

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.03.011

文章编号: 1005-8982(2016)03-0055-04

临床论著

## 人 G 补缀 FHA 域血管生成因子 1 在宫颈癌组织中的表达及其临床意义

杨泽妹, 黄守国

(海南省海口市人民医院 妇产科, 海南 海口 570208)

**摘要:目的** 探索人 G 补缀 FHA 域血管生成因子 1 (AGGF1) 在宫颈癌中的表达及与宫颈癌患者预后的相关性。**方法** 对 60 例宫颈癌组织及癌旁组织进行 AGGF1 免疫组织化学法检测, 并对其表达及与患者预后的相关性进行分析。**结果** AGGF1 在宫颈癌组织中的表达比癌旁组织高 ( $P < 0.05$ ), Kaplan-meier 曲线分析发现, AGGF1 表达高的患者生存较差 ( $P = 0.004$ )。Cox 回归模型分析发现, AGGF1 可以作为独立指标预测宫颈癌患者术后生存。**结论** 宫颈癌患者 AGGF1 高表达预示预后较差, 并且其可以作为一个独立因素来预测宫颈癌患者术后生存。

**关键词:** AGGF1; 免疫组织化学法; 宫颈癌; 预后

**中图分类号:** R737.33

**文献标识码:** A

### AGGF1 expression in cervical carcinoma and its association with clinicopathological variables

Ze-mei Yang, Shou-guo Huang

(Department of Obstetrics and Gynecology, Haikou People's Hospital, Haikou, Hainan 570208, China)

**Abstract: Objective** To determine the expression of human angiogenic factor with G patch and FHA domains 1 (AGGF1) in cervical carcinoma, and to investigate its relationship with the prognosis of cervical carcinoma. **Methods** Immunohistochemistry was performed to detect AGGF1 level in the cervical cancer tissues and pericancerous tissues of 60 cases, and the relationship between the expression of AGGF1 and prognosis of the patients was analyzed. **Results** The expression of AGGF1 in the cervical carcinoma tissues was significantly higher than that in the pericancerous tissues ( $P < 0.05$ ). The survival rate of the patients with high AGGF1-expression was significantly lower than that of the patients with low AGGF1-expression ( $P = 0.004$ ). The Cox model analysis revealed that AGGF1 expression was an independent biomarker for prediction of the survival of cervical carcinoma patients. **Conclusions** High expression of AGGF1 predicts poor prognosis in cervical carcinoma patients. AGGF1 can be used as an independent factor to predict postoperative survival of patients with cervical cancer.

**Keywords:** angiogenic factor with G patch and FHA domains 1; IHC; cervical carcinoma; prognosis

妇科三大恶性肿瘤中, 宫颈癌的发病率仅次于乳腺癌, 在发展中国家则居首位<sup>[1]</sup>。我国宫颈癌的发病率呈逐年上升和低龄化的趋势, 已严重威胁到妇女的健康和生命安全。其早期以手术治疗为主, 中、

晚期大多采用放射治疗, 5 年生存率仅 40% 左右<sup>[2]</sup>。多年来通过不断提高手术技巧、改进放疗设备和技术来提高其生存率, 但效果仍不理想; 目前还没有公认分子标志物来预测宫颈癌的预后。因此, 寻找

收稿日期: 2015-05-04

新的预测指标和宫颈癌分子靶点成为全球科学家研究的热点,其被科学家们认为是评估宫颈癌患者治疗效果和生存率的关键途径之一。

人 G 补缀 FHA 域血管生成因子 1(angio-genic factor with G and FHA domains 1, *AGGF1*) 基因是 2004 年 Tian 等在对 1 例染色体发生 t(5;11)(q13.3;p15.1) 平衡位点先天性静脉畸形骨肥大综合征患者进行精细的分子遗传学研究时,在染色体异位染色点克隆的一个新基因<sup>[9]</sup>。该基因在血管内皮细胞高度表达,所编码的蛋白在体外表现出强烈的血管生成能力,故被初步定性为一个新的血管生成因子。持续的肿瘤血管生成是宫颈癌的主要标志和特征之一,与宫颈癌的生长、侵袭、转移及复发密切相关<sup>[9]</sup>,但是该分子是否影响宫颈癌患者术后生存尚未见相关报道。本研究的目的是探讨 *AGGF1* 在宫颈癌的表达及其与宫颈癌术后患者预后的相关性。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择 2005 年 6 月 -2010 年 8 月本院经病理确诊的 60 例宫颈癌患者为研究对象,均符合宫颈癌诊断标准<sup>[9]</sup>。入选标准:宫颈活检或者阴道镜下活检病理确诊为宫颈癌,临床分期标准 [国际妇产科协会 (Federation International of Gynecology and Obstetrics, FIGO)] 为 I<sub>b2</sub> 和 II<sub>a</sub> 期。入选患者年龄 27 ~ 69 岁,平均 (44.28 ± 7.63) 岁,中位年龄 40 岁;FIGO 分期 I<sub>b2</sub> 期 39 例, II<sub>a</sub> 期 21 例;病理类型:鳞癌 49 例,腺癌 7 例,腺鳞癌 4 例。每例患者有癌组织及癌旁组织标本,分别装入冻存管中,置于液氮中保存。所有患者有完整详细的临床资料。

### 1.2 免疫组织化学法染色

将收集的 60 例宫颈癌组织及癌旁组织标本进行石蜡包埋。每例组织蜡块 4 μm 连续切片,低温烤干后置入 -20℃ 冰箱保存。采用辣根 - 过氧化酶连接 (streptavidin-peroxidase, SP) 二步法对 60 例宫颈癌组织及癌旁组织进行免疫组织化学法检测,免疫荧光染色采用烟酸己可碱 (上海恒远生物科技有限公司) 和异硫氰酸荧光素 (南京探求生物技术有限公司) 混合染色,抗 -*AGGF1* 一抗购自美国 Santa Cruz 公司。

### 1.3 结果判断

采用双盲法阅片,细胞中出现明显的绿色荧光为阳性细胞,着色点位于细胞核。细胞染色强度评

分:0 分无染色,1 分弱染色,2 分中染色,3 分强染色。肿瘤细胞阳性率评分:1 分 0 ~ 9%,2 分 10% ~ 25%,3 分 26% ~ 50%,4 分 51% ~ 100%。将染色强度评分和阳性细胞率评分的乘积作为该切片的评分值。设定评分 0 ~ 4 分为阴性,>4 分为阳性。

### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析,计数资料以率表示,对 *AGGF1* 在宫颈癌组织及癌旁组织的表达进行 *t* 检验。*AGGF1* 在宫颈癌组织中的表达与临床各病理指标的相关性用  $\chi^2$  检验,用 Kaplan-meier 生存曲线和 Cox 比例风险回归模型进行生存分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

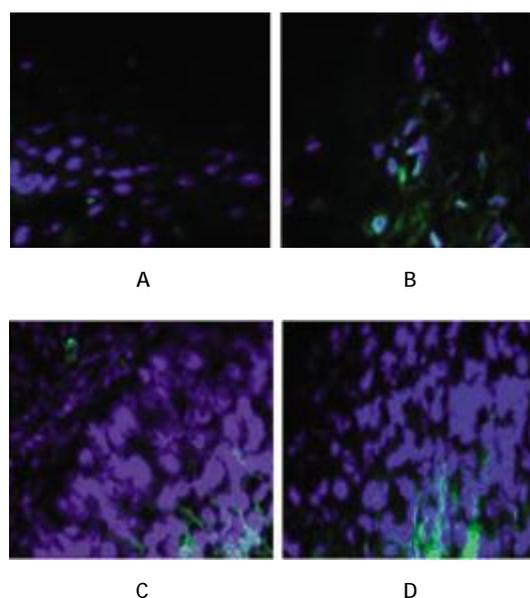
## 2 结果

### 2.1 *AGGF1* 在宫颈癌组织及癌旁组织中的表达

60 例宫颈癌组织中 33 例 *AGGF1* 表达阳性,占 55.0%。对宫颈癌组织及癌旁组织的免疫组织化学法检测结果进行 *t* 检验,分析发现 *AGGF1* 在癌组织中的表达高于癌旁组织 ( $P = 0.035$ )。见图 1、2。

### 2.2 *AGGF1* 表达与宫颈癌患者临床病理参数的相关性

*AGGF1* 表达与肿瘤大小、临床分期及血清癌抗原 125 (cancer antigen 125, CA125) 相关。与患者年龄、淋巴结转移无关。见表 1。



A: *AGGF1* 在正常宫颈组织中表达; B: *AGGF1* 在低级别鳞状上皮内病变的宫颈组织中表达; C: *AGGF1* 在高级别鳞状上皮内病变的宫颈组织中表达; D: *AGGF1* 在宫颈癌组织中表达

图 1 *AGGF1* 在宫颈组织中表达的免疫荧光图 (×200)

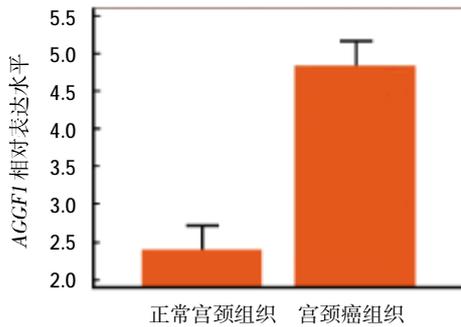


图 2 AGGF1 在正常宫颈组织和宫颈癌组织中的表达比较

表 1 临床病理参数与 AGGF1 表达的相关性

组别	例数	AGGF1 表阳性例 (%)	AGGF1 表达阴性例 (%)	P 值
<b>年龄</b>				
<50 岁	31	27(87.10)	4(12.90)	0.347
≥50 岁	29	24(82.76)	5(17.24)	
<b>组织学分级</b>				
高分化	8	7(87.50)	1(12.50)	0.427
中分化	37	31(83.78)	6(16.22)	
低分化	15	13(86.67)	2(13.33)	
<b>临床分期</b>				
I	28	17(60.71)	11(39.29)	0.016
II	17	14(82.35)	3(17.65)	
III	12	11(91.67)	1(8.33)	
IV	9	9(100.00)	0(0.00)	
<b>淋巴结转移</b>				
阳性	32	27(84.38)	5(15.62)	0.062
阴性	28	24(85.71)	4(4.29)	
<b>血清 CA125</b>				
>40 μg/L	47	45(95.74)	2(4.26)	0.014
<40 μg/L	13	6(46.15)	7(53.85)	
<b>肿瘤大小</b>				
<5 cm	28	21(75.0)	7(25.0)	0.029
≥5 cm	32	30(93.75)	2(6.25)	

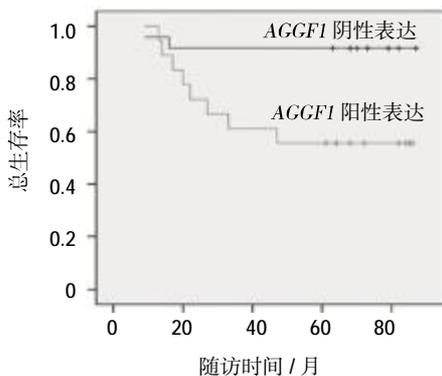


图 3 宫颈癌患者术后生存期与 AGGF1 表达的 Kaplan-meier 曲线

### 2.3 AGGF1 表达与患者预后的相关性

Kaplan-meier 生存曲线显示, AGGF1 阳性患者术后生存期比 AGGF1 阴性者短( $P=0.004$ )(见图 3)。单因素 Cox 比例风险回归模型分析发现, 肿瘤大小、血清 CA125、临床分期和 AGGF1 表达为宫颈癌患者预后相关因素。应用多因素 Cox 比例风险回归分析对临床病理参数进行校正后, AGGF1 表达可作为宫颈癌患者术后生存的独立预测指标(见表 2)。

表 2 影响宫颈癌患者生存指标的单因素和多因素分析

组别	相对风险	95%CI		P 值
		下限	上限	
<b>单因素分析</b>				
年龄 / 岁	1.119	0.929	1.350	0.268
组织学分级	1.059	0.616	1.467	0.829
临床分期	1.429	1.134	1.469	0.024
AGGF1 阳性表达	1.804	0.937	4.285	0.006
血清 CA125	5.284	2.443	7.655	0.001
肿瘤大小	1.657	1.024	2.358	0.006
<b>多因素分析</b>				
年龄 / 岁	1.682	1.173	4.284	0.225
组织学分级	1.572	0.984	1.982	0.274
临床分期	1.762	1.049	2.294	0.185
AGGF1 阳性表达	1.104	0.937	3.246	0.008
血清 CA125	3.629	2.983	7.844	0.039
肿瘤大小	2.739	1.003	4.392	0.011

### 3 讨论

持续性血管生成是原发性宫颈癌的主要特征之一, 宫颈癌细胞的生长、侵袭及转移依赖于宫颈癌内血管的生成。肿瘤血管生成的主要原因和过程非常复杂, 其中肿瘤细胞过量表达血管生成因子并以旁分泌的形势作用于内皮细胞是一条直接途径<sup>[6]</sup>。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, AGGF1)基因被克隆后发现, VEGF 可由肿瘤细胞表达和分泌, 从而诱发肿瘤血管生成<sup>[6-7]</sup>。之后全球掀起肿瘤血管生成因子的研究热潮。

2004 年 Tian 等发现 AGGF1 基因以来, AGGF1 在心血管系统的生理功能进一步被揭示。Chen 等<sup>[8]</sup>利用模式生物斑马鱼对 AGGF1 在血管形成中的功能进行研究, 发现 AGGF1 在斑马鱼中可调控血管的形成和静脉的分化; Lu 等<sup>[9]</sup>尝试利用 AGGF1 基因对小鼠后肢缺血模型进行血管生成治疗, 发现其能

较好地改善缺血部位的血流供应;Hu 等<sup>[10]</sup>发现 *AGGF1* 可抑制血管炎症反应,改善血管内皮功能;Lei 等<sup>[11]</sup>发现 *AGGF1* 可监控斑马鱼血液细胞形成。本研究表明,*AGGF1* 能够促进血管的生成,并改善局部缺血功能,而这恰好为肿瘤的进一步生长、侵袭和转移提供条件,因此笔者可以大胆的猜测 *AGGF1* 在促进宫颈癌的生长、转移和侵袭的过程中起重要作用。目前,本研究发现 *AGGF1* 在宫颈癌组织的表达比癌旁组织高,与预期结果相符合。与此同时,本研究还发现 *AGGF1* 表达高的宫颈癌患者预后较差。

综上所述,*AGGF1* 蛋白在宫颈癌组织中表达比癌旁组织高,并且 *AGGF1* 可以作为一个独立指标评估和预测宫颈癌患者术后生存期。*AGGF1* 是潜在的抑制宫颈癌血管生成的分子靶点,能够为宫颈癌治疗提供新途径。

#### 参 考 文 献:

- [1] Vici P, Mariani L, Pizzuti L, et al. Emerging biological treatments for uterine cervical carcinoma [J]. J Cancer, 2014, 5(2): 86-97.
- [2] 应倩,夏庆民,郑荣寿,等. 中国 2009 年宫颈癌发病与死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2013, 22(8): 612-616.
- [3] Tian XL, Kadaba R, You SA, et al. Identification of an angiogenic factor that when mutated causes susceptibility to Klippel-Trenaunay syndrome[J]. Nature, 2004, 427(6975): 640-645.
- [4] 伊日贵,徐晓艳,李时荣. 肿瘤侵袭转移机制研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2014, 6(10): 937-939.
- [5] 李玉梅,陈永强. 缺氧诱导因子 -1 与肿瘤细胞凋亡及血管生成关系的研究进展[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2008, 15(12): 324-329.
- [6] Chatterjee SI, Heukamp LC, Siobal M, et al. Tumor VEGF: VEGFR2 autocrine feed-forward loop triggers angiogenesis in lung cancer[J]. J Clin Invest, 2013, 123(4): 1732-1740.
- [7] Gaengel K, Betsholtz C. Endocytosis regulates VEGF signalling during angiogenesis[J]. Nat Cell Biol, 2013, 15(3): 233-235.
- [8] Chen D, Li L, Tu X, et al. Functional characterization of Klippel-Trenaunay syndrome gene *AGGF1* identifies a novel angiogenic signaling pathway for specification of vein differentiation and angiogenesis during embryogenesis[J]. Hum Mol Genet, 2013, 22(5): 963-976.
- [9] Lu QL, Yao YH, Yao YF, et al. Angiogenic factor *AGGF1* promotes therapeutic angiogenesis in a mouse limb ischemia model[J]. PLoS One, 2012, 7(10): DOI: 10.1371/journal.pone.0046998.
- [10] Hu F, Wu C, Li Y, et al. *AGGF1* is a novel anti-inflammatory factor associated with TNF- $\alpha$ -induced endothelial activation [J]. Cellular Signalling, 2013, 25: 1645-1653.
- [11] Lei L, Di C, Jia L, et al. *Aggf1* acts at the top of the genetic regulatory hierarchy in specification of hemangioblasts in zebrafish[J]. Blood, 2013, 123(4): 501-508.

(童颖丹 编辑)