

早期高分化浆液性囊腺卵巢癌中 Ptch 及 Gli2 表达情况

师海英 尤 琪 李 杉 武金玉 袁海涛 李云秀 程丛丛

摘 要 **目的** 研究 hedgehog (Hh) 信号通路中 Ptch 及 Gli2 蛋白在卵巢癌中的表达及其临床意义。**方法** 60 例早期高分化浆液性囊腺卵巢癌组织标本为实验组, 30 例正常卵巢组织标本为对照组, 应用免疫组化法检测 Ptch 及 Gli2 在实验组及对照组中的表达。**结果** Ptch 及 Gli2 在实验组的表达均高于对照组 ($P < 0.05$)。**结论** Hh 信号通路在卵巢癌组织中异常激活, 且该信号通路可能参与卵巢癌的发生、发展过程, 进而提示 Hh 是卵巢癌侵袭转移的一个重要信号通路, 为进一步深化卵巢癌的机制研究和靶向治疗提供了一个新的思路。

关键词 卵巢癌 Hedgehog 信号通路 Ptch Gli2

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.10.020

Expression and Clinical Significance of Ptch and Gli2 in Ovarian cancer. Shi Haiying, You Qi, Li Shan, et al. Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Heilongjiang 150001, China

Abstract Objective To investigate the expressions of Ptch and Gli2 in ovarian cancer and the clinical significance thereof. **Methods** Sixty samples of ovarian cancer tissue were included in experimental group and thirty normal ovarian tissue specimens were control group. The immunohistochemical method was applied to detect the expressions of Ptch and Gli2 in two groups. **Results** The expression levels of Ptch and Gli2 were significantly higher in experimental group than those of control group ($P < 0.05$). **Conclusion** The Hh signaling pathway is abnormally activated in ovarian cancer, suggesting that this signaling pathway may be involved in the development and progression of ovarian cancer. Furthermore, it is suggested that Hh is an important signaling pathway for invasion and metastasis of ovarian cancer, and provides a new approach for further research on the mechanism and targeted therapy of ovarian cancer.

Key words Ovarian cancer; Hedgehog signaling pathway; Ptch; Gli2

卵巢癌是妇科肿瘤中病死率非常高的恶性肿瘤^[1]。在近 30 年中病死率没有呈下降趋势。由于其发病隐匿, 早期诊断相当困难, 一旦发现已有远处转移^[1,2]。近年来研究显示多种恶性肿瘤的发生、发展与 Hh 信号通路的异常激活有关, 包括卵巢癌^[3]。Ptch 是 Hh 信号通路的因子之一, 二者均在肿瘤的发生、发展中起关键作用^[4]。本研究通过免疫组织化学跨膜蛋白, Gli 是 Hh 信号通路的下游的转录法检测 Ptch、Gli2 在卵巢癌中的表达及临床病理意义。

资料与方法

1. 一般资料: 卵巢癌组织标本来源于 2014 年 3 月 ~ 2017 年 9 月在哈尔滨医科大学附属第一医院妇科住院行卵巢癌根治术的卵巢癌患者手术切除后病理科保存的蜡块, 共 60 例, 患者年龄 45 ~ 60 岁, 平均年龄 53.1 ± 2.7 岁, 且均为早期高分化浆液性囊腺卵巢癌 I 期患者; 同时收集行全子宫切除术 + 双附件切

除术的子宫肌瘤或子宫腺肌病患者手术时切除的正常卵巢组织蜡块, 共 30 例, 患者年龄 45 ~ 60 岁, 平均年龄 52.8 ± 2.9 岁。临床标本要求患者既往无卵巢肿瘤病史, 术前均未接受过放化疗或其他特殊治疗, 并在取样本前充分告知患者标本用途, 并取得患者同意。

2. 方法: 采用 SP 免疫组化法, 兔抗人 Ptch 多克隆抗体 (浓度为 1:500) 和兔抗人 Gli2 多克隆抗体 (浓度为 1:500) 及 SP 试剂盒 (鼠/兔), 均购自美国 Bioss 公司。结果判定: Ptch 主要在肿瘤细胞质染色, Gli2 主要在肿瘤细胞胞质和/或胞核染色, 光学显微镜下随机观察 5 个高倍镜视野 ($\times 400$) 的表达情况, 以细胞质或细胞核呈棕黄色颗粒沉淀作为染色阳性, 按照阳性细胞比例进行评分: 阳性细胞比例 $< 25\%$, 为 1 分; 阳性细胞比例 $25\% \sim 50\%$, 为 2 分; 阳性细胞比例 $> 50\%$, 为 3 分; 按照着色强度评分: 不着色为 0 分, 浅黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分。阳性细胞比例与着色强度评分相加判断结果: 阴性 (-): 0 分, 弱阳性 (+): 1 ~ 2 分, 中度阳性 (++):

基金项目: 中国博士后基金资助项目 (2013M531073)

作者单位: 150001 哈尔滨医科大学附属第一医院妇产科

通讯作者: 尤琪, 电子信箱: yqvicky2001@sina.com

3~4分,强阳性(+++):5~6分。0~2分为阴性,3~6分为阳性。

3. 统计学方法:采用SPSS 17.0统计学软件进行统计分析。计数资料比较采用 χ^2 检验,相关性分析采用Spearman等级相关,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. Ptch 和 Gli2 蛋白在卵巢癌组织和正常卵巢组织中的表达情况:Ptch 和 Gli2 蛋白在卵巢癌组织和正常卵巢组织中的阳性率分别为 81.7% (49/60), 78.3% (47/60); 36.7% (11/30), 43.3% (13/30)。结果表明 Ptch、Gli2 两个蛋白在卵巢癌中的阳性表达率都明显高于正常卵巢组织,差异均有统计学意义 ($P<0.01$,表1,图1~图4)。

表1 Ptch 和 Gli2 蛋白在卵巢癌组织和正常卵巢组织中的表达 [n(%)]

组别	n	Ptch 阳性	Gli2 阳性
对照组	30	11 (36.7)	13 (43.3)
实验组	60	49 (81.7)	47 (78.3)
χ^2		18.23	11.03

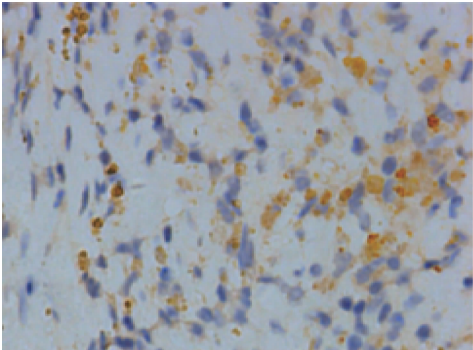


图1 Ptch 蛋白在卵巢癌中的表达 (SP, ×400)

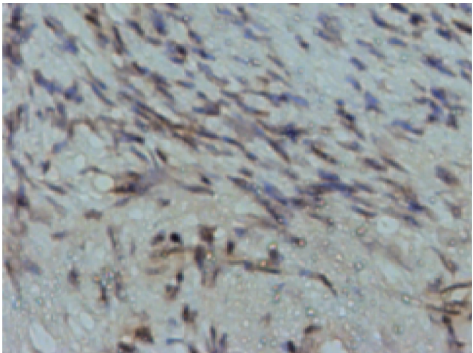


图2 Ptch 蛋白在正常卵巢细胞中的表达 (SP, ×400)

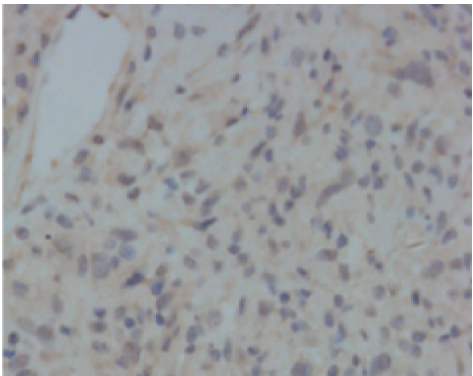


图3 Gli2 蛋白在卵巢癌中的表达 (SP, ×400)

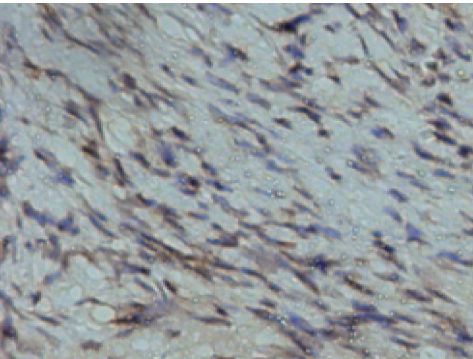


图4 Gli2 蛋白在正常卵巢细胞中的表达 (SP, ×400)

讨 论

卵巢癌是女性常见恶性肿瘤,病死率较高,严重威胁女性健康。上皮性卵巢癌是卵巢恶性肿瘤中最常见的类型,由于缺乏典型临床症状、特异体征及肿瘤标志物等有效筛查手段,多数卵巢癌患者确诊时已处于晚期^[2]。目前为止,卵巢癌的治疗方案仍首选手术治疗为主,辅以有效的化学治疗及放射治疗的综合治疗手段。目前卵巢癌侵袭与转移的确切病因与机制尚不明确。Hedgehog (Hh) 信号通路是其中的一个涉及癌症侵袭转移过程的信号通路,Hh 信号通路已发现在很多癌症中都有激活,包括卵巢癌^[5,6]。Hh 信号通路最早是在 1980 年 Nüsslein Volhard 等^[7]通过研究果蝇体节育的基因突变遗传分析时被发现的。Hh 信号通路参与形态发育,促细胞分裂,器官形成等过程,在胚胎的发育和形成中扮演着重要的角色。与果蝇不同的是,在人类,Hh/Gli 信号通路包括 3 个配体,例如 Sonic Hedgehog (SHH)、Desert Hedgehog (DHH)、Indian Hedgehog (IHH)^[8]。人们逐渐发现,这 3 个配体均能与 12-pass transmembrane receptor (Ptch) 结合,在不同的组织中,它们可以在肿瘤

发生的不同阶段表达并且发挥着不同的生物学功能^[8]。一般情况下胚胎形成后 Hh 信号通路已关闭,但在多种恶性肿瘤中,包括卵巢癌,Hh 信号通路重新被激活的。因此,在卵巢癌中 Hh 信号通路可能在调控肿瘤的形成起着重要的作用。

Hh 信号通路在细胞命运决定以及细胞增殖过程中发挥重要作用。该通路由 Hh 配体,膜受体 Ptch 和跨膜信号转导蛋白 Smo 以及参与 Hh 信号转导的胞质蛋白复合体组成其级联传导的末点被公认为锌指转录因子 Gli (glioma - associated oncogene transcription factors),是该信号通路的关键节点,在信号转导中起枢纽作用。该信号通路的异常激活可引起 Gli 全长修饰激活进入细胞核启动靶基因的转录并引起多种肿瘤的发生,如皮肤基底细胞癌、肺癌、消化道恶性肿瘤、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、前列腺癌、宫颈癌等^[9-18]。

当前主要研究 Gli1 与肿瘤的较多。有文献报道 Gli2 与肿瘤的关系也十分密切,本研究采用免疫组化技术检测 60 例卵巢癌患者卵巢肿瘤组织石蜡切片中 Hh 信号通路重要组分蛋白 Ptch、Gli2 的表达情况,并与对照组进行对比,旨在证实卵巢癌组织中有 Hh 信号通路异常激活。本研究发现:卵巢癌组织中 Hh 信号通路两种蛋白 Ptch 和 Gli2 的表达较正常卵巢组织明显增高,两种蛋白在卵巢癌组织和正常卵巢组织中的阳性率分别为 81.7% (49/60)、78.3% (47/60); 36.7% (11/30)、43.3% (13/30),提示卵巢癌组织中 Hh 信号通路异常活化,进而揭示 Hh 信号通路可能参与卵巢癌的发生、发展过程。

综上所述,Hh 信号通路中 Ptch 和 Gli2 蛋白在卵巢癌中高的表达,表明卵巢癌中存在 Hh 信号通路的异常激活,提示 Hh 信号通路在卵巢癌的发生、发展,侵袭转移中起到一定作用,表明 Hh 信号通路可能是从基因层面治疗卵巢癌的一个新的作用靶点。

参考文献

- Ziebarth AJ, Landen CN Jr, Alvarez RD, *et al.* Molecular/genetic therapies in ovarian cancer; future opportunities and challenges [J]. Clin Obstet Gynecol, 2012, 55(1): 156 - 172
- Hunn J, Rodriguez GC. Ovarian cancer; etiology, risk factors, and epidemiology [J]. Clin Obstet Gynecol, 2012, 55(1): 3 - 23
- Mozzetti S, Martinelli E, Raspaglio G, *et al.* Gli family transcription factors are drivers of paclitaxel resistance in ovarian cancer [J]. Biochem Pharmacol, 2012, 84(11): 1409 - 18
- Ruiz i Altaba A. Hedgehog signaling and the Gli code in stem cells, cancer, and metastases [J]. Sci Signal, 2011, 4(200): pt9
- Lauth M, Toftg? rd R. Hedgehog signaling and pancreatic tumor development [J]. Adv Cancer Res, 2011, 110: 1 - 17
- Zhan HX, Xu JW, Wu D, *et al.* Pancreatic cancer stem cells: new insight into a stubborn disease [J]. Cancer Lett, 2015, 357: 429 - 437
- Nüsslein - Volhard C, Wieschaus E. Mutations affecting segment number and polarity in Drosophila [J]. Nature, 1980, 287(5785): 795 - 801
- Briscoe J, Théron PP. The mechanisms of Hedgehog signalling and its roles in development and disease [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2013, 14: 416 - 429
- Onishi H, Kai M, Odate S, *et al.* Hypoxia activates the hedgehog signaling pathway in a ligand - independent manner by upregulation of Smo transcription in pancreatic cancer [J]. Cancer Sci, 2011, 102(6): 1144 - 1150
- Athar M, Li C, Kim AL, *et al.* Sonic hedgehog signaling in basal cell nevus syndrome [J]. Cancer Res, 2014, 74(18): 4967 - 4975
- Savani M, Guo Y, Carbone DP, *et al.* Sonic hedgehog pathway expression in non - small cell lung cancer [J]. Ther Adv Med Oncol, 2012, 4(5): 225 - 233
- Kim Y, Kim MO, Shin JS, *et al.* Hedgehog signaling between cancer cells and hepatic stellate cells in promoting cholangiocarcinoma [J]. Ann Surg Oncol, 2014, 21(8): 2684 - 2698
- Gu D, Liu H, Su GH, *et al.* Combining hedgehog signaling inhibition with focal irradiation on reduction of pancreatic cancer metastasis [J]. Mol Cancer Ther, 2013, 12: 1038 - 1048
- Hui M, Cazet A, Nair R, *et al.* The Hedgehog signaling pathway in breast development, carcinogenesis and cancer therapy [J]. Breast Cancer Res, 2013, 15(2): 203
- Bhattacharya R, Kwon J, Ali B, *et al.* Role of hedgehog signaling in ovarian cancer [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(23): 7659 - 7666
- Cohen M J. Hedgehog signaling update [J]. Am J Med Genet A, 2010, 152(8): 1875 - 1914
- Guerrero I, Chiang C. A conserved mechanism of Hedgehog gradient formation by lipid modifications [J]. Trends Cell Biol, 2007, 17(1): 1 - 5
- 应倩, 夏庆民, 郑荣寿, 等. 中国 2009 年宫颈癌发病与死亡分析 [J]. 中国肿瘤, 2013, 22(8): 612 - 616

(收稿日期: 2017 - 12 - 01)

(修回日期: 2017 - 12 - 22)