

诱骗受体3在上皮性卵巢癌组织中的表达与临床病理特征的相关性研究

Association between expression of decoy receptor 3 in patients with epithelial ovarian cancer and clinical pathology characteristics

林 瑶, 黄小莉

(福建医科大学 附属第一医院 妇产科, 福州 350004)

LIN Yao, HUANG Xiao-li

(Department of Gynaecology and Obstetrics, The First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China)

摘要: 目的 研究诱骗受体3(DcR3)在人上皮性卵巢癌组织的表达及其临床意义。方法 对2012年3月至2015年6月我院妇产科收治并手术治疗的66例上皮性卵巢癌组织及41例良性卵巢肿瘤组织的临床资料及组织病理学标本进行回顾性分析。用免疫组织化学SP法检测良性卵巢肿瘤组织及上皮性卵巢癌组织中DcR3蛋白的表达水平,用已知阳性组织切片作为阳性对照,以PBS溶液代替一抗作为阴性对照,分析其表达与患者临床病理学特征及生存时间的关系。结果 在上皮性卵巢癌中,I~II与III~IV期的DcR3阳性表达率分别为68.4%和89.4%,III~IV期与I~II期比较差异有统计学意义($P < 0.05$);高、低2个分化组DcR3阳性表达率分别为66.7%和91.1%,低分化组与高分化组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);淋巴结转移组的DcR3阳性表达率为91.3%,与无转移组的65.0%比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。免疫组化染色显示,DcR3主要在细胞质和细胞膜中表达,DcR3在上皮性卵巢癌组织及良性卵巢肿瘤组织中的阳性表达率分别为83.3%、29.3%,癌组织与良性肿瘤组织比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。DcR3阳性患者的中位生存时间为28.4个月,与阴性患者的50.2个月比较差异有统计学意义($HR = 1.90$, 95% CI: 1.09~3.66, $P < 0.05$)。结论 DcR3蛋白可作为卵巢癌患者的预后不良的生物标志物。

关键词: 上皮性卵巢癌; 诱骗受体; 临床特征; 预后

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2016.18.010

中图分类号: R979.1 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-6821(2016)18-1670-03

Abstract: Objective To evaluate the association between decoy receptor 3 (DcR3) expression and clinical pathology characteristics in patients with epithelial ovarian cancer. **Methods** Sixty-six patients with epithelial ovarian cancer and 41 cases with benign ovarian tumor were retrospectively analyzed from Mar 2012 to Jun 2015 in our hospital. The cancer tissue and benign ovarian tumor tissue were tested for decoy receptor 3 (DcR3) expression by immunohistochemical method. The known positive sample was used as positive control and the PBS solution was used as negative blank control. The clinical pathology characteristic prognosis with DcR3 expression was evaluated by statistical software. The overall survival was also assessed according to DcR3 positive or negative. **Results** The clinical pathology analysis showed that the DcR3 positive expression rate were 68.4% and 89.4% for I-II and III-IV stage patients with statistical difference ($P < 0.05$). DcR3 positive expression

收稿日期: 2016-03-05

修回日期: 2016-07-04

基金项目: 福建省教育厅基金资助项目 (JA131595)

作者简介: 林瑶(1984-),女,住院医师,硕士,主要从事妇科肿瘤疾病临床工作

通信作者: 黄小莉,主治医师

MP: 13075911609

E-mail: xiaoli.huang_fz@126.com

rate were 66.7% and 91.1% for well differentiation and poor differentiation group respectively with statistical difference ($P < 0.05$). The DcR3 positive expression rate in lymph node metastasis group was much higher than that of non-metastasis group (91.3% vs 65.0%) with statistical difference ($P < 0.05$). DcR3 was mainly expressed in cytoplasm and cell membrane. The DcR3 positive expression in cancer tissue and benign tumor tissue were 83.3% and 29.3% respectively which indicated cancer tissue significant higher than that of benign tumor tissue ($P < 0.05$). The median survival for DcR3 positive and negative patients were 28.4 months and 50.2 months (HR = 1.90, 95% CI: 1.09–3.66, $P < 0.05$). **Conclusion** DcR3 was highly expressed in cancer tissue and associated with poor prognosis, which could be biomarker for prognosis.

Key words: epithelial ovarian cancer; decoy receptor; clinical characteristics; prognosis

卵巢癌(ovarian cancer)是临床上较为常见的一类妇科恶性肿瘤。流行病学数据显示 2012 年全球范围卵巢癌新发病例 23.9 万例,死亡 15.2 万例^[1-2]。虽然卵巢癌在所有实体恶性肿瘤中发病率并不高,但大多数患者确诊时已发展至晚期,5 年生存率只有 30% 左右^[3-4]。诱骗受体 3(decoy receptor 3, DcR3)是一种肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR),DcR3 基因在卵巢癌细胞中呈现过表达,并与细胞的恶性行为有关。因此,本研究采用免疫组织化学 SP 法检测人上皮性卵巢癌组织中 DcR3 的表达水平,并探讨其与患者临床病理特征及预后的关系。

材料与方法

1 试验设计

对临床资料及组织病理学标本进行回顾性研究。

2 研究对象

收集 2012 年 3 月至 2015 年 6 月我院妇产科收治并手术治疗的 66 例上皮性卵巢癌组织及 41 例良性卵巢肿瘤组织的临床资料及组织病理学标本。组织病理标本检测经患者或家属书面同意。

入选标准 年龄大于 18 周岁,组织学证实为上皮性卵巢癌或卵巢良性肿瘤者,患者临床病例资料完整,并有完整随访数据。

排除标准 组织病理诊断不明确者,术前进行新辅助放化疗者,随访数据不完整者。

3 试剂与仪器

DcR3 单克隆抗体,购自美国 Santa Cruz 公司;免疫组织化学法试剂盒,购自上海美轩生物科技公司;DAB 显示试剂盒,购自北京中山生物科技有限公司。

SHANDONAS-325 石蜡切片机,德国徕卡公司产品;BX-40 显微镜,日本奥林巴斯公司产品。

4 DcR3 免疫组化检测

4.1 阳性对照与阴性对照^[5]

用免疫组化 SP 法进行卵巢组织 DcR3 蛋白标

本检测,用已知阳性组织切片作为阳性对照,以 PBS 溶液代替一抗作为阴性对照。

4.2 免疫组化试验^[6]

蜡块标本 4 μm 厚连续切片,烤干,常规二甲苯脱蜡,梯度酒精水化,以 3% 双氧水常温孵育 10 min,去除内源性的过氧化氢酶,置于 0.01 mol \cdot L⁻¹ 枸橼酸抗原修复缓冲液(pH 6.0)中,高温高压抗原修复 2 min,自然冷却至室温。滴加 DcR3 单克隆抗体,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,滴加生物素化二抗及过氧化物标记的抗体,用 DAB 显色,苏木精复染,脱水透明封片。用已知阳性组织切片作阳性对照,用 PBS 溶液代替一抗作为阴性对照,然后显色,最终封片镜检。

5 阳性结果判定^[7]

采用双盲法对染色结果进行判定,在 400 倍显微镜下,每张载玻片计数 5 个视野,计数每个视野中细胞总数及 DcR3 阳性的细胞数。阳性细胞 $< 5\%$ 计为 0 分,5% ~ 25% 计为 1 分,26% ~ 50% 计为 2 分,阳性细胞 $> 50\%$ 计为 3 分。染色强度评分:无着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。将表达程度与染色强度两项评分相乘为最后总评分:0 ~ 2 分为不表达即阴性,3 ~ 5 分为低表达,6 ~ 9 分为高表达, ≥ 3 分均判为阳性表达。

6 统计学方法

所有统计分析采用 Stata12.0 软件完成,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料采用率表示,组间比较采用 χ^2 检验或者 Fisher 确切概率检验;生存分析采用风险比例模型 Log-Rank 检验。

结 果

1 一般资料

66 例上皮性卵巢癌患者,平均年龄(56.8 ± 12.3)岁;患癌种类包括浆液性囊腺癌 38 例,黏液性囊腺癌 18 例,子宫内膜样腺癌 10 例;临床分期包括 I ~ II 期 19 例,III ~ IV 47 例。良性卵巢肿瘤患者,

表1 纳入患者一般资料

Table 1 General information of the included patients

Characteristics	n	DcR3 expression	
		Positive (n=55)	Negative (n=11)
Age(year)			
>50	40	33	7
≤50	26	22	4
Stage			
I- II	19	13	6
III- IV	47	42	5
Pathology			
Serous cystadenocarcinoma	38	32	6
Mucinous cystadenocarcinoma	18	15	3
Adenocarcinoma of the uterine endometrium	10	8	2

DcR3: Decoy receptor 3

平均年龄(54.1 ± 14.6)岁,患肿瘤的种类包括浆液性囊腺瘤29例,黏液性囊腺瘤12例,见表1。

2 诱骗受体3(DcR3)在不同组织表达的区别

免疫组化染色显示,DcR3主要在细胞质和细胞膜中表达,DcR3在上皮性卵巢癌组织及良性卵巢肿瘤组织中的阳性表达率分别为83.3%、29.3%,癌组织与良性肿瘤组织比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见图1。

3 DcR3表达与临床病理特征的关系

临床病例特征分析显示,在上皮性卵巢癌中,I~II与III~IV期的DcR3阳性表达率分别为68.4%和89.4%,III~IV期与I~II期比较差异有统计学意义($P < 0.05$);高、低2个分化组DcR3阳性表达率分别为66.7%和91.1%,低分化组与高分化组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);淋巴结转移组的DcR3阳性表达率为91.3%,与无转移组的65.0%比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见表2。

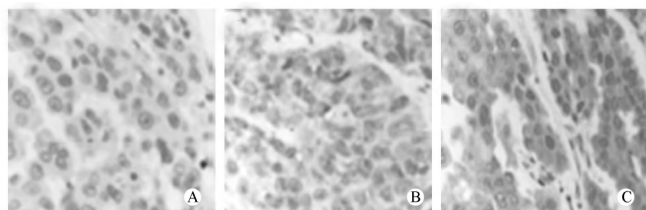


图1 显微镜可见经免疫组化染色的诱骗受体3(DcR3)(×40)

Figure 1 The DcR3 with immunohistochemical staining by microscope (×40)

A: DcR3 negative; B: DcR3 low expression; C: DcR3 high expression

表2 DcR3蛋白表达与上皮性卵巢癌临床病理特征之间的相关性

Table 2 Relationship between DcR3 expression and clinical characteristics in patients with epithelial ovarian cancer

Characteristics	n	DcR3 expression	
		Positive(n=55)	Negative(n=11)
Differentiation*			
Low	45	41	4
High	21	14	7
Lymph node metastasis*			
Yes	46	42	4
No	20	13	7

* $P < 0.05$, compared between DcR3 positive and negative groups

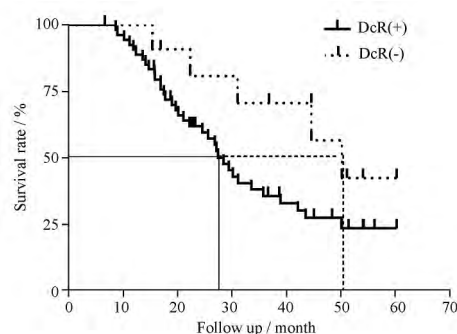


图2 DcR3表达阳性与阴性患者生存曲线

Figure 2 The survival curve for patients of DcR3 positive and negative

4 DcR3表达与患者生存期的关系

DcR3阳性患者的中位生存时间为28.4个月,与阴性患者的50.2个月比较差异有统计学意义,HR = 1.90 95% CI: 1.09 ~ 3.66($P < 0.05$),见图2。

讨论

DcR3是一种特殊的细胞凋亡抑制剂,在肿瘤免疫、自身免疫、移植免疫和抗病毒免疫中发挥着重要的作用^[8]。DcR3在人类的多种恶性肿瘤组织中呈现高表达,如肺癌、肝癌、结直肠癌等,并与患者的预后不良有关^[9]。程丽等^[7]研究结果显示,DcR3蛋白在癌组织的阳性率显著高于良性卵巢肿瘤组织及正常卵巢组织,且DcR3表达水平与卵巢上皮性癌临床分期、组织分化、肿瘤浸润、转移及预后有关,有可能成为一种卵巢癌肿瘤特异性指标。CONNOR等^[5]采用酶联免疫吸附法检测了上皮性卵巢癌患者血清中DcR3蛋白水平,发现DcR3在上皮性卵巢癌患者血清中呈现高表达,并与患者的化疗耐药有关。

(下转第1676页)

讨 论

上皮性卵巢癌的病因多为外部因素、免疫功能、内分泌以及不良生活和饮食习惯等,但其具体的病因尚不明确,这给上皮性卵巢癌患者的治疗带来非常大的压力。在上皮性卵巢癌的发生和发展的过程中,AIB1蛋白表达水平的高低与其有着非常密切的关系^[6]。其作用不仅局限于核激素受体途径,而且在非激素依赖的肿瘤中,也存在着AIB1蛋白的表达,故认为其能够通过非依赖途径,来促进细胞的生长甚至恶变,从而对上皮性卵巢癌造成严重的影响^[7]。

本研究结果表明,在恶性组中,AIB1蛋白阳性表达率明显高于其他2组,说明AIB1蛋白表达在上皮性卵巢癌的发生以及恶化的过程中,起到了一定的作用。而且,低分化组、Ⅲ~Ⅳ期的AIB1蛋白阳性表达水平明显高于高、中分化组及Ⅰ~Ⅱ期($P < 0.05$),说明AIB1蛋白阳性表达的不断增高,会导致肿瘤分化程度减低以及临床分期的升高,从而对上皮性卵巢癌的恶化起到推动作用。有研究认为,AIB1蛋白表达能够通过某种方式影响PR表达水平,从而影响上皮性卵巢癌患者的病情^[8]。但也有研究认为^[9],AIB1蛋白表达异常与细胞的凋亡和受抑有关,但其与PR表达不存在相关性。本研究也未发现AIB1蛋白表达与PR表达之间存在相关性,说明PR表达不是AIB1蛋白表达影响上皮性卵巢癌严重程度的唯一靶点。

参考文献:

- [1] SEIFERT H, GEORGIU A, ALEXANDER H *et al.* Poor performance status (PS) is an indication for an aggressive approach to neoadjuvant chemotherapy in patients with advanced epithelial ovarian cancer (EOC) [J]. *Gynecol Oncol* 2015, 139(2): 216–220.
- [2] KIM K H, JELOVAC D, ARMSTRONG D K *et al.* Phase 1b safety study of farletuzumab, carboplatin and pegylated Liposomal doxorubicin in patients with platinum-sensitive epithelial ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol* 2015, 28(15): 302–331.
- [3] 韩肖燕, 陈悦, 侯敏敏, 等. 上皮性卵巢癌 AIB1 蛋白表达水平及与雌、孕激素受体表达的相关性研究 [J]. *实用肿瘤杂志* 2009, 24(4): 341–344.
- [4] 李庆霞, 潘海燕, 闫晓路, 等. AIB1 在乳腺癌、恶性病变组织中的表达及临床意义 [J]. *实用肿瘤杂志* 2012, 27(6): 593–599.
- [5] SÖLÉTORMOS G, DUFFY M J, OTHMAN ABU HASSAN S *et al.* Clinical use of cancer biomarkers in epithelial ovarian cancer: updated guidelines from the european group on tumor markers [J]. *Int J Gynecol Cancer* 2016, 26(1): 43–51.
- [6] 李庆霞, 潘海燕, 闫晓路, 等. AIB1 在乳腺癌、恶性病变组织中的表达及临床意义 [J]. *实用肿瘤杂志* 2012, 27(6): 593–599.
- [7] KARIMI-ZARCHI M, MORTAZAVIZADEH S M, BASHARDUST N *et al.* The clinicopathologic characteristics and 5-year survival rate of epithelial ovarian cancer in Yazd, Iran [J]. *Electron Physician* 2015, 7(6): 1399–1406.
- [8] WARGON V, RIGGIO M, GIULIANELLI S *et al.* Progesterin and anti-progesterin responsiveness in breast cancer is driven by the PRA/PRB ratio via AIB1 or SMRT recruitment to the CCND1 and MYC promoters [J]. *Int J Cancer* 2015, 136(11): 2680–2692.
- [9] 朱益平, 刘银华, 盛莉莉, 等. AIB1 蛋白在卵巢肿瘤中的表达及意义 [J]. *皖南医学院学报* 2012, 31(6): 435–437.

(本文编辑 权菊香)

(上接第1672页)

本研究结果显示,DcR3主要在细胞质和细胞膜中表达,DcR3在上皮性卵巢癌组织中的阳性表达高于良性肿瘤组织;在上皮性卵巢癌中,DcR3阳性表达与患者的肿瘤分期、病理类型及淋巴结转移情况有关。同时本研究证实,阳性组患者中位生存时间显著低于对照组。本实验结果提示,DcR3在卵巢癌组织中的高表达与患者的预后不良有关。此研究结论与程丽等^[7]研究结果一致。在有条件的情况下,应进一步进行前瞻性的多中心队列研究及细胞学研究。

参考文献:

- [1] SIEGEL R, MA J, ZOU Z *et al.* Cancer statistics, 2014 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2014, 64(1): 9–29.
- [2] SIEGEL R, NAISHADHAM D, JEMAL A. Cancer statistics, 2013 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2013, 63(1): 11–30.
- [3] HUNN J, RODRIGUEZ G C. Ovarian cancer: etiology, risk factors, and epidemiology [J]. *Clin Obstet Gynecol*, 2012, 55(1): 3–23.

- [4] CRAMER D W. The epidemiology of endometrial and ovarian cancer [J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2012, 26(1): 1–12.
- [5] CONNOR J P, FELDER M. Ascites from epithelial ovarian cancer contain high levels of functional decoy receptor 3 (DcR3) and is associated with platinum resistance [J]. *Gynecol Oncol*, 2008, 111(2): 330–335.
- [6] XIONG G, GUO H, GE X *et al.* Decoy receptor 3 expression in esophageal squamous cell carcinoma: correlation with tumour invasion and metastasis [J]. *Biomarkers*, 2011, 16(2): 155–160.
- [7] 程丽, 杨玉环, 周翠荣, 等. 诱骗受体3在上皮性卵巢癌组织中的表达及临床意义 [J]. *现代肿瘤医学*, 2015, 23(1): 116–119.
- [8] CHANG W C, CHEN J Y, LEE C H *et al.* Expression of decoy receptor 3 in diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma: correlation with M2 macrophage differentiation and lymphatic invasion [J]. *Thyroid*, 2013, 23(6): 720–726.
- [9] LIN W W, HSIEH S L. Decoy receptor 3: a pleiotropic immunomodulator and biomarker for inflammatory diseases, autoimmune diseases and cancer [J]. *Biochem Pharmacol*, 2011, 81(7): 838–847.

(本文编辑 权菊香)