

ATF5 在子宫内膜癌组织中的表达及其临床意义

杨凌辰, 经莉*, 孙洁芸

(徐州医科大学附属医院妇产科, 江苏 徐州 221002)

摘要:目的 研究激活转录因子 5(ATF5)在子宫内膜癌组织中的表达情况,并探讨其临床意义。**方法** 利用生物信息学分析 ATF5 在子宫内膜癌组织中的表达及与预后的关系。应用免疫组化法检测 ATF5 蛋白在子宫内膜癌组织、子宫内膜非典型增生组织及正常增殖期子宫内膜组织中的表达情况。采用 Kaplan-Meier 生存分析法比较不同 ATF5 蛋白表达水平患者的总生存率,并分析其与子宫内膜癌患者相关临床病理特征的关系。**结果** ATF5 mRNA 在子宫内膜癌组织中的表达显著增加($P<0.05$)。免疫组化结果显示 ATF5 蛋白在子宫内膜癌组织中的表达显著高于子宫内膜非典型增生组织及正常增殖期子宫内膜组织($P<0.05$)。不同年龄、组织分化程度和临床分期的子宫内膜癌患者 ATF5 蛋白表达差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素 Cox 回归分析表明年龄、临床分期和 ATF5 蛋白表达可作为子宫内膜癌患者总体生存的独立相关危险因素($P<0.05$)。Kaplan-Meier 生存分析显示 ATF5 高表达子宫内膜癌患者的 5 年生存率显著低于低表达患者($P<0.05$)。**结论** ATF5 在子宫内膜癌组织中表达上调,且与年龄、组织分化程度、临床分期及预后关系密切。

关键词: 子宫内膜癌; 激活转录因子 5; 预后; 临床病理特征; 免疫组化

中图分类号: R71 文献标志码: A 文章编号: 2096-3882(2023)06-0415-05

DOI: 10.3969/j.issn.2096-3882.2023.06.005

Expression of ATF5 in endometrial cancer and its clinical significance

YANG Lingchen, JING Li*, SUN Jieyun

(Department of Gynecology and Obstetrics, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221002, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of activating transcription factor 5 (ATF5) in endometrial carcinoma and its clinical significance. **Methods** The expression of ATF5 in endometrial cancer and its relation with prognosis was analyzed by bioinformatics. Immunohistochemistry was used to detect the levels of ATF5 protein in endometrial carcinoma, endometrial hyperplasia and normal proliferative endometrial tissues. Kaplan-Meier survival analysis was performed to compare the overall survival of patients with different ATF5 protein levels and to analyze their relationship with the clinicopathological characteristics of endometrial cancer patients. **Results** The mRNA expression of ATF5 significantly increased in endometrial carcinoma tissue ($P<0.05$). Immunohistochemical results showed that ATF5 protein levels in endometrial carcinoma tissue were significantly higher than those in endometrial hyperplasia and normal proliferative endometrial tissues ($P<0.05$). The expression of ATF5 protein was related with age, differentiation and clinical stage ($P<0.05$). Multivariate Cox regression analysis showed that age, clinical stage and ATF5 protein expression were the independent risk factors for the overall survival of endometrial cancer patients ($P<0.05$). Kaplan-Meier survival analysis showed that endometrial cancer patients with high ATF5 expression had a significantly lower 5-year survival rate than those with low ATF5 expression ($P<0.05$). **Conclusions** The expression of ATF5 is up-regulated in endometrial carcinoma and closely related to age, differentiation, clinical stage and prognosis.

Key words: endometrial carcinoma; activating transcription factor 5; prognosis; clinicopathological features; immunohistochemistry

子宫内膜癌是女性生殖系统最常见的恶性肿瘤之一^[1-2]。子宫内膜癌通常表现为绝经后阴道出血,

多数患者通过手术治疗,总体预后较好^[3-4]。近年来,子宫内膜癌的发病率逐年上升且逐渐年轻化。

基金项目:江苏省妇幼保健协会科研项目(FYX202023)

* 通信作者, E-mail:jl446796327@163.com

目前对于子宫内膜癌的诊断主要依靠宫腔镜、磁共振成像及诊断性刮宫术,依然具有局限性^[5-6]。随着医学的进步,靶向治疗领域有了较快的发展,利用多种方式寻找新的肿瘤治疗分子靶点具有重要意义。

激活转录因子 5(activating transcription factor 5, ATF5)是 ATF/环磷腺苷效应元件结合蛋白(CREB)家族成员之一^[7-8]。ATF5 参与细胞增殖、凋亡、分化和炎症相关病理过程,作为信号转导网络的信息整合者之一,可介导细胞质热休克反应、未折叠蛋白反应等,调控肿瘤细胞中的各种压力刺激,介导细胞的增殖或凋亡,而这些途径的级联效应与肿瘤的生长、侵袭转移密切相关^[9]。ATF5 已被发现在大多数癌症中过表达,包括髓系白血病、鼻咽癌、卵巢癌、肺癌、结直肠癌、胃癌等,发挥致癌基因的功能^[10-12]。但是 ATF5 与子宫内膜癌的相关研究较少。

本研究基于癌症基因组图谱(TCGA)数据库,分析 ATF5 在子宫内膜癌和正常子宫内膜组织中的表达差异,通过免疫组化验证 ATF5 蛋白的表达与临床病理特征之间的关系,回顾性分析 ATF5 与子宫内膜癌患者生存预后的关系,探讨 ATF5 的表达对子宫内膜癌的临床诊断、治疗是否有指导价值,以期发现免疫治疗新靶点,为子宫内膜癌的诊治提供新思路。

1 资料和方法

1.1 生物信息学分析 TCGA(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)是由美国国家癌症研究所和国家人类基因组研究所公共资助的项目,该项目通过大规模高通量测序分析技术创建全面的癌症基因组图谱。GEPIA2 数据库是一个公开的门户网站(<http://gepia2.cancer-pku.cn/>),它提供对来自 TCGA 数据库的在线分析。通过在线软件 GEPIA2 查询 ATF5 在子宫内膜癌和正常子宫内膜组织中的表达差异。

1.2 临床资料 收集 2014 年 5 月—2017 年 5 月在徐州医科大学附属医院因子宫良性病变切除子宫患者的正常增殖期子宫内膜组织 50 例,因异常子宫出血行诊刮术且术后病理证实为非典型增生子宫内膜组织 50 例,子宫内膜癌组织 78 例。由至少 2 名病理科医生做出子宫内膜癌的诊断。子宫内膜癌患者年龄 <65 岁 45 例,≥65 岁 33 例;FIGO 分期 I—II 期 37 例,III 期及以上 41 例;组织分化程度为高分化 40 例,中分化+低分化 38 例;肌层浸润深度 <1/2 者 35 例,≥1/2 者 43 例;无淋巴结转移 61 例,有淋巴结转移 17 例。通过查阅病历和电话回访收集患者

临床病理信息和总生存数据。患者已签署知情同意书,本研究获得徐州医科大学附属医院伦理委员会批准(XYFY2022-KL225-01)。

1.3 试剂 ATF5 抗体购自徐州康美生物科技有限公司;DAB 试剂盒购自美国 Proteintech 公司。

1.4 免疫组化 按照常规方法对石蜡切片进行脱蜡和水化,高温修复抗原后采用 3%过氧化氢处理切片。血清封闭后滴加 1:50 稀释鼠抗人 ATF5 抗体,次日滴加二抗,染色后封片。判读标准:每张切片随机选取 5 个高倍镜视野,每个视野里计数 100 个细胞,记录阳性细胞占总计数细胞的比例,≤10%、11%~50%、51%~80%、>80%分别评 0、1、2、3 分。观察细胞染色情况,无着色、浅黄色、浅棕色、棕褐色分别评 0、1、2、3 分。每张切片的染色判断为阳性细胞占比×染色情况,0~2 分记为低表达,3~9 分记为高表达。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 22.0 统计学软件对数据进行分析处理。计数资料组间比较采用 χ^2 检验;绘制 Kaplan-Meier 曲线进行生存分析;采用 Cox 回归分析影响患者预后的危险因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生物信息学分析 结果显示子宫内膜癌组织中 ATF5 mRNA 表达显著高于正常子宫内膜组织($P < 0.05$),见图 1。

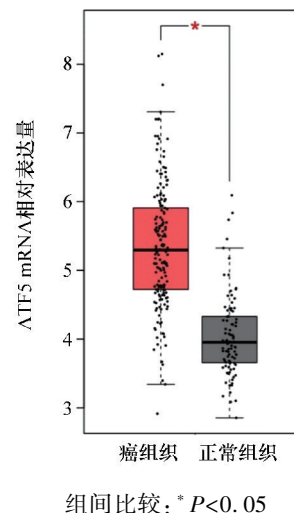


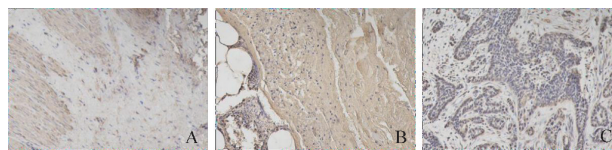
图 1 基于 GEPIA2 数据库分析 ATF5 mRNA 表达差异

2.2 ATF5 蛋白表达情况 ATF5 主要定位于细胞质,细胞核表达较少(图 2)。子宫内膜癌组织中 ATF5 高表达率为 66.67% (52/78),非典型增生子

宫内膜组织 ATF5 高表达率为 40.00% (20/50), 正常增殖期子宫内膜组织中 ATF5 高表达率为 18.00% (9/50), ATF5 在子宫内膜癌组织中表达上调, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.3 ATF5 表达与临床病理参数的关系 不同年龄、组织分化程度及 FIGO 分期的子宫内膜癌患者 ATF5 表达差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 而是否淋巴结转移及不同肿瘤直径、肌层浸润深度的子宫

内膜癌患者 ATF5 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。



A. 正常增殖期子宫内膜组织; B. 非典型增生子宫内膜组织; C. 子宫内膜癌组织

图 2 ATF5 在各组子宫内膜组织中的表达 (SP, ×200)

表 1 ATF5 表达与子宫内膜癌患者临床病理参数的关系 (例)

指标	ATF5 表达		χ^2	P
	低表达 (n=26)	高表达 (n=52)		
年龄				
<65 岁	15	17	4.478	0.034
≥65 岁	11	35		
组织分化程度				
中高分化	19	21	7.415	0.006
低分化	7	31		
淋巴结转移				
是	3	14	2.407	0.121
否	23	38		
肿瘤直径				
>2 cm	12	33	2.127	0.145
≤2 cm	14	19		
FIGO 分期				
I—II	17	20	5.039	0.025
III 及以上	9	32		
肌层浸润深度				
<1/2	17	28	0.945	0.331
≥1/2	9	24		

2.4 ATF5 表达与患者预后的关系 对 78 例子宫内膜癌患者进行术后随访, 其中 4 例失访, ATF5 高表达组患者 5 年内存活 32 例, 死亡 16 例, 低表达组患者 5 年内存活 25 例, 死亡 1 例。ATF5 低表达组患者 5 年生存率高于 ATF5 高表达组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3。

2.5 Cox 比例风险回归模型分析 单因素回归分析结果显示, 年龄、组织分化程度、FIGO 分期、ATF5 的表达水平均可影响患者预后 (P 均 < 0.05)。将这些因素纳入多因素 Cox 回归分析, 结果显示年龄、FIGO 分期、ATF5 的表达水平是影响患者预后的独

立因素 ($P < 0.05$), 见表 2。

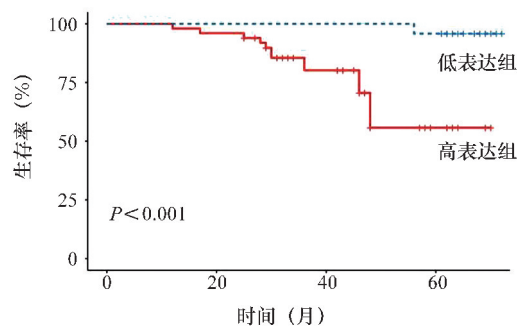


图 3 ATF5 表达水平与子宫内膜癌患者预后的关系

表2 子宫内膜癌患者预后的单因素及多因素分析

指标	单因素			多因素		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
年龄	3.762	1.231~8.233	0.029	1.739	1.361~7.459	0.028
组织分化程度	4.772	1.856~9.535	0.034	2.876	0.977~7.899	0.068
淋巴结转移	1.829	0.795~4.349	0.331	—	—	—
肿瘤直径	2.323	0.781~5.675	0.092	—	—	—
FIGO 分期	3.320	1.367~7.879	0.009	1.892	1.458~6.371	0.014
肌层浸润深度	2.389	0.793~7.126	0.082	—	—	—
ATF5 表达	2.625	1.229~6.895	0.028	3.096	1.272~9.112	0.023

3 讨论

子宫内膜癌是女性常见的恶性肿瘤,近年来,子宫内膜癌发病率逐渐上升,尽管大多数女性在发病早期就诊,并且通过手术治疗获得较好的预后^[13],但部分女性表现为晚期疾病、复发且预后不良。子宫内膜癌发病机制尚不明确,危险因素包括内分泌因素、肥胖、糖尿病、代谢综合征等^[14-15]。靶向药物治疗是目前治疗子宫内膜癌比较有前景的方法之一,研究新的治疗靶点及判断预后的生物标志物,对子宫内膜癌的诊断及治疗具有重大意义。

本研究通过生物信息学方法分析了TCGA数据库中子宫内膜癌组织ATF5基因的表达,结果显示子宫内膜癌组织中ATF5 mRNA表达显著高于正常子宫内膜组织。免疫组化分析验证了子宫内膜癌组织ATF5蛋白的表达显著增加,且与子宫内膜癌患者的不良预后相关,这表明ATF5参与了子宫内膜癌的发生发展过程。ATF5在多种癌症中表达增加,有望成为癌症治疗的新靶点^[16-17]。越来越多的证据表明,ATF5通过调节参与肿瘤发生和存活的基因表达而起到致癌作用,促进肿瘤进展。在神经胶质瘤的研究中,ATF5的表达与患者总生存率呈负相关。与低级别胶质瘤和正常皮质组织相比,胶质母细胞瘤和间变性胶质瘤中ATF5的表达也上调,这表明ATF5的表达可能与恶性程度高的胶质瘤表型有关^[18]。ATF5通过介导多种生存途径,如细胞凋亡、自噬、肿瘤发生、迁移和侵袭进而调节肿瘤的生存和发展^[19]。此外,ATF5在缺氧诱导因子1(HIF1)信号通路中的功能研究显示,ATF5通过与HIF1 α 结合,在HIF1转录复合物中发挥新型共激活剂的作用^[20]。本研究进一步分析了ATF5的相对

表达量与临床病理特征之间的关系,结果显示ATF5高表达者年龄 ≥ 65 岁及Ⅲ期以上的患者比例均高于ATF5低表达者,高表达组患者死亡率高于低表达组患者,ATF5高表达提示子宫内膜癌的不良预后。在肿瘤发生和迁移途径中,ATF5转录可被肿瘤细胞生长和迁移启动子(ELF1)激活,增加了胶质瘤的侵袭能力^[21]。在急性髓系白血病中,临床标本检测证实初诊和复发患者ATF5明显高表达,当治疗达到完全缓解时,ATF5表达下降,这表明ATF5与急性髓系白血病发生发展密切相关^[22]。此外,一项对膀胱癌的研究表明,当下调ATF5的表达后,肿瘤细胞的侵袭迁移能力受到抑制,且肿瘤细胞凋亡增加,这些结果表明ATF5可能成为膀胱癌的潜在治疗靶点^[23]。Nukuda等^[24]研究发现ATF5与乳腺癌的侵袭能力相关,当ATF5的表达下调后,乳腺癌细胞的侵袭能力降低,敲低ATF5后,导致整合素 $\alpha 2\beta 1$ 的纺锤形态和表达降低,这表明ATF5可以通过调节乳腺癌的侵袭性特征来促进癌症的转移。在卵巢癌的研究中,Chen等^[25]分析了上皮性卵巢癌临床样本中ATF5的表达,发现与良性及正常卵巢组织相比,ATF5的表达同样显著上调,ATF5的表达也与肿瘤的分期相关,在敲低ATF5的表达后,引发了大量的凋亡反应,并伴随着BCL-2表达的下调。ATF5与子宫内膜癌的关系、具体作用及分子机制目前尚不明确,有待进一步的研究。

综上所述,本研究显示,ATF5蛋白在子宫内膜癌中的表达显著升高,且表达与患者年龄、分化程度及临床分期有关,与患者的肌层浸润深度、肿瘤直径及淋巴结是否转移无关。子宫内膜癌患者中ATF5高表达者5年生存率低于低表达者。这些结果证实ATF5在子宫内膜癌组织中表达升高,能促进子宫内

膜癌的进展,有可能成为子宫内膜癌诊断及治疗的标志物,针对 ATF5 的靶向治疗有可能减缓肿瘤的进展。但本研究样本量较少,且具体作用机制尚不明确,有待于扩大样本量,从细胞学及分子遗传学水平深入研究。ATF5 可以为子宫内膜癌的研究提供新思路,有可能成为子宫内膜癌治疗的新靶点。

参考文献:

- [1] 陈姝宁,孔为民. 子宫内膜癌规范化治疗与新进展[J]. 中国临床医生杂志,2023,51(3):263-267.
- [2] Tong XZ, Wu XF, Zhang QH. Value of preoperative staging of endometrial carcinoma with contrast-enhanced ultrasonography: A PRISMA compliant meta-analysis [J/OL]. *Medicine*, 2021, 100(14):e25434.
- [3] Crosbie EJ, Kitson SJ, McAlpine JN, et al. Endometrial cancer[J]. *Lancet*, 2022, 399(10333):1412-1428.
- [4] Oaknin A, Bosse TJ, Creutzberg CL, et al. Endometrial cancer; ESMO Clinical Practice Guideline for Diagnosis, Treatment and Follow-up[J]. *Ann Oncol*, 2022, 33(9):860-877.
- [5] 黄好亮. E-钙黏蛋白和微小 RNA-21 在子宫内膜癌组织中的表达及意义[J]. 中国临床医生杂志, 2021, 49(3):347-350.
- [6] 李琼芳,陶群,尹宗智. 盆腔磁共振成像和快速冰冻病理检查对子宫内膜癌肌层浸润的诊断价值[J]. 中华全科医学, 2021, 19(2):287-289.
- [7] Nukuda A, Endoh H, Yasuda M, et al. Role of ATF5 in the invasive potential of diverse human cancer cell lines[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 474(3):509-514.
- [8] Greene LA, Zhou Q, Siegelin MD, et al. Targeting transcription factors ATF5, CEBPB and CEBPD with cell-penetrating peptides to treat brain and other cancers[J]. *Cells*, 2023, 12(4):581.
- [9] 杨将,王俊,洪莉. 转录因子 ATF5 在肿瘤中的作用及分子机制研究进展[J]. 癌症, 2020, 39(9):407-412.
- [10] Feldheim J, Kessler AF, Schmitt D, et al. Expression of activating transcription factor 5 (ATF5) is increased in astrocytomas of different WHO grades and correlates with survival of glioblastoma patients[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11:8673-8684.
- [11] 汪锐,陈丽安,龙国贤. ATF5 基因 siRNA 对肺癌细胞凋亡及化疗增敏的机制[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(10):2454-2457.
- [12] 帅煜,冯光勇,吴明娜,等. ATF5 在复发鼻咽癌组织中的表达及意义[J]. 遵义医学院学报, 2019, 42(2):177-181.
- [13] 司小丽,苏宝珍. 子宫内膜癌组织中 Ki-67、p16 蛋白的表达及其对手术治疗预后的评估价值[J]. 实用癌症杂志, 2023, 38(1):16-20.
- [14] Uccella S, Zorzato PC, Dababou S, et al. Conservative management of atypical endometrial hyperplasia and early endometrial cancer in childbearing age women[J]. *Medicina*, 2022, 58(9):1256.
- [15] 肖维,李侠. 子宫内膜癌组织中 miR-195 表达及其与预后的关系[J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2022, 14(6):358-363.
- [16] Luo YG, Lv B, He SK, et al. Identification of gene as predictive biomarkers for the occurrence and recurrence of osteosarcoma[J]. *Int J Gen Med*, 2021, 14:1773-1783.
- [17] Paerhati P, Liu J, Jin ZD, et al. Advancements in activating transcription factor 5 function in regulating cell stress and survival[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(13):7129.
- [18] Huang R, Qian DM, Hu M, et al. Association between human cytomegalovirus infection and histone acetylation level in various histological types of glioma[J]. *Oncol Lett*, 2015, 10(5):2812-2820.
- [19] Angelastro JM. Targeting ATF5 in cancer[J]. *Trends Cancer*, 2017, 3(7):471-474.
- [20] You L, Wu WD, Wang X, et al. The role of hypoxia-inducible factor 1 in tumor immune evasion[J]. *Med Res Rev*, 2021, 41(3):1622-1643.
- [21] Hu M, Li HT, Xie HW, et al. ELF1 transcription factor enhances the progression of glioma via ATF5 promoter[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2021, 12(7):1252-1261.
- [22] 杨亚玲. 急性髓系白血病中转录激活因子 ATF5 的发现及临床意义[D]. 济南:山东大学, 2018.
- [23] Zhou JH, Tian H, Zhi X, et al. Activating transcription factor 5 (ATF5) promotes tumorigenic capability and activates the Wnt/b-catenin pathway in bladder cancer[J/OL]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1):660.
- [24] Nukuda A, Endoh H, Yasuda M, et al. Role of ATF5 in the invasive potential of diverse human cancer cell lines[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 474(3):509-514.
- [25] Chen AP, Qian DM, Wang B, et al. ATF5 is overexpressed in epithelial ovarian carcinomas and interference with its function increases apoptosis through the downregulation of Bcl-2 in SKOV-3 cells[J]. *Int J Gynecol Pathol*, 2012, 31(6):532-537.

收稿日期:2023-03-26 修回日期:2023-06-10

本文编辑:李昕