

FASN 在小儿卵黄囊瘤中的表达及临床意义



张海洋 陆 鹏 沈练桔 吴盛德 何大维 林 涛 李旭良 魏光辉

【摘要】 目的 分析小儿卵黄囊瘤的临床特点,探讨脂肪酸合酶(Fatty acid synthase, FASN)在小儿卵黄囊瘤中的表达及意义。**方法** 回顾性分析 26 例卵黄囊瘤患儿临床资料,运用免疫组化检测 26 例卵黄囊瘤、17 例未成熟畸胎瘤、1 例胚胎性癌及 12 例相关部位正常组织标本中 FASN 的表达情况。**结果** 26 例小儿卵黄囊瘤发病平均年龄 2 岁 5 个月,16 例单纯以肿块就诊,5 例单纯以局部继发症状就诊,5 例同时具有肿块及局部症状。FASN 在卵黄囊瘤的表达程度(73%)显著高于未成熟畸胎瘤(28%)、胚胎性癌(0%)、正常组织(16%)。FASN 在性腺内和性腺外小儿卵黄囊瘤的阳性表达率分别为 56% 和 100%。伴淋巴结或远处转移组和无转移组阳性表达率分别为 100% 和 61%。FASN 的阳性表达率与临床分期呈正相关。以上差别均有统计学意义。化疗前后 FASN 表达率分别为 72% 和 75%,差别无统计学意义。**结论** 小儿卵黄囊瘤起病隐匿,进展迅速,手术治疗联合化疗有效,FASN 的表达可为诊治提供参考。

【关键词】 内胚层窦瘤; 脂肪酸合成酶复合物; 免疫组织化学; 儿童

Expression and clinical significance of FASN in infant yolk sac tumor. ZHANG Hai-yang, LU Peng, SHEN Lian-jie, et al. Department of Urology, Affiliated Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China

【Abstract】 Objective To analyse the clinical characteristics and the expression and significance of FASN in infant yolk sac tumor. **Methods** 26 clinical datas of pediatric yolk sac tumors were analyzed. These 26 yolk sac tumors and another 17 immature teratomas, 1 embryonal carcinoma, 12 associated normal tissues were studied with immunohistochemical detection. **Results** The average age of these yolk sac tumors was 2 years and 5 months old. The chief complaint of 16 cases was mass. Meanwhile 5 cases were simply of local symptoms and 5 cases showed both mass and local symptoms. Positive expression rate of FASN was 73% in yolk sac tumors, 28% in immature teratomas, none in embryonal carcinoma and 16% in normal tissues. Expression of FASN was higher in extragonadal yolk sac tumor in children(100%) than in gonadal ones(56%). Positive expression rate was 100% in the group of lymphaden or distant metastasis, while 61% in the group of no metastasis. The expression rate of FASN in yolk sac tumor were positively correlated with clinical stages. There was no significant difference between yolk sac tumors without chemotherapy and ones with chemotherapy. **Conclusions** Yolk sac tumor has an early onset and is concealed, which is treated with surgery combined with chemotherapy. The expression of FASN may provide a reference for the diagnosis and treatment of infant yolk sac tumor.

【Key words】 Endodermal Sinus Tumor; Fatty Acid Synthetase Complex; Immunohistochemistry; Child

卵黄囊瘤常发生于儿童和青春期,无明显性别差异。好发部位为性腺,睾丸为首发,性腺外卵黄囊瘤较罕见^[1]。诊断卵黄囊瘤需结合临床表现、影像

学检查,最终确诊需病理活检。因小儿卵黄囊瘤常起病隐匿,进展迅速,早期诊断较困难。我们回顾性分析了本院 26 例小儿卵黄囊瘤的临床特点,通过免疫组化法研究了脂肪酸合酶(Fatty acid synthase, FASN)在该类肿瘤中的表达情况,从而为小儿卵黄囊瘤的诊治提供参考。

doi:10.3969/j.issn.1671-6353.2015.04.003

基金项目:国家自然科学基金项目(项目号:81370701),国家临床重点专科建设项目(项目号,国卫办医函[2013]544号),2013 年重庆高校创新团队建设计划资助项目(Supported by Program for Innovative Research Team in Chongqing University, 2013)

作者单位:重庆医科大学附属儿童医院泌尿外科(重庆市, 400014), E-mail: mrlupeng@hotmail.com, 通讯作者:陆鹏

材料与方法

一、临床资料

收集本院近 3 年来收治的卵黄囊瘤病例标本 26 例,均经医院病理科确诊为卵黄囊瘤。另取未成熟畸胎瘤 17 例、胚胎性癌 1 例及睾丸、卵巢、骶尾部正常组织 12 例作为对照。

二、免疫组织化学检查

主要试剂为兔抗人 FASN 单克隆抗体,来自美国 ABCMA 公司,工作液浓度 1:200。S-P 免疫组化法行免疫组化染色(按说明书操作)。阳性对照片由美国 ABCMA 公司提供,由 PBS 代替一抗做阴性对照。

三、结果判定

FASN 在细胞内阳性表达于细胞质。每张切片于高倍镜(400 倍)下随机计数 5 个视野。评分方法参照 Pizer^[2]。染色程度,0 分:无阳性染色;1 分:浅棕色;2 分:棕色;3 分:深棕色。阳性细胞数:0 分:无;1 分:<10%;2 分:11%~50%;3 分:51%~80%;4 分:≥81%。结果:①阴性:评分<4 分;②阳性:评分≥4 分;4 分为(+),弱阳性,5 分为(++) ,中度阳性,≥6 分为(+++) ,强阳性。

四、数据处理

采用 SPSS 19.0 统计软件包对数据进行分析,率的比较采用 χ^2 检验,FASN 阳性表达率与肿瘤临床分期的关系采用相关分析, $P<0.05$ 为差异有统

计学意义。

结 果

一、卵黄囊瘤患儿临床特点

26 例患儿年龄 8 个月至 12 岁,平均年龄 2 岁 5 个月。15 例睾丸及 1 例腹膜后卵黄囊瘤仅有单纯肿块而无临床症状。5 例卵黄囊瘤单纯以局部伴发症状就诊,胸腔卵黄囊瘤为咳嗽、咳痰,阴道卵黄囊瘤为肉眼血尿,阴茎卵黄囊瘤为尿痛,小脑卵黄囊瘤为头痛、行走不稳,卵巢卵黄囊瘤为腹痛,腹膜后及骶尾部卵黄囊瘤为排便困难。卵巢、骶尾部、阴茎卵黄囊瘤均同时有肿块伴浸润压迫症状,共 5 例(表 1)。8 例已伴淋巴结或远处转移,无转移 18 例。临床分期:I 期 17 例,II、III、IV 期各 3 例。4 例术前进行了强化化疗,22 例术前未行化疗(含 3 例穿刺标本)(表 3)。所有患儿均予手术联合化疗,除阴茎卵黄囊瘤患儿现仍处于化疗期外,其余患儿已完成治疗,预后较好,随访至今效果满意,无复发病例。

二、FASN 在性腺内外卵黄囊瘤表达程度的比较

FASN 在性腺外卵黄囊瘤的阳性表达率显著高于性腺内($\chi^2=5.99,P=0.014$),见表 1。

表 1 FASN 在性腺内外卵黄囊瘤表达程度的比较(n)

		例数	性别		年龄 (岁)	主诉		FASN 表达		阳性率 (%)
			男	女		肿块	局部症状	阴性	阳性	
性腺内	睾丸	15	15	0	1.4	15	0	7	8	56
	卵巢	1	0	1	12.2	1	1	0	1	
	腹膜后	3	1	2	1.5	1	2	0	3	
	骶尾部	3	0	3	1.8	3	3	0	3	
性腺外	小脑	1	1	0	1.9	0	1	0	1	100
	胸腔	1	0	1	2.1	0	1	0	1	
	阴道	1	0	1	0.7	0	1	0	1	
	阴茎	1	1	0	4.8	1	1	0	1	

三、FASN 在卵黄囊瘤及对照组表达程度上的比较

FASN 在卵黄囊瘤中的表达程度明显高于对照组中未成熟畸胎瘤及胚胎性癌($\chi^2=7.38,P=0.007$)、正常组织($\chi^2=10.57,P=0.010$),见图 1、图 2、表 2。

四、FASN 表达与转移、化疗、临床分期的关系

FASN 在转移组中的阳性表达率高于无转移组($\chi^2=4.26,P=0.039$),在化疗前后小儿卵黄囊瘤中阳性表达率无差别($\chi^2=0.01,P=0.925$),FASN

阳性表达率与小儿卵黄囊瘤临床分期呈正相关($r=0.91,P=0.047$),详见表 3。

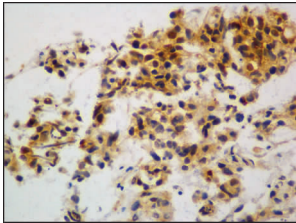


图 1 FASN 在卵黄囊瘤中的阳性表达(×400)

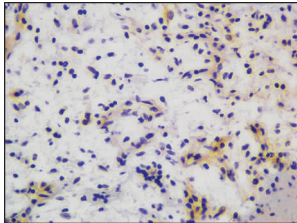


图 2 FASN 在未成熟畸胎瘤中的阳性表达(×400)

表 2 FASN 在卵黄囊瘤及对照组中的表达程度比较(n)

分类	n	-	+	++	+++	阳性率(%)
卵黄囊瘤	26	7	0	3	16	73
未成熟畸胎瘤	17	10	2	2	0	28
胚胎性癌	1	1	0	0	0	0
正常组织	12	10	2	0	0	16

表 3 FASN 表达与转移、化疗及临床分期的关系

FASN 表达	有淋巴结或远处转移		化疗前后		临床分期			
	有	无	前	后	I	II	III	IV
n	8	18	22	4	17	3	3	3
-	0	7	6	1	6	1	0	0
+	0	0	0	0	0	0	0	0
++	1	2	2	1	2	1	0	0
+++	6	10	14	2	9	1	3	3
百分比(%)	100	61	72	75	64	66	100	100

讨 论

卵黄囊瘤是儿童较常见的实体肿瘤,是一种生殖细胞肿瘤,好发于性腺,如睾丸、卵巢,偶可发生在性腺外组织,如纵隔、松果体、腹膜后,发生于腹膜后的卵黄囊瘤尤为罕见^[3]。性腺外卵黄囊瘤被认为是生殖细胞在胚胎发育期沿尿生殖嵴异常移行的结果^[4]。McKenney 等^[5]研究发现,7 个月至 3 岁为卵黄囊瘤发病高峰时期。本研究中,发病年龄平均 2 岁 5 个月,与上述结论相符。本研究性腺内卵黄囊瘤患儿均以查体或影像学检查发现肿块为主诉就诊,除卵巢卵黄囊瘤存在肿块伴腹痛外,睾丸卵黄囊瘤均表现为无痛性肿块;性腺外卵黄囊瘤起病时即出现相应部位肿块压迫或浸润症状。同时选取的性腺内卵黄囊瘤均处于 I、II 期,性腺外卵黄囊瘤多处于 III、IV 期,提示早期小儿卵黄囊瘤临床表现不突出,晚期肿瘤可较早出现局部症状。治疗上,建议对于较小的、非转移性恶性生殖细胞肿瘤先予手术治疗,大块、侵袭性或转移性恶性生殖细胞肿瘤则先化疗,以防手术切除不彻底^[6]。本组卵黄囊瘤中,4 例术前予化疗,化疗方案 1~2 个疗程 POMP/ACE,其中,除阴道卵黄囊瘤因肿块较大难以切除外,2 例腹膜后及 1 例阴茎卵黄囊瘤化疗前均已有淋巴结或远处转移。其余卵黄囊瘤(非穿刺病例)均于术后予化疗,方案多为 BEP、PVB 等。

小儿卵黄囊瘤依靠术前影像学检查尚不能明确肿块性质,需结合穿刺活检、术中冰冻活检或术后组

织病理检查确诊。临床上用作卵黄囊瘤诊断的肿瘤标志物有 AFP、GPC3、SALL4、CD30 等^[7]。Kosuke Miyai 等^[8]研究表明,FASN 在成人睾丸生殖细胞肿瘤中的某些类型,如胚胎性癌、绒癌、卵黄囊瘤均有高表达,其中在卵黄囊瘤中的高表达率达到 81%。

通常癌细胞在有氧或缺氧的情况下都维持较好的糖酵解功能,除了较高的糖酵解效率,癌细胞通常可生成更多的脂肪酸,FASN(脂肪酸合酶)即是催化该反应的关键酶^[9]。已发现多种组织来源的肿瘤细胞进行着内源性脂肪酸的过度合成,其中即需要 FASN 的催化。除哺乳期的乳腺和周期性改变的子宫内膜外,FASN 在几乎所有正常组织中只是低表达^[3]。FASN 可高表达于多种恶性肿瘤中,如卵巢癌,乳腺癌,甲状腺癌,结直肠癌,膀胱癌,肺癌等^[10]。其机制与 Akt 通路的激活有关,抑制 FASN 的同时,也抑制了细胞内第二信使花生四烯酸及雄性激素,而这两者都能促进肿瘤的进展^[11]。本研究中,我们对比 FASN 在性腺内外卵黄囊瘤的表达程度,发现 FASN 在性腺内外虽均有高表达,但性腺外卵黄囊瘤的 FASN 表达程度要高于性腺内。提示性腺外卵黄囊瘤虽发病罕见,且多为复发或转移,但肿瘤细胞可具有更高的脂肪酸合成能力。同为生殖细胞恶性肿瘤,卵黄囊瘤中的表达程度显著高于未成熟畸胎瘤和胚胎性癌,支持 FASN 对小儿卵黄囊瘤的敏感性更高。FASN 在畸胎瘤中的阳性表达率低是由于畸胎瘤中存在较多间叶成分,而这些成分对 FASN 无反应或仅弱反应,虽上皮样成分对 FASN 表现出较强的免疫反应性,但畸胎瘤中上皮样成分相对含量较少。这点也在 Miyai K 处得到论证^[8]。癌旁的正常组织几乎不表达,考虑 FASN 在恶性肿瘤机理中起作用。

在多种肿瘤中,FASN 的高表达均与肿瘤的侵袭性有关且提示预后不良,如膀胱癌中,从低分化的上皮肿瘤或原位癌到高分化的侵袭性肿瘤,FASN 的表达强度逐渐增高^[12]。本研究证实了这一点,8 例淋巴结或远处转移的卵黄囊瘤中,FASN 的表达程度高于无转移者,差异具有统计学意义,说明小儿卵黄囊瘤的转移与 FASN 的高表达可有一定相关性。近期在 小鼠黑色素瘤动物模型上的研究表明,抑制 FASN 可促进肿瘤细胞的凋亡、减少肿瘤细胞增殖及转移^[13]。但这不代表仅依据 FASN 的表达就能评估恶性肿瘤的淋巴结或远处转移情况,已证实,抑制 FASN 可暂时抑制肿瘤细胞增殖,但长期作用可导致肿瘤细胞转移的风险增加,抑制 FASN 减

少脂肪酸的合成与最终刺激肿瘤转移有关联性^[9]。

本研究中,4 例术前予强化化疗,FASN 在化疗前后两组中的表达差异无统计学意义。考虑 FASN 的高表达与恶性肿瘤的耐药性有关。近期研究表明 FASN 的过表达可导致肿瘤获得多重耐药性,其中包括多种化疗药物,如烷化剂(FASN 的过度表达可抑制阿霉素诱导的 TNF- α 产生,使阿霉素诱导的肿瘤细胞凋亡显著减少)、抗代谢药、HER2 抑制剂(曲妥珠单抗)等。如胰腺癌,FASN 的上调增加了其对吉西他滨的耐药性^[14]。因此,FASN 的表达对小儿卵黄囊瘤化疗方式的选择有一定参考意义,可选择能特异性抑制 FASN 表达的化疗药物,具体方案需进一步研究。

在肾透明细胞癌中,FASN 具有决定病理分期及临床预后的潜力^[3]。在结直肠癌中,随肿瘤分期的提高,FASN 的表达强度也显著增加^[15]。在成人非精原细胞生殖细胞肿瘤中,随着肿瘤分期的提高,FASN 的过表达现象逐渐出现^[8]。本研究数据提示小儿卵黄囊瘤分期与 FASN 的表达程度呈正相关,提示 FASN 可能参与小儿卵黄囊瘤的发生发展过程。

在前列腺穿刺标本中,FASN 的表达程度与前列腺穿刺标本 Gleason 评分的高低一致^[10]。FASN 对某些恶性肿瘤穿刺标本的诊断也具有较高灵敏度。本研究中也初步提示 FASN 高表达同样适用于小儿卵黄囊瘤穿刺标本,为不同分化的肿瘤提供诊断依据。

小儿卵黄囊瘤恶性程度高,易转移,累及面广,早期往往起病隐匿,预后较差,因此,对该病的诊疗需进一步加强。临床上采取手术联合化疗的方式治疗小儿卵黄囊瘤,取得一定疗效,但肿瘤复发、转移及化疗预后还缺乏更有效的判断。FASN 可作为该肿瘤预后指标及治疗靶标,为小儿卵黄囊瘤的诊断及治疗选择提供参考。

参 考 文 献

- 1 Bokemeyer C, Nichols CR, Droz JP, et al. Extragonadal germ cell Tumors of the mediastinum and retroperitoneum: Results from an international analysis [J]. J Clin Oncol, 2002,20: 1864-1873.
- 2 Pizer ES, Thupari J, Han WF, et al. Malonyl-coenzyme-A is a potential mediator of cytotoxicity induced by fatty acid synthase inhibition in human breast cells and xenografts [J]. Cancer Res, 2000,60:213.

- 3 Horiguchi A, Asano T, Asano T, et al. Fatty Acid Synthase Over Expression is an Indicator of Tumor Aggressiveness and Poor Prognosis in Renal Cell Carcinoma [J]. The Journal Of Urology, 2008,180:1137-1140.
- 4 Wada S, Yoshimura R, Nishisaka N, et al: Primary retroperitoneal pure yolk-sac tumor in an adult male [J]. Scand J Urol Nephrol, 2001,35:515-517.
- 5 McKenney JK, Heerema-McKenney A, Rouse RV. Extragonadal germ cell tumors: a review with emphasis on pathologic features, clinical prognostic variables, and differential diagnostic considerations [J]. Adv Anat Pathol, 2007,14 (2): 69-92.
- 6 Gobel U, Schneider DT, Calaminus G, et al. Germ-cell tumors in childhood and adolescence. GPOH MAKEI and the MAHO study groups [J]. Ann Oncol, 2000,11 (3): 263-271.
- 7 魏仪,吴盛德,林涛. 61 例儿童睾丸卵黄囊瘤的诊断与治疗 [J]. 临床小儿外科杂志, 2014,13(4):267-270.
- 8 Miyai K, Iwaya K, Asano T, et al. Fatty acid synthase overexpression in adult testicular germ cell tumors: potential role in the progression of non-seminomatous germ cell tumors [J]. Virchows Arch, 2014,464:221-228.
- 9 Jiang L, Xiao L, Sugiura H, et al. Metabolic reprogramming during TGF β 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition [J]. Oncogene, 2014:1-9.
- 10 Hamada S, Horiguchi A, Kuroda K, et al. Elevated Fatty Acid Synthase Expression in Prostate Needle Biopsy Cores Predicts Upgraded Gleason Score in Radical Prostatectomy Specimens [J]. The Prostate, 2014,74: 90-96.
- 11 Xinyu Wu, Garrett Daniels, Peng Lee, et al. Lipid metabolism in prostate cancer [J]. Am J Clin Exp Urol, 2014,2 (2): 111-120.
- 12 Sugino T, Baba K, Hoshi N, et al. Overexpression of fatty acid synthase in human urinary bladder cancer and combined expression of the synthase and Ki-67 as a predictor of prognosis of cancer patients [J]. Med Mol Morphol, 2011,44:146-150.
- 13 Murata S, Yanagisawa K, Fukunaga K, et al: Fatty acid synthase inhibitor cerulenin suppresses liver metastasis of colon cancer in mice [J]. Cancer Sci, 2010,101:1861-1865.
- 14 Wu Xi, Qin Li, Fako Valerie, et al. Molecular mechanisms of fatty acid synthase (FASN)-mediated resistance to anti-cancer treatments [J]. Advances in Biological Regulation, 2014,54:214-221.
- 15 Long Qi-qiang, Yi Yong-xiang, Qiu Jie, et al. Fatty acid synthase (FASN) levels in serum of colorectal cancer patients: correlation with clinical outcomes [J]. Tumor Biol, 2014,35:3855-3859.