

食管鳞癌组织中 CENP-F 蛋白表达及临床意义

徐绮斌, 王鸿彪

(汕头大学医学院附属肿瘤医院, 广东 汕头 515041)

摘要: [目的] 探索 CENP-F 在食管鳞癌中的表达, 分析其与食管鳞癌临床病理参数及预后的关系。[方法] 采用免疫组织化学法检测 CENP-F 在 186 例食管鳞癌组织标本及癌旁正常组织的表达水平, 分析 CENP-F 表达与临床病理参数的关系, Kaplan-Meier 法比较生存时间, Cox 回归模型进行预后分析。[结果] CENP-F 在食管鳞癌组织和癌旁正常组织的阳性表达率分别为 48.4% (90/186) 和 0.54% (1/186) ($\chi^2=115.23, P<0.01$)。CENP-F 表达水平与 T 分期 ($\chi^2=7.69, P<0.01$)、病理分期 ($\chi^2=6.24, P<0.01$) 有关; 与年龄 ($\chi^2=2.93, P=0.08$)、性别 ($\chi^2=0.008, P=0.93$)、淋巴结转移 ($\chi^2=1.34, P=2.24$)、分化程度 ($\chi^2=1.37, P=0.50$) 无关。CENP-F 表达阳性和阴性患者的中位生存时间分别为 39 个月和 14 个月 ($\chi^2=57.57, P<0.01$)。单因素和多因素分析均显示 CENP-F 蛋白是不良预后因素。[结论] CENP-F 蛋白在食管鳞癌组织高表达, 且提示不良预后。

关键词: CENP-F; 食管肿瘤; 预后

中图分类号: R735.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2018)10-0977-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2018.10.B008

Expression of CENP-F in Esophageal Squamous Cell Carcinoma and Its Clinical Significance

XU Qi-ni, WANG Hong-biao

(Affiliated Cancer Hospital of Shantou University Medical College, Shantou 515041, China)

Abstract: [Objective] To investigate the expression and clinical implication of CENP-F in esophageal squamous cell carcinoma. [Methods] One-hundred and eighty six esophageal squamous cell carcinoma tissues and adjacent non-cancerous tissues were collected, and the expression of CENP-F was detected by immunohistochemistry. The relation between CENP-F and clinical pathological characteristics was analyzed. The overall survival was calculated by the Kaplan-Meier method. Multivariate analysis to determine independent prognostic factors was performed by the Cox regression model. [Results] Positive expression rates of CENP-F were 48.4% (90/186) and 0.54% (1/186) in primary tumors and their matched adjacent non-cancerous tissues, respectively ($\chi^2=115.23, P<0.01$). Significant differences in CENP-F expression were found between T stage ($\chi^2=7.69, P<0.01$) and pathological stage ($\chi^2=6.24, P<0.01$). No significant differences in CENP-F expression were found among other clinicopathologic features, including age ($\chi^2=2.93, P=0.08$), gender ($\chi^2=0.008, P=0.93$), lymph node metastasis ($\chi^2=1.34, P=2.24$) and differentiation ($\chi^2=1.37, P=0.50$). The median overall survival time for CENP-positive and negative were 14 months and 39 months, respectively ($\chi^2=57.57, P<0.01$). Univariate and multivariate analysis both demonstrated CENP-F as an unfavorable prognostic factor. [Conclusion] The expression of CENP-F in esophageal squamous cell carcinoma is high and indicated poor prognosis.

Subject words: CENP-F; esophageal neoplasm; prognosis

50%的食管癌患者就诊时已有远处转移, 对于可切除的食管癌患者来说, 外科手术仍是主要治疗手段, 但单纯手术中晚期食管癌患者的5年生存率只有10%~20%^[1]。食管癌预后的因素主要有病理类型、TNM分期、治疗模式和患者一般状况等。寻找更佳生物标志物作为预后因素指导治疗显得尤

为重要。本研究采用免疫组织化学方法检测 CENP-F 蛋白在食管鳞癌组织中的表达水平, 并分析其与食管鳞癌临床病理参数的关系, 探索其预后价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2001 年 1 月至 2002 年 12 月在汕头大学医学院肿瘤医院外科经手术切除食管鳞癌标本及其

通讯作者: 王鸿彪, 副主任医师, 硕士; 汕头大学医学院附属肿瘤医院 肿瘤内科, 广东省汕头市饶平路 7 号 (515041); E-mail: wanghongbiao123@qq.com

收稿日期: 2017-07-21; **修回日期:** 2017-09-29

配对切缘(无不典型增生及无癌细胞浸润,作为正常对照)共 186 例及其临床病理学和随访资料。所有患者术前均未接受放疗和化疗,临床随访资料完整。男性 139 例,女性 47 例;年龄最小 33 岁,最大 77 岁,中位年龄 57 岁;按 UICC 第 6 版分期,Ⅱ期 92 例,Ⅲ期 94 例。研究标本为经 10%福尔马林固定、常规石蜡包埋的手术切除组织。

本研究经过医院伦理委员会批准,通过电话或患者来院就诊的形式进行定期随访,观察患者的生存情况。随访时间为 7~115 个月,中位随访时间 51 个月,末次随访时间为 2013 年 7 月 1 日。11 例失访,失访率 5.9%。

1.2 主要试剂

一抗鼠抗人 CENP-F 单克隆抗体购自 ABCAM 公司(编号:ab118857),SP 免疫组织化学染色试剂盒(即用型免疫组织化学广谱试剂盒)购自北京中杉金桥生物技术公司。

1.3 免疫组织化学方法

所有 186 例食管鳞癌组织及癌旁正常组织均行连续 4 μ m 切片。采用免疫组织化学 SP 法,按照说明书步骤进行。经 DAB 显色后,苏木精复染,中性树胶封片。用已知阳性切片作阳性对照,磷酸盐缓冲液代替一抗作阴性对照。

1.4 染色结果判定

CENP-F 蛋白在石蜡切片中阳性染色主要定位于细胞核,呈现棕黄色颗粒。根据肿瘤细胞显色的比例及染色强度,对 CENP-F 蛋白表达采用 2 个参数(即着色强度、阳性细胞数记分的乘积)的半定量技术方法:(1) 阳性细胞数记分标准:无阳性细胞为 0 分,1%~25%记 1 分,25%~50%记 2 分,50%~75%记 3 分,>75%记 4 分。(2) 着色强度记分标准:无着色为 0 分,浅黄为 1 分,黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。取着色强度记分和阳性细胞数记分两项评分的乘积作为总积分,0~6 分为阴性,>6 分为阳性。所有切片均由两位具有主治以上资格病理医师阅片。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,CENP-F 蛋白阳性表达率以及患者 3 年生存率以率表示,组间比较采用卡方检验,生存分析采用 Kaplan-Meier 法,Log-rank 法检验生存差异,Cox 回归模型进行预后分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 CENP-F 在食管鳞癌组织及正常食管鳞状上皮表达的差异

CENP-F 蛋白在食管鳞癌组织中呈胞核染色,阳性表达率为 48.4%(90/186),而在癌旁正常鳞状上皮表达率较低[0.54%(1/186)],差异有统计学意义($\chi^2=115.23, P<0.01$)。CENP-F 表达情况见 Figure 1。

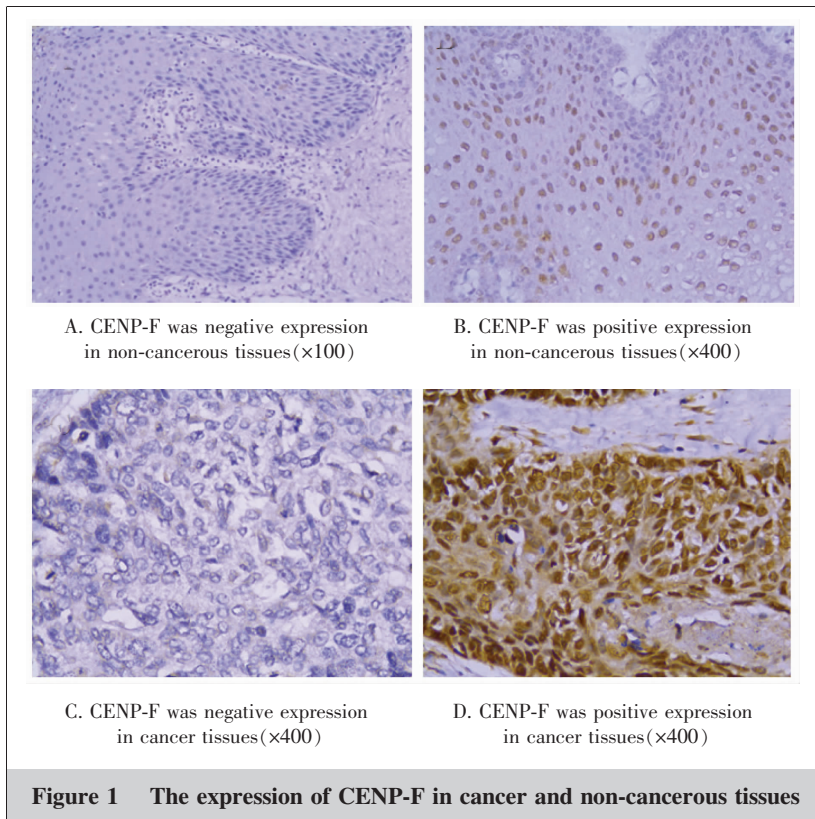


Figure 1 The expression of CENP-F in cancer and non-cancerous tissues

2.2 CENP-F 表达与临床病理参数的关系

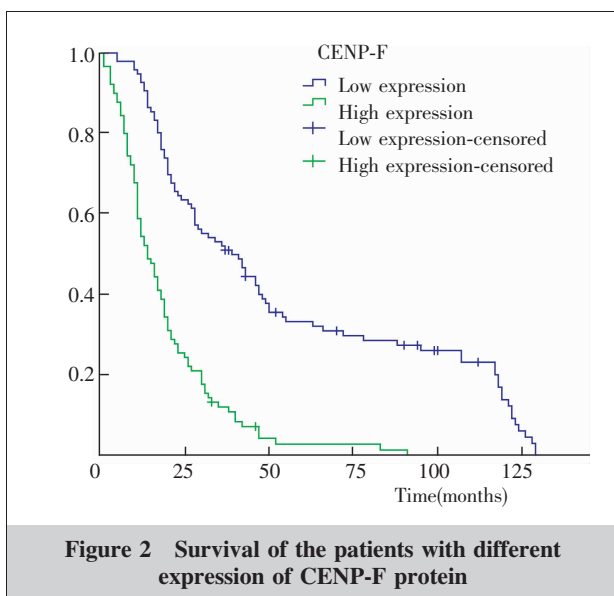
CENP-F 表达水平与 T 分期($\chi^2=7.69, P<0.01$)、病理分期($\chi^2=6.24, P<0.01$)有关;与年龄($\chi^2=2.93, P=0.08$)、性别($\chi^2=0.008, P=0.93$)、淋巴结转移($\chi^2=1.34, P=2.24$)、分化程度($\chi^2=1.37, P=0.50$)无关。见 Table 1。

Table 1 CENP-F expression and pathological characteristics in 186 patients with esophageal squamous cancer

Parameters	n	CENP-F expression(%)	χ^2	P
Age (years)				
≤60	107	46(56.8)	2.93	0.08
>60	79	44(41.6)		
Gender				
Male	139	67(48.2)	0.01	0.93
Female	47	23(48.9)		
T stage				
T ₁₋₂	41	12(29.3)	7.69	0.01
T ₃₋₄	145	78(53.8)		
Lymph node metastasis				
No	87	37(42.5)	2.24	1.34
Yes	99	53(53.5)		
Pathological stage				
II	92	36(39.1)	6.24	0.01
III	94	54(57.4)		
Differentiation				
I	49	21(42.9)	1.37	0.50
II	120	59(49.2)		
III	17	10(58.8)		

2.3 CENP-F 表达与预后关系

CENP-F 表达阳性和阴性患者的中位生存时间分别为 39 个月和 14 个月($\chi^2=57.57, P<0.01$); 3 年生存率分别为 12% 和 53% ($P<0.01$) (Figure 2)。单因素分析显示, 淋巴结转移(阴性 vs 阳性)、T 分期 (T₁₋₂ vs T₃₋₄)、分化程度(低 vs 中 vs 高)、病理分期(Ⅱ期 vs Ⅲ期)和 CENP-F 表达(阳性 vs 阴性)为不良预后因素(Table 2)。多因素分析显示, T 分期(HR=3.17,



$P<0.01$)、分化程度(HR=1.55, $P<0.01$)和 CENP-F 表达(HR=2.95, $P<0.01$)为不良预后因素(Table 3)。

Table 2 Univariate prognostic analysis of patients with esophageal squamous cancer

Variable	HR (95%CI)	P
Age	1.07 (0.79~1.45)	0.63
Gender	0.92 (0.65~1.31)	0.65
T stage	3.61 (2.25~5.78)	<0.01
Lymph node metastasis	1.57 (1.16~2.13)	<0.01
Pathological stage	2.17 (1.57~3.00)	<0.01
Differentiation	1.45 (1.12~1.87)	<0.01
CENP-F	3.37 (2.41~4.71)	<0.01

Table 3 Multivariate prognostic analysis of patients with esophageal squamous cancer

Variable	HR (95%CI)	P
Age	1.10(0.82~1.55)	0.66
Gender	0.87(0.63~1.22)	0.71
T stage	3.17(1.77~5.66)	<0.01
Lymph node metastasis	1.37(0.89~2.12)	0.14
Pathological stage	0.97(0.61~1.56)	0.92
Differentiation	1.55(1.17~2.07)	<0.01
CENP-F	2.95(2.09~4.17)	<0.01

3 讨论

CENP-F 蛋白是细胞周期依赖性的着丝粒蛋白, 其表达和定位具有严格的细胞周期性。CENP-F 具有细胞周期调控功能, 在着丝粒成熟、染色体排列与分离、以及有丝分裂后期纺锤体的稳定等细胞有丝分裂事件中扮演重要角色^[2]。已有研究报道 CENP-F 蛋白在多种肿瘤组织中高表达^[3-5]。本研究结果显示 CENP-F 蛋白在食管鳞癌组织中阳性表达率为 48.4% (90/186), 明显高于正常食管上皮组织, 与文献报告结果相似^[6,7]。

本研究单变量生存分析结果, CENP-F 低表达组中位生存时间为 39 个月, 高表达组为 14 个月; CENP-F 蛋白高表达与患者生存时间呈显著负相关。多变量分析同样显示 CENP-F 蛋白表达水平是食管鳞癌的独立预后因素。与文献报道相符^[8,9]。提示 CENP-F 是一个有潜在价值的肿瘤预后分子指标, 值得进一步探究 CENP-F 的预后价值。

本研究存在一定的不足。首先, CENP-F 的表达仅从蛋白水平进行分析, 缺乏分子水平的进一步研究。第二, 样本量偏小, 且为回顾性分析, 存在偏倚。

最后,本研究并未将 CENP-F 与其他经典的周期调控蛋白进行关联分析。

综上所述,本研究采用免疫组织化学方法检测食管鳞癌组织中 CENP-F 蛋白表达,分析其临床病理学意义及其与术后生存的关系,为食管鳞癌的临床治疗及预后判断提供理论依据。

参考文献:

- [1] Jang R, Darling G, Wong RK. Multimodality approaches for the curative treatment of esophageal cancer [J]. J Natl Compr Canc Netw, 2015, 13(2): 229–238.
- [2] Varis A, Salmela AL, Kallio MJ. Cenp-F (mitosin) is more than a mitotic marker [J]. Chromosoma, 2006, 115 (4): 288–295.
- [3] Kim HE, Kim DG, Lee KJ, et al. Frequent amplification of CENPF, GMNN and CDK13 genes in hepatocellular carcinomas [J]. PLoS One, 2012, 7(8): e43223.
- [4] Dai Y, Liu L, Zeng T, et al. Characterization of the oncogenic function of centromere protein F in hepatocellular carcinoma [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 436 (4): 711–718.
- [5] Huang C, Tang H, Zhang W, et al. Integrated analysis of multiple gene expression profiling datasets revealed novel gene signatures and molecular markers in nasopharyngeal carcinoma [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2012, 21(1): 166–175.
- [6] Mi YJ, Gao J, Xie JD, et al. Prognostic relevance and therapeutic implications of centromere protein F expression in patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. Dis Esophagus, 2013, 26(6): 636–643.
- [7] Cao JY, Liu L, Chen SP, et al. Prognostic significance and therapeutic implications of centromere protein F expression in human nasopharyngeal carcinoma [J]. Mol Cancer, 2010, 9(9): 237–249.
- [8] Clark GM, Allred DC, Hilsenbeck SG, et al. MitoSin (a new proliferation marker) correlates with clinical outcome in node-negative breast cancer [J]. Cancer Res, 1997, 57 (24): 5505–5508.
- [9] Chen WB, Cheng XB, Ding W, et al. Centromere protein F and survivin are associated with high risk and a poor prognosis in colorectal gastrointestinal stromal tumours [J]. J Clin Pathol, 2011, 64(9): 751–755.

坚决贯彻执行《发表学术论文“五不准”》规定

为弘扬科学精神,加强科学道德和学风建设,抵制学术不端行为,端正学风,维护风清气正的良好学术生态环境,重申和明确科技人员在发表学术论文过程中的科学道德行为规范,中国科协、教育部、科技部、卫生计生委、中科院、工程院和自然科学基金委共同研究制定并联合下发了《发表学术论文“五不准”》的通知。

(1)不准由“第三方”代写论文。科技工作者应自己完成论文撰写,坚决抵制“第三方”提供论文代写服务。

(2)不准由“第三方”代投论文。科技工作者应学习、掌握学术期刊投稿程序,亲自完成提交论文、回应评审意见的全过程,坚决抵制“第三方”提供论文代投服务。

(3)不准由“第三方”对论文内容进行修改。论文作者委托“第三方”进行论文语言润色,应基于作者完成的论文原稿,且仅限于对语言表达方式的完善,坚决抵制以语言润色的名义修改论文的实质内容。

(4)不准提供虚假同行评议人信息。科技工作者在学术期刊发表论文如需推荐同行评议人,应确保所提供的评议人姓名、联系方式等信息真实可靠,坚决抵制同行评议环节的任何弄虚作假行为。

(5)不准违反论文署名规范。所有论文署名作者应事先审阅并同意署名发表论文,并对论文内容负有知情同意的责任;论文起草人必须事先征求署名作者对论文全文的意见并征得其署名同意。论文署名的每一位作者都必须对论文有实质性学术贡献,坚决抵制无实质性学术贡献者在论文上署名。

希望广大科技工作者、读者和作者,以及本刊编委、审稿专家和有关工作人员都应加强学术道德自律,共同努力,捍卫学术尊严,维护良好学风。