

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.11.007

癌超甲基化基因 1 蛋白和卵巢癌基因 1 蛋白在卵巢癌组织中的表达及意义研究*

张文竹,魏振彤[△]

(吉林大学第一医院妇产科,长春 130021)

[摘要] **目的** 研究卵巢癌组织中癌超甲基化基因 1 蛋白和卵巢癌基因 1 蛋白的表达情况及其与卵巢癌病理特点的关系,探讨其在卵巢癌中的意义。**方法** 选择 2014—2015 年在该院妇产科手术切除卵巢癌组织标本 63 例和正常卵巢组织标本 63 例作为研究对象。采用 Western blot 法测定卵巢癌组织和正常卵巢组织中癌超甲基化基因 1 蛋白和卵巢癌基因 1 蛋白的表达情况,并分析其与卵巢癌病理特点的关系。**结果** 卵巢癌组织中癌超甲基化基因 1 蛋白、卵巢癌基因 1 蛋白的表达量明显低于正常卵巢组织($P<0.05$)。癌超甲基化基因 1 蛋白在不同卵巢癌分期、不同分化程度和不同病理类型中的表达量比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。在卵巢癌 I 期中卵巢癌基因 1 蛋白的表达高于卵巢癌 II 期和 III~IV 期($P<0.05$),II 期的表达量高于 III~IV 期($P<0.05$);高分化的表达量高于中分化和低分化($P<0.05$),中分化和低分化的表达量比较差异无统计学意义($P>0.05$);卵巢癌基因 1 蛋白在卵巢癌不同病理类型中的表达比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 癌超甲基化基因 1 蛋白失活可能只参与卵巢癌的发生,卵巢癌基因 1 蛋白和卵巢癌的发展有一定关系。

[关键词] 卵巢肿瘤;癌超甲基化基因 1;卵巢癌基因 1**[中图分类号]** R711.75**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)11-1466-03

Expression and significance of hypermethylation in cancer 1 protein and ovarian cancer gene 1 protein in ovarian cancer tissue*

Zhang Wenzhu,Wei Zhentong[△]

(Department of Obstetrics and Gynecology, the First Hospital of Jilin University, Changchun, Jilin 130021, China)

[Abstract] **Objective** To study the expression of hypermethylated gene 1 protein and ovarian cancer gene 1 protein in ovarian cancer and its relationship with the pathological features of ovarian cancer, and to explore its significance in ovarian cancer. **Methods** Sixty-three cases of ovarian cancer specimens and 63 cases of normal ovarian tissue were taken from January 2014 to December 2015 at the First Hospital of Jilin University. Western blot was used to detect the expression of hypermethylated gene 1 protein and ovarian cancer gene 1 protein in ovarian cancer tissues and normal ovarian tissues, and to analyze the relationship between the expression of two proteins and ovarian cancer. **Results** The expression of hypermethylated gene 1 protein and ovarian cancer gene 1 protein in ovarian cancer tissues were significantly lower than that in normal ovarian tissues ($P<0.05$). There was no significant difference in the expression of hypermethylated gene 1 protein in different staging, different degree of differentiation and different pathological types in ovarian cancer ($P>0.05$). The expression of ovarian cancer gene 1 protein in ovarian cancer stage I was higher than that in stage II and III-IV ($P<0.05$). The expression of ovarian cancer gene 1 protein in ovarian cancer stage II was higher than that in stage III-IV ($P<0.05$). The expression of ovarian cancer gene 1 protein in high differentiation of ovarian cancer was significantly higher than that in moderately differentiated and poorly differentiated ($P<0.05$). There was no significant difference between ovarian cancer gene 1 protein expression and poorly differentiated ovarian cancer ($P>0.05$). There was no significant difference in the expression of ovarian cancer gene 1 protein in different pathological types of ovarian cancer ($P>0.05$). **Conclusion** Hypermethylated gene, protein participate in the occurrence of ovarian cancer, the ovarian cancer gene 1 protein is only related to ovarian cancer clinical stage and degree of differentiation.

[Key words] ovarian neoplasms; hypermethylation in cancer 1; ovarian cancer gene 1

卵巢癌多发生于中老年女性,发病早期症状不明显,发病比较隐匿,并且缺乏早期诊断卵巢癌的有效方法,大多卵巢癌发现时已为晚期,治疗效果欠佳,预后差,对女性的健康和生命造成严重威胁^[1]。目前卵巢癌的发病机制尚不明确,卵巢癌的发生可能和染色体的突变有关,癌超甲基化基因 1 位于 17 号染色体上,和散发性卵巢癌的发生关系密切^[2]。癌超甲基化基

因 1 蛋白为转录抑制物,能够调控 SIRT 启动子,抑制 SIRT 启动子转录,其失活能够上调 SIRT,使肿瘤细胞不能凋亡,引起肿瘤的发生^[3-4]。卵巢癌基因 1 蛋白为核内蛋白,能够调节细胞的增殖和分化,调节肿瘤的发生和胚胎的发育^[5-6],在卵巢癌中卵巢癌基因 1 蛋白表达缺失或表达减少,对卵巢癌的发生有一定作用。本研究对卵巢癌组织中癌超甲基化基因 1 蛋白和

* 基金项目:吉林省教育厅项目(2015-503);吉林省科技厅项目(20140520032JH)。 作者简介:张文竹(1991—),在读硕士,主要从事妇科肿瘤研究。 [△] 通信作者,E-mail:zhentongwei2009@163.com。

卵巢癌基因 1 蛋白的表达情况及其与卵巢癌病理特点的关系进行研究,探讨其在卵巢癌中的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2014—2015 年本院妇产科手术切除卵巢癌组织标本 63 例和正常卵巢组织标本 63 例作为研究对象。卵巢癌者年龄(49.7±3.8)岁,正常卵巢者年龄(47.9±5.3)岁,两组年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。卵巢癌患者为卵巢癌首次手术治疗,手术治疗前没有进行过放疗治疗,所有卵巢癌患者均进行卵巢癌肿瘤细胞减灭术,术后病理证实为卵巢癌。卵巢癌临床分期 I 期 20 例,II 期 19 例,III 期 21 例,IV 期 3 例;低分化 24 例,中分化 27 例,高分化 12 例;病理类型为浆液性卵巢癌 36 例,黏液性卵巢癌 14 例,子宫内膜样卵巢癌 13 例。正常卵巢组织来源于良性卵巢囊肿手术切除的卵巢标本。

1.2 主要试剂和仪器 鼠抗人癌超甲基化基因 1 一抗(美国 Sigma 公司)、鼠抗人卵巢癌基因 1 一抗(美国 Sigma 公司);显微镜(上海精宏实验设备有限公司)、电泳仪(上海精宏实验设备有限公司)、切片仪(上海精宏实验设备有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 组织标本的处理 将卵巢癌组织和正常卵巢组织用剪刀剪碎,加入组织裂解液,匀浆到没有组织块,离心机中离心,取上清液置于 EP 管中,紫外分光光度计上测量 595 nm 波长的吸光度值,计算蛋白浓度,把蛋白样品加入到缓冲液中煮沸,冷却后备用。

1.3.2 卵巢癌组织和正常卵巢组织中癌超甲基化基因 1 蛋白和卵巢癌基因 1 蛋白表达测定 采用 Western blot 对组织中癌超甲基化基因 1 蛋白和卵巢癌基因 1 蛋白的表达进行测定,癌超甲基化基因 1 蛋白阳性为在 76×10^3 处出现显色单一条带,卵巢癌基因 1 蛋白阳性为在 50×10^3 处出现显色单一条带,显影条带采用 BandsScan 软件进行灰度分析,癌超甲基化基因 1 蛋白的相对表达水平为癌超甲基化基因 1 蛋白的灰度值和 GAPDH 灰度值的比值;卵巢癌基因 1 蛋白的相对表达水平为卵巢癌基因 1 蛋白的灰度值和 GAPDH 灰度值的比值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组之间比较采用方差分析,两组之间比较采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 卵巢癌组织和正常卵巢组织中癌超甲基化基因 1 蛋白、卵巢癌基因 1 蛋白的表达情况比较 卵巢癌组织中癌超甲基化基因 1 蛋白、卵巢癌基因 1 蛋白的表达量明显低于正常卵巢组织($P<0.05$)。见表 1。

2.2 卵巢癌组织中癌超甲基化基因 1 蛋白、卵巢癌基因 1 蛋白的表达和病理特点的关系 癌超甲基化基因 1 蛋白在不同病理分期、不同分化程度和不同病理类型中的表达量比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。卵巢癌基因 1 蛋白在不同病理分期中的表达量差异有统计学意义($P<0.05$),在 I 期中的表达量高于 II 期和 III~IV 期($P<0.05$),II 期中的表达量高于 III~IV 期($P<0.05$);在不同分化程度中的表达量差异有统计学意义($P<0.05$),高分化的表达量高于中分化和低分化($P<0.05$),中分化和低分化的表达量比较差异无统计学意义($P>$

0.05);在不同病理类型中的表达量差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 1 卵巢癌组织和正常卵巢组织中癌超甲基化基因 1 蛋白、卵巢癌基因 1 蛋白的表达情况($\bar{x} \pm s$)

组别	n	癌超甲基化基因 1 蛋白	卵巢癌基因 1 蛋白
卵巢癌组织	42	0.251±0.144	0.229±0.121
正常卵巢组织	42	0.667±0.210	0.522±0.230
t		18.247	12.374
P		0.000	0.000

表 2 卵巢癌组织中癌超甲基化基因 1 蛋白、卵巢癌基因 1 蛋白的表达和病理特点的关系($\bar{x} \pm s$)

项目	n	癌超甲基化基因 1 蛋白	卵巢癌基因 1 蛋白
病理分期			
I 期	20	0.271±0.201	0.318±0.164
II 期	19	0.253±0.186	0.224±0.152
III~IV 期	24	0.210±0.164	0.143±0.137
F		0.884	10.249
P		0.617	0.000
分化程度			
低分化	24	0.258±0.162	0.198±0.116
中分化	27	0.244±0.171	0.207±0.121
高分化	12	0.238±0.159	0.349±0.153
F		0.897	4.275
P		0.629	0.012
病理类型			
浆液性卵巢癌	36	0.261±0.162	0.229±0.034
黏液性卵巢癌	14	0.223±0.121	0.231±0.026
子宫内膜样卵巢癌	13	0.432±0.145	0.227±0.035
F		0.210	0.529
P		0.819	0.724

3 讨论

卵巢癌恶性程度比较高,进展比较快,诊断时多为晚期,预后比较差^[7-8]。近年来卵巢癌的发病率有上升趋势,卵巢癌细胞的增殖、侵袭和远处转移时卵巢癌治疗失败和术后复发的主要原因,也是卵巢癌患者死亡的主要原因^[9],卵巢癌的侵袭转移是卵巢癌和机体之间比较复杂的相互作用过程,涉及卵巢癌细胞的迁移、黏附、生长、免疫逃避等步骤。卵巢癌的发病机制尚不清楚,探讨其发病机制对卵巢癌的诊治具有重要意义。卵巢癌的发生、发展与抑癌基因和癌基因的变化有关,癌基因在卵巢癌的发病过程中发挥重要作用,一个等位基因的变化可以引起癌基因的激活,两个等位基因的改变能够使抑癌基因失活,和卵巢癌相关的抑癌基因有很多种。癌超甲基化基因 1 含有 3 个外显子,是一种抑癌基因,在各种组织中广泛存在^[10-11],在乳腺癌、结肠癌等癌症中表达下降,癌超甲基化基因 1 的启动子甲基化能够抑制其转录,并能够抑制 P53,活化 SIRT1,促

进肿瘤的发生、发展。在卵巢癌组织中,癌超甲基化基因 1 存在异常甲基化,其发生率高于正常卵巢组织,低分化卵巢癌中的癌超甲基化基因 1 甲基化发生率高于中分化和高分化卵巢癌^[12-13]。卵巢癌基因 1 含有 12 个内含子和 13 个外显子,是一种抑癌基因,在所有正常组织中有表达,能够调节细胞的增殖分化及肿瘤的发生和胚胎的发育^[14]。卵巢癌和 17 号染色体短臂上杂合性丢失有关,17 号染色体上可能存在和卵巢癌有关的基因,卵巢癌基因 1 是位于 17 号染色体的抑癌基因,其表达下调能够影响白喉酰胺的合成,感染蛋白的合成,和卵巢癌的发生有关^[15]。

本研究以现:卵巢癌组织中癌超甲基化基因 1 蛋白、卵巢癌基因 1 蛋白的表达量明显低于正常卵巢组织。癌超甲基化基因 1 蛋白在不同卵巢癌分期、不同分化程度和不同病理类型中的表达量比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。在卵巢癌 I 期中卵巢癌基因 1 蛋白的表达量高于卵巢癌 II 期和 III~IV 期,II 期中的表达量高于 III~IV 期;高分化的表达量高于中分化和低分化,中分化和低分化比较差异无统计学意义($P>0.05$);卵巢癌基因 1 蛋白在卵巢癌不同病理类型中的表达量比较差异无统计学意义($P>0.05$)。卵巢癌组织中癌超甲基化基因 1 蛋白表达降低可能和癌超甲基化基因 1 蛋白失活,使其转录沉默,也可能和癌超甲基化基因 1 蛋白启动子异常甲基化有关,癌超甲基化基因 1 蛋白的表达量和卵巢癌的临床分期、分化程度和病理类型无关,表明癌超甲基化基因 1 蛋白失活可能只参与卵巢癌的发生。卵巢癌基因 1 蛋白的表达量和卵巢癌的临床分期和分化程度有关,临床分期越高,卵巢癌基因 1 蛋白的表达量也越高;卵巢癌的分化程度越高,卵巢癌基因 1 蛋白的表达量越高,表明卵巢癌基因 1 蛋白和卵巢癌的发展有一定关系。

参考文献

- [1] Knutson KL, Karyampudi L, Lamichhane P, et al. Targeted immune therapy of ovarian cancer[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2015, 34(1): 53-74.
- [2] Janeckova L, Kolar M, Svec J, et al. HIC1 Expression Distinguishes Intestinal Carcinomas Sensitive to Chemotherapy[J]. *Transl Oncol*, 2016, 9(2): 99-107.
- [3] Fang M, Li P, Wu X, et al. Class II transactivator (CIITA) mediates transcriptional repression of pdk4 gene by interacting with hypermethylated in cancer 1 (HIC1) [J]. *J Biomed Res*, 2015, 29(4): 308-315.
- [4] 李佳芮. DNMTs 影响卵巢癌 HIC1 表达的研究[D]. 长春:吉林大学, 2013.
- [5] Kong F, Tong R, Jia L, et al. OVCA1 inhibits the proliferation of epithelial ovarian cancer cells by decreasing cyclin D1 and increasing p16[J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 354(1/2): 199-205.
- [6] 佟锐, 杨清, 王纯雁. 抑癌基因 OVCA1 的研究进展[J]. *生物技术通讯*, 2015, 26(2): 258-263.
- [7] Lambertini M, Ginsburg ES, Partridge AH. Update on fertility preservation in young women undergoing breast cancer and ovarian cancer therapy[J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2015, 27(1): 98-107.
- [8] Al Bakir M, Gabra H. The molecular genetics of hereditary and sporadic ovarian cancer; implications for the future[J]. *Br Med Bull*, 2014, 112(1): 57-69.
- [9] Koukoura O, Spandidos DA, Daponte A, et al. DNA methylation profiles in ovarian cancer; implication in diagnosis and therapy (Review) [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(1): 3-9.
- [10] 段再康. HIC1、HOXA9 基因启动子甲基化在卵巢癌早期诊断中的意义[D]. 太原:山西医科大学, 2010.
- [11] Janeckova L, Pospichalova V, Fafilek B, et al. HIC1 tumor suppressor loss potentiates TLR2/NF- κ B signaling and promotes tissue damage-associated tumorigenesis[J]. *Mol Cancer Res*, 2015, 13(7): 1139-1148.
- [12] Dubuissez M, Faiderbe P, Pinte S, et al. The Reelin receptors ApoER2 and VLDLR are direct target genes of HIC1 (Hypermethylated In Cancer 1) [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 440(3): 424-430.
- [13] Pan S, Wang Z, Chen Y, et al. Inactivation of tumor suppressor gene HIC1 in gastric cancer is reversed via small activating RNAs[J]. *Gene*, 2013, 527(1): 102-108.
- [14] Yu YR, You LR. Role of OVCA1/DPH1 in craniofacial abnormalities of Miller-Dieker syndrome[J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(21): 5579-5596.
- [15] 张婧芳. OVCA1 和 P53 在卵巢浆液性肿瘤组织中的表达[D]. 大连:大连医科大学, 2011.

(收稿日期:2016-10-27 修回日期:2017-01-13)

2017 年本刊投稿须知

尊敬的广大读者,本刊一律接受网上投稿,不再接受纸质和电子邮箱投稿!请您直接登陆网站 <http://www.cqyxxz.com> 进行注册投稿以及稿件查询。咨询电话:023-61965157。

来稿须将审稿费 100 元通过邮局或支付宝汇至本刊编辑部,编辑部若未收到审稿费,稿件将不予处理。

感谢您对本刊工作的支持!