

## FOXO1在膀胱癌组织中的表达及其与临床病理特征和预后的关系

杨川,王凯

汉川市人民医院泌尿外科,湖北 汉川 431600

**【摘要】** 目的 探究叉头框蛋白O1 (FOXO1)在膀胱癌(BC)组织中的表达及其与临床病理特征和预后的关系。方法 选取2013年5月至2014年7月在汉川市人民医院泌尿外科行手术切除的35例膀胱癌组织标本,并选取相应的35例癌旁(距病灶1 cm处)正常组织标本作为对照组。收集入试者临床资料,并采用免疫组化法和Western blot法检测FOXO1,采用配对卡方分析不同临床资料患者的FOXO1表达情况。结果 膀胱癌组织、肌层浸润性癌(MIBC)、高/低分化、有淋巴结转移患者的FOXO1阳性表达率分别为88.57%、100.00%、100.00%/100.00%、100.00%,明显高于癌旁组织、浅表性癌(NMIBC)、低度恶性倾向、无淋巴结转移患者的FOXO1阳性表达率(分别为14.29%、73.33%、60.00%、77.78%),差异均有统计学意义( $P<0.05$ );对照组正常组织的FOXO1表达为 $0.81\pm 0.35$ ,明显低于NMIBC组织、MIBC组织的 $1.16\pm 0.54$ 、 $1.90\pm 0.46$ ,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );NMIBC组织FOXO1的表达为 $1.16\pm 0.54$ ,明显低于MIBC组织的表达的 $1.90\pm 0.46$ ,差异有统计学意义( $P<0.05$ );在不同FOXO1表达患者中,40个月存活率比较中,阴性表达的膀胱癌患者生存率为50.00%,略高于阳性表达组的32.26%,但差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 FOXO1在不同临床病理特征的BC患者中表现有差异,以膀胱癌组织、MIBC、高/低分化、有淋巴结转移患者的FOXO1表达阳性率较高,但FOXO1阳性及阴性表达患者生存时间相当。

**【关键词】** 叉头框蛋白O1;膀胱癌;预后;病理特征;免疫组化法;表达

**【中图分类号】** R737.14 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2019)04—437—04

**FOXO1 expression in bladder cancer tissues and its correlation with clinical pathological characteristics and prognosis.** YANG Chuan, WANG Kai. Department of Urology Surgery, the People's Hospital of Hanchuan City, Hanchuan 431600, Hubei, CHINA

**【Abstract】 Objective** To explore the expression of FOXO1 in bladder cancer and its relationship with clinicopathologic features and prognosis. **Methods** A total of 35 cases of bladder cancer tissue samples from the patients who admitted to Department of Urology Surgery of the People's Hospital of Hanchuan City from May 2013 to July 2014, were collected as the research subjects. Meantime, the corresponding 35 cases of normal tissue samples were collected as the control group. Immunohistochemistry and Western blot were used to detect FOXO1, and paired chi-square was used to analyze FOXO1 expression in patients with different clinical data. **Results** The positive expression rates of FOXO1 in bladder cancer, muscular invasive bladder cancer (MIBC), high/low differentiation and lymph node metastasis were 88.57%, 100.00%, 100.00%/100.00% and 100.00%, respectively, which were significantly higher than corresponding 14.29%, 73.33%, 60.00%, 77.78% in the tissue adjacent to carcinoma, non-muscle invasive bladder cancer (NMIBC), low-grade malignant tendency, lymph node metastasis ( $P<0.05$ ). The expression of FOXO1 in normal tissues of the control group was  $0.81\pm 0.35$ , which was significantly lower than  $1.16\pm 0.54$  and  $1.90\pm 0.46$  in NMIBC tissue and MIBC tissue ( $P<0.05$ ). The expression of FOXO1 in NMIBC tissue was  $1.16\pm 0.54$ , which was significantly lower than  $1.90\pm 0.46$  of MIBC organization ( $P<0.05$ ). For 40-month survival rate comparison in the patients with different FOXO1 expression, the negative expression of patients with bladder cancer survival rate was 50.00%, which was slightly higher than 32.26% in the positive expression group ( $P<0.05$ ). **Conclusion** FOXO1 has an existing differential in patients with different clinical pathology, and in the case of bladder cancer tissue, MIBC, high/low differentiation, and lymph node metastasis, FOXO1 has higher positive expression rates. It was found that that survival time of FOXO1 positive and negative patients had no significant difference.

**【Key words】** FOXO1; Bladder cancer; Prognosis; Clinicopathologic features; Immunohistochemical method; Expression

膀胱癌(bladder cancer, BC)为泌尿科常见的恶性肿瘤之一,且在全球范围内都是危害人类健康的十大恶性肿瘤之一;而大数据显示,国内BC发病率和病死率呈现出逐年上升的趋势<sup>[1-2]</sup>。BC临床特征表现为间

歇性血尿(肉眼可见或显微镜下可见)、膀胱刺激症(尿频、尿急、尿痛)和肾积水<sup>[3]</sup>,而其治疗则主张早发现、早治疗,目前临床常用的治疗方式包括手术摘除、化疗、放疗和综合治疗。虽然医疗技术和医疗设备,且在近

几十年 BC 的治疗得到很大发展,但患者术后的五年生存率仍处于较低水平。因此寻求新的治疗 BC 方向,仍是临床和学术界关注的热点。而在包括膀胱癌在内的多种肿瘤患者中,学者对患者的临床资料和实验室数据进行分析,发现叉头框蛋白 O1 (FOXO1) 表达呈现明显的下降趋势;虽然目前对 FOXO1 的作用机制尚未清晰,但学者猜测,FOXO1 可能在磷酸化和去磷酸化的发生机制中,对细胞生长、增殖和代谢进行调控<sup>[4-5]</sup>。而在 BC 患者中,肿瘤细胞的生理代谢同样直接影响 BC 的进展,因而可能预示,FOXO1 与 BC 的临床病理特征具有某种关联;并有研究表明 FOXO1 可影响膀胱癌 BIU-87 的增殖活力<sup>[6]</sup>。因而选取膀胱癌组织标本,对不同临床病理特征的 BC 中 FOXO1 的表达进行研究,以期为治疗 BC 提供新的方向。现将结果报道如下:

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 5 月至 2014 年 7 月汉川市人民医院泌尿外科行手术切除的 35 例膀胱癌组织标本作为研究对象,并选取相应的 35 例癌旁(距病灶 1 cm 处)正常组织标本作为对照组。男性 25 例,女性 10 例;年龄 19~82 岁,中位年龄 62.5 岁;国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)的临床 TNM 分期中<sup>[7]</sup>,浅表性癌(Non-muscular invasive bladder cancer, NMIBC) Tis~T<sub>1</sub> 期 15 例、肌层浸润性癌(muscular invasive bladder cancer, MIBC) T<sub>2</sub>~T<sub>4</sub> 期 20 例;膀胱癌病理分期中,低度恶性倾向 10 例、低分化 15 例、高分化 10 例。所有切片均经我院资历深厚的病理专家验证,且组织标本选取和制作均由我院进行。纳入临床资料完整、患者和家属同意本研究,排除曾接受过放疗化疗治疗、合并其他泌尿系统肿瘤及影响本实验的疾病。

1.2 方法 首先制作癌变组织标本和癌旁组织标本,记录详细信息后于-80℃温度下冻存,均由同一位经验丰富的医师进行 FOXO1 的检测,免疫组化法具体如下:待测标本采用 10%福尔马林固定,石蜡包埋,选取厚 3 μm 切片;后经脱蜡、水化、热抗原修复,修复后冷却,之后采用磷酸盐缓冲液洗涤,并滴加一抗(FOXO1 为 1:150 稀释),对照采用磷酸盐缓冲液代替,孵育过夜;二抗孵育,并滴加光谱纯试剂(北京中山生物技术有限公司),二氨基联苯胺(湖北实顺生物科技有限公司)染色,苏木素复染,并树脂封片;最后在显微镜下观察。Western blot 法检测如下:首先提取(按 Pierce 蛋白裂解液操作说明书,上海书吉生物有限公司)组织中的总蛋白,并对总蛋白定量(二喹啉甲酸法),并采用 SDS-PAGE 进行电泳分离,之后硝酸纤维素膜转染,经 5%脱脂奶粉封闭,加入兔抗人 FOXO1 一抗,羊抗兔 IgG(辣根过氧化物酶标记),并用增强化学

发光染料显示蛋白质表达,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶单克隆抗体(上海士锋生物科技有限公司)作为内参照。

1.3 观察指标 细胞阳性:细胞核显棕黄色颗粒。组织切片为阳性标准:首先随机选取 5 个视野(×400,每个视野 100 个细胞),以阳性细胞占比和染色强度评分,阳性细胞占比:百分比≤5%为 0 分,6%≤百分比≤25%为 1 分,26%≤百分比≤50%为 2 分,51%≤百分比≤75%为 3 分,76%≤百分比为 4 分。染色强度:不着色 0 分,淡黄色 1 分,棕黄色 2 分,棕褐色 3 分。并以两者乘积划分阴性(0~2 分)、弱阳性(3~5 分)、中度阳性(6~8 分)和强阳性(9~12 分),3~12 分均记为阳性。判断结果由两位经验丰富的医师单盲独立判定,判定不一致由另一位医师判定。

1.4 统计学方法 应用 SPSS22.0 统计软件处理数据,计数资料比较采用 $\chi^2$ 检验;计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用独立样本 *t* 检验。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 不同临床病理特征患者的 FOXO1 表达比较 膀胱癌组织、MIBC、高/低分化、有淋巴结转移患者的 FOXO1 表达均高于癌旁组织、NMIBC、低度恶性倾向、无淋巴结转移的患者,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

表 1 不同临床病理特征患者的 FOXO1 表达比较 [例(%)]

临床特征	分类	例数	FOXO1		$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
			阳性	阴性		
年龄(岁)	<60	21	19 (90.48)	2 (9.52)	0.188	0.664
	≥60	14	12 (85.71)	2 (14.29)		
性别	男	25	23 (92.00)	2 (8.00)	1.016	0.313
	女	10	8 (80.00)	2 (20.00)		
组织	膀胱癌组织	35	31 (88.57)	4 (11.43)	38.660	<0.001
	癌旁组织	35	5 (14.29)	30 (85.71)		
TNM分期	NMIBC	15	11 (73.33)	4 (26.67)	6.022	0.014
	MIBC	20	20 (100.00)	0 (0)		
病理分级	低度恶性倾向	10	6 (60.00)	4 (40.00)	11.290	0.004
	低分化	15	15 (100.00)	0 (0)		
	高分化	10	10 (100.00)	0 (0)		
淋巴结转移	有	16	16 (100.00)	0 (0)	4.030	0.045
	无	18	14 (77.78)	4 (22.22)		

2.2 不同组织中 FOXO1 的表达比较 正常组织 FOXO1 相对表达明显低于 NMIBC、MIBC 组织,而 MIBC 组织的 FOXO1 相对表达明显高于 NMIBC 组织,差异均具有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 2。此外,免疫组化检测不同组织 FOXO1 的表达,结果显示,随着恶性程度的增高,其表达趋势逐渐增强,见图 1。

2.3 不同 FOXO1 表达患者的生存时间比较 在 FOXO1 阴性表达的膀胱癌患者中,其 40 个月的生存者 2 例(50.00%),略高于 FOXO1 阳性表达组中的 32.26%,但差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 3。

表2 不同组织中FOXO1的表达比较( $\bar{x}\pm s$ )

组织类型	分类	例数	FOXO1
膀胱癌组织	NMIBC	15	1.16±0.54
	MIBC	20	1.90±0.46 <sup>ac</sup>
正常组织		35	0.81±0.35 <sup>b</sup>
F值			41.361
P值			<0.001

注:NMIBC组织与MIBC组织比较,  $t=4.372$ ,  $^aP<0.05$ ; NMIBC组织与正常组织比较,  $t=9.895$ ,  $^bP<0.05$ ; MIBC组织与正常组织比较,  $t=2.727$ ,  $^cP<0.05$ 。

表3 不同组织中FOXO1表达患者的生存时间比较[(%)]

组别	例数	10个月	20个月	40个月
FOXO1 阴性表达	4	4 (100.00)	3 (75.00)	2 (50.00)
FOXO1 阳性表达	31	24 (77.42)	18 (58.06)	10 (32.26)
$\chi^2$ 值		1.129	0.423	0.495
P值		0.288	0.515	0.482

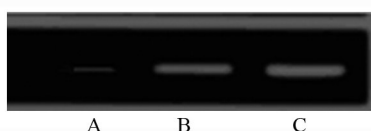


图1 免疫组化(RT-PCR)法分析FOXO1表达趋势

注:A为正常组织,B为NMIBC组织,C为MIBC组织。

### 3 讨论

影响BC患者预后及生存时间的主要因子在于恶性肿瘤细胞的迁移和侵袭,一般在组织学类型、分级、分期相同的恶性肿瘤患者中,其生存时间并不会会有较大差异;但在细胞分化程度相似的BC患者群体中,其预后和生存期相差较大<sup>[8]</sup>。目前普遍认为,这种差异的形成在于BC具有较高的异质性<sup>[9]</sup>。异质性指肿瘤在发生、进展过程中,因多次分裂增殖,其后代细胞在生物学或基因方面发生突变,而恶性肿瘤细胞与之相应的迁移和侵袭能力也将发生改变,并对临床预后产生较大影响。而这种源于基因和蛋白质改变的异质性,提示临床医师在对于BC患者制定治疗计划时,应当结合分子机制考虑,而靶向治疗符合这一临床需求。多个关于靶向治疗的研究指出,目前较为前景的靶向集中在信号转导通路、免疫治疗和细胞周期调控等方面;但靶向治疗在BC患者中的治疗仍处于初期阶段,因此并没有指南推荐的合适治疗方案<sup>[10-11]</sup>。而推动靶向治疗,在于具有较为明确的BC发病机制。而随着对BC基因和蛋白表达研究的深入,学者逐渐关注FOXO1和BC的预后关联。

FOXO1属于FOX家族,FOX基因源于果蝇“叉头”突变,于20世纪90年代首次发现后,至今已发现90多种,因其在进化历程中的高度保守,已统一划分至转录因子家族中<sup>[12-13]</sup>。在FOX研究的十几种亚族中,以FOXO的研究最为深入,FOXO主要包括FOXO1、FOXO3、FOXO4和FOXO6,其中FOXO4主要在肌肉、肾脏部位表达,而FOXO6则在脑部和肝脏

中表达<sup>[14-15]</sup>。在一项研究FOXO1作用功能的小鼠实验中,敲除FOXO1的小鼠出现胚胎致死现象,也就是说FOXO1在细胞中具有重要的调控作用<sup>[16]</sup>。而在FOXO1与肿瘤研究中,学者认为FOXO1通过AKT信号通路发生作用,并认为,FOXO1含量变化在恶性肿瘤患者中存在以下可能的机制:FOXO1与SMAD转录因子蛋白结合后,诱导DNA损伤诱导基因的表达,从而提高DNA损伤的修复能力,也就降低了细胞突变的概率;但FOXO1表达下调会降低DNA修复能力,从而使得恶性肿瘤细胞更易发生突变,其异质性更强<sup>[17]</sup>。正常情况下,去磷酸化的FOXO1几乎全部在细胞核内表达;但是在信号转导通路发生改变后,磷酸化的FOXO1转移至细胞质,也就导致FOXO1的转录通路受阻,影响细胞平衡。并有多项研究表明,在前列腺癌、肾癌、乳腺癌、肺癌中均有异常表达<sup>[18]</sup>;而在膀胱癌相关研究中也表明,FOXO1在不同类型的细胞中表达不同。以上研究均表明FOXO1在恶性肿瘤发生和进展中具有重要作用,而在以不同临床资料的患者组织标本为研究背景的分析中可见分级较低、病理较轻的患者FOXO1阴性表达更为明显;并在以FOXO1表达不同为组,观察BC患者的生存时间,截止40个月,两组虽然没有显著差异,但阴性组要略高于阳性组,而扩大研究样本可能更有利于观察这种差异性。总的来说,在BC患者中,肿瘤进展更为严重,FOXO1表达下调。邢庆菲等<sup>[6]</sup>在关于膀胱癌BIU-87细胞增殖活力的研究中指出,hepaCAM通过下调FOXO1的表达抑制膀胱癌BIU-87的增殖活力,且hepaCAM可能通过调控FOXO1对BC的进程进行阻滞。此外,FOXO1可能是BC的发生机制之一<sup>[19]</sup>。本研究显示,在不同病理特征患者中,其FOXO1的表达不同,且比较不同患者的生存时间显示,FOXO1对于BC患者的预后具有一定的价值,但有待于更多的研究。但结合多个研究以及本文数据分析,FOXO1在BC患者中具有一定的价值,但具体还需后续研究。

综上所述,FOXO1在不同临床病理特征的BC患者中表现有差异,并以膀胱癌组织、MIBC、高/低分化、有淋巴结转移患者的FOXO1表达阳性率较高,但FOXO1阳性及阴性表达患者生存时间相当。

#### 参考文献

- 刘文政, 凌锋, 删蒋. 经尿道电切术与2  $\mu$ m激光切除术治疗浅表性膀胱癌的疗效[J]. 锦州医科大学学报, 2017, 38(2): 37-39.
- 陈晓芳. 2013年中国膀胱癌发病和死亡流行状况分析[J]. 中国肿瘤, 2018, 27(2): 81-85.
- 黄健, 陈旭, 林天歆. 精准时代膀胱癌诊疗策略探讨[J]. 中华外科杂志, 2016, 54(19): 1550-1552.
- 金益. FOXO1基因在肿瘤中的研究进展[J]. 肿瘤学杂志, 2015, 21(2): 81-85.
- LI S, LEI X, ZHANG J, et al. Insulin-like growth factor 1 promotes growth of gastric cancer by inhibiting foxo1 nuclear retention

# 长期血液透析患者的焦虑现状、影响因素及其与生活质量的相关性

赵旭, 陈容

宜宾市第二人民医院肾内科透析室, 四川 宜宾 644000

**【摘要】** **目的** 调查长期血液透析(MHD)患者的焦虑发生情况,分析其影响因素,并探讨焦虑与生活质量的相关性。**方法** 于2016年1月至2017年12月随机抽取住院号或门诊号为单号于宜宾市第二人民医院肾内科透析室长期血液透析患者210例,采用焦虑自评问卷(SAS)和肾脏疾病特异性调查表(KDQ)评价患者的焦虑发生情况和生活质量,采用自行设计问卷表分析患者焦虑的影响因素,并用列联表 $\chi^2$ 检验分析焦虑与生活质量的相关性。**结果** 210例MHD患者发生焦虑91例,发生率为43.3%;KDQ评分为(139.3±29.6)分,<50岁组、50~65岁组和>65岁组KDQ评分分别为(142.8±26.9)分、(139.6±25.3)分和(136.3±23.1)分,组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ );单因素分析结果显示,医疗保险、婚姻状况、家庭月收入、透析龄、并发症、营养风险、社会支持度和性别都是焦虑的可能影响因素( $P<0.05$ );多因素 Logistic 回归分析结果显示,医疗保险、性别、家庭月收入、透析龄、营养风险及社会支持度是影响患者焦虑的重要因素(OR 分别为 0.256、0.384、0.396、2.327、7.456 和 0.385,  $P<0.05$ );列联表 $\chi^2$ 检验显示:患者焦虑与生活质量有相关性(列联系数 $c=0.335$ ,  $P<0.05$ )。**结论** 长期血液透析患者焦虑发生率高,经济原因、透析时长、营养风险和社会支持度是焦虑发生的影响因素,焦虑也影响患者生活质量,有必要加强患者指导,营造良好的社会支持外部环境,促进患者身心健康。

**【关键词】** 长期血液透析;焦虑;生活质量;影响因素;终末期肾病

**【中图分类号】** R459.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2019)04—440—04

**Survey on the status and influencing factors of anxiety among maintenance hemodialysis patients and the relationship between anxiety and quality of life.** ZHAO Xu, CHEN Rong. Dialysis Branch, Department of Nephrology, No.2 People's Hospital of Yibin, Yibin 644000, Sichuan, CHINA

**【Abstract】 Objective** To investigate the status and influencing factors of anxiety among patients undergoing maintenance hemodialysis (MHD), and discuss the relationship between anxiety and quality of life (QOL). **Methods** From Janu-

通讯作者:赵旭,E-mail:5161711@qq.com

\*\*\*\*\*

[J]. Tumor Biology, 2015, 36(6): 4519-4523.

[6] 邢庆菲, 郭战军, 李常颖, 等. 代谢综合征与膀胱癌分级和分期相关性的研究[J]. 中华泌尿外科杂志, 2015, 25(10): 761-764.

[7] LUCCA I, MARTINO MD, KLATTE T, et al. Novel biomarkers to predict response and prognosis in localized bladder cancer [J]. Urologic Clinics of North America, 2015, 42(2): 225-233.

[8] 郭毓鹏, 关红军, 董晶, 等. 尿膀胱癌抗原检测诊断膀胱癌的 Meta 分析[J]. 临床泌尿外科杂志, 2015, 25(5): 420-424.

[9] 何琪杨. 肿瘤异质性与抗肿瘤靶向药物的耐药性[J]. 药学报, 2016, 31(2): 197-201.

[10] MITRA AP, LERNER SP. Potential role for targeted therapy in muscle-invasive bladder cancer: lessons from the cancer genome atlas and beyond [J]. Urologic Clinics of North America, 2015, 42(2): 201-215.

[11] 平秦榕, 王剑松, 颜汝平, 等. 高危非肌层浸润性膀胱癌的治疗进展[J]. 山东医药, 2017, 57(31): 104-107.

[12] 陈宝英, 张英, 黄胜超, 等. FOXO1 在乳腺癌中的表达及临床意义[J]. 海南医学, 2017, 28(9): 1383-1386.

[13] 宋勇飞, 张衍梅, 方梦蝶, 等. 蛋白亚细胞定位与肿瘤关系的研究进展[J]. 肿瘤, 2017, 37(6): 657-662.

[14] LEE S, DONG HH. FoxO integration of insulin signaling with glucose and lipid metabolism[J]. Journal of Endocrinology, 2017, 233(2): R67.

[15] 周骅, 曹新生, 胡泽兵, 等. FOXOs 转录因子生物学功能的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(1): 185-188.

[16] 杜萌萌, 王庆祝, 秦贵军, 等. 叉头状转录因子 O1 对高糖环境下小鼠足细胞上皮间质转分化的影响及机制研究[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2016, 32(9): 767-772.

[17] 蔡玮, 赵凤辉, 梁小芹, 等. 结直肠腺瘤及腺癌组织中 FOXO1 表达及其临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2016, 32(9): 1009-1013.

[18] Li W, Yi J, Zheng X, et al. miR-29c plays a suppressive role in breast cancer by targeting the TIMP3/STAT1/FOXO1 pathway [J]. Clinical Epigenetics, 2018, 10(1): 64.

[19] 郭艳, 尚超, 张辉. MiR-96 调控 FOXO1 基因抑制膀胱癌 T24 细胞凋亡[J]. 解剖科学进展, 2015, 19(5): 486-488.

(收稿日期:2018-11-13)