

- HMGA2 oncogene via sequestration of the microRNA-186 [J]. J Biol Chem, 2017, 292(37):15395-15407.
- [18] ZHANG Y, SONG X, WANG X, et al. Silencing of lncRNA HULC enhances chemotherapy induced apoptosis in human gastric cancer [J]. J Med Biochem, 2016, 35(2):137-143.
- [19] CHEN C, WANG K, WANG Q, et al. lncRNA HULC mediates radioresistance via autophagy in prostate cancer cells [J/OL]. Braz J Med Biol Res, 2018, 51(6): e7080. DOI: 10.1590/1414-431x20187080.
- [20] GONZALEZ I, MUNITA R, AGIRRE E, et al. A lncRNA regulates alternative splicing via establishment of a splicing-specific chromatin signature [J]. Nat Struct Mol Biol, 2015, 22(5): 370-376.
- [21] CHAO S, JIAN Z, YAN L, et al. Construction and analysis of cardiac hypertrophy-associated lncRNA-mRNA network based on competitive endogenous RNA reveal functional lncRNAs in cardiac hypertrophy [J]. Oncotarget, 2016, 7(10):10827-10840.
- [22] QIN Q, WEI F, ZHANG J, et al. miR-134 inhibits non-small cell lung cancer growth by targeting the epidermal growth factor receptor [J]. J Cell Mol Med, 2016, 20(10):1974-1983.
- [23] 汤继英, 蔡晓军, 汪选斌, 等. miR-134-5p 对宫颈癌细胞增殖和凋亡的影响及其分子机制 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(7):742-747.

(收稿日期:2020-10-13,修回日期:2021-01-05)

引用本文:曾雅婕,蒋柳宏,赵波,等.血清膜联蛋白 A2 与口腔鳞癌病人放化疗敏感性及其预后的关系 [J]. 安徽医药, 2022, 26(10):2049-2052. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.10.033.



◇ 临床医学 ◇

血清膜联蛋白 A2 与口腔鳞癌病人放化疗敏感性及其预后的关系

曾雅婕, 蒋柳宏, 赵波, 李轶

作者单位:广州中医药大学第一附属医院口腔科, 广东 广州 510000

摘要: 目的 分析血清膜联蛋白 A2 (ANXA2) 在中晚期口腔鳞癌 (OSCC) 病人中的表达, 并探讨其与放化疗敏感性及其预后的关系。方法 将 2013 年 2 月至 2015 年 2 月广州中医药大学第一附属医院收治的 68 例中晚期 OSCC 病人纳入为研究组, 另将 68 例同期体检健康者为对照组, OSCC 病人行放化疗治疗, 收集受试者血清, 采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清 ANXA2 水平, 比较两组血清 ANXA2 水平, 与病理参数、放化疗敏感性及其预后的关系。结果 研究组病人血清 ANXA2 水平 (28.15 ± 6.24) $\mu\text{g/L}$ 明显高于对照组 (13.92 ± 4.18) $\mu\text{g/L}$ ($P < 0.05$); 血清 ANXA2 表达与 OSCC 病人年龄、性别、肿瘤大小无关 ($P > 0.05$), 与 TNM 分期、分化程度、淋巴结转移、远处转移相关 ($P < 0.05$); ANXA2 高表达组病人放化疗总有效率为 54.84%, 明显低于 ANXA2 低表达组病人总有效率的 78.38% ($P < 0.05$); OSCC 病人血清 ANXA2 低表达病人 5 年中位数生存时间为 (37.00 ± 5.28) 个月, 高表达组 5 年中位数生存时间为 (28.00 ± 3.89) 个月, 两组病人预后 5 年中位数生存时间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 OSCC 病人血清 ANXA2 高表达, 并与 TNM 分期、分化程度、淋巴结转移、远处转移相关, ANXA2 高表达者的放化疗敏感性低, 预后差。
关键词: 口腔肿瘤; 癌, 鳞状细胞; 膜联蛋白 A2; 临床病理参数; 放化疗敏感性; 预后

Relationships between serum annexin A2 and chemosensitivity and prognosis of patients with oral squamous cell carcinoma

ZENG Yajie, JIANG Lihong, ZHAO Bo, LI Yi

Author Affiliation: Department of Stomatology, The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510000, China

Abstract: **Objective** To analyze the expression of serum annexin A2 (ANXA2) in patients with advanced oral squamous cell carcinoma (OSCC), and to explore its relationship with chemosensitivity and prognosis. **Methods** Sixty-eight patients with advanced OSCC admitted to The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine from February 2013 to February 2015 were included as the study group, and 68 healthy people in the same period were selected as the control group. OSCC patients were treated with radiotherapy and chemotherapy, serum of whom was collected, and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect serum ANXA2 level. The relationships between serum ANXA2 level with pathological parameters, chemoradiotherapy sensitivity, and prognosis were compared between the two groups. **Results** The serum ANXA2 level of the study group was significantly higher than that of the control group [$(28.15 \pm 6.24) \mu\text{g/L}$ vs. $(13.92 \pm 4.18) \mu\text{g/L}$; $P < 0.05$]. The serum expression of ANXA2 was not correlated with age, gender, and tumor size of OSCC patients ($P > 0.05$), but correlated with TNM staging, differentiation degree, lymph node metastasis, and distant metastasis ($P < 0.05$). The total effective rate of chemoradiation in patients with high ANXA2 expression

was 54.84%, which was significantly lower than 78.38% in patients with low ANXA2 expression ($P < 0.05$). The 5-year median survival time of OSCC patients with low ANXA2 expression was (37.00±5.28) months, and that of patients with high ANXA2 expression was (28.00±3.89) months; there was significant difference between the two groups ($P < 0.05$). **Conclusion** The serum ANXA2 is highly expressed in OSCC patients, and is associated with TNM staging, differentiation, lymph node metastasis, and distant metastasis. Patients with high expression of ANXA2 have low sensitivity to chemoradiotherapy and poor prognosis.

Key words: Mouth neoplasms; Carcinoma, squamous cell; Annexin A2; Clinicopathological parameters; Chemoradiotherapy sensitivity; Prognosis

口腔鳞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)作为多发性口腔恶性肿瘤,其发病率约占90%以上,占全身恶性肿瘤的1.5%~5.6%^[1]。OSCC在舌、牙龈、颊、腭、上颌窦等部位多发,具有高发病率与高死亡率,易发生颈部淋巴结转移,5年生存率低于50%,晚期病人存活率低于30%,而影响OSCC治疗效果及预后的因素尚不明确^[2-3]。膜联蛋白A2(Annexin A2, ANXA2)是一种跨膜蛋白,参与DNA损伤修复、调节细胞凋亡及生长因子信号传导等生理过程,同时还与多种恶性肿瘤的发生、发展密切相关^[4-5]。有多个研究发现ANXA2在癌症病人组织和血清中高表达,并可作为预后检测指标,而关于ANXA2在OSCC血清中表达情况研究较少^[6]。因此,本研究旨在探讨中晚期OSCC病人血清ANXA2表达及与放化疗敏感性和预后的关系,为OSCC寻找新的预后检测指标。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采用优效性检验计算确定样本量,取 $\alpha=0.05$ 为检验水准,把握度取80%,结合既往文献及研究,SPASS软件确定每组需样本量68例。选取2013年2月至2015年2月广州中医药大学第一附属医院收治的81例中晚期OSCC病人,排除13例不符合条件病人,以68例中晚期OSCC病人作为研究对象,同时选取68例体检健康者作为对照组。纳入标准:(1)经组织病理学确诊为中晚期OSCC病人(标准:①肿瘤细胞具有鳞状细胞的特点,有角化,形成角化珠;②具有细胞间桥;③肿瘤细胞有明显的异型性,可见核分裂象;④肿瘤细胞呈蟹足状浸润性生长,与正常组织之间没有界限);(2)手术不耐受病人;(3)病人或其近亲属知情同意,本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。排除标准:(1)预计生存期低于3个月者;(2)入组前有放化疗史者;(3)合并其他恶性肿瘤者;(4)合并糖尿病、高血压等慢性代谢障碍疾病者;(5)血小板凝集障碍者;(6)合并类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等自身免疫障碍疾病者;(7)放化疗禁忌证者;(8)依从性差者。

1.2 放化疗方法 采用直线加速器放疗,放疗60~66 Gy,每次剂量1.8~2.0 Gy,1次/天,5次/周,连续放疗6周。在放疗基础上给予顺铂(江苏豪森药业股

份有限公司,批号H20010743,规格20 mg/20 mL)75 mg/m²,连续2 d,加入到250 mL 0.9%生理盐水中,静脉滴注1 h,氟尿嘧啶(通化茂祥制药有限公司,批号H22023469,规格0.25 g/10 mL)1 000 mg/m²,连续5 d,加入到500 mL 0.9%生理盐水中,静脉滴注,3周1个疗程,化疗2个疗程。治疗后出现恶心、呕吐48例,白细胞降低65例,放射线皮疹32例。

1.3 检测方法 采集受试者静脉血3 mL,室温静置30 min,3 200 r/min离心10 min,取上清,-80 °C冻存待检。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清ANXA2水平,试剂盒购自美国R&D公司,具体步骤如下:(1)设置标准品孔、待测样品孔与空白孔,相应孔中加标准品、待测样品,空白孔不加,37 °C孵育30 min;(2)洗板:弃液,吸水纸上拍干,加洗涤液静止1 min,弃液,吸水纸上拍干,重复洗涤3次;(3)加酶标工作液:各孔加酶标工作液,空白孔除外,37 °C孵育30 min;(4)洗板:弃液,吸水纸上拍干,加洗涤液静止1 min,弃液,吸水纸上拍干,重复洗涤3次;(5)显色:各孔加入显色剂A与显色剂B,混匀,37 °C避光显色10 min;(6)终止:各孔加终止液终止反应;(6)测定:450 nm波长测定OD值,绘制标准曲线,计算待检样品浓度。

1.4 疗效评定标准 疗效评定参照世界卫生组织(WHO)实体瘤疗效评价标准^[7],完全缓解(CR):肿瘤病灶完全消失,持续4周以上无复发;部分缓解(PR):各病灶最大直径与垂直直径乘积消退 $\geq 50\%$;稳定(SD):各病灶最大直径与垂直直径乘积消退 $< 50\%$ 或增大 $\leq 25\%$;进展(PD):各病灶最大直径与垂直直径乘积增大 $> 25\%$ 或有新病灶出现,总有效率=(完全缓解+部分缓解)/总例数 $\times 100\%$ 。

1.5 统计学方法 本研究所得的实验数据均采用SPSS 20.0,其中符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 描述,并用 t 检验;计数资料用例(%)描述,并用 χ^2 检验;OSCC病人血清ANXA2低表达与高表达的生存曲线采用Kaplan-Meier法衡量,得到各组5年中位生存时间并比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组受试者临床资料比较 两组性别、年龄以及BMI比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。

表1 中晚期口腔鳞癌(OSCC)病人68例与体检健康者68例临床资料比较

组别	例数	性别(男/女)/例	年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$)	BMI/(kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)
对照组	68	35/33	54.26±3.24	19.55±1.06
研究组	68	38/30	53.29±3.15	19.38±1.02
$t(\chi^2)$ 值		(0.27)	1.77	0.95
P值		0.606	0.079	0.342

注: BMI为体质量指数。

2.2 两组病人血清 ANXA2 水平比较 研究组病人血清 ANXA2 水平(28.15±6.24) μg/L 明显高于对照组(13.92±4.18) μg/L($t=15.62, P<0.05$)。

2.3 ANXA2 表达与临床病理参数关系 以 OSCC 病人血清 ANXA2 表达中位数(27.62)为界值将 OSCC 病人分为 ANXA2 高表达组和 ANXA2 低表达组。血清 ANXA2 表达与病人年龄、性别、肿瘤大小无关($P>0.05$), 与病人 TNM 分期、分化程度、淋巴结转移、远处转移相关($P<0.05$), 见表2。

表2 口腔鳞癌(OSCC)病人68例血清膜联蛋白A2(ANXA2)表达与临床病理参数关系/例

参数	例数	ANXA2		χ^2 值	P值
		高表达(n=31)	低表达(n=37)		
年龄				1.87	0.171
<50岁	28	10	18		
≥50岁	40	21	19		
性别				1.72	0.189
男	38	20	18		
女	30	11	19		
肿瘤大小				2.35	0.126
T1+T2	31	11	20		
T3+T4	37	20	17		
TNM分期				6.80	0.033
II	24	6	18		
III	30	16	14		
IV	14	9	5		
分化程度				9.16	0.002
中度低分化	24	5	19		
高度分化	44	26	18		
淋巴结转移				13.16	<0.001
是	22	17	5		
否	46	14	32		
远处转移				5.08	0.024
是	12	9	3		
否	56	22	34		

2.4 ANXA2 表达与放化疗疗效关系 ANXA2 高表达组病人放化疗总有效率为 54.84%(17/31), ANXA2 低表达组病人总有效率为 78.38%(29/37), 两组病人放化疗总有效率比较差异有统计学意义

($P<0.05$), 见表3。

表3 膜联蛋白A2(ANXA2)表达与放化疗疗效关系

疗效	例数	CR/例	PR/例	SD/例	PD/例	总有效/例(%)
高表达组	31	7	10	9	5	17(54.84)
低表达组	37	12	17	5	3	29(78.38) ^①

注: CR为完全缓解, PR为部分缓解, SD为稳定, PD为进展。

①与高表达组比较, $\chi^2=4.27, P=0.039$ 。

2.5 OSCC 病人血清 ANXA2 表达与预后关系 OSCC 病人血清 ANXA2 低表达病人随访5年中位数生存时间为(37.00±5.28)个月, 高表达组5年中位数生存时间为(28.00±3.89)个月, 两组病人预后5年中位数生存时间比较差异有统计学意义($t=7.87, P<0.001$)。

3 讨论

OSCC 是世界十大恶性肿瘤疾病之一, 全球每年约有 500 000 新增病例, OSCC 高发于 45~75 岁人群, 并随着人口老龄化加剧, 其发病率呈明显升高趋势^[8-9]。目前研究认为咀嚼槟榔、吸烟酗酒、不良修复体刺激及人乳头瘤病毒感染等是 OSCC 致病因素^[10]。随着手术治疗、放化疗技术及检测技术不断进步, OSCC 死亡率有所下降, 但 OSCC 早期病人预后良好, 5年生存率可达 85% 以上, 但多数病人确诊已为中晚期, 预后较差, 严重影响病人生活质量及生命健康^[11]。因此, 本研究希望通过对 OSCC 病人血清 ANXA2 水平检测及与放化疗敏感性关系分析, 为 OSCC 治疗和预后提供新的检测指标。

ANXA2 属于跨膜蛋白 A 家族重要成员之一, 是一种外分泌钙磷脂结合蛋白, 主要分布于细胞膜与细胞浆中, 可在单核细胞、内皮细胞及多种肿瘤细胞中表达, 并能释放入血在外周血中检测到。ANXA2 在多种肿瘤组织、血清中异常升高, 并与肿瘤侵袭、迁移、分化及药物抵抗等存在密切联系, 可用于早期诊断多种恶性肿瘤及评估预后的参考指标^[12]。研究发现, ANXA2 在肝细胞癌组织中高表达, 并与肿瘤长径、浸润转移相关, 参与肝细胞癌发生、发展^[13]。有研究证实 ANXA2 在乳腺癌血清中表达上调, 其表达上调是整体生存率差和远处无转移生存预后的独立指标^[14]。本研究结果显示, 研究组病人血清 ANXA2 水平明显高于对照组, Zhang 等^[15]临床研究显示相较于良性口腔疾病组和健康对照组, OSCC 病人 ANXA2 水平明显升高, 与本研究结果相一致, 进一步表明 ANXA2 在 OSCC 中呈高表达水平, 推测与疾病发生发展关系密切。结果还显示 OSCC 病人血清 ANXA2 表达与 TNM 分期、分化程度、淋巴结转移、远处转移相关, 而与年龄、性别、肿

瘤大小无关,同于洋等^[16]研究结果基本相似,提示 ANXA2 参与 OSCC 疾病发生、发展。有研究发现 ANXA2 沉默可抑制血管生成,而血管生成是肿瘤发生的重要因素,细胞表面上的 ANXA2 可与血管产生抑制因子特异性结合,使纤维蛋白溶解酶与 ANXA2 结合受阻,无法形成纤溶酶,影响血管生成,ANXA2 还能将基质金属蛋白酶-2(MMP-2)和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)前体活化,而 MMP-2 和 MMP-9 可降解细胞基质,促进肿瘤细胞侵袭与迁移^[17-18]。本研究中 ANXA2 表达与肿瘤大小无关,可能是由于样本量较少,造成结果偏倚所致。进一步通过对 ANXA2 不同表达水平 OSCC 病人放化疗敏感性分析显示,ANXA2 高表达组病人放疗总有效率为 54.84%,明显低于 ANXA2 低表达组病人总有效率的 78.38%,与 Chen 等^[19]研究结果相似,提示血清 ANXA2 高表达 OSCC 病人对放化疗敏感性低,放化疗效果差。有研究报道癌症病人进行放射治疗者,ANXA2 可进入细胞核内以减轻放射对 DNA 损伤,起到保护 DNA 作用,而 ANXA2 如何保护 DNA 机制尚不清楚^[20]。最后通过生存曲线分析显示,OSCC 病人血清 ANXA2 低表达病人 5 年中位数生存时间与高表达组比较差异有统计学意义,与 Liu 等^[21]研究结果基本相似,提示 OSCC 病人的 ANXA2 水平越高,则生存时间越短,预后较差,其可作为预测 OSCC 预后潜在生物学指标。

综上所述,中晚期 OSCC 病人血清 ANXA2 高表达,并与 TNM 分期、分化程度、淋巴结转移、远处转移相关,且 ANXA2 高表达者的放化疗敏感性低,生存时间短。但本研究可能因所选研究对象及随访时间有限,可能对研究结果产生一定误差,在之后进一步对 OSCC 机制研究中会着重改进。

参考文献

- [1] FARHAN-ALANIE OM, MCMAHON J, MCMILLAN DC. Systemic inflammatory response and survival in patients undergoing curative resection of oral squamous cell carcinoma[J]. Br J Oral Maxillofac Surg, 2015, 53(2):126-131.
- [2] REN X, LUO W. Exploration of pro-apoptotic effect of Thymoquinone on oral squamous cell carcinoma cells through PI3K/Akt signaling pathway[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2019, 65(1):61-64.
- [3] 任继亮,宋庆博,袁瑛,等. MRI 影像学对早期口腔舌鳞状细胞癌隐匿性颈淋巴结转移的预测价值[J]. 中华放射学杂志, 2022, 56(1):30-35.
- [4] SHARMA MC. Annexin A2 (ANX A2): an emerging biomarker and potential therapeutic target for aggressive cancers[J]. Int J Cancer, 2019, 144(9):2074-2081.
- [5] 华科雷,任莹坤,韩广森,等.膜联蛋白 A9 在胃癌组织中的表达及其对胃癌细胞 SGC-7901 增殖能力的影响[J]. 中华普通外科杂志, 2020, 35(11):887-891.
- [6] 柳志,陈勇治,舒健,等.膜联蛋白 A2、上皮细胞钙黏蛋白及波形蛋白在肝内胆管结石相关肝内胆管癌中的表达及意义[J]. 中国普通外科杂志, 2017, 26(2):190-198.
- [7] 石远凯,孙燕. 临床肿瘤内科手册 [M]. 6 版.北京:人民卫生出版社, 2015:162-163.
- [8] ESSA AA, YAMAZAKI M, MARUYAMA S, et al. Tumour-associated macrophages are recruited and differentiated in the neoplastic stroma of oral squamous cell carcinoma [J]. Pathology, 2016, 48(3):219-227.
- [9] 徐莉,余程,杜习金. m-6A 甲基化调节因子影响口腔鳞状细胞癌生存预后的生物信息学分析[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2020, 49(4):443-449.
- [10] 杨柳,陈娟,单忠艳,等.口腔鳞状细胞癌患者外周血淋巴细胞免疫分型及临床意义[J]. 口腔医学研究, 2018, 34(5):548-553.
- [11] 曹素杰,张育红. 头颈部鳞癌切除患者近期生活质量的影响因素[J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(2):219-221.
- [12] CARDOSO CM, DE JESUS SF, DE SOUZA MG, et al. High levels of ANXA2 are characteristic of malignant salivary gland tumors [J]. J Oral Pathol Med, 2019, 48(10):929-934.
- [13] 潘韵芝,马赛,曹凯悦,等.高表达 ANXA2 肝癌干细胞分泌体对肝癌细胞恶性生物学特性的调控作用[J]. 中国肿瘤, 2019, 28(4):308-314.
- [14] GIBBS LD, VISHWANATHA JK. Prognostic impact of AnxA1 and AnxA2 gene expression in triple-negative breast cancer[J]. Oncotarget, 2018, 9(2):2697-2704.
- [15] ZHANG W, GAO C, ZHANG S, et al. Serum annexin A2 level is associated with diagnosis and prognosis in patients with oral squamous cell carcinoma[J]. J Oral Maxillofac Surg, 2017, 75(5):1081-1087.
- [16] 于洋,顾玉州,刘俊,等. Anxa2, Stat3 在口腔鳞状细胞癌中的表达及意义[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(17):3249-3252.
- [17] WANG J, DENG L, ZHUANG HY, et al. Interaction of HE4 and ANXA2 exists in various malignant cells-HE4-ANXA2-MMP2 protein complex promotes cell migration[J/OL]. Cancer Cell Int, 2019, 19:161. DOI:10.1186/s12935-019-0864-4.
- [18] 黄鹏,肖波涛,黄磊. 血管内皮生长因子、S100P 蛋白、膜联蛋白 A2 在子宫内膜癌中的表达变化及临床意义研究[J]. 中国临床医生杂志, 2017, 45(4):74-77.
- [19] CHEN CY, LIN YS, CHEN CL, et al. Targeting annexin A2 reduces tumorigenesis and therapeutic resistance of nasopharyngeal carcinoma[J]. Oncotarget, 2015, 6(29):26946-26959.
- [20] 苏颖,何火聪,吴君心,等. siRNA 沉默 AnnexinA2 基因表达对鼻咽癌细胞放射敏感性的影响[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2015, 24(2):214-218.
- [21] LIU XY, MA D, JING XQ, et al. Overexpression of ANXA2 predicts adverse outcomes of patients with malignant tumors: a systematic review and meta-analysis[J/OL]. Med Oncol, 2015, 32:392. DOI:10.1007/s12032-014-0392-y.

(收稿日期:2020-10-30,修回日期:2022-03-16)