

RhoC蛋白在卵巢上皮性癌中的表达及临床意义*

李 潇 朱 丹 潘 颖 张小平

吉林大学中日联谊医院妇产科 (长春市 130021)

摘要 **目的:**探讨 RhoC 蛋白在正常卵巢组织、良性上皮性卵巢肿瘤、交界性上皮性卵巢肿瘤和卵巢上皮性癌组织中的表达,及其与卵巢上皮性癌发生、发展及生物学行为的相关性。**方法:**采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶(SP)免疫组织化学方法检测 19 例正常卵巢组织、20 例卵巢良性上皮性肿瘤、27 例卵巢交界性上皮性肿瘤及 45 例卵巢上皮性癌中 RhoC 蛋白的表达情况,并分析其与各临床病理特征的关系。**结果:**RhoC 蛋白在正常卵巢组织及良性上皮性卵巢肿瘤中的表达均为阴性;RhoC 蛋白在交界性上皮性卵巢肿瘤及卵巢上皮性癌中阳性表达率分别为 25.93% 和 26.67%,与正常卵巢组织及卵巢良性上皮性肿瘤相比,差异有显著性($P<0.05$);卵巢上皮性癌与交界性卵巢肿瘤表达比较,差异无显著性($P>0.05$)。RhoC 蛋白的阳性表达率与临床分期及组织学分级有关($P<0.05$),与卵巢上皮性癌病理类型无关($P>0.05$);卵巢上皮性癌临床分期越晚,组织学分级越高,分化越差,RhoC 蛋白的表达水平越高。**结论:**RhoC 蛋白在卵巢上皮性癌的发生、发展中起着重要的作用,可成为判断卵巢上皮性肿瘤由良性向恶性转化的标志,对其检测可用于判断卵巢肿瘤的恶性程度,并可用于判断预后。

关键词 卵巢上皮性癌 RhoC 蛋白 免疫组织化学

Expression of RhoC Protein in Ovarian Epithelial Cancer and Its Clinical Significance

LI Xiao, ZHU Dan, PAN Ying, ZHANG Xiaoping

Corresponding author: ZHU Dan, E-mail: zhudan623@126.com

Department of Obstetrics and Gynecology, China-Japan Union Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China

Objective: To investigate the expression of RhoC protein in normal ovarian tissues, benign ovarian epithelial tumors, borderline malignancies and ovarian epithelial carcinoma, and to explore the correlation between the expression of RhoC protein and occurrence, progression and biological behavior of ovarian epithelial carcinoma. **Methods:** The expression of RhoC protein was detected by immunohistochemical SP method in 19 samples of normal ovarian tissues, 20 samples of ovarian benign epithelial tumor, 27 samples of ovarian epithelial borderline tumor and 45 samples of ovarian epithelial carcinoma. The relationship between RhoC protein and pathological feature was analyzed. **Results:** RhoC was absent in both normal ovarian tissues and benign epithelial tumors. The positive rates of RhoC protein expression in borderline tumors and ovarian cancer were 25.93% and 26.67%, respectively, significantly higher than in normal ovarian tissues and benign ovarian epithelial tumors ($P<0.05$). No significant difference was found in RhoC protein expression between ovarian carcinoma and borderline tumors ($P>0.05$). The expression of RhoC protein was correlated with clinical stage and histological differentiation, but not associated with pathological type ($P>0.05$). Tissues from ovarian carcinoma of late stage and poor differentiation presented with increased RhoC expression. **Conclusion:** RhoC protein may play an important role in the occurrence and development of ovarian cancer. The detection of RhoC protein expression may be helpful in predicting the malignant degree of ovarian tumor and its prognosis.

Keywords Ovarian epithelial carcinoma; RhoC protein; Immunohistochemistry

Rho 家族蛋白是重要的细胞内信号分子,与肿瘤有着密切的关系,参与肿瘤发生、发展的各个阶段。RhoC (Ras homology C, RhoC) 蛋白是 Rho 家族

蛋白的一个重要成员,与卵巢癌的发生和发展密切相关。本研究利用免疫组织化学方法检测了 RhoC 蛋白在不同卵巢组织中的表达情况,探讨其与卵巢

* 本文课题受长春市科技攻关计划资助(编号:06GG95)

通讯作者:朱丹 zhudan623@126.com

上皮性癌发生、发展及生物学行为的相关性。

1 材料与方法

1.1 材料

收集吉林大学中日联谊医院和长春市妇产科医院 2004 年 10 月至 2006 年 12 月间住院患者手术切除的卵巢标本 111 例,年龄 18~74 岁,中位年龄 50 岁。其中卵巢上皮性癌 45 例,包括浆液性囊腺癌 26 例,粘液性囊腺癌 19 例。按国际妇产科联盟 (FIGO) 2000 年手术-病理分期标准分为: I 期 6 例, II 期 13 例, III 期 21 例, IV 期 5 例。组织学分级: 1 级 6 例, 2 级 17 例, 3 级 22 例。交界性上皮性卵巢肿瘤 27 例,包括交界性浆液性肿瘤 17 例,交界性粘液性肿瘤 10 例。良性上皮性卵巢肿瘤 20 例,包括浆液性囊腺瘤 12 例,粘液性囊腺瘤 8 例。所有卵巢肿瘤患者术前均未行放疗、化疗及免疫治疗,均未合并乳腺癌、肝癌等其他恶性肿瘤。各组患者孕次、产次等临床特点差异无显著性。选取同期 19 例正常卵巢组织进行对照研究。

1.2 试剂

一抗 RhoC 鼠抗人单克隆抗体(浓缩型)购自美国 Santa Cruz 公司,抗体工作浓度为 1:50;即用型免疫组化 SP 试剂盒、DAB 显色液均购自福州迈新生物技术开发有限公司。

1.3 方法

标本经 10% 福尔马林固定,常规石蜡包埋,免疫组化染色采用 SP 法。用已知阳性切片作阳性对照,以 PBS 缓冲液代替一抗作阴性对照。步骤按试剂盒说明书严格操作。

1.4 结果判断

采用双盲法观察结果,以镜下细胞浆或细胞膜中出现黄色或棕黄色颗粒为其阳性判定标准。无着色细胞为阴性;有着色细胞无论面积和强度大小均为阳性。

1.5 统计学方法

应用 SPSS 11.5 统计软件进行统计分析,率的比较采用 χ^2 检验和 Yates 校正 χ^2 检验; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RhoC 蛋白在不同卵巢组织中的表达

RhoC 蛋白定位于细胞浆或细胞膜,呈黄色或棕黄色颗粒(图 1,2)。19 例正常卵巢组织及 20 例良性上皮性卵巢肿瘤中 RhoC 蛋白的表达均为阴性。在交界性上皮性卵巢肿瘤中阳性率为 25.93% (7/27),与正常卵巢组织及卵巢良性上皮性肿瘤相比,

差异有显著性 (P 均 <0.05)。在卵巢上皮性癌中阳性表达率为 26.67% (12/45),显著高于正常卵巢组织及卵巢良性肿瘤的表达式,差异有显著性 (P 均 <0.05)。卵巢上皮性癌与交界性卵巢肿瘤表达比较,差异无显著性 ($P>0.05$),见表 1。

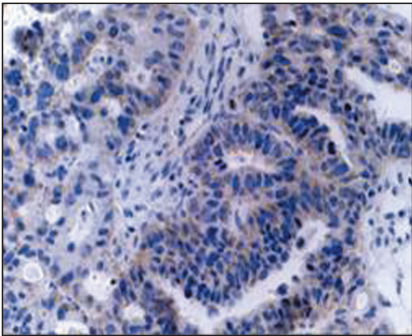


图 1 RhoC 在卵巢浆液性囊腺癌中的表达 SP × 400
Figure 1 Expression of RhoC in ovarian serous cystadenocarcinoma

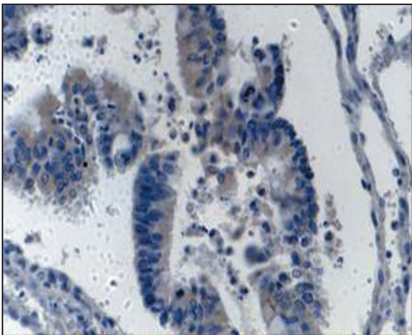


图 2 RhoC 在卵巢粘液性囊腺癌中的表达 SP × 400
Figure 2 Expression of RhoC in ovarian mucous cystadenocarcinoma

表 1 RhoC 蛋白在不同卵巢组织中的表达 例

组别	例数	RhoC 蛋白表达		阳性表达率 (%)	P 值
		阳性	阴性		
正常卵巢组织	19	0	19	0	<0.05*
良性上皮性肿瘤	20	0	20	0	<0.05**
交界性上皮性肿瘤	27	7	20	25.93	>0.05***
卵巢上皮性癌	45	12	33	26.67	

*正常卵巢组织分别与交界性上皮性卵巢肿瘤和卵巢上皮性癌比较;**卵巢良性上皮性肿瘤分别与交界性上皮性卵巢肿瘤和卵巢上皮性癌比较;***交界性上皮性卵巢肿瘤与卵巢上皮性癌比较

2.2 RhoC 蛋白的表达与卵巢上皮性癌临床病理特征的关系

从表 2 可见,卵巢上皮性癌组织中 RhoC 蛋白的阳性表达率与临床分期及组织学分级有关 ($P<0.05$),与卵巢癌病理类型无关 ($P>0.05$)。卵巢上皮性癌临床分期越晚,组织学分级越高,分化越差, RhoC 蛋白的表达水平越高,统计学分析有显著意义。

表2 RhoC蛋白的表达与卵巢上皮性癌临床病理特征的关系 例

Table 2 Relationship between RhoC expression and clinicopathological features in patients with ovarian epithelial cancer

组别	例数	RhoC蛋白的表达		阳性表达率 (%)	P值
		阳性	阴性		
临床分期					<0.05
I ~ II	19	2	17	10.53	
III ~ IV	26	10	16	38.46	
病理类型					>0.05
浆液性囊腺癌	26	7	19	26.92	
粘液性囊腺癌	19	5	14	26.32	
组织学分级					<0.05
1 ~ 2级	23	3	20	13.04	
3级	22	9	13	40.91	

3 讨论

卵巢上皮性癌是预后最差的妇科恶性肿瘤,居女性生殖道恶性肿瘤死因的首位。因此,对其早期诊断及有效治疗,是迫在眉睫的问题。现已认可肿瘤生长、侵袭及转移是一个复杂的多步骤过程,受诸多因素的影响。RhoC蛋白作为Rho家族蛋白的一个重要成员,通过各种信号途径参与调节细胞的多种生命过程^[1],调控肿瘤的侵袭、转移,与卵巢癌的发生和发展密切相关。

RhoC蛋白是Ras超家族中小分子量G蛋白的成员之一,具有GTP酶活性。RhoC蛋白包括无活性的GDP结合形式和有活性的GTP结合形式,两种形式之间的转换使其能够发挥一种类似“分子开关”的作用。RhoC蛋白与GDP结合时游离于胞浆中,与GTP结合时则位于细胞膜上并作用于下游效应分子或靶蛋白,诱发细胞反应^[2]。RhoC蛋白与肿瘤的发生、发展有密切的联系,参与调节了细胞的多种生命过程,包括肌动蛋白的细胞骨架重组、细胞粘附、细胞运动、细胞周期进展、细胞分裂、基因转录以及肿瘤新生血管的形成等,从而促进了肿瘤的侵袭和转移。

目前研究证明,RhoC蛋白在多种肿瘤组织中表达增加,且与恶性肿瘤的侵袭转移密切相关^[3~10]。本研究结果显示,RhoC蛋白在卵巢交界性上皮性肿瘤及卵巢上皮性癌中的表达显著高于正常卵巢组织及卵巢良性肿瘤的表达,与国外研究结论一致^[11],提示RhoC蛋白表达水平可作为判断卵巢上皮性肿瘤恶性转化的标志,是卵巢恶性肿瘤发生的一个重要因素。本研究发现RhoC蛋白表达水平在交界性肿瘤时就已升高,明显高于良性卵巢上皮性肿瘤的表达水平,这表明RhoC蛋白的表达出现于卵巢上

皮癌形成的早期阶段,对卵巢上皮性肿瘤由良性向恶性转化发挥某种重要作用,因此它可能作为一个新的癌前病情监测和早期筛查指标。

RhoC蛋白促进了卵巢癌的发展,在卵巢上皮性癌的转移、侵袭等活动中发挥作用,与卵巢癌细胞的侵袭能力密切相关^[12]。本研究结果显示,RhoC蛋白在卵巢癌III~IV期中的表达显著高于I~II期者,与Horiuchi等^[11]研究结论一致,提示RhoC蛋白表达升高与卵巢上皮性癌的进展有关,其在促进肿瘤细胞浸润中起到了一定的作用。本研究还发现,在卵巢上皮性癌中,组织学分级越高,分化越差,其RhoC蛋白表达水平越高,提示RhoC蛋白的检测可用于判断卵巢上皮性肿瘤的恶性程度。RhoC蛋白的表达与卵巢癌的病理类型无关,说明RhoC蛋白组织学特异性较差,然而Horiuchi等^[11]研究发现RhoC mRNA在卵巢浆液性囊腺癌中的表达水平显著高于卵巢上皮癌的其他病理类型,与本研究结果不一致,可能由于检测对象、方法不同及样本数量偏少所致。由于临床分期、组织学分级是与卵巢上皮性癌预后密切相关的两个重要指标,因此上述结果提示RhoC蛋白的表达阳性则预示肿瘤有较高的侵袭性和不良预后。

总之,RhoC蛋白的检测可在临床实践中提高卵巢癌的诊 断水平,并可将其用于判断预后,利用RhoC的特异性抑制剂或其反义基因治疗卵巢癌将展现广阔的应用前景。RhoC蛋白有可能成为卵巢癌早期筛查的新指标,成为判断卵巢癌侵袭转移的新手段。

参考文献

- 1 Mori K, Hata M, Neya S, et al. Common semiopen conformations of Mg2+-free Ras,Rho,Rab,Arf,and Ran proteins combined with GDP and their similarity with GEF-bound forms[J]. J Am Chem Soc, 2005, 127(43): 15127-15137.
- 2 Mackay DJ, Hall A. Rho GTPases[J]. J Biol Chem, 1998, 273(33): 20685-20688.
- 3 Wang W, Yang LY, Huang GW, et al. Genomic analysis reveals RhoC as a potential marker in hepatocellular carcinoma with poor prognosis[J]. Br J Cancer, 2004, 90(12): 2349-2355.
- 4 Fritz G, Brchetti C, Bahlmann F, et al. Rho GTPases in human breast tumours: expression and mutation analyses and correlation with clinical parameters[J]. Br J Cancer, 2002, 87(6): 635-644.
- 5 Kleer CG, Griffith KA, Sabel MS, et al. RhoC-GTPase is a novel tissue biomarker associated with biologically aggressive carcinomas of the breast[J]. Breast Cancer Res Treat, 2005, 93(2): 101-110.
- 6 Han SW, Sidell N, Roman J. Fibronectin stimulates human lung carcinoma cell proliferation by suppressing p21 gene expression via signals involving Erk and Rho kinase[J]. Cancer Lett, 2005, 219(1):71-81.

- 7 Kleer CG, Teknos TN, Islam M, et al. RhoC GTPase expression as a potential marker of lymph node metastasis in squamous cell carcinomas of the head and neck[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12 (15): 4485-4490.
- 8 邱兴烽,王效民,殷平.RhoC与恶性肿瘤的侵袭转移[J].国外医学生理病理科学与临床分册,2005,25(2):136-139.
- 9 Hakem A, Sanchez-Sweetman O, You-Ten A, et al. RhoC is dispensable for embryogenesis and tumor initiation but essential for metastasis[J]. Genes Dev, 2005, 19(17): 1974-1979.
- 10 Shikada Y, Yoshino I, Okamoto T, et al. Higher expression of RhoC is related to invasiveness in non-small cell lung carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(14): 5282-5286.
- 11 Horiuchi A, Imai T, Wang CJ, et al. Up-regulation of small GTPases, RhoA and RhoC, is associated with tumor progression in ovarian carcinoma[J]. Lab Invest, 2003, 83(6): 861-870.
- 12 韩志强,张阿丽,吴明富,等.RhoA、RhoC及其效应分子ROCK-1的表达与卵巢癌细胞系恶性行为相关性的体外研究[J].中华肿瘤杂志,2004,26(7):385-388.
- (2008-06-10收稿)
(2008-09-19修回)
(邢颖校对)

第十一届全国肺癌学术大会第一轮征文通知

肺癌是目前全球发病率最高恶性肿瘤之一,多数患者就诊时已不适合手术治疗,所以实行多学科规范化、个体化治疗是获得最佳治疗效果的有效途径。为促进我国肺癌研究领域广大医生、学者的学术交流与合作,提高肺癌诊治、研究水平,由中国抗癌协会肺癌专业委员会主办,天津市抗癌协会承办,天津医科大学附属肿瘤医院、天津市肺癌诊治中心协办的“第十一届全国肺癌学术大会”将于2009年9月在天津举行。大会主题“肺癌综合治疗,关注生存获益”,届时将有肺癌研究领域知名专家的精彩专题报告,大会组委会诚挚邀请您参加本次学术大会并欢迎提交学术论文。

一、征文内容:肺癌临床和基础研究相关领域的学术论文。主要内容包括:1)肺癌流行病学研究;2)肺癌相关基础研究;3)肺癌病理、影像学诊断研究;4)肺癌外科治疗进展、新技术;5)肺癌放化疗、生物靶向治疗进展、新技术;6)肺癌临床护理;7)其它。

二、稿件要求:1)在国内外学术期刊尚未公开发表过的学术论文。2)本次会议只接受网上投稿,请以word文档形式用附件发送E-mail至kanxf@126.com。3)论文请按正式发表之格式撰写,并附300字左右的中英文摘要:其内容包括目的、方法、结果、结论(论文格式请登陆<http://www.tjmuch.com/>下载)。4)请在论文首页右上角标明学科代码,代码见征文内容之1~7。5)发送稿件时请注明通讯作者联系信息:单位科室、通讯地址、E-mail、手机和(或)办公电话。

三、论文截止日期:2009年7月10日

四、论文录用:论文经肺癌学术大会学术委员会审稿后将选编入论文集,确定为优秀论文者将安排大会发言。

五、联系人及联系地址:

联系人:阚学峰 宁晓梅 地址:天津市河西区体院北环湖西路22号肿瘤医院肺科、科教科

电话:022-23340123-3031 022-23537796

网址:<http://www.tjmuch.com>