

## Fascin\_1 在肺癌中的表达及其临床意义

汪睿<sup>1,2</sup>, 虞红珍<sup>1</sup>, 王弦<sup>1</sup>, 吴强<sup>1</sup>

**摘要** 目的 观察 Fascin\_1 在人类肺癌及癌旁组织中的表达及其与肺癌患者临床病理特征之间的关系,并研究 Fascin\_1 表达与肺癌的临床生物学行为的关系。方法 采用免疫组化 MaxVision 两步法检测 84 例肺癌及癌旁组织中 Fascin\_1 蛋白的表达。用 Fascin\_1 在血管内皮细胞中的表达作为阳性对照,使用 PBS 代替一抗作为阴性对照。结果 Fascin\_1 蛋白在 84 例肺癌组织及癌旁组织中分别为 78 例 (92.9%) 阳性与 27 例 (32.1%) Fascin\_1 蛋白阳性,两者差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。Fascin\_1 表达在不同年龄、临床分期以及区域淋巴结转移间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),但是在不同性别、T 分期以及病理类型间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。肺癌组织中 Fascin\_1 蛋白阳性表达强度不同的患者的生存时间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),而癌旁组织中 Fascin\_1 蛋白阳性表达强度不同患者的生存时间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结论 在肺癌中,Fascin\_1 的表达同肿瘤的侵袭和转移密切相关,同时癌组织中 Fascin\_1 的不同表达对患者的生存时间有明显影响。因此考虑 Fascin\_1 有望成为肺癌潜在生物学标志物。

**关键词** 肺癌;Fascin\_1;免疫组织化学;生存时间

中图分类号 R 73-3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)05-0658-04

2014-02-25 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81101597、81172533);安徽高校省级科学研究(编号:KJ2012z142);安徽医科大学校基金及追加基金(编号:2012xkj001zj)

作者单位:<sup>1</sup>安徽医科大学病理学教研室,合肥 230032

<sup>2</sup>安徽省胸科医院肿瘤科,合肥 230022

作者简介:汪睿,男,主治医师,硕士研究生;

吴强,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: aydjohn@ yahoo.com

Fascin\_1 蛋白是一种细胞骨架蛋白,目前发现在人类多个上皮性肿瘤中表达上调,并且与临床病理学和预后不良相关。该基因主要是与 F-肌动蛋白结合,并将其组装成平行排列的肌动蛋白束,是调节细胞运动的关键基因之一<sup>[1]</sup>。该研究采用免疫组化方法 MaxVision 两步法检测人肺癌及癌旁组织中 Fascin\_1 的表达,分析其与患者临床病理特征之间的关系,并研究 Fascin\_1 表达与肺癌的临床生物学行为的关系。

### 1 材料与方法

**1.1 材料** 收集安徽医科大学第一附属医院病理科 2007 年 2 月~2008 年 4 月病理资料齐全的肺癌手术石蜡标本 84 例,肿瘤组织切缘周边经病理学判断未见癌组织的部分为癌旁组织,作为参考对照。所取标本的患者年龄为 38~80 (60.77 ± 9.44) 岁。按 WHO (2012 年) 肺癌中的标准进行分期。TNM 分期: I 期 37 例、II 期 32 例、III 期 15 例。2013 年 3 月进行生存期随访,其中 40 例患者获得随访,44 例失访。标本均使用常规 10% 福尔马林溶液固定,然后石蜡包埋及 4 μm 厚切片。并采用 HE 和免疫组化法进行染色。

**1.2 试剂** 免疫组化试剂使用免疫组化浓缩型鼠抗人 Fascin\_1 单克隆抗体 (SPM133) 购自美国 Santa Cruz 公司;免疫组化检测试剂盒为即用型快捷免疫组化 MaxVision 试剂盒和 DAB 显色试剂盒均购自福州迈新公司。

**1.3 方法** 免疫组化染色方法参照使用说明书操

bial resistance value of the index, namely B/E values. **Results** Compared with the normal control group, feces of patients with diarrhea predominant IBS in numbers of *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens* increased significantly ( $P < 0.05$ ), while the number of *Lactobacillus* and *Bifidobacteria* decreased significantly ( $P < 0.05$ ), no statistically significant difference between the two groups in *Enterococcus faecalis* and *Bacteroides fragilis*. Patients with intestinal diarrhea predominant IBS constant force B/E < 1, compared with the control group decreased significantly ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Diarrhea predominant IBS patients of intestinal flora balance is broken, for gut setting value is reduced, and the feces of *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens* increase in number, number of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* decreased.

**Key words** irritable bowel syndrome; intestinal flora; real-time fluorescence quantitative PCR

作 采用 MaxVision 两步法进行免疫组化染色 , 简要步骤按如下操作 : 柠檬酸钠缓冲液高压抗原修复 , 切片中滴加 Fascin\_1 一抗 4 ℃ 过夜 , 去除一抗后滴加二抗 , 然后试剂盒室温下孵育 20 min , 用 DAB 显色 , 苏木精对比染色。用 Fascin\_1 在血管内皮细胞中的表达作为阳性对照 , 使用 PBS 代替一抗作为阴性对照。

**1.4 结果判断** 免疫组化以癌及癌旁细胞质中出现棕黄色或棕褐色颗粒为阳性染色。免疫组化评定方法参考文献<sup>[2-3]</sup> 标准。按染色强度记分 : 无色为 0 分 , 淡黄色为 1 分 , 棕黄色为 2 分 , 棕褐色为 3 分 ; 按染色程度记分 : 无阳性细胞数为 0 分 , 阳性细胞数 1% ~ 25% 为 1 分 , 26% ~ 50% 为 2 分 , 51% ~ 75% 为 3 分 , 76% ~ 100% 为 4 分。两项相加得分 (0 ~ 7 分) , ≥3 分为阳性。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。样本率的比较使用  $\chi^2$  检验 , 生存率用 Kaplan-Meier 法计算 , 生存率的比较使用 Log-Rank 检验。

## 2 结果

**2.1 Fascin\_1 蛋白在肺癌及癌旁组织中的表达和分布** Fascin\_1 蛋白在肺癌组织中呈弥漫性分布 , 癌巢周边部的癌细胞染色较强。Fascin\_1 免疫组化染色主要定位于阳性细胞胞质或胞膜上 , 呈局灶性或弥漫性黄色颗粒状。84 例肺癌组织中 , 78 例 (92.9%) Fascin\_1 蛋白阳性 , 见图 1。84 例肺癌旁组织中 27 例 (32.1%) Fascin\_1 蛋白阳性 , 两者差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 66.06, P < 0.05$ )。癌旁组织中 Fascin\_1 主要表达于腺上皮细胞 , 呈膜质型定位 , 见图 2。肺癌间质中的血管内皮细胞亦可见 Fascin\_1 阳性染色。在癌旁组织中 , 毛细血管内皮细胞及树突状细胞中均呈阳性表达 , 而支气管肺泡上皮细胞及肺大血管内皮细胞中呈阴性表达。

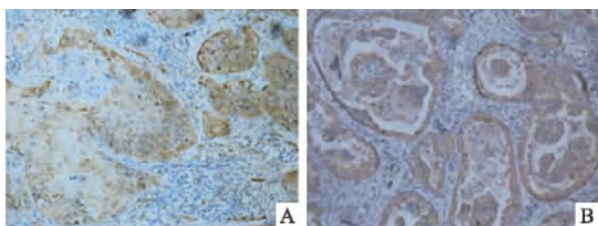


图 1 Fascin\_1 蛋白在肺癌组织中的阳性表达 DAB × 400  
A: 鳞癌; B: 腺癌

**2.2 肺癌中 Fascin\_1 蛋白的表达与临床病理参数的关系** 为了研究 Fascin\_1 表达同肺癌临床病理特

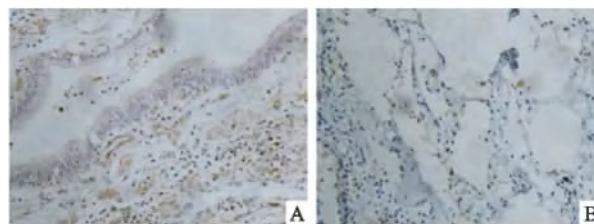


图 2 Fascin\_1 蛋白在癌旁组织中的阳性表达 DAB × 400  
A: 支气管上皮细胞; B: 肺泡上皮细胞

征的关系 , 将 84 例患者按照年龄 ( $\leq 61$  岁 ,  $> 61$  岁)、性别 (男 , 女)、T 分期 (T1、T2、T3、T4)、N 分期—区域淋巴结转移情况 (N0、N1、N2)、临床病理类型 (腺癌、鳞癌、大细胞癌、小细胞癌) 以及 TNM 分期 (I、II、III 期) 进行分组 , 使用  $\chi^2$  检验方法 , 比较 Fascin\_1 在不同组之间的表达差异。结果表明 Fascin\_1 表达在不同年龄、临床分期以及区域淋巴结转移间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) , 但是在不同性别、T 分期以及病理类型间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) , 见表 1。

表 1 肺癌中 Fascin\_1 表达与临床病理特征的关系 (n)

参数	Fascin_1 表达			$\chi^2$ 值	P 值
	-	+	++/+++		
年龄 (岁)					
≤61	5	17	17	6.89	0.032
>61	1	13	31		
性别					
男	6	21	32	2.84	0.242
女	0	9	16		
T 分期					
T1	0	14	15	8.78	0.186
T2	4	14	28		
T3	2	2	4		
T4	0	0	1		
N 分期					
N0	2	8	4	12.08	0.017
N1	2	11	9		
N2	2	11	35		
病理类型					
腺癌	4	15	12	9.79	0.134
鳞癌	1	11	30		
小细胞癌	1	2	3		
其他类型癌	0	2	3		
临床分期					
I	1	14	9	11.54	0.021
II	3	11	15		
III	2	5	24		

**2.3 肺癌中 Fascin\_1 蛋白阳性表达与生存时间的关系** 40 例随访患者中 , 到 2013 年 3 月随访截止

时病死 21 例,存活 19 例,总生存率 47.5%,生存时间 8~70 个月。将 Fascin\_1 蛋白阳性表达强度与患者生存时间进行分析显示,肺癌组织中 Fascin\_1 蛋白阳性表达强度不同的患者之间中位生存期差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),而癌旁组织中 Fascin\_1 蛋白阳性表达强度不同患者的中位生存期差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 2、图 3。多因素 Cox 回归分析也显示肺癌组织中 Fascin\_1 蛋白阳性表达强度与患者生存期之间存在关联 [风险比 (HR) = 4.505, 95% CI = 1.615 ~ 12.569,  $P = 0.004$ ]。

表 2 Fascin\_1 表达与中位生存时间之间的关系

Fascin_1 表达	中位生存时间(月)	P 值
<b>癌表达</b>		
-	60	<0.010
+	66	
++/+++	45	
<b>癌旁表达</b>		
-	53	0.886
+	48	
++/+++	36	

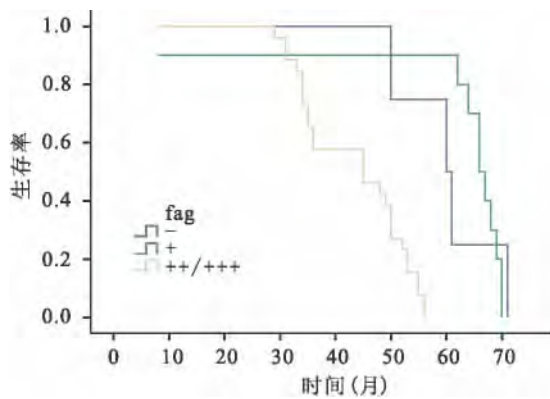


图 3 肺癌组织中 Fascin\_1 蛋白阳性表达程度不同的患者之间总生存曲线

### 3 讨论

肺癌发生转移是导致肺癌治疗失败、患者死亡的主要原因,因此寻找、研究肺癌转移的相关机制或是相关基因对于肺癌的治疗及预后有着十分重要的临床意义。

人类 Fascin\_1 基因在 1994 年被克隆,其染色体定位于 7q22,该基因的蛋白质编码产物是分子质量为  $5.5 \times 10^4$  ku 的细胞内蛋白,其主要作用就是与 F-肌动蛋白结合。Fascin\_1 蛋白的第 39 位的丝氨酸是蛋白激酶 C 的磷酸化位点,磷酸化后的该位点可调节 Fascin\_1 蛋白与 F-肌动蛋白的结合活性,

抑制 Fascin\_1 肌钙蛋白的组装功能并影响到细胞膜表面伪足和微棘的形成<sup>[4]</sup>。

有研究<sup>[5-6]</sup>显示,Fascin\_1 蛋白在多种肿瘤,如乳腺癌、鼻咽癌肿瘤细胞中有着异常高表达,并且其表达同肿瘤的转移及侵袭存在密切的相关性。但是,目前对于 Fascin\_1 在肺癌中表达研究的报道较少。

本研究观察了肺癌手术病理标本中 Fascin\_1 表达,结果显示 Fascin\_1 主要定位于肺癌阳性细胞胞质或胞膜上,呈灶性或弥漫性黄色颗粒状。但是 Fascin\_1 蛋白的表达与肺癌患者的性别、T 分期、肿瘤的病理类型之间无明显的相关性。国内相关的报道中于维霞等<sup>[7]</sup>分析了 Fascin\_1 在 51 例肺癌中的表达,其中在肺鳞癌患者中的表达阳性率为 66.7%,而肺腺癌患者中表达阳性率为 43.5%,但是在分化差的肺癌中 Fascin\_1 表达上调,而且具有性别差异,其中男性表达率较高。该结果与本组研究结果不一致。

既往高翔等<sup>[8]</sup>对肺癌的研究结果中报道肺癌组织表达的 Fascin\_1 蛋白与正常组织表达,差异无统计学意义。本组实验结果显示 Fascin\_1 蛋白在肺癌组织中与肺癌旁组织中的表达相比较。因此考虑高翔等<sup>[8]</sup>的研究中患者可能发生了上皮间质的转化,具体原因有待于进一步研究。另发现肺癌组织中 Fascin\_1 蛋白阳性患者较阴性患者总生存率及总生存时间下降,提示 Fascin\_1 蛋白的阳性表达可能预示着患者的不良预后及低生存率,这一结论也与其他学者的研究<sup>[9-11]</sup>一致。

国外 Pelosi et al<sup>[12]</sup>报道了 220 例 I 期的非小细胞肺癌中有关 Fascin\_1 蛋白的表达,结果显示,98% 的肺鳞癌患者为 Fascin\_1 阳性表达,78% 肺腺癌患者为 Fascin\_1 阳性表达,而在癌栓中普遍表达。另外在具有对侧恶性胸腔积液或远处转移的腺癌患者中 Fascin\_1 更是呈弥漫性表达,而对于肺鳞癌患者,癌旁组织同角化珠相比,Fascin\_1 的免疫反应强度较弱,呈弱表达。从随访结果看,Fascin\_1 呈弥漫性或强阳性表达的患者预后差。该研究首次证明了 Fascin\_1 蛋白在侵袭性的肺癌中表达上调,并结合临床的角度反映出 Fascin\_1 蛋白作为肺癌患者一个独立的预后因素的可能性。之后,该研究继续评估了 Fascin\_1 蛋白在 128 例经手术切除的肺神经内分泌肿瘤中的表达分析以及其与淋巴结转移的关系。结果显示,在肺典型类癌和肺非典型类癌当中,Fascin\_1 蛋白的表达同区域淋巴结转移的关系密切相

关<sup>[13]</sup>。本组研究中同样得出结果,显示 Fascin\_1 表达在区域淋巴结转移以及临床分期不同的患者中差异有统计学意义。区域淋巴结转移范围越广、临床分期越晚的患者,标本中 Fascin\_1 表达越高。多因素分析表明,Fascin\_1 可以作为独立的预测肺癌患者淋巴结转移的标志物<sup>[14]</sup>。

因此,根据本组试验结合既往相关研究综合分析,Fascin\_1 蛋白对人类肺癌细胞的淋巴结转移具有密切相关性,同时癌组织中 Fascin\_1 的不同表达对患者的生存时间有明显影响。因此考虑 Fascin\_1 有望成为肺癌潜在生物学标志物。

### 参考文献

- [1] Adams J C. Fascin protrusions in cell interactions [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2004, 14(6):221-6.
- [2] Soumaoro L T, Uetake H, Higuchi T, et al. Cyclooxygenase-2 expression: a significant prognostic indicator for patients with colorectal cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(24):8465-71.
- [3] Masunaga R, Kohno H, Dhar D K, et al. Cyclooxygenase-2 expression correlates with tumor neovascularization and prognosis in human colorectal carcinoma patients [J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(10):4064-8.
- [4] Larsson C. Protein kinase C and the regulation of the actin cytoskeleton [J]. *Cell Signal*, 2006, 18(3):276-84.
- [5] 昂琳,吴正升,王弦,等. 乳腺癌 FSCN1 表达及其对癌细胞增殖活性的影响 [J]. *临床与实验病理学杂志* 2013 29(3):

- 240-3.
- [6] 刘莉,安胜利,官键,等. Fascin-1 在鼻咽癌中表达及其临床意义 [J]. *广东医学* 2010 31(8):976-8.
- [7] 于维霞,熊胜道,卢朝辉,等. Fascin 与 Ki-67 在分化差的非小细胞肺癌中的表达 [J]. *中国实用内科杂志* 2005, 25(8):705-7.
- [8] 高翔,吴德华. FSCN1 蛋白在人上皮性肿瘤组织中的表达及其临床意义 [J]. *南方医科大学学报* 2008 28(6):953-5.
- [9] Wu D, Chen L, Liao W, et al. Fascin1 expression predicts poor prognosis in patients with nasopharyngeal carcinoma and correlates with tumor invasion [J]. *Ann Oncol*, 2010, 21(3):589-96.
- [10] Oh S Y, Kim Y B, Suh K W, et al. Prognostic impact of fascin-1 expression is more significant in advanced colorectal cancer [J]. *J Surg Res*, 2012, 172(1):102-8.
- [11] Yoder B J, Tso E, Skacel M, et al. The expression of fascin, an actin-bundling motility protein, correlates with hormone receptor-negative breast cancer and a more aggressive clinical course [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(1):186-92.
- [12] Pelosi G, Pastorino U, Pasini F, et al. Independent prognostic value of fascin immunoreactivity in stage I nonsmall cell lung cancer [J]. *Br J Cancer*, 2003, 88(4):537-47.
- [13] Pelosi G, Pasini F, Frassetto F, et al. Independent value of fascin immunoreactivity for predicting lymph node metastases in typical and atypical pulmonary carcinoids [J]. *Lung Cancer*, 2003, 42(2):203-13.
- [14] Zhang F R, Tao L H, Shen Z Y, et al. Fascin expression in human embryonic, fetal, and normal adult tissue [J]. *J Histochem Cytochem*, 2008, 56(2):193-9.

## Clinical significance of Fascin\_1 expression in lung cancer

Wang Rui<sup>1,2</sup>, Yu Hongzhen<sup>1</sup>, Wang Xian<sup>1</sup>, et al

(<sup>1</sup>Dept of Pathology, Anhui Medical University, Hefei 230022; <sup>2</sup>Dept of Oncology, Anhui Chest Hospital, Hefei 230032)

**Abstract Objective** To observe the relationship of Fascin\_1 expression in human lung cancer and para-cancer tissues to clinicopathological characteristics in lung cancer patients, and to investigate the correlations of Fascin\_1 expression with the biologic behaviors of lung cancer. **Methods** Immunohistochemistry MaxVision method was adopted to detect the protein expression of Fascin\_1 in 84 cases of lung cancer and para-cancer tissues. Fascin\_1 expression in vascular endothelial cells was used as the positive criteria, while PBS displaced primary antibody as the negative criteria. **Results** The positive rates of Fascin\_1 expression in lung cancer tissues and para-cancer tissues were 92.9% (78/84) and 32.1% (27/84) respectively, with significant difference ( $P < 0.05$ ). Fascin\_1 expression was correlated with age, clinical stage and regional lymph node metastasis, with significant difference ( $P < 0.05$ ). Whereas it was not correlated with gender, T stage and pathology type, with no statistical difference ( $P > 0.05$ ). The overall survival time was significantly different among the different intensities of Fascin\_1 expression in lung cancer tissues ( $P < 0.05$ ), while there was no statistical difference among the different intensities of Fascin\_1 expression in para-cancer tissues ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Fascin\_1 plays an important role in the invasiveness and metastasis of lung cancer. Fascin\_1 expression in cancer tissues has an obvious influence on the overall survival time of patients. Fascin\_1 might be potential candidate of biological biomarkers for lung cancer.

**Key words** lung cancer; Fascin\_1; immunohistochemistry; survival time