

卵巢癌组织中 Yes-相关蛋白和 p73 的表达及其临床意义

陈燕,刘静,李滔,潘琴,王玲

(荆州市中心医院妇产科,湖北 荆州 434020)

【摘要】 目的 探讨卵巢癌组织中 Yes-相关蛋白(YAP)和p73的表达及其意义。方法 选取2013年1月至2016年6月在我院治疗的卵巢癌患者81例(病例组),同时选取卵巢良性肿瘤患者70例作为对照组,检测两组患者的YAP和p73蛋白表达。结果 病例组患者的YAP和p73蛋白阳性表达率分别为60.49%和67.90%,明显高于对照组的11.43%和30.00%,差异均有统计学意义($P<0.05$);病例组Ⅲ~Ⅳ期患者的YAP蛋白和p73蛋白阳性率为79.49%和82.05%,明显高于Ⅰ~Ⅱ期的42.86%和54.76%,差异均有统计学意义($P<0.05$);病例组病理分级G₃患者YAP蛋白和p73蛋白阳性率为71.67%和80.00%,明显高于G₁和G₂级的28.57%和33.33%,差异均有统计学意义($P<0.05$);淋巴结转移患者的p73蛋白阳性率为86.96%,明显高于无淋巴结转移的60.34%,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 卵巢癌组织YAP和p73蛋白表达增强,可能参与了卵巢癌的发生发展,其中p73与卵巢癌淋巴转移有一定关系。

【关键词】 卵巢癌;Yes-相关蛋白;p73蛋白;病理特征

【中图分类号】 R737.31 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2017)10-1560-03

Expression and clinical significance of Yes-related protein and p73 in ovarian cancer tissue. CHEN Yan, LIU Jing, LI Tao, PAN Qin, WANG Ling. Department of Obstetrics and Gynecology, Jingzhou Central Hospital, Jingzhou 434020, Hubei, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the expression and significance of Yes-associated protein (YAP) and p73 in ovarian cancer tissue. **Methods** From January 2013 to June 2016, a total of 81 patients with ovarian cancer (case group) in our hospital from January 2013 to June 2016 were selected. At the same time, 70 cases of ovarian benign tumor patients were enrolled as the control group. The expression of YAP and p73 protein were detected between the two groups. **Results** The positive expression rates of YAP and p73 protein in case group were respectively 60.49% and 67.90%, which were significantly higher than 11.43% and 30.00% in the control group ($P<0.05$). The positive rates of YAP protein and p73 protein in stage III and IV were 79.49% and 82.05%, which were significantly higher than 42.86% and 54.76% in the stage I~II, with statistically significant difference ($P<0.05$). The positive rates of YAP protein and p73 protein were 71.67% and 80.00% in pathological grading G₃ patients, which were significantly higher than 28.57% and 33.33% in pathological grading G₁ and G₂ patients ($P<0.05$). The positive rate of p73 protein in patients with lymph node metastasis was 86.96%, which was significantly higher than 60.34% in patients without lymph node metastasis, with statistically significant difference ($P<0.05$). **Conclusion** YAP and p73 protein expression in ovarian cancer tissue are enhanced, which may be involved in the occurrence and development of ovarian cancer. p73 is related to lymph node metastasis of ovarian cancer.

【Key words】 Ovarian cancer; Yes-associated protein (YAP); p73 protein; Pathological characteristics

卵巢癌是临床上较为常见的生殖系统恶性肿瘤,相关研究显示卵巢癌的发病率可达134/10万人以上,且近年来呈现出了明显的上升趋势^[1]。临床上卵巢癌的长期发生发展可以导致不良临床结局的发生,增加患者的病死率。对于卵巢癌发病过程中相关生物学信号机制的研究,可以为揭示卵巢的发病过程或者为后续的临床卵巢癌的生物学靶向治疗提供理论依据。Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)是HIPPO信号通路的重要效应蛋白,可以通过影响到卵巢肿瘤的细胞周期及凋亡等病理过程,进而参与到卵

巢癌的发病过程中^[2-3];p73作为p53家族成员,可以在影响到细胞内第二信使等物质合成的基础上,参与到卵巢恶性肿瘤的发生过程中^[4]。本研究旨在探讨YAP及p73等相关蛋白在卵巢癌中的异常表达,并分析其与卵巢癌临床病理特征间的关系,报道如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2013年1月至2016年6月在我院治疗的卵巢癌患者81例(病例组),年龄23~67岁,平均(51.21±10.82)岁。纳入标准:(1)均经病理学确诊;(2)均为初次治疗;(3)患者及家属知情同意并签署

基金项目:湖北省自然科学基金(编号:2014FFB04510)

通讯作者:陈燕。E-mail:psmei66@126.com

同意书。排除标准:术前经放、化疗及免疫治疗。同时选取卵巢良性肿瘤患者70例作为对照组,年龄20~69岁,平均(50.81±9.10)岁。两组患者的年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 检测方法 冰上分离出组织,置于预冷的研钵中液氮研磨至粉末状。冰上静置60 min,室温下20 000 r/min离心60 min,取出下层沉淀。按总蛋白80 g计算上样容积,按照比例为3:1或者4:1上TBS缓冲液,加入20 μ L缓冲液后于45 V电压下进行电泳操作,脱脂蛋白封闭2 h,加入YAP和p73抗体(鼠来源抗体,购自南京碧云天生物科技有限公司)各10 μ L后室温下孵育2 h,2 h后加入二抗(兔来源抗体,购自南京凯基生物科技有限公司)。采用日本Panasonic公司生存的HSO-900系统影像分析仪器进行图像分析。

1.3 统计学方法 应用SPSS19.0统计软件进行数据分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者的YAP和p73蛋白表达比较 YAP和p73蛋白主要表达于细胞胞质和/或胞核,呈棕黄色。病例组YAP和p73蛋白阳性表达率分别为60.49% (49/81)和67.90% (55/81),明显高于对照组的11.43% (8/70)和30.00% (21/70),差异比较有统计学意义($\chi^2=38.469, 21.572, P<0.05$),见图1。

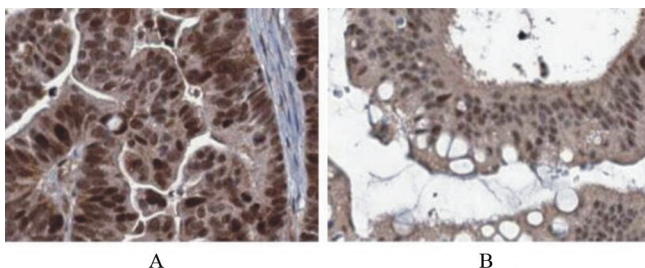


图1 卵巢癌组织YAP和p73蛋白表达($\times 400$)

注:A, YAP阳性表达;B, p73阳性表达。

2.2 YAP蛋白表达与临床病理特征的关系 III~IV期患者YAP蛋白阳性率为79.49%,明显高于I~II期($P<0.05$);病理分级G₃患者YAP蛋白阳性率为71.67%,明显高于G₁和G₂级($P<0.05$);不同年龄、肿瘤直径、病理类型及有无淋巴结转移患者YAP蛋白表达差异比较无统计学意义($P>0.05$),见表1。

2.3 p73蛋白表达与临床病理特征的关系 III~IV期患者p73蛋白阳性率为82.05%,明显高于I~II期($P<0.05$);病理分级G₃患者p73蛋白阳性率为80.00%,明显高于G₁和G₂级($P<0.05$);淋巴结转移患者者p73蛋白阳性率为86.96%,明显高于无淋巴结转移患者($P<0.05$);不同年龄、肿瘤直径及病理类型患者p73蛋白表达差异比较无统计学意义($P>0.05$),见表2。

表1 YAP蛋白表达与临床病理特征的关系[例(%)]

临床病理特征	例数	YAP蛋白阳性表达	χ^2 值	P值
年龄(岁)				
≥50	47	28 (59.57)	0.040	>0.05
<50	34	21 (61.76)		
肿瘤直径(cm)				
≤10	58	34 (58.62)	0.300	>0.05
>10	23	15 (65.22)		
临床分期				
I~II	42	18 (42.86)	11.353	<0.05
III~IV	39	31 (79.49)		
病理分级				
G ₁ +G ₂	21	6 (28.57)	12.088	<0.05
G ₃	60	43 (71.67)		
病理类型				
浆液性癌	27	14 (51.85)	1.527	>0.05
黏液性癌	31	21 (67.74)		
内膜样癌	23	14 (60.87)		
淋巴结转移				
有	23	14 (60.87)	0.002	>0.05
无	58	35 (60.34)		

表2 p73蛋白表达与临床病理特征的关系[例(%)]

临床病理特征	例数	p73蛋白阳性表达	χ^2 值	P值
年龄(岁)				
≥50	47	32 (68.09)	0.002	>0.05
<50	34	23 (67.65)		
肿瘤直径(cm)				
≤10	58	39 (67.24)	0.041	>0.05
>10	23	16 (69.57)		
临床分期				
I~II	42	23 (54.76)	5.910	<0.05
III~IV	39	32 (82.05)		
病理分级				
G ₁ +G ₂	21	7 (33.33)	18.543	<0.05
G ₃	60	48 (80.00)		
病理类型				
浆液性癌	27	18 (66.67)	0.048	>0.05
黏液性癌	31	21 (67.74)		
内膜样癌	23	16 (69.57)		
淋巴结转移				
有	23	20 (86.96)	5.351	<0.05
无	58	35 (60.34)		

3 讨论

遗传易感基因、射线及化学毒物等均可以促进卵巢上皮来源恶性肿瘤的异常增殖和病变,促进卵巢癌的发生。近年来相关流行病学研究表明,卵巢癌在年龄介于35~50岁的人群中发病率可达0.09%以上^[5]。有效的静脉化疗方案可以提高5%左右的五年生存率,并延长3~4个月的术后生存时间^[3]。但一项汇集118例卵巢癌患者的术后化疗的随访研究表明,35%的卵巢癌患者对于静脉化疗不敏感,同时化疗的总体治疗有效率不足55%,停药后6个月内的复发率可接近25%,临

床预后较差^[6]。而对于卵巢癌发病过程中相关生物学机制的研究,可以为卵巢癌的综合性放化疗提供新的作用靶点,并为卵巢癌的治疗预后评估提供参考。

p73是构成卵巢癌细胞骨架成分的重要分子结构,广泛分布于恶性肿瘤的细胞质内,在卵巢癌细胞的异常扩增及增殖的过程中,通过外分泌的方式释放入血,同时p73作为p53超家族成员,分子结构中含有的磷酸化的氨基酸序列,在肿瘤细胞的异常分化等病理过程中,p73的合成增多,并随着卵巢癌细胞的凋亡和细胞膜的破碎而释放入血^[7];YAP广泛存在于内胚叶起源的消化系统癌,正常人血清中也可有微量存在,YAP是一个广谱性肿瘤标志物,可以通过激活下游HIPPO信号通路,进而促进大肠癌、肺癌和卵巢癌等恶性肿瘤的病情发展^[8-10],虽然有研究探讨了YAP蛋白等在卵巢癌中的异常表达,但相关研究的样本量较少,临床资料的收集偏倚较为严重,可信性不高。

本研究发现,YAP和p73蛋白主要表达于细胞胞质和/或胞核,呈棕黄色,提示两者可能主要通过影响细胞内相关生物学因子的表达,进而调控卵巢癌细胞的生物学特性的改变,同时YAP和p73蛋白两者在细胞间质成分中同样存在一定程度的异常表达,但数量较少。而阳性率的对比分析可见,卵巢癌组患者病灶组织中的YAP和p73蛋白阳性表达率均明显高于正常对照人群,差异具有统计学意义,提示YAP和p73蛋白可能参与到了卵巢癌的发生发展过程中。YAP和p73蛋白可以通过诱导下游信号通路的激活,促进癌基因的转录和蛋白的翻译,进而加剧卵巢癌病情的进展。冯君桃等^[11]和周青峰等^[12]研究者通过回顾性收集分析了92例样本量的临床资料,发现在卵巢浆液腺细胞癌患者病灶组织中的YAP和p73蛋白阳性率均明显高于对照组,且患者的临床分期越晚,YAP和p73蛋白阳性率越高,这与本研究的结论较为一致。对于不同临床病理特征的研究发现,在临床分期较晚的卵巢癌患者中,YAP和p73蛋白阳性表达率均高于早期患者,表明YAP和p73蛋白阳性表达可以显著促进卵巢癌临床分期的进展,其机制考虑可能与YAP和p73蛋白提供卵巢上皮恶性肿瘤细胞的侵袭或者转移能力有关;病理分级较差的卵巢癌组织中,YAP和p73蛋白阳性表达率均较高,提示YAP和p73蛋白在影响卵巢癌细胞异常分化的过程中同样可能发挥了重要的调控作用,YAP和p73蛋白在影响癌细胞的分化抗原簇的表达或者分化调控因子-9的过程中具有重要的意义,可以显著影响到癌细胞的异常分化调节。但需要注意的是,本研究中并未发现YAP蛋白的表达在淋巴结转移患

者中的异常表达,这与Kawamura等^[13]和Zhang等^[14]的结论并不完全一致,考虑到检测方法的不统一、临床资料的纳入排除标准的不统一等,均可能导致了最终结论的差别。

综上所述,在卵巢癌组织中,YAP和p73蛋白阳性表达率异常上升,且上升的YAP或者p73蛋白在影响卵巢癌临床分期、病理分级等过程中可能发挥了重要的调控作用。但本研究对于YAP和p73蛋白的表达与卵巢癌远期生存指标如病死率或者中位生存时间的分析不足,存在一定的局限性。

参考文献

- [1] 朱熠,黄建鸣,张国楠,等.卵巢上皮性癌组织中TLR4/MyD88信号通路的表达及其与临床预后的关系[J].中华妇产科杂志,2013,48(9):694-697.
- [2] Guan X, Zhang N, Yin Y, et al. Polymorphisms in the p63 and p73 genes are associated with ovarian cancer risk and clinicopathological variables [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2012, 31(1): 89-92.
- [3] Li J, Zhou F, Zheng T, et al. Ovarian germline stem cells (OGSCs) and the Hippo signaling pathway association with physiological and pathological ovarian aging in mice [J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 36(5): 1712-1724.
- [4] Al-Bahlani S, Fraser M, Wong A Y C, et al. p73 regulates cisplatin-induced apoptosis in ovarian cancer cells via a calcium/calpain-dependent mechanism [J]. Oncogene, 2011, 30(41): 4219-4230.
- [5] 魏萍,张玮,李秀贤,等.正常大小卵巢癌综合征的临床病理特征研究[J].中华肿瘤防治杂志,2014,25(21):1723-1726.
- [6] 邱建,傅云峰,周彩云,等.上皮性卵巢癌组织CK2 β 和p53蛋白表达临床意义分析[J].中华肿瘤防治杂志,2015,24(6):451-456.
- [7] 安锦丹,王洪伟,魏宝霞,等.卵巢癌组织中YAP、p73的表达变化及意义[J].山东医药,2015,3255(27):15-17.
- [8] Cheng Y, Feng Y, Jansson L, et al. Actin polymerization-enhancing drugs promote ovarian follicle growth mediated by the Hippo signaling effect or YAP [J]. FASEB J The FASEB Journal, 2015, 29(6): 2423-2430.
- [9] 史梦婕,邵松军,李洁媚,等.Hippo通路与肿瘤相关性研究进展[J].中国细胞生物学学报,2014,2236(3):361-365.
- [10] 金志红,任彩萍,史彩霞,等.卵巢癌组织Hippo-Yes相关蛋白表达与临床病理参数及增殖凋亡相关性研究[J].中华肿瘤防治杂志,2015,3022(2):125-128.
- [11] 冯君桃,勾金海,贾佳,等.转录协同激活因子Yes相关蛋白与卵巢癌发生的研究进展[J].实用妇产科杂志,2016,232(6):420-423.
- [12] 周青峰,罗慧,朱雪琼. Yes相关蛋白在妇科恶性肿瘤中的研究进展[J].温州医科大学学报,2016,2446(7):543-547.
- [13] Kawamura K, Cheng Y, Suzuki N, et al. Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(43): 17474-17479.
- [14] Zhang X, George J, Deb S, et al. The Hippo pathway transcriptional co-activator, YAP, is an ovarian cancer oncogene [J]. Oncogene, 2011, 30(25): 2810-2822.

(收稿日期:2016-11-26)