

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.13.011

文章编号: 1005-8982(2017)13-0058-05

干细胞转录因子 OCT4、SOX2 在食管鳞癌中的表达及与预后的关系

张晖,周顺军,胡文聪

(四川省攀枝花市第二人民医院,四川 攀枝花 617068)

摘要:目的 探讨干细胞转录因子 Sry 相关 HMG 盒 2(SOX2)、八聚体结合转录因子 4(OCT4)在食管鳞癌中的表达变化及与患者临床特征、预后的关系。**方法** 采用免疫组织化学 SP 法检测 77 例手术后经病理学证实为食管鳞癌的手术标本(食管癌组)和 40 例癌旁组织标本(癌旁组织)中 SOX2、OCT4 蛋白的表达水平,并分析其与患者临床特征、预后的关系。**结果** 食管癌组织中的 SOX2 蛋白、OCT4 蛋白阳性表达率分别为 63.64%和 77.92%均高于癌旁组织的 17.50%和 15.00%,且差异具有统计学意义($P < 0.05$);食管癌组织中的 SOX2 蛋白、OCT4 蛋白在低分化、淋巴结转移患者中呈高表达($P < 0.05$);食管癌组织中的 SOX2 蛋白阳性表达患者的 3 年随访中位生存期 24 个月低于阴性患者的 30 个月($\chi^2 = 4.072, P = 0.044$);OCT4 蛋白阳性表达患者的中位生存时间 21 个月低于阴性患者 33 个月($\chi^2 = 4.880, P = 0.037$)。**结论** SOX2、OCT4 蛋白在食管癌组织中高表达,并且与患者的分化程度、转移及预后有关。

关键词: Sry 相关 HMG 盒 2;八聚体结合转录因子 4;食管鳞癌;表达;预后

中图分类号: R735.1

文献标识码: A

Expressions of OCT4 and SOX2 in esophageal squamous cell carcinoma and their relationships with clinical prognosis

Hui Zhang, Shun-jun Zhou, Wen-cong Hu

(The Second People's Hospital of Panzhihua City, Panzhihua, Sichuan 617068, China)

Abstract: Objective To investigate the expressions of stem cell transcription factor Sry related HMG box 2 (SOX2) and eight dimer binding transcription factor 4 (OCT4) in esophageal squamous cell carcinoma and their relationships with clinical characteristics and prognosis. **Methods** The expression levels of SOX2 and OCT4 proteins were detected by immunohistochemical SP method in 77 cases of esophageal squamous cell carcinoma (esophageal cancer) tissues and 40 cases of paracancerous tissues (adjacent tissues), and their correlations with the clinical features and prognosis of the patients were analyzed. **Results** The positive expression rates of SOX2 protein and OCT4 protein in the esophageal cancer tissues (63.64% and 77.92% respectively) were significantly higher than those in the adjacent tissues (17.50% and 15.00% respectively, $P < 0.05$). SOX2 protein and OCT4 protein were highly expressed in the esophageal cancer tissues of the patients with poorly-differentiated cancer and lymph node metastasis ($P < 0.05$). In the patients with positive expression of SOX2 protein in the esophageal carcinoma tissues, the median survival time during the three-year follow-up was 24 months, which was significantly shorter than that (30 months) of the SOX2 negative patients ($\chi^2 = 4.072, P = 0.044$). The median survival time of the patients with positive OCT4 protein expression (21 months) was significantly shorter than that (33 months) of the OCT4 negative patients ($\chi^2 = 4.880, P = 0.037$). **Conclusions** SOX2 and OCT4 proteins are highly expressed in esophageal cancer, and correlated with the degree of differentiation, metastasis and prognosis.

Keywords: Sry related HMG box 2; eight dimer binding transcription factor 4; esophageal squamous cell carcinoma; expression; prognosis

随着人们的物质生活水平提高,饮食上多高脂肪高蛋白,使我国食管癌渐呈高发状态,也使我国逐渐成为世界上食管癌高死亡率的国家^[1]。相关研究显示,食管癌与生活、饮食习惯有密切的关系,不良的生活、饮食习惯可增加食管癌的发生风险^[2]。在我国,食管癌常见的类型为鳞癌,早期不易发现、侵袭性强、进展迅速、容易耐药、容易复发。多数患者在早期仅有咽下哽咽等不适感,但可自行缓解甚至消失,导致患者未重视从而错过早期最佳治疗时间。对食管鳞癌的常规治疗可以使瘤体缩小,甚至消失,但不能使肿瘤治愈,说明在瘤体组织中有一些肿瘤细胞可以逃避药物作用,表明有肿瘤干细胞的存在。现代研究已经清楚干细胞转录因子 Sry 相关 HMG 盒 2 (stem cell transcription factor Sry related HMG box 2, SOX2)、八聚体结合转录因子 4 (eight dimer binding transcription factor 4, OCT4) 等干细胞转录调控因子参与了胚胎干细胞及原始生殖细胞的自我更新过程,大量研究表明,SOX2 等在肿瘤组织中有表达^[3]。为了进一步研究干细胞转录调控因子对食管鳞癌的表达及治疗的重要意义,笔者探讨了 OCT4、SOX2 在食管鳞癌中的表达及与临床预后的关系,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取四川省攀枝花市第二人民医院手术后经病理学证实为食管鳞癌的 77 例患者的癌组织手术标本(食管癌组)和 40 例癌旁组织标本(癌旁组织)。食管癌组 77 例患者。男 49 例、女 28 例;年龄 39~79 岁,平均(63.8±12.7)岁;分化程度:高分化 14 例、中分化 17 例、低分化 46 例;根据 2009 年美国癌症联合会(AJCC)TNM 分期标准:Ⅰ期 17 例、Ⅱ期 19 例、Ⅲ期 20 例、Ⅳ期 21 例;发生淋巴结转移 40 例。癌旁组织 40 例患者。男 29 例、女 11 例;年龄 41~75 岁,平均(64.8±10.5)岁。两组患者的年龄、性别构成差异无统计学意义($P>0.05$)具有可比性。

1.2 纳入及排除标准

1.2.1 纳入标准 所有纳入对象的组织标本均来源于本院手术切除后经病理学证实为食管癌组织或癌旁组织;患者术前未接受过放疗、化疗等治疗;患者的各项临床病理特征、术后随访情况均具有良好的数据记录;本研究获得研究对象的知情同意。

1.2.2 排除标准 术前具有放化疗病史的患者;合

并其他恶性肿瘤疾病的患者;各项资料不完整的患者。

1.3 方法

1.3.1 组织标本采集 在标本离体后迅速进行组织标本的采集。首先观察大体标本并进行拍照,确认肿瘤的部位及范围,然后将癌及癌旁组织切成多块直径为 0.5 cm 左右的组织小块并分块装进带有编号的灭菌冻存管,立即放进液氮转移罐。

1.3.2 免疫组织化学法 切片,烤片;脱蜡及复水;1 份 30%过氧化氢 H_2O_2 加 10 份蒸馏水,室温 10 min,蒸馏水洗 3 次,每次 3 min;微波修复;将切片自然冷却至室温,PBS 洗涤 3 次;封闭,5% BSA,室温 20 min,甩去多余液体;滴加一抗,37℃,1 h,或者 4℃过夜;PBS 洗涤 3 次,每次 3 min;滴加二抗,37℃,15~30 min;PBS 洗涤 3 次,每次 3 min;滴加 SABC,37℃,30 min;PBS 洗涤 3 次,每次 5 min;1 ml 蒸馏水中分别滴加显色剂,混匀;DAB 显色剂配置好后,滴加于切片,室温,镜下检测反应时间(约 5 min);自来水冲洗干净,过蒸馏水;苏木素复染 2 min,自来水冲洗;脱水;树胶封片,镜检。

1.4 免疫组织化学判断标准

免疫组织化学结果判定:SOX2、OCT4 蛋白的阳性着色表达于细胞核,呈黄色、棕黄色、褐色颗粒,本研究采用光镜下度每一张切片每一个视野中的阳性着色细胞数、着色强度进行评分的半定量方法进行评价;根据着色强度:0 分为无色、1 分为淡黄色、2 分为棕黄色、3 分为褐色、黑色;根据阳性细胞比例:阳性细胞数目所占比例 <10%为 1 分、阳性细胞所占比例 11%~50%为 2 分、阳性细胞数 51%~75%为 3 分、阳性细胞数所占比例 >75%为 4 分,两种积分相乘总分 ≤3 分为阴性、>3 分为阳性。

1.5 统计学方法

采用 SAS9.0 软件进行数据分析,正态分布的计量指标采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,百分或构成比率比较采用 χ^2 检验;生存分析采用 kaplan-meier 法,生存中位时间比较采用 log-rank 秩检验法; $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 SOX2 蛋白、OCT4 蛋白阳性表达

食管癌组中的 SOX2 蛋白、OCT4 蛋白阳性表达率分别为 63.64% 和 77.92% 均高于癌旁组织中的 17.50% 和 15.00%,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1 和图 1。

2.2 食管癌组 SOX2 蛋白、OCT4 蛋白阳性表达与患者的临床病理特征的关系

食管癌组中的 SOX2 蛋白、OCT4 蛋白在低分化、淋巴结转移患者中呈高表达($P < 0.05$),见表 2、3。

2.3 食管癌组中 SOX2 蛋白、OCT4 蛋白阳性表达与患者预后生存的关系

食管癌组中的 SOX2 蛋白阳性表达患者的 3 年随访中位生存期 24 个月低于阴性表达患者的 30 个月 ($\chi^2=4.072, P=0.044$)(见图 2);OCT4 蛋白阳性

表达患者的中位生存时间 21 个月低于阴性患者 33 个月 ($\chi^2=4.880, P=0.037$)(见图 3)。

表 1 SOX2 蛋白、OCT4 蛋白阳性表达比较 例(%)

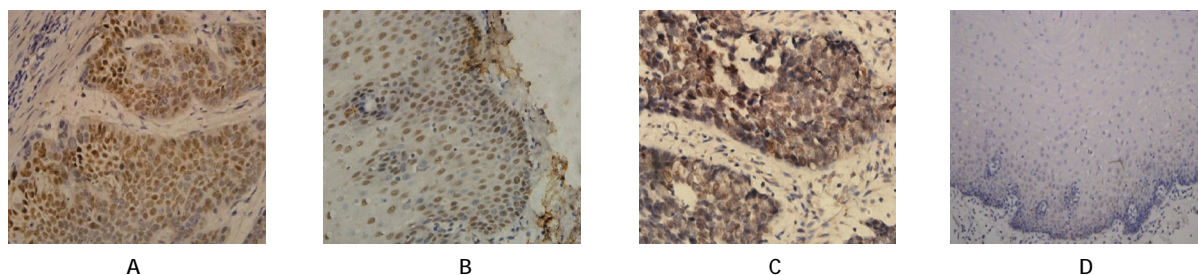
| 组别 | SOX2 蛋白 | | OCT4 蛋白 | |
|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 阳性 | 阴性 | 阳性 | 阴性 |
| 食管癌组(n=77) | 49(63.64) | 28(36.36) | 60(77.92) | 17(22.08) |
| 癌旁组织(n=40) | 7(17.50) | 33(82.50) | 6(15.00) | 34(85.00) |
| χ^2 值 | 22.455 | | 42.387 | |
| P 值 | 0.000 | | 0.000 | |

表 2 食管癌组中 SOX2 蛋白表达与患者的临床病理特征的关系

| 蛋白表达 | 年龄 | | 男/女 | 分化程度 | | 淋巴结转移 | | TNM 分期 | |
|------------|-------|-------|-------------|--------|-------|-------|-------|--------|----------|
| | ≥60 岁 | <60 岁 | | 高+中 | 低分化 | 是 | 否 | I+II 期 | III+IV 期 |
| 阳性(n=49) | 27 | 22 | 31/18 | 12 | 37 | 32 | 17 | 20 | 29 |
| 阴性(n=28) | 15 | 13 | 16/12 | 19 | 9 | 8 | 20 | 16 | 12 |
| 阳性率/% | 64.29 | 62.86 | 65.96/60.00 | 38.71 | 80.43 | 80.00 | 45.95 | 55.56 | 70.73 |
| χ^2 值 | 0.017 | | 0.281 | 13.933 | | 9.623 | | 1.908 | |
| P 值 | 0.897 | | 0.596 | 0.000 | | 0.002 | | 0.167 | |

表 3 食管癌组中 OCT4 蛋白表达与患者的临床病理特征的关系

| 蛋白表达 | 年龄 | | 男/女 | 分化程度 | | 淋巴结转移 | | TNM 分期 | |
|------------|-------|-------|-------------|--------|-------|--------|-------|--------|----------|
| | ≥60 岁 | <60 岁 | | 高+中 | 低分化 | 是 | 否 | I+II 期 | III+IV 期 |
| 阳性(n=60) | 34 | 26 | 35/25 | 17 | 43 | 37 | 23 | 26 | 34 |
| 阴性(n=17) | 8 | 9 | 12/5 | 14 | 3 | 3 | 14 | 10 | 7 |
| 阳性率/% | 80.95 | 74.29 | 74.47/83.33 | 54.84 | 93.48 | 92.50 | 62.16 | 72.22 | 82.93 |
| χ^2 值 | 0.493 | | 0.837 | 16.072 | | 10.281 | | 1.277 | |
| P 值 | 0.483 | | 0.360 | 0.000 | | 0.001 | | 0.258 | |



A:SOX2 蛋白在食管癌组织中的表达;B:SOX2 蛋白在癌旁组织中的表达;C:OCT4 蛋白在食管癌组织中的表达;D:OCT4 蛋白在癌旁组织中的表达

图 1 SOX2 蛋白和 OCT4 蛋白阳性表达 (SP×400)

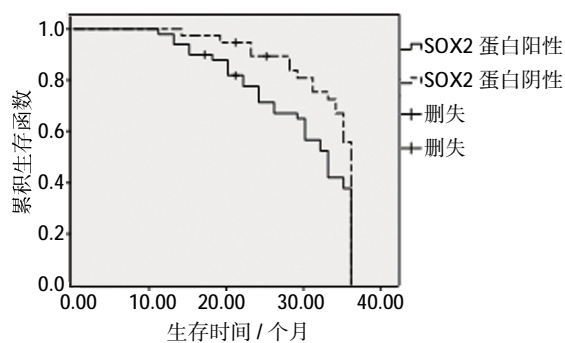


图 2 SOX2 蛋白不同表达患者的生存函数图

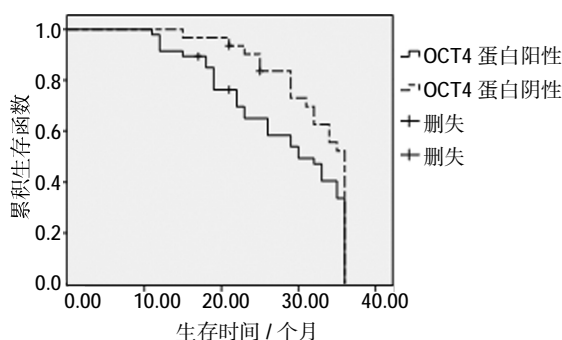


图 3 OCT4 蛋白不同表达患者的生存函数图

3 讨论

在我国每年大约有 25 万人新确诊为食管癌,食管癌因此越来越受到人们的关注和研究^[4]。食管癌的组织学分型包括鳞状细胞癌、腺癌和未分化癌。其中以鳞状细胞癌最为多见,未分化癌虽较少见但恶性程度最高,以腺癌最为少见。食管癌的病因包括食物中亚硝酸盐刺激、身体的创伤和炎症、环境的污染及食品的污染等^[5]。近年来越来越多的研究显示吸烟、饮酒也是引起食管癌的常见原因^[6],患者类型呈男性多于女性,且 40 岁以上男性是高发人群。由于食管癌早期症状不明显,不易被发现,所以在临床中患者一旦确诊为食管癌往往已是中晚期,已失去最佳治疗时机,手术效果并不理想,复发率非常高,使食管癌患者术后 5 年存活率往往不足 10%^[7]。故食管癌早期发现早期治疗是非常重要的步骤,但是由于目前常用肿瘤标志物对食管癌缺乏特异性及敏感性,导致食管癌的早期发现陷入困难^[8]。因此寻找新的对食管癌有特异性和敏感性的肿瘤标志物、了解食管癌生物特点将有利于食管癌的早期发现和有利于探寻新的生物治疗靶点,为提高食管癌患者的生存时间和生活质量带来巨大的影响^[9]。

在自然界中,生物所表现出独特的形状都是由于基因转录和翻译的结果。转录和翻译可以使基因控制蛋白质合成,毫无误差地完成基因的表达,整个过程中任何一点细微偏差,都将导致不可预知的缺陷或疾病^[10]。真核生物转录过程中有多重蛋白质因子协助参与,它是多基因协同作用的复杂过程。转录因子定位于细胞核中,不仅参与机体器官及血管生成,还对细胞凋亡起到调控作用,更可对癌基因、抑癌基因及细胞凋亡的相关分子进行调节,从始至终干预细胞生长发育,最终导致肿瘤的发生及转移,所以,针对单基因的治疗不能够有效地抑制肿瘤的生长。相关研究表明,肿瘤组织一般具有以下表型特征:具有向正常组织侵袭和转移的能力;可持续性促进肿瘤血管生成;复制潜力有限性;可程序性逃避细胞凋亡;对生长抑制信号不敏感性;呈自给自足性生长。因此说,食管癌发病的分子机制也与很多因素、很多基因的改变相关,其中包括人乳头瘤状病毒、细胞周期调控异常、抑癌基因丢失或失活、角蛋白及原癌基因的激活。目前,国内外多对 P53、P21、Rb、P16 等抑癌基因的失活以及 cyclinD1、H-ras、EGF、myc 等原癌基因的激活从而导致患者食管癌发病进行研

究。目前,对于食管癌肿瘤干细胞的研究比较少,已有的研究在细胞水平探讨了 SOX-2 及 OCT 等干细胞因子在促进食管癌细胞增殖、分化或者凋亡等病理过程中的作用,认为高表达的干细胞因子是促进癌细胞持续性病变的核心因素,但关于组织水平的研究较少,同时本次研究在探讨组织水平相关分子变化的同时,揭示了其与患者远期临床预后的关系。SOX2 和 OCT4 基因是维持胚胎干细胞(ESC)特性的核心物质,是胚胎干细胞分化发育成为各种功能细胞不可缺少的影响因子,并且目前已经证实,两者在多种肿瘤发生发展中起到了重要作用^[11]。SOX2 与 OCT4 能够相互结合,形成一个复合体,这个复合体可以以一种高度序列特异性的方式与靶基因进行结合,控制转录表达。本研究运用免疫细胞化学的方法检测 SOX2 蛋白、OCT4 蛋白表达情况,并分析其表达与临床预后的关系。结果发现食管癌中的 SOX2 蛋白、OCT4 蛋白阳性表达率均高于癌旁组织,并且食管癌组中的 SOX2 蛋白、OCT4 蛋白在低分化、淋巴结转移患者中呈高表达。食管癌患者出院后的随访中发现,食管癌组中的 SOX2 蛋白阳性表达患者的 3 年随访中位生存期低于阴性患者,OCT4 蛋白阳性表达患者的中位生存时间低于阴性患者。纵观笔者的研究可以得出 SOX2 和 OCT4 基因在食管癌干细胞生物学特性维持及肿瘤转移中有重要的作用,进一步深入研究 SOX2 和 OCT4 基因与食管癌发生发展的关系,将有助于了解食管癌的发生及复发机制,具有一定的临床意义,以期对食管癌的早期发现早期治疗做出贡献。

参 考 文 献:

- [1] 梁圣勇,李凯,龚继勇,等. 2006-2012 年山东省肥城市食管癌和贲门癌内镜筛查结果分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2015, 24(7): 549-553.
- [2] 路威,卢兆桐,袁未,等. 精神分裂症患者食管癌根治术后复发的脑电超慢涨落图特征分析[J]. 中华诊断学电子杂志, 2015, 3(1): 22-24.
- [3] 赵光磊,谭辉,田茂松. 食管癌患者术后感染病原菌的耐药性检测与分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 43(17): 3906-3907.
- [4] 丛明华,宋晨鑫,邹宝华. 谷氨酰胺、EPA、支链氨基酸对食管癌同步放化疗及胃癌术后辅助化疗患者的影响 [J]. 中华医学杂志, 2015, 95(10): 766-769.
- [5] PBOOKA E, TAKEUCHI H, NISHI T. The Impact of postoperative complications on survivals after esophagectomy for esophageal cancer[J]. Medicine (Baltimore), 2015, 94(33): e1369.
- [6] HU B, LUO W, HU R T. Meta-Analysis of prognostic and clinical significance of CD44v6 in esophageal cancer [J]. Medicine

- (Baltimore), 2015, 94(31): e1238.
- [7] 李烈. 有这些症状要小心食管癌 [J]. 中华养生保健, 2015, 21(2): 49.
- [8] 王孟, 郝长青, 赵德利, 等. 2005-2009 年中国食管癌高发区河南省林州市、山东省肥城市食管癌及其癌前病变人群分布研究[J]. 中华预防医学杂志, 2015, 30(7): 677-682.
- [9] 李文鹏, 罗维远, 徐毅. 下调 Oct4 基因表达对 MDA-MB-231 乳腺癌干细胞生物学特性的影响[J]. 中华肿瘤杂志, 2015, 30(4): 251-257.
- [10] 潘雪, 李向楠. 微小 RNA-21 反义寡核苷酸对食管癌顺铂耐药细胞的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32(5): 1072-1074.
- [11] 武双, 刁明坤, 李劲涛. HPV E7 在人食管鳞癌细胞系 EC9706 中基因沉默的研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2015, 29(2): 130-132.
- [12] 彭伦华. 食管癌术后经空肠造瘘管早期肠内营养分析[J]. 现代仪器与医疗, 2015, 21(3): 79-81.

(张蕾 编辑)

欢迎订阅《中国现代医学杂志》

《中国现代医学杂志》创刊于 1991 年,是一本医学综合性学术期刊。由中华人民共和国教育部主管,中南大学湘雅医院承办。创刊以来始终坚持以服务广大医药卫生科技人员、促进国内外医学学术交流和医学事业发展为宗旨,密切关注世界医学发展的新趋势,积极推广国内医药卫生领域的新技术、新成果,及时交流广大医药卫生人员的医学科学理论和业务技术水平,成为国内外医学学术交流的重要园地,已进入国内外多个重要检索系统和大型数据库。如:中文核心期刊(中文核心期刊要目总览 2008、2011 和 2014 版)、中国科技论文与引文数据库即中国科技论文统计源期刊(CSTPCD)、俄罗斯文摘(AJ)、中国学术期刊综合评价数据库、中国期刊网全文数据库(CNKI)、中文科技期刊数据库、中文生物医学期刊文献数据库(CMCC)、超星“域出版”及中国生物医学期刊光盘版等。

《中国现代医学杂志》辟有基础研究·论著、临床研究·论著、综述、新进展研究·论著、临床报道、学术报告、病例报告等栏目。主要刊登国内外临床医学、基础医学、预防医学以及医学相关学科的新理论、新技术、新成果,以及医院医疗、教学、科研、管理最新信息、动态等内容。主要读者为广大医药卫生科技人员。

《中国现代医学杂志》为旬刊(2017 年 7 月开始),国际标准开本(A4 幅面),全刊为彩色印刷,无线胶装。内芯采用 90 g 芬欧汇川雅光纸(880×1230 mm),封面采用 200 g 紫鑫特规双面铜版纸(635×965 mm)印刷,每个月 15、30 日出版。定价 35 元/册,全年 840 元。公开发行,国内统一刊号:CN 43-1225/R;国际标准刊号:ISSN 1005-8982;国内邮发代号:42-143。欢迎新老用户向当地邮局(所)订阅,漏订或需增订者也可直接与本刊发行部联系订阅。

联系地址:湖南省长沙市湘雅路 87 号《中国现代医学杂志》发行部,邮编:410008

电话:0731-84327938;传真:0731-89753837;E-mail:xdyx99@126.com

唯一官网网址:www.zgxdyx.com

《中国现代医学杂志》编辑部