

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.03.003

View this article at: <https://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2022.03.003>

FAP- α 和 VEGF 在卵巢癌中的表达及意义

单丽辉¹, 杨志蓉¹, 莫云路¹, 赵颖洁¹, 刘丽萍², 易小恋¹, 胡兵³

(1. 四川省妇幼保健院病理科, 成都 610031; 2. 石棉县人民医院病理科, 四川 雅安 625400;
3. 重庆市黔江中心医院病理科, 重庆 409000)

[摘要] 目的: 检测卵巢癌组织中纤维母细胞活化蛋白- α (fibroblast activation protein α , FAP- α)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达情况, 探讨其与卵巢癌侵袭和转移的关系。方法: 应用免疫组织化学法检测80例卵巢癌组织和30例正常卵巢组织中FAP- α 和VEGF的表达, 并分析两者的相关性, 探讨其与卵巢癌临床病理特征的关系。结果: 卵巢癌组织中的FAP- α 和VEGF均显著高于正常卵巢组织($P < 0.05$); 在卵巢癌中FAP- α 主要表达于间质纤维母细胞细胞质, 并且与分化程度、FIGO分期、侵袭深度、淋巴结转移相关($P < 0.05$), 而与年龄、组织学分型无关($P > 0.05$); 在卵巢癌中VEGF主要表达于肿瘤细胞的细胞质, 并且与分化程度、FIGO分期、侵袭深度、淋巴结转移相关($P < 0.05$), 而与年龄、组织学分型无关($P > 0.05$); 在卵巢癌组织中FAP- α 和VEGF表达呈正相关。结论: FAP- α 和VEGF在卵巢癌的进展中起重要的作用, 可为卵巢癌的治疗提供新的思路和作用靶点。

[关键词] 纤维母细胞活化蛋白- α ; 血管内皮生长因子; 癌相关纤维母细胞; 卵巢癌

Expression of FAP- α and VEGF and their clinical significance in ovarian cancer

SHAN Lihui¹, YANG Zhirong¹, MO Yunlu¹, ZHAO Yingjie¹, LIU Liping², YI Xiaolian¹, HU Bing³

(1. Department of Pathology, Sichuan Provincial Maternity and Child Health Care Hospital, Chengdu 610031;
2. Department of Pathology, Shimian People's Hospital, Ya'an Sichuan 625400;
3. Department of Pathology, Qianjiang Central Hospital of Chongqing, Chongqing 409000, China)

Abstract **Objective:** To study the expression of fibroblast activation protein α (FAP- α) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in ovarian cancer and their relationship with tumor invasion and metastasis. **Methods:** We used immunohistochemical technique to detect the expression of FAP- α and VEGF in 80 cases of ovarian cancer tissues and 30 cases of normal ovarian tissues, and analyzed its relationship with clinicopathological features. **Results:** There were statistically significant differences in the expression of FAP- α and VEGF between ovarian carcinoma and normal ovarian tissues ($P < 0.05$); the expression of FAP- α was main in cancer-associated fibroblasts

收稿日期 (Date of reception): 2021-04-02

通信作者 (Corresponding author): 胡兵, Email: 47784108@qq.com

基金项目 (Foundation item): 国家重点研发计划 (2017YFC0907304)。This work was supported by the National Key R&D Program of China (2017YFC0907304).

but VEGF was in cancer cells, both of them were associated with differentiation degree, Figo stage, depth of tumor invasion, and lymph node metastasis ($P<0.05$), but had no obvious relationship with ages and histological types. Positive correlation of FAP- α and VEGF protein expression was found in ovarian carcinoma. **Conclusion:** FAP- α and VEGF play an important role in the evolution of ovarian cancer, and will provide new idea and target for the treatment of ovarian cancer.

Keywords fibroblast activation protein α ; vascular endothelial growth factor; cancer-associated fibroblasts; ovarian cancer

近年来研究发现肿瘤的演进不再是基因突变导致癌细胞失控性生长的单一事件, 肿瘤间质微环境在肿瘤的演进过程中也起重要的作用^[1], 癌相关纤维母细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)是肿瘤微环境中重要的组成部分, 以往研究认为, 肿瘤间质反应是一种宿主抗肿瘤反应, 肿瘤间质内大量 CAFs 浸润可以包绕肿瘤细胞团, 限制肿瘤的侵袭和转移^[2]。随着深入研究, 人们发现 CAFs 不但未起到抑制肿瘤的作用, 反而通过各种途径, 在肿瘤的发生发展、侵袭及转移中发挥重要作用, 纤维母细胞活化蛋白- α (fibroblast activation protein α , FAP- α) 是 CAFs 的特征性免疫表型^[3-4]。肿瘤的血管形成是抗血管生成因子与促血管生成因子相互作用的结果, 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是重要的促血管生成因子^[5]。本研究通过免疫组织化学法检测卵巢癌中 FAP- α 和 VEGF 的表达情况, 并探讨两者的相关性。

1 材料与方法

1.1 材料

收集四川省妇幼保健院病理科2010年1月至2020年1月卵巢癌标本80例, 术前均未做放疗和化疗。并根据年龄、组织学类型、分化程度、Figo分期、侵袭深度及有无淋巴结转移进行分组。同时选取相应的同期手术的正常卵巢组织30例作为对照。

1.2 方法

标本经4%甲醛固定, 常规石蜡包埋, 切片厚4 μm , 应用通用型二步法进行免疫组织化学染色。即用型兔抗人单克隆抗体VEGF购自北京中杉金桥有限公司, 兔抗人单克隆抗体FAP- α 购自美国Abcam公司。

1.3 结果判定

FAP- α 阳性表达于间质纤维母细胞的细胞质中, 以背景清晰的棕色或棕黄色颗粒为阳性。

高倍镜下选取10个视野, 分别计数100个细胞, 计算阳性细胞百分率, 阳性细胞数 $<20\%$ 为(-), $20\% \sim 50\%$ 为(+), $>50\%$ 为(++)。根据Volm等^[6]的评分标准, 肿瘤细胞的细胞质呈棕黄色为VEGF阳性染色。阳性细胞数的百分率0%为0分; $\leq 25\%$ 为1分; $26\% \sim 50\%$ 为2分; $\geq 51\%$ 为3分。染色强度: 无色为0分; 淡黄色(弱阳性)为1分; 棕黄色(中等染色强度)为2分; 棕褐色(强阳性)为3分。免疫反应的得分为上述两项得分之和。0~2分为阴性, 3~6分为阳性。

1.4 统计学处理

应用SPSS17.0统计软件进行数据分析。组间比较及蛋白质表达与临床病理特征之间的相关性采用 χ^2 检验; 蛋白质表达的相关性采用Spearman等级相关分析。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 FAP- α 和 VEGF 在卵巢癌组织中的表达

FAP- α 在正常卵巢组织中表达阴性, 在卵巢癌间质纤维母细胞中表达阳性, VEGF表达于肿瘤细胞的细胞质中, 卵巢癌阴性对照(图1)。FAP- α 阳性表达于CAF的细胞质中, 其分布形式有3种类型: 位于肿瘤细胞团的周围; 位于肿瘤细胞之间, 与侵袭性肿瘤细胞相伴行; 位于肿瘤侵袭前沿的临近组织。

正常卵巢组织中FAP- α 表达阴性, 卵巢癌间质纤维母细胞中FAP- α 均呈阳性表达(80/80)。正常卵巢组织VEGF阳性率为20%(6/30), 而卵巢癌中阳性率为67.5%(54/80), 显著高于正常组织($P<0.01$, 表1)。

2.2 FAP- α 和 VEGF 与卵巢癌临床病理参数的关系

研究结果表明: FAP- α 的阳性表达与分化程度、Figo分期、侵袭深度、淋巴结转移相关(均 $P<0.05$), 而与年龄、组织学分型无关, 卵巢癌

分化程度越低、Figo分期III级和IV级、有淋巴结转移时, FAP- α 阳性表达率越高。VEGF的阳性表达与卵巢癌分化程度、Figo分期、侵袭深度, 淋巴结转移相关(均 $P < 0.05$), 而与年龄、组织学分型无关, 卵巢癌分化程度越低、Figo分期III级和IV级、有淋巴结转移时, VEGF阳性表达

率越高(表2)。

2.3 卵巢癌组织中 FAP- α 及 VEGF 表达的相关性

FAP- α 在卵巢癌相关纤维母细胞中的表达与肿瘤细胞中VEGF的表达呈正相关($r=0.534$, $P < 0.05$), 两者的一致性较好(表3)。

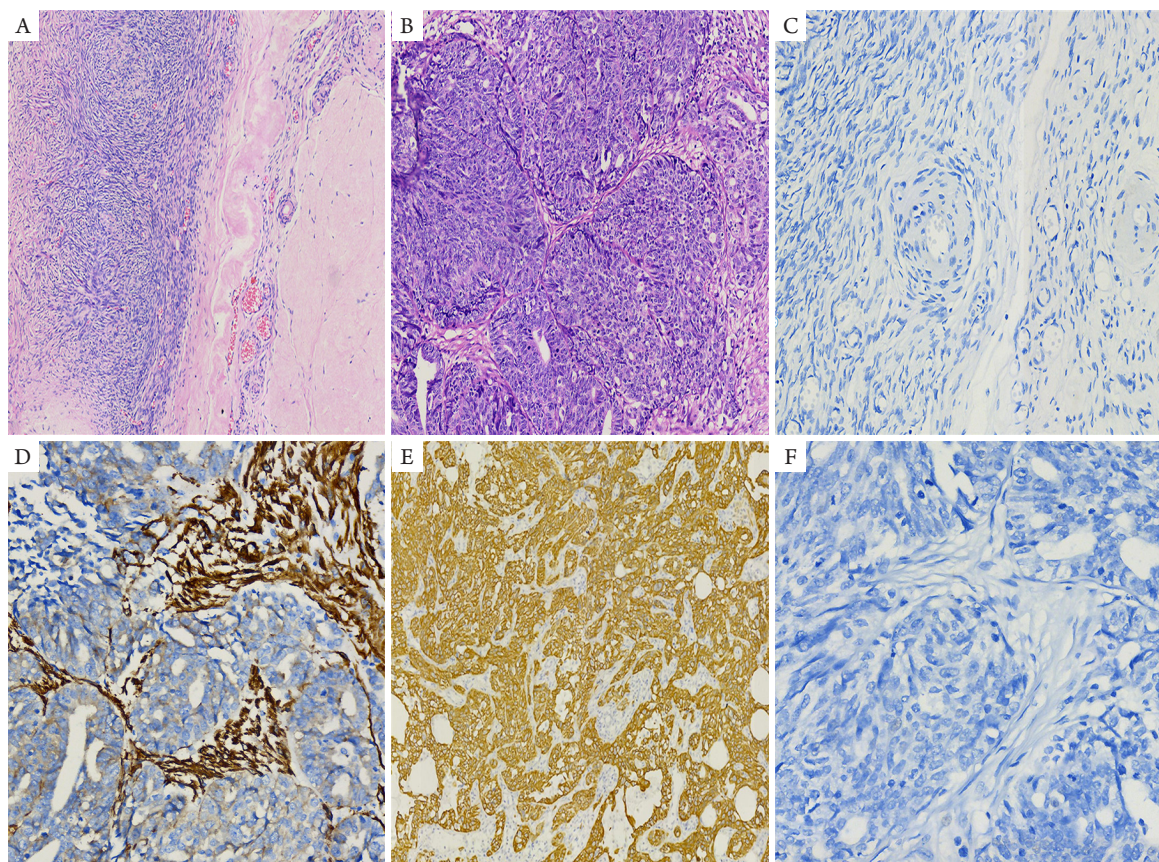


Figure 1 FAP- α 和VEGF在卵巢癌组织中的表达 ($\times 200$)

Figure 1 Expression of FAP- α and VEGF in ovarian cancer ($\times 200$)

(A)正常卵巢组织HE染色; (B)卵巢癌组织HE染色; (C)FAP在正常卵巢组织中表达阴性; (D)FAP在卵巢癌间质纤维母细胞中表达阳性; (E) VEGF在卵巢癌细胞质中强表达; (F)卵巢癌阴性对照。

(A) The normal ovarian tissue was confirmed by HE staining; (B) The ovarian cancer tissue was confirmed by HE staining; (C) No FAP expression was detected in normal ovarian tissue; (D) FAP expression was seen in stroma cells of the ovarian cancer; (E) Strong expression of VEGF in the cytoplasm of ovarian cancer cells; (F) Ovarian cancer.

表1 FAP- α 和VEGF在正常卵巢组织和卵巢癌组织中的表达

Table 1 Expression of FAP- α and VEGF in normal ovarian tissues and ovarian cancer

组别	<i>n</i>	FAP- α 阳性/[例(%)]	VEGF阳性/[例(%)]	<i>P</i>
正常组	30	0 (0.0)	6 (20.0)	<0.05
卵巢癌组	80	80 (100.0)	54 (67.5)	<0.05

表2 FAP- α 及VEGF的表达与临床病理参数的关系Table 2 Association of FAP- α and VEGF expression with clinicopathological variables of ovarian cancer

临床病理参数	n	FAP- α /例		χ^2	P	VEGF/例		χ^2	P
		+	++			+	-		
年龄/岁				2.043	0.631			2.035	0.155
<49	14	8	6			11	3		
≥ 49	66	32	34			43	23		
组织学分型				0.056	0.405			0.651	0.205
浆液性癌	55	27	28			36	19		
非浆液性癌	25	13	12			18	7		
分化程度				7.941	0.003			7.163	0.006
高中-分化	42	29	13			22	20		
低分化	38	11	27			32	6		
Figo分期				8.395	0.018			6.103	0.005
I~II	43	29	14			23	20		
III~IV	37	11	26			31	6		
浸润深度				6.263	0.014			8.421	0.008
未达浆膜	47	31	16			24	23		
达浆膜	33	9	24			30	3		
淋巴结转移				7.975	0.008			7.312	0.035
有	46	17	29			35	11		
无	34	23	11			19	15		

表3 FAP- α 与VEGF在卵巢癌组织中表达的相关性Table 3 Correlation of FAP- α and VEGF expression in ovarian cancer

FAP- α	VEGF		r	P
	-	+		
+	6	34	0.534	0.001
++	20	20		

3 讨论

早期的肿瘤研究大都集中在肿瘤细胞本身, 如肿瘤细胞的增殖凋亡、基因突变、信号转导通路的改变等方面, 但随着研究的深入, 肿瘤微环境已成为近年来研究的热点。所谓的肿瘤微环境就是指在肿瘤在生长过程中, 由细胞外基质, 肿瘤细胞、免疫细胞、内皮细胞、纤维母细胞等各

种细胞及基质相互作用形成的肿瘤细胞生长的微环境^[7]。CAFs是肿瘤微环境中最重要的组成部分, 目前有研究^[8-9]指出: 关于CAFs促进癌细胞侵袭和转移分子机制的研究多集中在乳腺癌、前列腺癌、胰腺癌等, 且多集中在以下几个方面: 1) CAFs通过分泌细胞因子直接影响癌细胞活性; 2) CAFs作为细胞外基质降解酶(如MMPs等)的来源之一, 通过激活各种信号通路促使癌细胞发生上皮向间质转化; 3) CAFs参与调节肿瘤免疫微环境。FAP作为CAFs重要的标志物之一, 是一种积聚在细胞表面侵入性伪足上的丝氨酸蛋白酶, 是由FAP α (分子质量95 kD)和FAP β (分子质量105 kD)两个亚单位组成分子质量为170 kD的二聚体, 具有分解明胶和I型胶原的活性以及类似二肽酶的活性, 一过性地表达于胚胎发育、创伤愈合和慢性炎症的反应性间质纤维母细胞中^[10-11]。本研究表明: FAP- α 在正常卵巢组织中阴性表达, 在卵巢癌相关纤维母细胞中阳性表达, FAP- α 的阳性表达与

分化程度、Figo分期、侵袭深度、淋巴结转移相关(均 $P < 0.05$), 而与年龄、组织学分型无关, 卵巢癌分化程度越低、Figo分期III级和IV级、有淋巴结转移时, FAP- α 阳性表达率越高, 这可能的原因是高表达的FAP降解细胞外基质, 通过激活各种信号通路促使癌细胞发生上皮向间质转化, 从而促进肿瘤的演进^[12-13]。目前为止描述的多种促血管生成及抗血管生成因子中最重要的是血管内皮生长因子, 此种糖蛋白能刺激内皮细胞增殖, 阻止新生血管退化, 增加微血管通透性。研究^[14-15]发现: 在结直肠癌、乳腺癌、子宫内膜癌和非小细胞癌等肿瘤组织中, VEGF的表达预示肿瘤转移风险增高和预后差。本研究表明: VEGF主要表达于肿瘤细胞的细胞质, 与分化程度、Figo分期、侵袭深度、淋巴结转移相关(均 $P < 0.05$), 而与年龄、组织学分型无关, 卵巢癌分化程度越低、Figo分期III级和IV级、有淋巴结转移时, VEGF阳性表达率越高。相关研究^[16-17]表明: FAP- α 可能参与了肿瘤微血管的生成, 在碱烧伤小鼠角膜诱发角膜新生血管生成的实验中发现, 角膜基质中FAP表达增高, 而且FAP阳性的细胞围绕在CD31阳性的内皮细胞所形成的新生血管周围, 而无新生血管生成的地方则无FAP阳性细胞。段佳佳等^[18]研究结果显示: 在乳腺癌中FAP的表达与VEGF呈正相关, VEGF的表达水平与乳腺癌患者的T分期、N分期, 临床分期呈正相关。本研究结果还显示: FAP- α 在卵巢癌相关纤维母细胞中的表达与肿瘤细胞中VEGF的表达呈正相关。这说明VEGF可能促进卵巢癌的血管生成进而促进卵巢癌的发生发展, 这与Sopo等^[19]的研究结果一致。

综上所述, 在卵巢癌的发生及演进过程中, FAP- α 和VEGF蛋白表达升高是两个重要的分子事件, 其共同促进了卵巢癌的演进, 与卵巢癌的分化程度、Figo分期、侵袭深度、淋巴结转移密切相关, 联合检测FAP- α 和VEGF蛋白表达有助于确定卵巢癌的恶性程度和评估预后, 为卵巢癌的肿瘤治疗提供了新的靶点。但二者在卵巢癌发生及演进过程中的具体分子机制仍有待进一步研究。

参考文献

1. Fei X, Jamila S, Kounosuke W, et al. Cancer associated fibroblasts (CAFs) in tumor microenvironment[J]. *Front Biosci*, 2010, 103(15): 167-178.
2. Jung DW, Che ZM, Kim J, et al. Tumor-stromal crosstalk in invasion of oral squamous cell carcinoma: a pivotal role of CCL7[J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(2): 332-344.
3. Chen X, Song E. Turning foes to friends: targeting cancer-associated fibroblasts[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18(2): 99-115.
4. da Silva AC, Jammal MP, Etchebehere RM, et al. Role of alpha-smooth muscle actin and fibroblast activation protein alpha in ovarian neoplasms[J]. *Gynecol Obstet Invest*, 2018, 83(4): 381-387.
5. Liang JF, Wang HK, Xiao H, et al. Relationship and prognostic significance of SPARC and VEGF protein expression in colon cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29(1): 71.
6. Volm M, Koomägi R, Mattern J. Prognostic value of vascular endothelial growth factor and its receptor Flt-1 in squamous cell lung cancer[J]. *Int J Cancer*, 1997, 74(1): 64-68.
7. Nyberg P, Salo T, Kalluri R. Tumor microenvironment and angiogenesis[J]. *Front Biosci*, 2008, 13: 6537-6553.
8. Cho H, Seo Y, Loke KM, et al. Cancer-stimulated CAFs enhance monocyte differentiation and protumoral TAM activation via IL6 and GM-CSF secretion[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(21): 5407-5421.
9. An Y, Liu F, Chen Y, et al. Crosstalk between cancer-associated fibroblasts and immune cells in cancer[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(1): 13-24.
10. Liu R, Li H, Liu L, et al. Fibroblast activation protein: A potential therapeutic target in cancer[J]. *Cancer Biol Ther*, 2012, 13(3): 123-129.
11. Ghersi G, Zhao Q, Salamone M, et al. The protease complex consisting of dipeptidyl peptidase IV and seprase plays a role in the migration and invasion of human endothelial cells in collagenous matrices[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(9): 4652-4661.
12. Giannoni E, Bianchini F, Masieri L, et al. Reciprocal activation of prostate cancer cells and cancer-associated fibroblasts stimulates epithelial-mesenchymal transition and cancer stemness[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(17): 6945-6956.
13. Gaponova AV, Rodin S, Mazina AA, et al. Epithelial-mesenchymal transition: role in cancer progression and the perspectives of antitumor treatment[J]. *Acta Naturae*, 2020, 12(3): 4-23.
14. Raspollini MR, Amunni G, Villanucci A, et al. Prognostic significance of microvessel density and vascular endothelial growth factor expression in advanced ovarian serous carcinoma[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2004, 14(5): 815-823.
15. Bremnes RM, Camps C, Sirera R. Angiogenesis in non-small cell lung cancer: the prognostic impact of neoangiogenesis and the cytokines VEGF and bFGF in tumours and blood[J]. *Lung Cancer*, 2006, 51(2): 143-158.
16. Hou CM, Qu XM, Zhang J, et al. Fibroblast activation proteins- α suppress tumor immunity by regulating T cells and tumor-associated macrophages[J]. *Exp Mol Pathol*, 2018, 104(1): 29-37.

17. Hayward SW. Preclinical assessment of fibroblast activation protein as a target for antitumor therapy[J]. *Future Oncol*, 2010, 6(3): 347-349.
18. 段佳佳, 王莹. FAP- α 和VEGF在乳腺癌中的表达及临床意义[J]. *癌症进展*, 2019, 17(20): 2415-2418.
DUAN Jiajia, WANG Ying. Expression of FAP- α and VEGF in breast cancer and the clinical significance[J]. *Oncology Progress*, 2019, 17(20): 2415-2418.
19. Sopo M, Anttila M, Hämäläinen K, et al. Expression profiles of VEGF-A, VEGF-D and VEGFR1 are higher in distant metastases than in matched primary high grade epithelial ovarian cancer[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 584.

本文引用: 单丽辉, 杨志蓉, 莫云路, 赵颖洁, 刘丽萍, 易小恋, 胡兵. FAP- α 和VEGF在卵巢癌中的表达及意义[J]. *临床与病理杂志*, 2022, 42(3): 533-538. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.03.003

Cite this article as: SHAN Lihui, YANG Zhirong, MO Yunlu, ZHAO Yingjie, LIU Liping, YI Xiaolian, HU Bing. Expression of FAP- α and VEGF and their clinical significance in ovarian cancer[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2022, 42(3): 533-538. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.03.003