

ABCG2 和 ALDH1 在卵巢子宫内膜异位症恶变中的表达和影响研究*

刘颂平, 田鑫, 温坚, 殷新明

(江苏大学第四附属医院妇产科, 江苏镇江 212000)

[摘要] **目的** 探讨三磷酸腺苷结合盒超家族 G 家族成员 2(ABCG2)、乙醛脱氢酶 1(ALDH1)在卵巢子宫内膜异位症恶变中的表达和意义。**方法** 采用免疫组织化学法检测 38 例卵巢子宫内膜异位症恶变患者(EMs 恶变组), 35 例卵巢子宫内膜异位囊肿患者(EMs 组), 30 例正常子宫内膜患者(对照组)中 ABCG2、ALDH1 蛋白的表达。**结果** ABCG2、ALDH1 在 EMs 恶变组中的阳性表达率明显高于 EMs 组及对照组, 比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。EMs 恶变组中 ABCG2、ALDH1 的表达与患者年龄、痛经史及病理学类型无明显相关性, 与血清 CA125 水平、病理分化程度及分期呈明显相关性($P < 0.05$); ABCG2 的表达与 ALDH1 的表达无明显相关性($P > 0.05$)。**结论** ABCG2、ALDH1 可能与卵巢子宫内膜异位症恶变的发生、发展有关。

[关键词] 卵巢囊肿; 子宫内膜异位症; 变态反应和免疫学; 干细胞; 三磷酸腺苷结合盒超家族 G 家族成员 2; 乙醛脱氢酶 1

[中图分类号] R711.71

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)14-1912-03

Expression and significance of ABCG2 and ALDH1 in malignant transformation of ovarian endometriosis*

Liu Songping, Tian Xin, Wen Jian, Yin Xinming

(Department of Obstetrics and Gynecology, the Fourth Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression and significance of ABCG2 and ALDH1 in malignant transformation of ovarian endometriosis. **Methods** The protein expressions of ABCG2 and ALDH1 were detected with immunohistochemistry in 38 cases of malignant transformation of ovarian endometriosis(EMs malignant transformation group), 35 cases of endometriosis(EMs group) and 30 cases of normal endometrium(control group). **Results** The positive rates of ABCG2 and ALDH1 expressions in EMs malignant transformation group were significantly higher than those in EMs group and control group($P < 0.05$). The expressions of ABCG2 and ALDH1 were significantly associated with the serum CA125 level, differentiation and clinical stage of malignant transformation of ovarian endometriosis ($P < 0.05$), but were not related to the patient's age, dysmenorrhea history and pathology type ($P > 0.05$). There was no correlation between the expression of ABCG2 and ALDH1 in malignant transformation of ovarian endometriosis($P > 0.05$). **Conclusion** The expressions of ABCG2 and ALDH1 might be involved in malignant transformation of ovarian endometriosis.

[Key words] ovarian cysts; endometriosis; allergy and immunology; stem cells; ABCG2; ALDH1

子宫内膜异位症(endometriosis, EMs)是妇科的常见病和多发病,其恶变率约为 1%,最常见于卵巢。恶变的卵巢 EMs 病理类型多为卵巢透明细胞癌及卵巢子宫内膜样癌,被称为 EMs 相关性卵巢癌(endometriosis associated ovarian carcinoma, EAOC)^[1],目前恶变的具体机制不明。近年来,干细胞与卵巢癌发生、发展、复发、耐药等方面的相关性受到学者的广泛关注^[2-3]。三磷酸腺苷结合盒超家族 G 家族成员 2(ABCG2)、乙醛脱氢酶 1(ALDH1)是常见的干细胞标志物,本课题组在前期研究中发现,ABCG2、ALDH1 在 EMs 中存在异常表达,其可能与 EMs 的发生、发展有关^[4-5]。本研究进一步探讨两者在卵巢 EMs 恶变组织中的表达,了解其在 EMs 恶变过程中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2005 年 1 月至 2015 年 1 月本院病理科存档蜡块。EMs 恶变组为 38 例卵巢 EMs 恶变患者的病理切片,包括 20 例卵巢子宫内膜样癌,18 例卵巢透明细胞癌。诊断标准^[6-7]:(1)癌组织与 EMs 并存于同一病变;(2)二者具有组织相关性;(3)排除其他相关肿瘤的存在;(4)镜下可见 EMs

向恶性移行的依据。EMs 组为同期手术的 35 例卵巢子宫内膜异位囊肿患者的病理切片。对照组为同期 30 例因宫颈上皮内瘤变Ⅲ级行子宫切除患者的正常子宫内膜的病理切片。标本采集经患者本人或家属知情同意,研究内容经医院伦理委员会评估并批准(批准号 2015-34)。病理专家再次切片确认后,收集完整临床资料,所有患者术前半年内均未接受放疗或激素治疗,无内分泌、免疫或代谢性疾病。

1.2 方法 采用免疫组织化学法检测组织中 ABCG2、ALDH1 的表达,试验严格按照试剂盒说明书操作。以试剂公司提供的已知阳性切片作为阳性对照,磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为阴性对照。ABCG2 主要定位于细胞膜及细胞质中,ALDH1 蛋白主要定位于细胞质中,出现棕黄色颗粒状染色为阳性。按照文献^[8]中的半定量方法综合染色强度和阳性细胞百分率确定表达水平。每个切片观察 5 个高倍视野,阳性细胞:≤6%记 0 分,6%~25%记 1 分,25%~50%记 2 分,50%记 3 分;观察染色程度:不着色记 0 分,阳性颗粒淡黄色记 1 分,棕黄色记 2 分,棕褐色记 3 分;两项指标评分相乘,0~1 分为阴性(-),2~3 分为弱阳性(+),4~6 分为中度

* 基金项目:江苏省自然科学基金资助项目(BK20140502);江苏省“六大人才高峰”资助项目(2015-WSW-088);吴阶平医学基金资助项目(320.6755.15023)。作者简介:刘颂平(1979-),副主任医师,硕士,主要从事子宫内膜异位症方面研究。

阳性(++)，7~9 分为强阳性(+++)。0~1 分判为阴性组，2~9 分判为阳性组。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件对数据进行处理，计数资料用率表示，组间采用 χ^2 检验或 Fisher 精确概率法，相关性采用 Spearman 等级相关分析，检验水准 $\alpha=0.05$ ，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组中 ABCG2、ALDH1 蛋白表达情况 EMs 恶变组阳性表达率明显高于 EMs 组及对照组，差异有统计学意义($\chi^2=8.461, 21.820, P<0.05$)。EMs 恶变组阳性表达率明显高于 EMs 组及对照组，差异有统计学意义($\chi^2=7.216, 21.286, P<0.05$)，见表 1。

表 1 ABCG2、ALDH1 在 3 组中的表达[n(%)]

组别	n	ABCG2 阳性率	ALDH1 阳性率
EMs 恶变组	38	28(73.7)	29(76.3)
EMs 组	35	14(40.0) ^a	16(45.7) ^a
对照组	30	5(16.7) ^a	6(20.0) ^a

^a: $P<0.05$ ，与 EMs 恶变组比较。

2.2 EMs 恶变组 ABCG2、ALDH1 表达与临床、病理资料的相关性 ABCG2、ALDH1 的表达均与患者年龄、痛经史及病理学类型无明显相关性，但与血清 CA125 水平、病理分化程度及分期呈明显相关性($P<0.05$)，见表 2。

表 2 ABCG2、ALDH1 的表达与卵巢 EMs 恶变临床病理参数的关系(n)

组别	n	ABCG2		P	ALDH1		P
		阳性	阴性		阳性	阴性	
年龄				1.000			0.423
<50 岁	26	19	7		21	5	
≥50 岁	12	9	3		8	4	
痛经史				0.468			0.709
有	18	12	6		13	5	
无	20	16	4		16	4	
血清 CA125				0.019			0.010
正常	8	3	5		3	5	
升高	30	25	5		26	4	
病理类型				0.719			0.260
子宫内膜样癌	20	14	6		17	3	
透明细胞癌	18	14	4		12	6	
分化程度				0.008			0.001
高、中分化	19	10	9		10	9	
低分化	19	18	1		19	0	
分期				0.012			0.002
I、II 期	21	12	9		12	9	
III、IV 期	17	16	1		17	0	

2.3 EMs 恶变组 ABCG2 与 ALDH1 表达的关系 28 例 ABCG2 阳性表达的内异症相关卵巢癌组织中，23 例 ALDH1 蛋白表达阳性；而 10 例 ABCG2 蛋白表达阴性的内异症相关卵

巢癌组织中，6 例 ALDH1 蛋白表达阳性，两者之间无明显相关性($P>0.05$)，见表 3。

表 3 卵巢 EMs 恶变组织中 ABCG2、ALDH1 表达的相关性(n)

ABCG2	ALDH1		r	P
	+	-		
+	23	5	0.229	0.166
-	6	4		

3 讨 论

EMS 恶变机制迄今不明。肿瘤干细胞(CSC)是一类具有无限增生潜能、高致瘤性、高耐药性，在肿瘤的发生、发展中起决定性作用并与肿瘤的转移和复发密切相关的细胞，是近年来肿瘤研究领域的热点，为阐明恶性肿瘤的发病机制提供了有效途径。ABCG2、ALDH1 近年来已被证实为多种恶性肿瘤的干细胞标志物，并且与肿瘤的预后密切相关^[9-10]，但两者在卵巢 EMs 恶变中的研究少见报道。

ABCG2 是 ABC 转运蛋白家族成员之一，最初被发现可以主动地把具有不同化学结构和作用于细胞内不同靶位点的化疗药物泵出胞外，引起多药耐药。最近的研究显示，ABCG2 还是一种潜在的干细胞分子标记，并在多种恶性肿瘤细胞株中都分离培养出 ABCG2 表达阳性的 CSC^[9-10]。王任晓^[11]发现宫颈癌组织中 ABCG2 表达阳性率显著高于宫颈上皮内瘤变组织与正常组织，且随着阳性程度增加，远期生存率降低，认为 ABCG2 作为 CSC 标记物能够在一定程度上对宫颈癌的预后进行预测。张春好等^[12]发现化疗耐药卵巢癌组织中 ABCG2 蛋白的表达明显高于化疗敏感者。而 Zhang 等^[13]证实，卵巢癌侧群细胞中表达 ABCG2 的细胞同时也表达其他的干细胞标志物，如 CD144、CD44 等，说明 ABCG2 可能也是卵巢癌干细胞的标记物之一。

ALDH1 是乙醛脱氢酶家族的重要成员，催化细胞内乙醛氧化为乙酸的细胞溶质酶，参与多种组织的分化与基因表达，也是组织中正常干细胞与 CSC 生长、分化的必需物质，可以作为正常干细胞与 CSC 的标志物之一。于慧玲等^[14]研究发现，ALDH1 在子宫内膜癌组织中的表达较正常子宫内膜组织明显升高，并且随组织病理分级和手术病理分期的升高而升高。她认为 ALDH1 作为一种新的 CSC 标志物，可能成为诊断子宫内膜癌的新的生物学标志物，为判断子宫内膜癌的生物行为，预测转移趋势及预后提供新靶点。范秀丽等^[15]研究显示含生长因子的无血清培养基培养卵巢癌 SKOV3 细胞能够形成 CSC 球及高表达 ALDH1，ALDH1 可能是卵巢癌干细胞的标志物之一。

本研究显示 ABCG2、ALDH1 在 EMs 恶变组织的表达明显高于 EMs 组织及正常子宫内膜，鉴于 ABCG2、ALDH1 为常见的 CSC 标志物，推测 EMs 恶变组织表达 ABCG2、ALDH1 的细胞可能就是 CSC；低分化、晚期患者肿瘤组织中 ABCG2、ALDH1 的表达水平高于中高分化、早期患者肿瘤组织中的表达水平，提示低分化、晚期患者肿瘤组织中存在更多的 CSC，更易发生肿瘤的侵袭、转移、耐药及复发。研究中还发现，ABCG2、ALDH1 在 EMs 恶变组织中的表达并无明显相关性，推测两者可能具有不同的生物学功能，通过不同的途径参与卵巢 EMs 的恶变过程，具体机制还有待进一步深入探讨。

参考文献

- [1] 孙蓬然. 卵巢子宫内膜异位症恶变研究的新进展[J]. 现代妇产科进展, 2012, 21(4): 316-318.
- [2] Nozawa-Suzuki N, Nagasawa H, Ohnishi K, et al. The inhibitory effect of hypoxic cytotoxin on the expansion of cancer stem cells in ovarian cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 457(4): 706-711.
- [3] Yan HC, Fang LS, Xu J, et al. The identification of the biological characteristics of human ovarian cancer stem cells[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2014, 18(22): 3497-3503.
- [4] 刘颂平, 温坚, 殷新明. 子宫内膜异位症患者腹腔冲洗液及血清 CD133、ABCG2 的表达[J]. 中国医药导报, 2013, 10(24): 45-47.
- [5] 温坚, 刘颂平, 殷新明. 乙醛脱氢酶 1 与子宫内膜异位症的相关性研究[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(35): 5878-5881.
- [6] Guo SW. Endometriosis and ovarian cancer: potential benefits and harms of screening and risk-reducing surgery[J]. *Fertil Steril*, 2015, 104(4): 813-830.
- [7] Scott RB. Malignant changes in endometriosis[J]. *Obstet Gynecol*, 1953, 2(3): 283-289.
- [8] 吕昕, 王悦红, 周建英. TTF-1, SPA 表达与 II 期肺癌患者术后复发及生存关系的研究[J]. 浙江医学, 2015, 37(2): 117-123.
- [9] Szepesti A, Matula Z, Szigeti A, et al. ABCG2 is a selectable marker for enhanced multilineage differentiation potential in periodontal ligament stem cells[J]. *Stem Cells Dev*, 2015, 24(2): 244-252.
- [10] Kim N, Choung HK, Lee MJ, et al. Cancer stem cell markers in eyelid sebaceous gland carcinoma: high expression of ALDH1, CD133, and ABCG2 correlates with poor prognosis[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(3): 1813-1819.
- [11] 王任晓. 宫颈癌组织中 ABCG2 与 CD133 的表达对预后的影响分析[J]. 实用癌症杂志, 2014, 29(6): 614-616.
- [12] 张春好, 郭红燕, 韩劲松, 等. 三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G2、F2 在卵巢上皮性癌组织中的表达与意义[J]. 中华妇产科杂志, 2014, 49(3): 224-225.
- [13] Zhang QH, Dou HT, Xu P, et al. Tumor recurrence and drug resistance properties of side population cells in high grade ovary cancer[J]. *Drug Res (Stuttg)*, 2015, 65(3): 153-157.
- [14] 于慧玲, 李冬梅, 吴罡, 等. 子宫内膜癌组织中 ALDH1、p53 和 CyclinE 蛋白的表达及意义[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(25): 4165-4167.
- [15] 范秀丽, 卞翠翠, 董怡, 等. ALDH1 作为卵巢癌干细胞标志物的实验研究[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(12): 3266-3268.
- (收稿日期: 2016-11-18 修回日期: 2017-01-06)
-
- (上接第 1911 页)
- 会, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会. 突发性聋诊断和治疗指南(2015)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2015, 50(6): 443-447.
- [2] 王英歌, 张榕, 许元腾, 等. 不同年龄及不同类型突发性耳聋患者近期疗效观察[J]. 中华耳科学杂志, 2012, 10(3): 364-367.
- [3] 中国突发性耳聋多中心临床研究协作组. 中国突发性耳聋分型治疗的多中心临床研究[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2013, 48(5): 355-361.
- [4] Ciorba A, Corazzi V, Bianchini C, et al. Sudden sensorineural hearing loss: is there a connection with inner ear electrolytic disorders? A literature review[J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2016, 29(4): 595-602.
- [5] Rajati M, Azarpajoooh MR, Mouhebat M, et al. Is sudden hearing loss associated with atherosclerosis[J]. *Iran J Otorhinolaryngol*, 2016, 28(86): 189-195.
- [6] 杨剑, 刘博, 韩德民. 突发性耳聋的循环病因机制[J]. 国际耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2006, 30(3): 175-177.
- [7] 王秋菊, Mohamed AH. 耳内科疾病相关基础研究与诊治新进展(下篇)[J]. 中华耳科学杂志, 2014, 12(2): 182-189.
- [8] Hobson CE, Alexander TH, Harris JP. Primary treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss with intratympanic dexamethasone[J]. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 2016, 24(5): 407-412.
- [9] 黄选兆, 汪吉宝. 实用耳鼻咽喉科[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
- [10] Tüzemen G, Kasapoglu F, Hizalan I, et al. The importance of the first three days and other diagnostic indicators in sudden hearing loss[J]. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg*, 2016, 26(6): 333-341.
- [11] Enache R, Sarafoleanu C. Prognostic factors in sudden hearing loss[J]. *J Med Life*, 2010, 1(3): 343-347.
- [12] Sano H, Kamijo T, Ino T, et al. Edaravone, a free radical scavenger in the treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss with profound hearing loss[J]. *Auris Nasus Larynx*, 2009, 37(1): 42-46.
- [13] Gülüstan F, Yazici ZM, Alakhras WM, et al. Intratympanic steroid injection and hyperbaric oxygen therapy for the treatment of refractory sudden hearing loss[J]. *Braz J Otorhinolaryngol*, 2016, 94(16): 30232-30234.
- [14] Hosokawa S, Sugiyama K, Takahashi G, et al. Prognostic factors for idiopathic sudden sensorineural hearing loss treated with hyperbaric oxygen therapy and intravenous steroids[J]. *J Laryngol Otol*, 2017, 131(1): 77-82.
- [15] 库薇, 刘业海, 吴静, 等. 国内高压氧联合药物治疗突发性耳聋临床疗效的 Meta 分析[J]. 中华耳科学杂志, 2014, 12(1): 93-98.
- (收稿日期: 2016-11-20 修回日期: 2017-01-08)