

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.00645

## FoxM1 和 COX-2 在鼻咽癌组织中的表达及临床意义

江黎珠<sup>1</sup>, 王 棚<sup>2</sup>, 陈鸿雁<sup>3\*</sup>

1. 重庆市大足区人民医院耳鼻喉科, 重庆 402360
2. 重庆市大足区人民医院骨科, 重庆 402360
3. 重庆医科大学附属第一医院耳鼻喉科, 重庆 400016

**[摘要]** **目的** 研究叉头框 M1(forkhead box M1, FoxM1)转录因子和环氧合酶 2(cyclooxygenase-2, COX-2)在鼻咽癌组织中的表达并探讨其临床意义。**方法** 运用免疫组织化学方法检测 80 例鼻咽癌组织和 40 例鼻咽部正常组织中 FoxM1 和 COX-2 的表达,分析其与鼻咽癌临床病理参数的关系,以及 FoxM1 和 COX-2 表达之间的关系。**结果** FoxM1 和 COX-2 在鼻咽癌组织的阳性表达率均高于鼻咽部正常组织[FoxM1: 68.8% (55/80) vs 2.5% (1/40); COX-2: 62.5% (50/80) vs 5.0% (2/40);  $P < 0.05$ ]。FoxM1 阳性表达与淋巴结转移( $r_s = 0.252, P < 0.05$ )和临床分期( $r_s = 0.230, P < 0.05$ )相关;COX-2 阳性表达与淋巴结转移( $r_s = 0.287, P < 0.05$ )和临床分期( $r_s = 0.239, P < 0.05$ )相关。FoxM1 与 COX-2 表达呈正相关( $r_s = 0.631, P < 0.05$ ),提示二者可能有直接或间接作用关系。**结论** FoxM1 与 COX-2 在鼻咽癌组织中表达的上调可能与鼻咽癌的发生及浸润转移有关。

**[关键词]** 鼻咽肿瘤; FoxM1; COX-2; 免疫组织化学

**[中图分类号]** R 739.6 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2013)06-0645-05

### Expression of FoxM1 and COX-2 in nasopharyngeal carcinoma tissues and the related clinical significance

JIANG Li-zhu,<sup>1</sup> WANG Peng<sup>2</sup>, CHEN Hong-yan<sup>3\*</sup>

1. Department of Otolaryngology, People's Hospital of Dazu District, Chongqing 402360, China
2. Department of Orthopedics, People's Hospital of Dazu District, Chongqing 402360, China
3. Department of Otolaryngology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the expression of forkhead box M1(FoxM1) transcription factor and cyclooxygenase-2 (COX-2) in nasopharyngeal carcinoma (NPC) tissues, and to discuss the related clinicopathological implications. **Methods** Immunohistochemistry method was used to examine the expression of FoxM1 and COX-2 in 80 NPC tissues and 40 normal nasopharyngeal mucosa tissues. The relationship of FoxM1 and COX-2 expression with the clinicopathological parameters of NPC was analyzed; we also analyzed the correlation between the FoxM1 and COX-2 expression. **Results** FoxM1 and COX-2 expressions were significantly higher in NPC tissues compared to normal nasopharyngeal mucosa tissues (FoxM1: 68.8% [55/80] vs 2.5% [1/40]; COX-2: 62.5% [50/80] vs 5.0% [2/40];  $P < 0.05$ ). The expression of FoxM1 was significantly associated with lymph node metastasis ( $r_s = 0.252, P < 0.05$ ) and clinical stage of NPC ( $r_s = 0.230, P < 0.05$ ), and expression of COX-2 was also significantly associated with lymph node metastasis ( $r_s = 0.287, P < 0.05$ ) and clinical stage of NPC ( $r_s = 0.239, P < 0.05$ ). Furthermore, a positive correlation was observed between FoxM1 and COX-2 expression ( $r_s = 0.631, P < 0.05$ ), indicating a direct or indirect interaction between them. **Conclusion** Increased expression of FoxM1 and COX-2 in NPC tissues might be associated with the development and progression of NPC.

**[Key words]** nasopharyngeal neoplasms; FoxM1; COX-2; immunohistochemistry

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(6): 645-649]

叉头框 M1(forkhead box M1, FoxM1)转录因子是 Fox 转录因子家族的一员,在乳腺癌<sup>[1]</sup>、肺癌<sup>[2]</sup>、前列腺癌<sup>[3]</sup>、成胶质细胞瘤<sup>[4]</sup>、宫颈癌<sup>[5]</sup>和胃

癌<sup>[6]</sup>等肿瘤中高表达,参与肿瘤的发生发展。环氧合酶 2(cyclooxygenase-2, COX-2)作为一种诱导性酶,与细胞凋亡抑制、肿瘤侵袭、肿瘤血管生成密切

**[收稿日期]** 2013-01-15 **[接受日期]** 2013-03-28

**[作者简介]** 江黎珠,博士生,住院医师. E-mail: pearl1984@sina.com

\* 通信作者(Corresponding author). Tel: 023-89012758, E-mail: cchyy787@souhu.com

相关,参与鼻咽癌的发生发展<sup>[7]</sup>。有研究发现 FoxM1 直接或间接调控 COX-2 表达,最终导致肺部肿瘤的发生<sup>[8]</sup>。尽管如此,FoxM1 与 COX-2 在鼻咽癌中的表达情况以及二者与鼻咽癌临床病理参数间的关系国内外少有报道。本研究采用免疫组织化学 SP 法检测鼻咽癌组织、鼻咽部正常组织中 FoxM1 与 COX-2 蛋白的表达情况,并探讨其表达与鼻咽癌临床病理参数之间的关系,为进一步探讨鼻咽癌治疗的新策略提供依据。

### 1 材料和方法

1.1 临床病理资料 选取 2005 年至 2008 年在重庆医科大学附属第一医院耳鼻咽喉科就诊的鼻咽癌患者的组织标本 80 例,所有患者活体组织检查前未经放疗或化疗。其中男 58 例、女 22 例,年龄 32~81 岁,平均(41.0 ± 0.2)岁,中位年龄 48 岁。按照 WHO 肿瘤分类、分期方案分为: T1 期 11 例, T2 期 28 例, T3 期 26 例, T4 期 15 例;有颈部淋巴结转移者 71 例,无颈部淋巴结转移 9 例; I 期 2 例, II 期 19 例, III 期 32 例, IV 期 27 例; WHO I 型 2 例, WHO II 型 73 例, WHO III 型 5 例。同时取临床症状(如鼻出血、耳闷塞感、听力下降、耳鸣等)怀疑为鼻咽癌但病理证实为非肿瘤组织的 40 例作为对照(这 40 例中多数是病理证实为正常鼻咽部黏膜,少数有炎症细胞浸润,故在本研究中我们将其称为鼻咽部正常组织)。

1.2 主要试剂 兔抗人 FoxM1 多克隆抗体购于美国 Santa Cruz 公司, SABC 试剂盒、DAB 酶底物显示试剂盒购于武汉博士德生物工程有限公司, PBS 粉剂、多聚赖氨酸购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 免疫组织化学染色及结果判定 染色步骤:

石蜡切片常规脱蜡、水化,微波抗原修复, DAB 显色,苏木精复染,分化、返蓝,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封闭。

以 PBS 取代一抗为阴性对照,重复以上步骤。在 400 倍光镜下观察每张切片,选取具有代表性的 5 个不同视野进行观察,根据 FoxM1 或者 COX-2 在细胞质或细胞核的染色程度及染色细胞百分率进行分析评分: 0 分,无染色或者阳性率 < 10%; 1 分, > 10% 的轻度染色(浅黄色)或者阳性率 10%~40% 的中度染色(棕黄色); 2 分, > 40% 的中度染色或者 10%~40% 重度染色(棕褐色); 3 分, > 40% 的重度染色<sup>[9]</sup>。所有切片均由 2 位经验丰富的病理专家单独阅片。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。等级资料的组间比较采用 Mann-Whitney U 检验和 Kruskal-Wallis 检验, FoxM1 和 COX-2 与临床病理参数间的分析以及 FoxM1 与 COX-2 间的关系分析采用 Spearman 相关分析。检验水平(α)为 0.05。

### 2 结果

2.1 FoxM1 和 COX-2 蛋白的表达 FoxM1 和 COX-2 蛋白阳性信号主要定位于细胞质,少数位于细胞核。鼻咽癌组织(图 1A)中 FoxM1 蛋白阳性表达率为 68.8% (55/80),只有极少鼻咽部正常组织(图 1B)表达 FoxM1(阳性率仅为 2.5%, 1/40)。COX-2 在鼻咽癌组织(图 1C)中阳性表达率为 62.5% (50/80),而在鼻咽部正常组织(图 1D)中阳性表达率为 5.0% (2/40)。统计分析显示,在鼻咽癌组织中 FoxM1 和 COX-2 的阳性表达率均高于正常组织,差异有统计学意义( $P < 0.05$ , 表 1)。

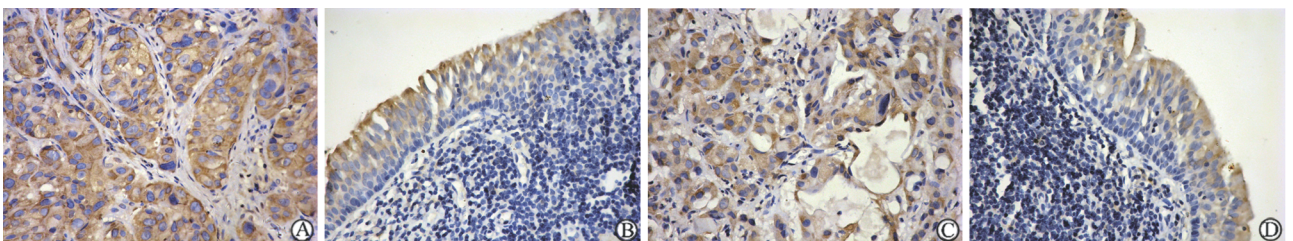


图 1 免疫组化染色检测 FoxM1 和 COX-2 蛋白在鼻咽癌及鼻咽部正常组织中的表达

Fig 1 Expression of FoxM1 and COX-2 in human nasal pharyngeal cancer and normal nasopharyngeal mucosa tissues as detected by immunohistochemical staining

FoxM1: Forkhead box M1; COX-2: Cyclooxygenase-2. A: Positive staining of FoxM1 in nasal pharyngeal cancer; B: Negative staining of FoxM1 in normal nasopharyngeal mucosa tissues; C: Positive staining of COX-2 in nasal pharyngeal cancer; D: Negative staining of COX-2 in normal nasopharyngeal mucosa tissues. Original magnification: ×400

2.2 FoxM1 和 COX-2 蛋白表达与鼻咽癌临床病理参数关系 FoxM1 和 COX-2 蛋白阳性表达率与年龄、性别、病理分类、T 分期以及远处转移无关;与淋巴结转移和临床分期有关( $P < 0.05$ )。有淋巴结转移或临床分期越高的癌组织中 FoxM1 和 COX-2 阳性表达越高。Spearman 相关分析显示 FoxM1 阳

性表达强度与淋巴结转移正相关( $r_s = 0.252, P < 0.05$ ),与临床分期正相关( $r_s = 0.230, P < 0.05$ );COX-2 阳性表达强度与淋巴结转移正相关( $r_s = 0.287, P < 0.05$ ),与临床分期正相关( $r_s = 0.239, P < 0.05$ )。结果见表 2。

表 1 FoxM1 和 COX-2 在鼻咽癌及鼻咽部正常组织中的表达  
Tab 1 Expression of forkhead box M1(FoxM1) and cyclooxygenase-2(COX-2) in NPC and normal nasopharyngeal tissues

Type	N	Score of FoxM1 expression					P value	Score of COX-2 expression					P value
		0	1	2	3	0		1	2	3			
		NPC	80	25	17	26		12	<0.05	30	15	26	
Normal tissue	40	39	1	0	0		38	1	1	0			

NPC: Nasal pharyngeal cancer

表 2 FoxM1 和 COX-2 与鼻咽癌临床病理参数间的关系  
Tab 2 Correlation between clinical pathologic features and expressions of forkhead box M1(FoxM1) and cyclooxygenase-2(COX-2)

Variables	N	Score of FoxM1 expression					P value	Score of COX-2 expression					P value
		0	1	2	3	0		1	2	3			
		Age (year)											
<50	48	15	10	15	8	0.842	18	8	17	5	0.889		
≥50	32	10	7	11	4		12	7	9	4			
Sex													
Male	58	20	12	18	8	0.335	21	10	19	8	0.389		
Female	22	5	5	8	4		9	5	7	1			
Histological classification													
I	2	1	1	0	0	0.432	1	1	0	0	0.484		
II	73	22	15	24	12		27	12	25	9			
III	5	2	1	2	0		2	2	1	0			
T classification													
T1	11	3	3	3	2	0.838	2	3	5	1	0.413		
T2	28	8	6	9	5		10	5	10	3			
T3	26	10	5	8	3		14	3	6	3			
T4	15	4	3	6	2		4	4	5	2			
N classification													
N0	9	6	1	2	0	0.025 <sup>a</sup>	7	1	1	0	0.011 <sup>a</sup>		
N+	71	19	16	24	12		23	14	25	9			
M classification													
M0	78	24	17	25	12	0.688	29	14	26	9	0.373		
M1	2	1	0	1	0		1	1	0	0			
Clinical stage													
I + II	21	10	5	4	2	0.041 <sup>a</sup>	12	4	3	2	0.033 <sup>a</sup>		
III + IV	59	15	12	22	10		18	11	23	7			

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$

2.3 鼻咽癌组织中 FoxM1 与 COX-2 表达之间的关系 FoxM1和 COX-2 的表达强度见表 3。FoxM1 和 COX-2 表达同为 1 分的有 7 例(8.8%),同为 2 分的有 18 例(22.5%),表达强度同为 3 分的有 7 例(8.8%)。FoxM1 和 COX-2 共同表达有 43 例(53.8%),两者均不表达有 18 例(22.5%)。Spearman 相关分析显示 FoxM1 与 COX-2 表达呈正相关关系( $r_s=0.631, P<0.05$ )。

表 3 鼻咽癌组织中 FoxM1 和 COX-2 表达强度之间的关系  
Tab 3 Spearman correlation analysis between forkhead box M1 (FoxM1) and cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in nasal pharyngeal cancer tissues

FoxM1 <sup>a</sup>	Score of COX-2 expression				P value	<i>n</i> <i>r<sub>s</sub></i>
	0	1	2	3		
0	18	5	2	0	<0.05	0.631
1	6	7	4	0		
2	4	2	18	2		
3	2	1	2	7		

<sup>a</sup>: Score of FoxM1 expression

### 3 讨论

FoxM1 是 Fox 转录因子家族中的一员,在维持细胞增殖与凋亡动态平衡中发挥着重要作用<sup>[10]</sup>。FoxM1 的功能的缺失使得细胞分化受到抑制,最终导致分化不良细胞的恶性转变<sup>[11]</sup>。

本研究发现 FoxM1 大量表达于鼻咽癌组织(68.8%,55/80),高于其在鼻咽部正常组织中的表达( $P<0.05$ ),其中 38 例(76.0%)表达强度高于 2 分。Chan 等<sup>[5]</sup>报道在宫颈上皮内瘤变和宫颈癌中 FoxM1 表达高于正常宫颈上皮。Li 等<sup>[6]</sup>发现通过转染 *FoxM1b* 基因可使 FoxM1 表达增加,促使胃癌细胞的增殖与转移,此外 FoxM1 通过反式激活血管内皮生长因子和增加血管生成促进了胃肿瘤的形成。这些均显示 FoxM1 高表达与肿瘤的发生发展有着密切关系,我们认为 FoxM1 可能参与了鼻咽癌的发生发展。

有研究显示 FoxM1 在肺鳞癌中的表达与癌组织的低分化、淋巴结转移和高肿瘤分期密切相关<sup>[2]</sup>;在成胶质细胞瘤多形型中,FoxM1 的表达水平高于低级星形细胞瘤和退行型星形细胞瘤<sup>[4]</sup>。然而,Gi-almanidis 等<sup>[12]</sup>在非小细胞肺癌中发现 FoxM1 表达

与临床病理参数无关。本研究结果显示 FoxM1 更易在有淋巴结转移以及高临床分期的鼻咽癌组织中检测到,而在无淋巴结转移和低临床分期的鼻咽癌组织中较少被检测到,这提示 FoxM1 在鼻咽癌的发生及浸润转移中起着一定的作用,但其具体的机制还有待进一步研究。

研究指出 COX-2 在鼻咽癌中高表达,在正常鼻咽部组织中低表达<sup>[7,13]</sup>。我们的研究同样发现 COX-2 在鼻咽癌组织表达较高(62.5%,50/80),而在正常组织中的表达率非常低(仅 5%, $P<0.05$ )。本研究还发现 COX-2 更易在有淋巴结转移和临床分期高的鼻咽癌组织中表达,与有些研究报道<sup>[13-14]</sup>一致,但也有研究认为 COX-2 与鼻咽癌临床病理参数无相关性<sup>[15]</sup>,不同研究结果之间的差异可能与肿瘤组织的取材和阳性强度的界定及分析的差异有关。

关于肺部肿瘤的研究显示,可通过 RNA 干扰或者抑制剂抑制 FoxM1 表达从而降低 COX-2 的表达;COX-2 在 FoxM1 阳性表达的肺肿瘤中高表达,而在 FoxM1 阴性表达的肺肿瘤中低表达,提示 FoxM1 与 COX-2 之间密切相关<sup>[8]</sup>。我们对 FoxM1 与 COX-2 在鼻咽癌中的表达进行相关性分析,发现 FoxM1 与 COX-2 在鼻咽癌中呈正相关关系( $r_s=0.631, P<0.05$ ),推测 FoxM1 可能直接或者间接作用于 COX-2,参与鼻咽癌的发生发展,但这尚需进一步证实,其作用的分子机制也需进一步研究。

### 4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

### [参考文献]

[1] Bektas N, Haaf At, Veeck J, Wild P J, Lüscher-Firzlafl J, Hartmann A, et al. Tight correlation between expression of the forkhead transcription factor FOXM1 and HER2 in human breast cancer [J]. BMC Cancer, 2008, 8:42.  
 [2] Yang D K, Son C H, Lee S K, Choi P J, Lee K E, Roh M S. Forkhead box M1 expression in pulmonary squamous cell carcinoma: correlation with clinicopathologic features and its prognostic significance[J]. Hum Pathol, 2009, 40:464-470.  
 [3] Kalin T V, Wang I C, Ackerson T J, Major M L, De-

- triac C J, Kalinichenko V V, et al. Increased levels of the FoxM1 transcription factor accelerate development and progression of prostate carcinomas in both TRAMP and LADY transgenic mice[J]. *Cancer Res*, 2006, 66: 1712-1720.
- [4] Liu M, Dai B, Kang S H, Ban K, Huang F J, Lang F F, et al. FoxM1B is overexpressed in human glioblastomas and critically regulates the tumorigenicity of glioma cells[J]. *Cancer Res*, 2006, 66: 3593-3602.
- [5] Chan D W, Yu S Y, Chiu P M, Yao K M, Liu V W, Cheung A N, et al. Over-expression of FOXM1 transcription factor is associated with cervical cancer progression and pathogenesis[J]. *J Pathol*, 2008, 215: 245-252.
- [6] Li Q, Zhang N, Jia Z, Le X, Dai B, Wei D, et al. Critical role and regulation of transcription factor FoxM1 in human gastric cancer angiogenesis and progression [J]. *Cancer Res*, 2009, 69: 3501-3509.
- [7] Tan K B, Putti T C. Cyclooxygenase 2 expression in nasopharyngeal carcinoma: immunohistochemical findings and potential implications[J]. *J Clin Pathol*, 2005, 58: 535-538.
- [8] Wang I C, Meliton L, Tretiakova M, Costa R H, Kalinichenko V V, Kalin T V. Transgenic expression of the forkhead box M1 transcription factor induces formation of lung tumors[J]. *Oncogene*, 2008, 27: 4137-4149.
- [9] Jiang L Z, Wang P, Deng B, Huang C, Tang W X, Lu H Y, et al. Overexpression of forkhead box M1 transcription factor and nuclear factor- $\kappa$ B in laryngeal squamous cell carcinoma; a potential indicator for poor prognosis [J]. *Hum Pathol*, 2011, 42: 1185-1193.
- [10] Laoukili J, Stahl M, Medema R H. FoxM1: at the crossroads of ageing and cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1775: 92-102.
- [11] Wang Z, Banerjee S, Kong D, Li Y, Sarkar F H. Down-regulation of forkhead box M1 transcription factor leads to the inhibition of invasion and angiogenesis of pancreatic cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2007, 67: 8293-8300.
- [12] Gialmanidis I P, Bravou V, Amanetopoulou S G, Varakis J, Kourea H, Papadaki H. Overexpression of hedgehog pathway molecules and FOXM1 in non-small cell lung carcinomas[J]. *Lung Cancer*, 2009, 66: 64-74.
- [13] Pan J, Kong L, Lin S, Chen G, Chen Q, Lu J J. The clinical significance of coexpression of cyclooxygenase-2, vascular endothelial growth factors, and epidermal growth factor receptor in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Laryngoscope*, 2008, 118: 1970-1975.
- [14] Chan C M, Ma B B, Hui E P, Wong S C, Mo F K, Leung S F, et al. Cyclooxygenase-2 expression in advanced nasopharyngeal carcinoma — a prognostic evaluation and correlation with hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  and vascular endothelial growth factor [J]. *Oral Oncol*, 2007, 43: 373-378.
- [15] Fang F M, Li C F, Chien C Y, Rau K M, Huang H Y. Immunohistochemical expression of epidermal growth factor receptor and cyclooxygenase-2 in pediatric nasopharyngeal carcinomas; no significant correlations with clinicopathological variables and treatment outcomes [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2007, 71: 447-455.

[本文编辑] 周燕娟, 孙岩