

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.12.008

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.12.008>

AGGF1在乳腺癌中的表达与预后的关系

王波¹, 董小林²

(湖北医药学院 1. 附属东风医院器官移植乳腺外科; 2. 附属人民医院健康管理中心, 湖北 十堰 442000)

[摘要] **目的:** 探讨AGGF1(angiogenic factor with G and FHA domains 1)在乳腺癌中的表达及其与乳腺癌患者预后的意义。**方法:** 利用免疫组织化学方法检测110例乳腺癌组织及配对癌旁正常组织AGGF1蛋白的表达, 并分析其与临床病理指标的关系及对患者预后的影响。**结果:** 在乳腺癌组织中, AGGF1蛋白阳性45例(41%), AGGF1蛋白阴性65例(59%); 配对癌旁正常组织中, AGGF1蛋白阳性15例(13.6%), AGGF1蛋白阴性95例(86.4%); AGGF1在乳腺癌组织的表达明显高于配对癌旁正常组织, 差异有统计学意义($P<0.05$)。AGGF1蛋白表达与患者年龄、肿瘤大小、TNM分期、淋巴结转移等无相关性($P>0.05$); AGGF1蛋白表达与ER, PR, HER-2, 增殖指数(Ki-67)等有相关性($P<0.05$)。生存分析显示, AGGF1蛋白阳性表达患者的无病生存期(disease-free survival, DFS)与总生存期(overall-survival, OS)明显差于AGGF1蛋白阴性表达者, 差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素COX比例风险回归模型分析发现: AGGF1蛋白阳性表达与乳腺癌患者的预后相关, 为预后的独立预测因子。**结论:** 在乳腺癌组织中, AGGF1蛋白阳性表达, 与患者不良预后相关, 可作为乳腺癌患者预后预测的指标, 也有可能为潜在的治疗靶点。

[关键词] AGGF1; 乳腺癌; 免疫组织化学; 预后

Expression of AGGF1 in breast cancer tissues and its prognosis

WANG Bo¹, DONG Xiaolin²

(1. Department of Organ Transplantation and Breast Surgery, Affiliated Dongfeng Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan Hubei 442000;

2. Department of Physical Examination Center, Affiliated People's Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan Hubei 442000, China)

Abstract **Objective:** To investigate the expression and its significance of angiogenic factor with G and FHA Domains 1 (AGGF1) in breast cancer tissues. **Methods:** The levels of AGGF1 protein expression in 110 breast cancer and corresponding adjacent noncancerous tissues were assessed by immunohistochemistry. The potential associations of positive AGGF1 expression with clinicopathological variables and the prognosis of these patients were analyzed. **Results:** The positive and negative expression rate of AGGF1 expression in breast cancer and corresponding adjacent tissues were 41%, 59%, 13.6% and 86.4% respectively ($P<0.05$). The positive expression of AGGF1 in breast cancer tissues was positively associated with ER, PR, HER-2 and Ki-67 ($P<0.05$). There was no correlation

收稿日期 (Date of reception): 2019-03-12

通信作者 (Corresponding author): 董小林, Email: newestway@163.com

between the age, tumor size, TNM stage and lymph node metastasis ($P>0.05$). Kaplan-Meier analyses revealed that the positive AGGF1 expression in breast cancer patients was significantly associate with a shorter disease-free survival and overall survival ($P<0.05$). Cox regression analyses indicated that the positive expression of AGGF1 was an independent prognosis factor for breast cancer patients. **Conclusion:** The positive AGGF1 expression may serve as a novel marker of poor prognosis and a potential therapeutic for breast cancer patients.

Keywords AGGF1; breast cancer; immunohistochemistry; prognosis

乳腺癌在世界范围内, 其发病率、病死率仍居女性恶性肿瘤首位^[1], 尤其在我国, 乳腺癌的发病率、病死率呈现初年上升趋势, 并且发病年龄较欧美国家年轻, 严重影响女性的健康^[2]。乳腺癌是高度异质性疾病, 尽管目前乳腺癌诊治领域有较为完善的临床TNM分期、病理分期、分子分型及基因检测, 甚至有手术、化疗、靶向治疗、放疗、内分泌治疗等治疗方式, 但部分乳腺癌患者最终仍会复发、转移, 甚至死亡。因此, 除进行乳腺癌规范、合理、个体化的治疗外, 积极探索与乳腺癌治疗、预后相关的因素, 探索潜在的、可能的预后预测因子, 针对高危患者采用更积极的治疗, 从而提高乳腺癌的治疗效果, 改善预后, 显得尤其重要。

乳腺癌的治疗效果、预后, 与临床病理指标、分子分型、基因表达等众多因素相关^[3], 但是, 截止到目前为止, 尚没有任何一个评价系统可以准确的对乳腺癌的治疗效果、预后进行预测以及评估。血管生成在肿瘤的发生、发展中起重要的作用^[4], 甚至最终发生的复发、转移, 血管生成也起关键作用。AGGF1(angio-genic factor with G and FHA domains 1)基因, 是2004年在对先天性静脉畸形骨肥大症综合征患者研究时发现的, 该基因在血管内皮细胞高表达, 后续的研究证实, 该基因具有促血管生成能力^[5-6]。研究^[7]发现: AGGF1在肝癌、结直肠癌等恶性肿瘤中高表达, 与不良预后相关。但是, AGGF1在乳腺癌中的表达及与乳腺癌的预后关系, 目前国内外未见相关报道。本研究主要探讨AGGF1蛋白在乳腺癌中的表达情况及与预后的关系, 为研究乳腺癌预后指标及潜在治疗靶点提供新的思路。

1 对象与方法

1.1 对象

选取湖北医药学院附属东风医院(以下简称

我院)2012年1月至2017年1月, 有完整病历及完整随访资料的乳腺癌患者115例, 均为女性, 年龄35~71(中位51)岁。所有患者均签署知情同意文书, 并经过我院伦理委员会批准。

1.2 乳腺癌临床病理指标及随访

乳腺癌临床病理指标由我院电子病历系统获取, 包括年龄、组织学分级、肿瘤大小、TNM分期、淋巴结转移、ER、PR、HER-2、增殖指数(Ki-67)等。随访方式为定期住院、门诊复诊或者电话随访。纳入标准: 临床病理资料记录完整; 术前无放、化疗病史, 无其他恶性肿瘤病史; 治疗规范; 排除标准: 非乳腺原发性恶性肿瘤; 炎性乳腺癌及首诊IV期乳腺癌; 拒绝在我院随访、复查; 有明确的恶性肿瘤家族史。115例患者, 失访5例, 最终入选110例首诊并首治的乳腺癌患者, 病理类型均为浸润性导管癌。本研究中无病生存期(disease-free survival, DFS)定义为: 接受治疗日开始至出现复发、转移以及死亡的时间; 总生存期(overall survival, OS)定义为: 接受治疗日开始至死亡的时间, 随访截止仍生存为删失数据。并从住院电子病历系统详细记录并整理患者年龄, 肿瘤大小, TNM分期, 淋巴结转移, ER, PR, HER-2, Ki-67等指标。

1.3 免疫组织化学检测

对收集的110例乳腺癌及配对癌旁正常组织(距癌灶3~5 cm以上)行甲醛固定, 石蜡包埋备用。将乳腺癌及配对癌旁石蜡包埋组织进行连续4 μm 切片, 用二甲苯脱蜡, 在梯度乙醇中水合, 在压力锅中加热15 min进行抗原修复后, 滴加AGGF1蛋白一抗(购于英国Abcam公司), 阴性对照滴加PBS液, 滴加DAB显色液, 苏木精复染后, 脱水, 封片, 供显微镜阅片用。余ER, PR, HER-2, Ki-67等指标的检测由我院病理检测中心进行常规检测。由我院2位独立的病理科高年资

医师进行阅片, 根据阳性细胞染色强度及阳性细胞所占比例, 并结合文献[7]进行结果判定, 随机选取4个区域, 在400倍视野下观察染色强度: 无着色=0分, 浅着色=1分, 中等程度着色=2分, 强着色=3分; 观察阳性细胞所占比例: <1%=0分, 1%~<10%=1分, 10%~50%=2分, >50%=3分。综合结果判定: 细胞染色强度和阳性细胞所占比例得分相乘, AGGF1阴性表达<4分, AGGF1阳性表达 \geq 4分。

1.4 统计学处理

采用SPSS 21.0软件进行数据分析。AGGF1蛋白表达与临床病理指标的关系用 χ^2 检验, 用Kaplan-Meier绘制生存曲线, 行log-rank检验, 用Cox比例分析模型进行多因素预后分析, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AGGF1在癌旁正常组织及乳腺癌组织中的表达

110例乳腺癌组织中, AGGF1蛋白阳性例数45例, 阳性表达率41%, AGGF1蛋白阴性例数65例, 阴性表达率59%; 110配对癌旁正常组织中, AGGF1蛋白阳性例数15例, 阳性表达率13.6%, AGGF1蛋白阴性例数95例, 阴性表达率86.4%; AGGF1在乳腺癌组织的表达明显高于配对癌旁组织($\chi^2=20.625$, $P<0.001$, 图1)。

2.2 随访结果

除5例失访外, 完整随访110例乳腺癌患者, 随访时间2012年1月至2017年1月, 中位随访51个月。随访期间, 复发转移18例, 死亡16例。

2.3 AGGF1蛋白表达与乳腺癌患者临床病理指标的关系

110例乳腺癌患者, AGGF1蛋白阳性例数45例, AGGF1蛋白阴性例数65例, AGGF1蛋白表达与患者年龄、肿瘤大小、TNM分期、淋巴结转移等之间的关系差异无统计学意义($P>0.05$); AGGF1蛋白表达与ER, PR, HER-2, Ki-67等指标之间的关系差异有统计学意义($P<0.05$, 表1)。

2.4 AGGF1蛋白表达与乳腺癌患者预后的关系

AGGF1蛋白阳性表达组, 复发、转移13例, 死亡13例, AGGF1蛋白阴性表达组, 复发、转移5例, 死亡3例。Kaplan-Meier生存曲线分析明确, AGGF1蛋白阳性表达组5年DFS为64.4%, 5年OS为74%, 均差于AGGF1蛋白阴性表达组, 5年DFS为78.6%, 5年OS为89%, 差异有统计学意义($\chi^2=18.650$, $P<0.001$; $\chi^2=7.116$, $P=0.008$, 图2)。单因素生存分析发现: AGGF1蛋白不同表达、ER, PR, HER-2, Ki-67等与乳腺癌的预后相关(表2); 多因素COX比例风险回归模型分析发现: AGGF1蛋白阳性表达与乳腺癌的预后相关, 为预后的独立预测因子(表3)。

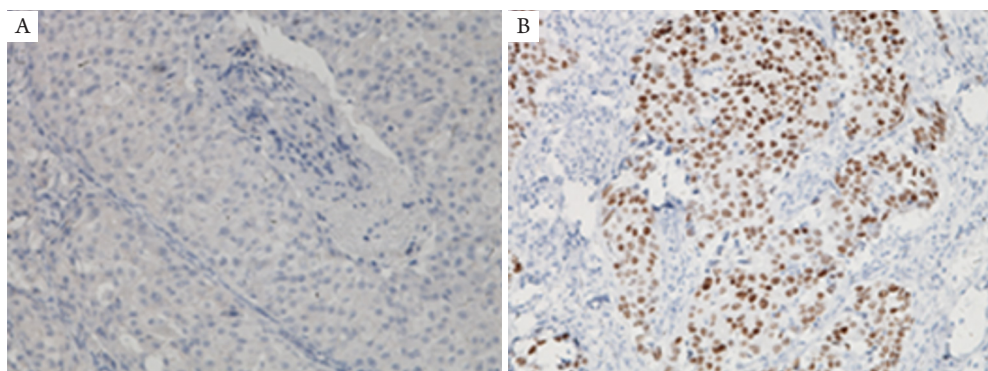


图1 AGGF1在乳腺癌组织及癌旁正常组织的表达(IHC, $\times 400$)

Figure 1 Expression of AGGF1 in breast cancer tissues and normal breast tissues (IHC, $\times 400$)

(A) 癌旁正常乳腺组织; (B) 乳腺癌组织。

(A) Normal breast tissue; (B) Breast cancer tissue.

表1 AGGF1蛋白表达与乳腺癌患者临床病理指标的关系

Table 1 Relationship between the expression of AGGF1 and clinicopathologic features of breast cancer

临床病理指标	AGGF1蛋白表达/[例(%)]		χ^2	P
	阴性	阳性		
年龄/岁			1.907	0.167
<60	39 (60.0)	21 (46.7)		
≥60	26 (40.0)	24 (53.3)		
肿瘤直径/cm			1.650	0.438
≤2	31 (47.7)	16 (35.6)		
>2且≤5	19 (29.2)	17 (37.8)		
>5	15 (23.1)	12 (26.7)		
组织学分级			0.013	0.994
I	22 (33.8)	15 (33.3)		
II	22 (33.8)	15 (33.3)		
III	21 (32.3)	15 (33.3)		
淋巴结转移			1.985	0.159
无	46 (70.8)	26 (57.8)		
有	19 (29.2)	19 (42.2)		
TNM分期			0.321	0.571
I+II	34 (52.3)	26 (57.8)		
III	31 (47.7)	19 (42.2)		
ER			4.395	0.036
阴性	19 (29.2)	22 (48.9)		
阳性	46 (70.8)	23 (51.1)		
PR			6.764	0.009
阴性	40 (61.5)	38 (84.4)		
阳性	25 (38.5)	7 (15.6)		
HER-2			4.621	0.032
阴性	45 (69.2)	22 (48.9)		
阳性	20 (30.8)	23 (51.1)		
增殖指数(Ki-67)			4.395	0.036
<14%	49 (75.4)	20 (44.4)		
≥14%	16 (24.6)	25 (55.5)		

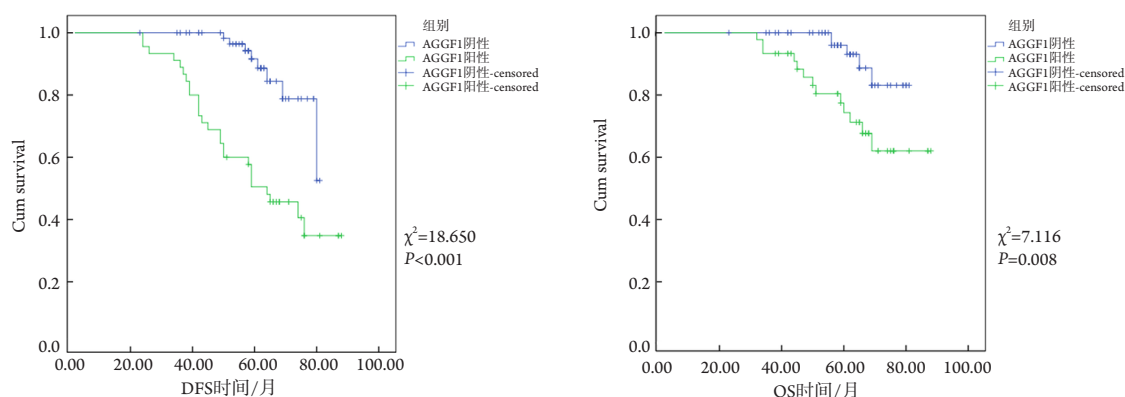


图2 AGGF1蛋白表达与乳腺癌患者预后的关系

Figure 2 Relationship between AGGF1 expression and survival

表2 临床病理因素与乳腺癌患者生存的单因素cox回归分析

Table 2 Univariate Cox proportional hazards model analysis of prognosis in patients with breast cancer

临床病理因素	单因素Cox回归分析		
	HR	95%CI	P
AGGF1蛋白不同表达	0.119	0.035~0.402	0.001
ER	5.550	1.565~19.689	0.008
PR	3.660	1.852~8.512	0.038
HER2	0.425	1.852~8.512	0.049
肿瘤直径	1.330	0.475~3.724	0.587
组织分级	0.927	0.335~2.571	0.885
年龄	0.550	0.237~1.302	0.177
TNM	0.636	0.274~1.477	0.293
Ki-67	0.409	0.175~0.958	0.039

表3 临床病理因素与乳腺癌患者生存的多因素cox回归分析

Table 3 Multivariate Cox proportional hazards model analysis of prognosis in patients with breast cancer

临床病理因素	多因素Cox回归分析		
	HR	95% CI	P
AGGF1蛋白不同表达	4.921	1.273~19.018	0.021
ER	0.402	0.148~1.089	0.073
PR	0.456	0.098~2.133	0.319
HER2	1.771	0.711~4.411	0.220
Ki-67	1.323	0.539~3.249	0.541

3 讨论

乳腺癌目前仍是威胁女性健康的首要恶性肿瘤, 在患者经历了手术、化疗等治疗后^[8], 部分患者最终仍会复发、转移并因乳腺癌死亡。因此, 积极探索乳腺癌预后、治疗相关的因素从而改善预后的预后至关重要。包括乳腺癌在内的恶性肿瘤, 血管生成是肿瘤发生、发展、转移的最基本因素, 肿瘤组织不断释放促血管生成因子, 而新生血管, 又促进肿瘤不断生长, 并改变血管通透性, 使肿瘤更易于转移^[9]。对肿瘤血管的生成, 人们早有共识, 并开发了贝伐单抗、舒尼替尼、索拉菲尼等抗血管生成药物^[10-12], 虽然临床试验并未能使患者获益, 但足以说明, 在恶性肿瘤的治疗中, 肿瘤血管生成的重要性。

AGGF1基因可以明显改善试验小鼠缺血部位的血液供应, 并调控斑马鱼的血管生成、分化^[13-14]。目前已经明确AGGF1为新发现的血管生成因子^[15], AGGF1具有促进血管生成、增加血流量的作用。研究^[16]发现: AGGF1在肝癌中, 不仅与不良预后相关, 而且与VEGF, CD34等肿瘤血管相关因子呈正相关。尽管国内外关于AGGF1基因的研究较多, 但AGGF1与恶性肿瘤的关系研究相对较少, 尤其是AGGF1与乳腺癌预后的关系, 目前未见相关报道。

本研究通过检测乳腺癌及配对癌旁组织标本中AGGF1蛋白表达, 结合乳腺癌目前主要的临床病理指标, 并结合生存分析明确, 乳腺癌组织中AGGF1蛋白阳性表达高于癌旁组织, AGGF1蛋白表达阳性患者预后差, 容易出现复发、转移甚至死亡, 初步明确了AGGF1蛋白阳性表达是乳腺癌预后的不良因素。临床实践中, 与乳腺癌预后主

要相关的因素, 如TNM分期、淋巴结转移、ER、PR等指标在本研究与乳腺癌患者预后相关不显著, 可能是与基于AGGF1分组, 组间差异不显著及回顾性研究存在病例选择偏倚和本研究病例数偏少相关。本研究中, 患者的DFS及OS与杨海林等^[17]报道的乳腺癌患者生存分析相仿, 但高于陈馨等^[18]的报道, 可能与本研究排除了初诊IV期乳腺癌患者有关。在后续的研究中, 将依据TNM分期、淋巴结转移、ER、PR等指标进行亚组分析, 延长随访时间, 加强与其他乳腺治疗中心的合作, 增加病例数, 减少选择性偏倚的影响, 进一步阐释AGGF1与乳腺癌预后的关系, 并研究探索AGGF1与乳腺癌血管生成的关系, 旨在进一步探索AGGF1是否为乳腺癌潜在的治疗靶点。

综上所述, AGGF1蛋白阳性表达与乳腺癌患者的预后相关, AGGF1蛋白表达阳性患者预后差, 易出现复发、转移甚至死亡。

参考文献

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): E359-E386.
2. 陈万青, 郑荣寿. 中国女性乳腺癌发病死亡和生存状况[J]. *中国肿瘤临床*, 2015, 42(13): 668-674.
CHEN Wanqing, ZHENG Rongshou. Incidence, mortality and survival analysis of breast cancer in China[J]. *Chinese Journal of Clinical Oncology*, 2015, 42(13): 668-674.
3. 梁法清, 杜正贵, 何阳君. 乳腺癌组织中ALDH1及BCRP的表达状况与乳腺癌病理特征的相关性分析[J]. *中国医药导报*, 2018, 15(14): 76-79.
LIANG Faqing, DU Zhengui, HE Yangjun. The relationship between the expressions of aldehyde dehydrogenase 1, breast cancer resistance protein in breast cancer tissues and pathological features of breast cancer[J]. *China Medical Herald*, 2018, 15(14): 76-79.
4. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease[J]. *Nat Med*, 1995, 1(1): 27-31.
5. Smolka MB, Chen SH, Maddox PS, et al. An FHA domain-mediated protein interaction network of Rad53 reveals its role in polarized cell growth[J]. *J Cell Biol*, 2006, 175(5): 743-753.
6. Lu Q, Yao Y, Hu Z, et al. Angiogenic factor AGGF1 activates autophagy with an essential role in therapeutic angiogenesis for heart disease[J]. *PLoS Biol*, 2016, 14(8): e1002529.
7. 吴旻, 陆艳荣, 张瑾焜. AGGF1和HIF-1 α 及VEGF表达与食管鳞癌放疗预后相关性研究[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2016, 23(17): 1159-1164.
8. WU Min, LU Yanrong, ZHANG Jinrong. Relationship between the expression of AGGF1, HIF-1 α and VEGF in esophageal squamous cell carcinoma and the prognosis of radiotherapy[J]. *Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment*, 2016, 23(17): 1159-1164.
8. 陈晓珏, 王燕, 石宇, 等. 乳腺癌改良根治术患者术后生存情况分析[J]. *江苏医药*, 2018, 44(10): 1163-1167.
CHEN Xiaoyu, WANG Yan, SHI Yu, et al. An analysis of term survival patients after modified radical mastectomy for breast cancer[J]. *Jiangsu Medical Journal*, 2018, 44(10): 1163-1167.
9. 贾晓辉, 郝丽丽. 血管内皮生长因子与肿瘤负荷相关性研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2018, 34(6): 906-910.
JIA Xiaohui, HAO Lili. Study on relationship between vascular endothelial growth factor and tumor burden[J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2018, 34(6): 906-910.
10. Redondo A, Ramos Vazquez M, Manso L, et al. Long-term response to first-line bevacizumab-based therapy in patients with metastatic breast cancer: Results of the observational "LORENA" study[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 5845-5852.
11. Gridelli C, de Castro Carpeno J, Dingemans AC, et al. Safety and efficacy of bevacizumab plus standard-of-care treatment beyond disease progression in patients with advanced non-small cell lung cancer: The AvaALL randomized clinical trial[J]. *JAMA Oncol*, 2018, 4(12): e183486.
12. 徐彩虹, 陈俊. 恩度联合静脉化疗对晚期非小细胞肺癌肿瘤标志物和新生血管的影响[J]. *中国慢性病预防与控制*, 2018, 26(2): 124-127.
XU Caihong, CHEN Jun. Effect of endostar combined with chemotherapy in the treatment of advanced non-small lung cancer on biomarkers and neovascular[J]. *Chinese Journal of Prevention and Control of Chronic Diseases*, 2018, 26(2): 124-127.
13. Chen D, Li L, Tu X, et al. Functional characterization of Klippel-Trenaunay syndrome gene AGGF1 identifies a novel angiogenic signaling pathway for specification of vein differentiation and angiogenesis during embryogenesis[J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22(5): 963-976.
14. Lu Q, Yao Y, Yao Y, et al. Angiogenic factor AGGF1 promotes therapeutic angiogenesis in a mouse limb ischemia model[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e46998.
15. Zabriskie MS, Antelope O, Verma AR, et al. A novel AGGF1-PDGFR β fusion in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Haematologica*, 2018, 103(2): e87-e91.
16. Wang W, Li GY, Zhu JY, et al. Overexpression of AGGF1 is correlated with angiogenesis and poor prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Med Oncol*, 2015, 32(4): 131.
17. 杨海林, 李涛, 彭科, 等. E-钙黏蛋白及Ki67在三阴性乳腺癌中的表

- 达及临床意义[J]. 中华乳腺病杂志(电子版), 2018, 12(1): 32-36.
- YANG Hailin, LI Tao, PENG Ke, et al. Expression of E-cadherin and Ki67 in triple negative breast cancer and clinical significance[J]. Chinese Journal of Breast Disease. Electronic Version, 2018, 12(1): 32-36.
18. 陈馨, 张薇, 张伟杰, 等. 肿瘤相关巨噬细胞CD68蛋白与乳腺癌临床病理特征对新辅助化疗疗效和预后的影响[J]. 临床与病理杂志, 2019, 39(3): 535-542.
- CHEN Xin, ZHANG Wei, ZHANG Weijie, et al. Effects of tumor-associated macrophage CD68 protein and clinicopathologic features of breast cancer on efficacy and prognosis of neoadjuvant chemotherapy[J]. International Journal of Pathology and Clinical Medicine, 2019, 39(3): 535-542.

本文引用: 王波, 董小林. AGGF1在乳腺癌中的表达与预后的关系[J]. 临床与病理杂志, 2019, 39(12): 2685-2691. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.12.008

Cite this article as: WANG Bo, DONG Xiaolin. Expression of AGGF1 in breast cancer tissues and its prognosis[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2019, 39(12): 2685-2691. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.12.008