FOXM1 在宫颈癌组织中的表达情况及其在宫颈癌发生和进展过程中的临床意义尚未见报道。本研究旨在通过检测宫颈 CIN 和鳞状细胞癌组织中 FOXM1 表达情况,评估 FOXM1 与宫颈癌临床病理学参数间的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2013 年 1~6 月在重庆医科大学附属第一医院妇产科进行宫颈活检或手术治疗、且未经放化疗的初诊住院患者组织标本 77 例,包括 17 例正常宫颈组织、22 例 CIN 标本、38 例宫颈癌标本,标本类别均经病理学检查确诊。所有患者临床资料完整,年龄 25~71 岁,平均 47.6 岁。

1.2 FOXM1 和 Ki-67 免疫组织化学染色检测 小鼠抗人 FOXM1 单克隆抗体和小鼠抗人 Ki-67 单克隆抗体均购自 Santa Cruz 公司,S-P 免疫组织化学试剂盒购自北京中杉生物技术有限公司。严格参照试剂盒说明书进行免疫组织化学染色操作。

参照参考文献^[10]将 FOXM1 染色结果计为 0~3 分。0 分:细胞核和细胞质均未染色(-);1 分:细胞质染色为主

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81101826)。作者简介:刘波(1978-),医师,硕士,主要从事肿瘤分子生物学研究工作。

△ 通讯作者, Tel: 13018348051; E-mail: yh19970901@163.com。

(+);2分:异质性染色即细胞质和细胞核混合染色(++);3分:连续的细胞核染色(+++).0分判为 FOXM1 表达阴性,1~3分者均判为阳性表达。Ki-67 抗原均定位于细胞核,以细胞核呈清晰棕黄色染色为阳性。按切片中阳性细胞数的比例划分染色等级:无明确阳性细胞为(-);阳性细胞数小于10%为弱阳性;阳性细胞数大于10%为强阳性。

1.3 统计学处理 FOXM1 与临床病理学参数的相关性分析采用 SPSS13.0 软件进行分析处理。分类数据采用 Pearson's χ^2 检验或 Fisher's 精确概率法进行统计分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

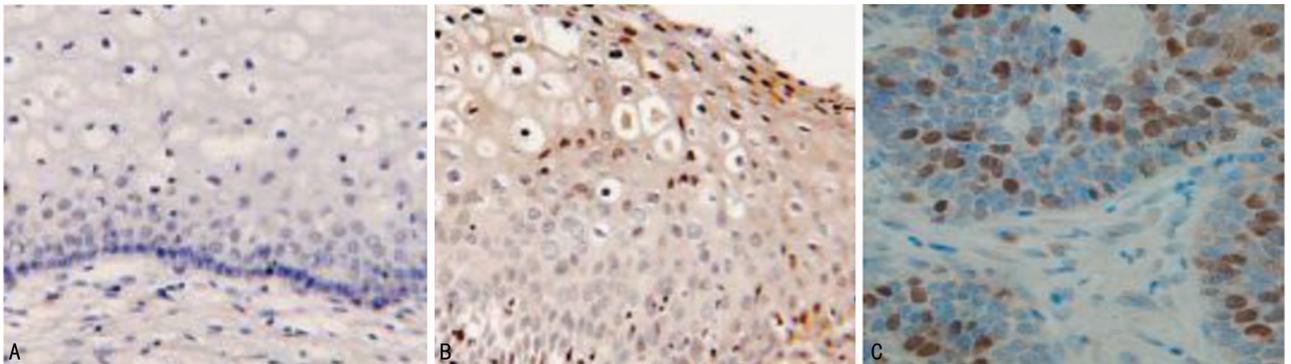
2 结果

2.1 正常宫颈组织、CIN 组织和宫颈鳞状细胞癌组织中 FOXM1 表达情况比较 采用免疫组织化学染色方法对正常宫颈组织、CIN 组织和宫颈鳞状细胞癌组织标本中 FOXM1 表达情况进行检测。结果显示,FOXM1 在正常宫颈、CIN 和宫颈鳞状细胞癌组织中的异常表达率分别为 5.88%、63.6%和 92.1%(表 1)。正常宫颈上皮组织中 FOXM1 染色均为阴性或弱阳性,阳性染色仅见于基底膜下层和中间层宫颈组织中(图 1A);而宫颈鳞状细胞癌组织细胞核内 FOXM1 出现高表达(图 1C);CIN 组织中 FOXM1 表达程度介于正常组织和宫颈鳞状细胞癌组织之间(图 1B),且

CIN 组织内 FOXM1 表达水平呈现从 CIN I 向 CIN III 逐渐增强的趋势(图 2),提示 FOXM1 表达仅局限于增殖性宫颈上皮细胞中,且其表达水平与宫颈癌的恶性进展显著相关。

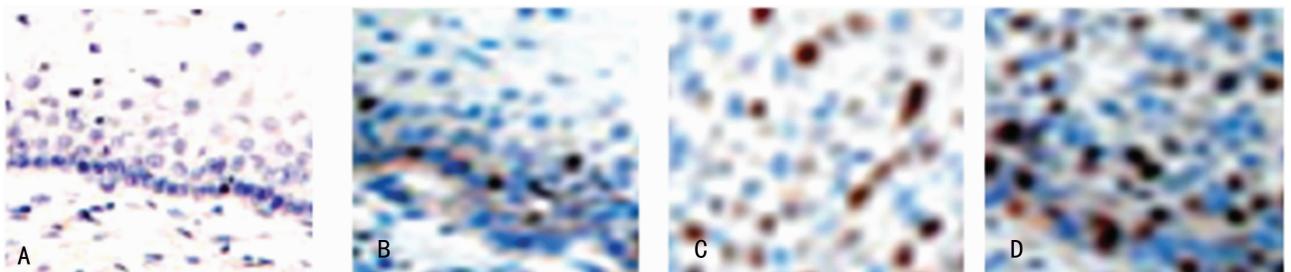
表 1 宫颈鳞状细胞癌组织中 FOXM1 和 Ki-67 表达结果分析[n(%)]

免疫组化染色结果	阳性表达	
	肿瘤组织	正常组织
FOXM1		
阴性	3(7.9)	16(94.1)
阳性	35(92.1)	1(5.9)
合计	38	17
P	<0.001	
Ki-67		
弱表达($\leq 10\%$)	2(5.2)	16(94.1)
强表达($> 10\%$)	36(94.8)	1(5.9)
合计	38	17
P	<0.01	



A: 正常宫颈组织; B: CIN 组织; C: 宫颈鳞状细胞癌组织。

图 1 正常宫颈、CIN 和宫颈癌组织 FOXM1 免疫组织化学染色检测结果($\times 200$)



A: 正常宫颈组织; B: CIN I 组织; C: CIN II 组织; D: CIN III 组织。

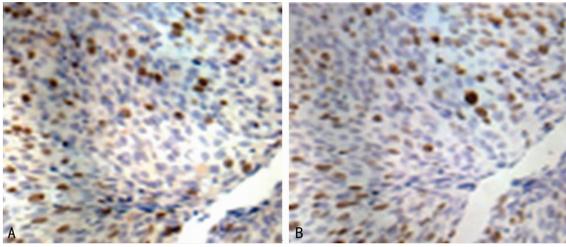
图 2 不同病变级别 CIN 组织中 FOXM1 免疫组织化学染色检测结果($\times 200$)

2.2 宫颈鳞状细胞癌组织中 FOXM1 表达水平与 Ki-67 表达水平的相关性分析 Ki-67 是一种常用于对包括宫颈癌在内的恶性肿瘤病变的增殖情况进行评估的标记物。为进一步研究 FOXM1 在宫颈癌进展中的作用,本研究进一步通过免疫组织化学染色方法检测了 Ki-67 在以上各种宫颈组织标本中的表达情况。研究结果显示,与 FOXM1 表达情况类似,绝大多数正常宫颈上皮组织中 Ki-67 表达为阴性或仅见微弱表达(表 1)。使用 10%作为临界值时发现 36 例(94.8%)宫颈癌组织

标本中 Ki-67 为强表达,而仅 2 例(5.2%)为 Ki-67 低表达(表 1)。通过对 FOXM1 和 Ki-67 的表达类型进一步分析发现,在所有宫颈癌组织中 FOXM1 染色增强与 Ki-67 阳性增殖细胞比例呈强相关性(图 3),即 FOXM1 表达与宫颈癌组织中较高的 Ki-67 阳性增殖分数相关(表 2)。以上结果提示 FOXM1 过表达于高度增殖的人宫颈癌组织中。

2.3 FOXM1 表达水平与宫颈癌患者临床病理学参数间的相关性分析 临床病理学相关性分析显示,宫颈癌组织中

FOXM1 阳性表达与肿瘤较晚的分期、较低的病理分化程度和术后复发均显著相关,但与患者年龄、放疗敏感性以及 HPV 感染等均无显著相关性(表 2)。



A: FOXM1 免疫组织化学染色; B: Ki-67 免疫组织化学染色。

图 3 同一张宫颈癌病理组织切片中 FOXM1 和 Ki-67 免疫组织化学染色结果

表 2 宫颈鳞状细胞癌组织中 FOXM1 表达情况及其与患者临床病理学参数相关性分析

临床病理学参数	FOXM1 表达情况		P
	阳性(n=35)	阴性(n=3)	
年龄(岁)			0.42
≤55(n=17)	16	1	
>55(n=21)	19	2	
临床分期			0.01*
≤早期(n=9)	1	2	
>晚期(n=29)	34	1	
放疗敏感性			0.23
敏感(n=25)	24	1	
抵抗(n=13)	11	2	
HPV 16 或 18 型感染			0.43
阳性(n=29)	27	2	
阴性(n=9)	8	1	
复发			0.03*
+(n=25)	25	0	
-(n=13)	10	3	
分化情况			0.01*
高分化(n=9)	6	3	
中、低分化(n=29)	29	0	
Ki-67 表达情况			0.01*
强表达(n=35)	34	1	
弱表达(n=3)	1	2	

3 讨 论

FOXM1 是一种典型的增殖相关性转录因子,在细胞增殖、分化和凋亡过程中起重要作用。FOXM1 在不同组织起源的多种人类肿瘤,如肝细胞肝癌^[8]、乳腺癌^[9]、肺癌^[10]、膀胱癌^[11]等恶性肿瘤中均普遍上调,并与肿瘤的发生和恶性进展显著相关。宫颈鳞状细胞癌源于宫颈上皮细胞,通过系列增殖性改变由 CIN 病变进展所致。

本研究采用免疫组织化学方法检测了正常宫颈上皮组织、CIN 组织和鳞状细胞癌组织标本中 FOXM1 的表达情况,并结

合患者临床病理学资料对 FOXM1 在宫颈癌发生、发展中的临床意义进行了评估。结果显示,正常宫颈、CIN 和宫颈癌组织中 FOXM1 的检出率分别为 5.88%、63.6% 和 92.1%。FOXM1 在正常宫颈上皮组织中不表达或仅微弱表达,而在 CIN I、CIN II、CIN III 和宫颈鳞状细胞癌等组织中,其表达水平随着细胞增殖程度的增加及细胞恶性程度的进展而逐渐增强;FOXM1 异常表达与宫颈癌恶性病变增殖性标记物 Ki-67 的表达水平高度相关。此外,FOXM1 的表达水平与宫颈癌的病理分化程度、临床分期和术后复发等病理学参数亦显著相关。以上研究结果提示 FOXM1 在宫颈癌的发生和进展中起重要作用,可能成为一个与 Ki-67 类似的宫颈癌预后标记物。

FOXM1 已被证实与各种肿瘤的多种临床病理学参数显著相关。Calvisi 等^[13]研究发现,在大鼠和人肝癌形成过程中出现 FOXM1 过表达,且 FOXM1 表达水平与肝癌细胞的增殖指数呈正相关;在肺鳞状细胞癌中,FOXM1 过表达被证实与肿瘤细胞的分化程度和患者预后等均显著相关^[10]。Huang 等^[14]研究证实,胰腺癌中 FOXM1 过表达可促进肿瘤发生上皮-间质转化、侵袭和转移;在大肠癌中,FOXM1 信号通路活化可促进肿瘤进展和转移^[15]。本研究则进一步证实 FOXM1 表达与宫颈鳞状细胞癌病理学分化程度及临床分期均显著相关,FOXM1 检测有助于对宫颈癌患者预后进行早期预测。

参考文献:

- [1] Jemal A, Simard EP, Dorell C, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2009, featuring the burden and trends in human papillomavirus (HPV)-associated cancers and HPV vaccination coverage levels[J]. J Natl Cancer Inst, 2013, 105(3): 175-201.
- [2] Castle PE, Glass AG, Rush BB, et al. Clinical human papillomavirus detection forecasts cervical cancer risk in women over 18 years of follow-up[J]. J Clin Oncol, 2012, 30(25): 3044-3050.
- [3] Saslow D, Solomon D, Lawson HW, et al. American cancer society, american society for colposcopy and cervical pathology, and american society for clinical pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer[J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62(3): 147-172.
- [4] González Martín A. Molecular biology of cervical cancer [J]. Clin Transl Oncol, 2007, 9(6): 347-354.
- [5] Kim YT, Zhao M. Aberrant cell cycle regulation in cervical carcinoma[J]. Yonsei Med J, 2005, 46(5): 597-613.
- [6] Wang X, Quail E, Hung NJ, et al. Increased levels of forkhead box M1B transcription factor in transgenic mouse hepatocytes prevent age-related proliferation defects in regenerating liver[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(20): 11468-11473.
- [7] Wonsey DR, Follettie MT. Loss of the forkhead transcription factor FoxM1 causes centrosome amplification and mitotic catastrophe[J]. Cancer Res, 2005, 65(12): 5181-5189.
- [8] Zeng J, Wang L, Li Q, et al. FoxM1 is up-(下转第 3148 页)

预对两组患者一级终点事件的影响。

本研究发现,研究组给予 HUA 干预治疗后,血尿酸水平明显降低的同时,24 h 动态血压亦进一步下降,血压达标率高于干预前,这与国内外报道相符,通过降低血尿酸水平可改善血压情况。1990 年后多个心血管病流行病学研究一致证实血尿酸是高血压发病的独立危险因素^[8]。国际上及国内已逐渐完成了一些有关尿酸干预与高血压关系的研究。Kanbay 等^[9]入选 30 例 I 级高血压合并轻度 HUA 青少年患者,交叉给予别嘌醇和安慰剂 4 周,结果显示治疗组与安慰剂相比可明显降低血压。国内邝健等^[10]探索应用别嘌醇对中青年轻度高血压合并 HUA 患者血压的影响,结果发现,在 HUA 患者中,基础血管紧张素 II 水平明显高于正常值,别嘌醇组治疗后肾素及血管紧张素 II 水平明显下降,血压也随之下降。推测血压的下降可能与血尿酸水平下降后,肾素血管紧张素系统的过度激活受到抑制及内皮功能的改善有关。

综上所述,降低老年高血压合并糖尿病的 HUA 患者病死(病残)率的最关键措施,仍然是规范合理的血压管理和血糖管理。在此基础上,有效降低增高的血尿酸水平,可提高患者的血压达标率,更好地保护这个特殊的高危人群。

参考文献:

- [1] Freedman DS, Williamson DF, Gunter EW, et al. Relation of serum uric acid to mortality and ischemic heart disease. The NHANES I Epidemiologic Follow-up Study[J]. *Am J Epidemiol*, 1995, 141(7): 637-644.
- [2] Meisinger, Christa, Koenig, et al. Uric Acid levels are associated with all-cause and cardiovascular disease mortality independent of systemic inflammation in men from the general population; The MONICA/KORA Cohort Study [J]. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 2008, 28(6): 1186-1192.
- [3] Hoiegggen A, Alderman MH, Kjeldsen SE, et al. The impact of serum uric acid on cardiovascular outcomes in the

LIFE study[J]. *Kidney Int*, 2004, 65(1): 1041-1049.

- [4] Athyros VG, Mikhailidis DP, Papageorgiou AA, et al. The effect of statins versus untreated dyslipidaemia on renal function in patients with coronary heart disease. A subgroup analysis of the Greek atorvastatin and Coronary heart disease evaluation (GREACE) study [J]. *J Clin Pathol*, 2004, 57(7): 728-734.
- [5] Herlitz J, Malmberg K, Karlson BW, et al. Mortality and morbidity during a five-year follow-up of diabetics with myocardial infarction[J]. *Acta Med Scand*, 1988, 224(1): 31-38.
- [6] Levine W, Dyer AR, Shekelle RB, et al. Serum uric and 11. 5-year mortality of middle-aged women; findings of the Chicago Heart Association Detection Project in industry[J]. *J Clin Epidemiol*, 1989, 42(3): 257-267.
- [7] Bickel C, Rupprecht HJ, Blankenberg S, et al. Serum uric acid as an independent predictor of mortality in patients with angiographically proven coronary artery disease[J]. *Am J Cardiol*, 2002, 89(1): 12-17.
- [8] Sundstrom J, Sullivan LD, Agostino RB, et al. Relations of serum uric acid to longitudinal blood pressure tracking and hypertension incidence [J]. *Hypertension*, 2005, 45(1): 28-33.
- [9] Kanbay M, Ozkara A, Selcoki Y, et al. Effect of treatment of hyperuricemia with allopurinol on blood pressure, creatinine clearance, and proteinuria in patients with normal renal functions[J]. *Int Urol Nephrol*, 2007, 39(4): 1227-1233.
- [10] 邝健, 麦炳勋, 黄裕立, 等. 别嘌醇治疗中青年高血压病合并高尿酸血症[J]. *中山大学学报*, 2009, 30(6): 762-766.

(收稿日期: 2014-01-12 修回日期: 2014-04-15)

(上接第 3145 页)

- regulated in gastric cancer and its inhibition leads to cellular senescence, partially dependent on p27 kip1 [J]. *J Pathol*, 2009, 218(4): 419-427.
- [9] Xia L, Huang W, Tian D, et al. Upregulated FoxM1 expression induced by hepatitis B virus X protein promotes tumor metastasis and indicates poor prognosis in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2012, 57(3): 600-612.
 - [10] Yang DK, Son CH, Lee SK, et al. Forkhead box M1 expression in pulmonary squamous cell carcinoma: correlation with clinicopathologic features and its prognostic significance[J]. *Hum Pathol*, 2009, 40(4): 464-470.
 - [11] Liu D, Zhang Z, Kong CZ. High FOXM1 expression was associated with bladder carcinogenesis[J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(2): 1131-1138.
 - [12] Bhat UG, Halasi M, Gartel AL. Thiazole antibiotics target

FoxM1 and induce apoptosis in human cancer cells[J]. *PLoS One*, 2009, 4(5): e5592.

- [13] Calvisi DF, Pinna F, Ladu S, et al. Forkhead box M1B is a determinant of rat susceptibility to hepatocarcinogenesis and sustains ERK activity in human HCC[J]. *Gut*, 2009, 58(5): 679-687.
- [14] Huang C, Xie D, Cui J, et al. FOXM1c promotes pancreatic cancer epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis via upregulation of expression of the urokinase plasminogen activator system[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(6): 1477-1488.
- [15] Li DW, Wei P, Peng ZH, et al. The critical role of dysregulated FOXM1-PLAUR signaling in human colon cancer progression and metastasis[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(1): 62-72.

(收稿日期: 2014-01-27 修回日期: 2014-04-15)