

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.27.018

ER、HNF-1 β 及 COX-2 在子宫内膜异位相关性
卵巢癌中的表达及临床意义*

陈颖,龙启芳

(苏州大学附属第二医院妇产科 215004)

[摘要] **目的** 探究雌激素受体(ER)、肝细胞核因子-1 β (HNF-1 β)以及环氧化酶-2(COX-2)在不同类型子宫内膜异位相关性卵巢癌(EAOC)中的表达差异。**方法** 选取2011年7月至2016年4月苏州大学附属第二医院收治的EAOC患者44例,其中子宫内膜样癌17例,透明细胞癌21例,卵巢浆液性癌6例。采用免疫组织化学法检测ER、HNF-1 β 及COX-2在不同类型EAOC中的表达差异,并采用Spearman秩相关分析探讨三者表达水平的相关性。**结果** ER在子宫内膜样癌患者中的阳性率为100.0%,显著高于透明细胞癌患者的9.5%和卵巢浆液性癌患者的0%($\chi^2=4.305, P<0.01$),而HNF-1 β 在透明细胞癌和卵巢浆液性癌患者中的阳性率分别为85.7%和100.0%,显著高于子宫内膜样癌患者的11.8%($\chi^2=3.585, P<0.01$),COX-2在子宫内膜样癌、透明细胞癌和卵巢浆液性癌患者中的阳性率分别76.5%、81.0%、83.3%,差异无统计学意义($\chi^2=0.744, P=0.104$)。ER和HNF-1 β 的表达水平呈负相关($r=-0.428, P<0.01$),与COX-2的表达水平呈正相关($r=0.204, P=0.013$)。**结论** ER主要在子宫内膜样癌中表达,HNF-1 β 主要在透明细胞癌和卵巢浆液性癌中表达,ER的表达水平与HNF-1 β 及COX-2的表达水平具有一定的相关性。

[关键词] 卵巢肿瘤;雌激素受体;肝细胞核因子-1 β ;环氧化酶-2**[中图法分类号]** R737.31**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)27-3801-03Expression of ER, HNF-1 β and COX-2 in endometriosis-associated ovarian cancer and its clinical significance*

Chen Ying, Long Qifang

(Department of Gynecology and Obstetrics, Second Affiliated Hospital, Suzhou University, Suzhou, Jiangsu 215004, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression difference of estrogen receptor(ER), hepatocyte nuclear factor 1 β (HNF-1 β) and epoxy-2(COX-2) in different types of endometriosis-associated ovarian cancer (EAOC). **Methods** Forty-four patients with EAOC treated in our hospital from July 2011 to April 2016 were selected, including 17 cases of endometrioid carcinoma, 21 cases of clear cell carcinoma and 6 cases of ovarian serous carcinoma. The expression of ER, HNF-1 β and COX-2 in different types of EAOC were detected by immunohistochemistry. The correlation among expression levels of ER, HNF-1 β and COX-2 was investigated by adopting Spearman rank correlation analysis. **Results** The positive rate of ER in endometrioid carcinoma was 100.0%, which was significantly higher than 9.5% in the patients with clear cell carcinoma and 0% in the patients with ovarian serous carcinoma($\chi^2=4.305, P<0.01$), and the positive rate of HNF-1 β in the patients with clear cell carcinoma and ovarian serous carcinoma were 85.7% and 100.0% respectively, which was significantly higher than 11.8% in the patients with endometrioid carcinoma($\chi^2=3.585, P<0.01$), the positive rates of COX-2 in the patients with endometrioid carcinoma, clear cell carcinoma and ovarian serous carcinoma were 76.5%, 81.0% and 83.3%, respectively, and the difference was not statistically significant ($\chi^2=0.744, P=0.104$). The correlation analysis showed that ER was negatively correlated with HNF-1 β expression level($r=-0.428, P<0.01$) and positively correlated with COX-2 expression level ($r=0.204, P=0.013$). **Conclusion** ER is mainly expressed in endometrioid carcinoma, HNF-1 β is mainly expressed in clear cell carcinoma and ovarian serous carcinoma. The expression level of ER had a certain correlation to the expression of HNF-1 β and COX-2, which may be closely related to EAOC progression.

[Key words] ovarian neoplasms; estrogen receptor; hepatocyte nuclear factor-1 β ; cyclooxygenase

子宫内膜异位症(endometriosis, EM)是以月经异常、痛经、不孕等为主要症状的妇科疾病,在临床上较为常见。有研究显示EM在妇女中的发病率为5%~20%^[1]。虽然EM为良性疾病,但也具有一些与肿瘤类似的生物学特性,如侵袭性和对正常组织的损伤性,且已有研究表明,EM与卵巢癌发生、发展具有密切的关系^[2-3]。肿瘤的发生、发展中伴随着多种生物学标志的变化,近年的研究表明EM作为卵巢癌发生的诱因,通过影响并改变肿瘤微环境如雌激素受体(ER)的上调、P53的突变、肝细胞核因子-1 β (HNF-1 β)的激活以及环氧化酶-

2(COX-2)的过表达等来促进卵巢癌的发展。但是目前国内鲜有研究报道这些因子在不同类型EAOC的表达,本研究旨在分析ER、HNF-1 β 及COX-2在不同类型子宫内膜异位相关性卵巢癌(EAOC)中的表达差异,以及三者的表达水平是否存在相关性,为EAOC的发病机制提供新的见解。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2011年7月至2016年4月苏州大学附属第二医院妇产科收治的EAOC患者共44例,其中子宫内膜样癌17例,患者年龄(46.3 \pm 6.7)岁;卵巢透明细胞癌21例,

患者年龄(44.7±7.2)岁;卵巢浆液性癌 6 例,患者年龄(45.2±6.1)岁,3 组患者年龄、子宫内膜病理分期等一般临床资料的差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究排除了有严重并发症如心脏病、糖尿病、精神病等患者以及对本研究所用药物或试剂过敏的患者,且本研究通过了苏州大学附属第二医院伦理委员会的批准,所有入选患者均签署了知情同意书。

1.2 免疫组织化学检测 将手术切除的新鲜肿瘤组织以 10% 甲醛固定,石蜡包埋后进行连续切片,再进行脱蜡,微波炉热抗原修复,经漂洗、封闭、孵育后分别滴加 1:100 比例稀释的 ER、HNF-1 β 、COX-2 单克隆抗体(购自上海翊圣生物科技有限公司),4℃ 孵育过夜;加二抗(购自上海翊圣生物科技有限公司)37℃ 孵育 30 min;滴加辣根酶标记工作液,37℃ 孵育 30 min 后 DAB 显色,苏木素复染、脱水、封片。免疫组织化学染色采用 S-P 法,具体操作步骤严格按试剂盒说明书进行。

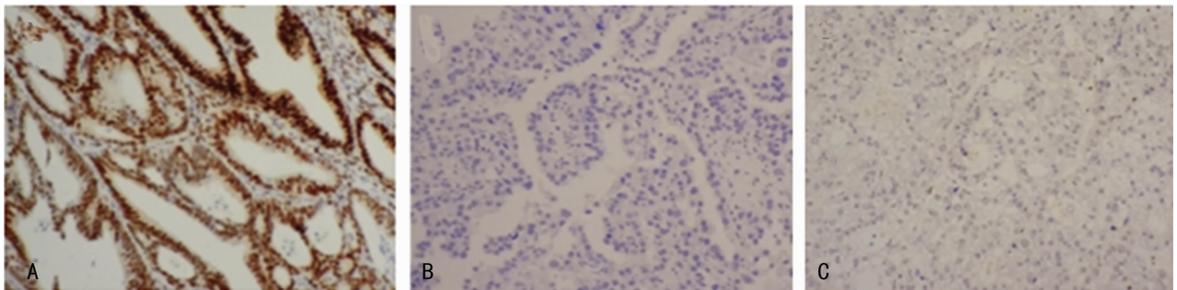
1.3 结果判定 在显微镜下观察免疫组织化学染色切片并采集图像,采用 Image-Pro Plus 6.0 对 ER、HNF-1 β 及 COX-2 的免疫组织化学切片进行图像分析。在高倍镜($\times 400$)下选择 5 个视野,记录阳性染色细胞百分比,根据染色范围和染色强度记分并判断免疫组织化学结果。染色范围: $<5\%$ 计 0 分,5%~20% 计 1 分,20%~50% 计 2 分, $>50\%$ 计 3 分;染色强度:

无色计 0 分,淡黄色计 1 分,棕黄色计 2 分,棕褐色计 3 分;累计 0~1 分为阴性,2~3 分为弱阳性,4~5 分为阳性,6 分为强阳性。

1.4 统计学处理 数据应用 SPSS19.0 软件进行统计分析,计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,患者各指标阳性率的比较采用 χ^2 检验,采用 Spearman 秩相关分析检验各指标表达水平的相关性,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

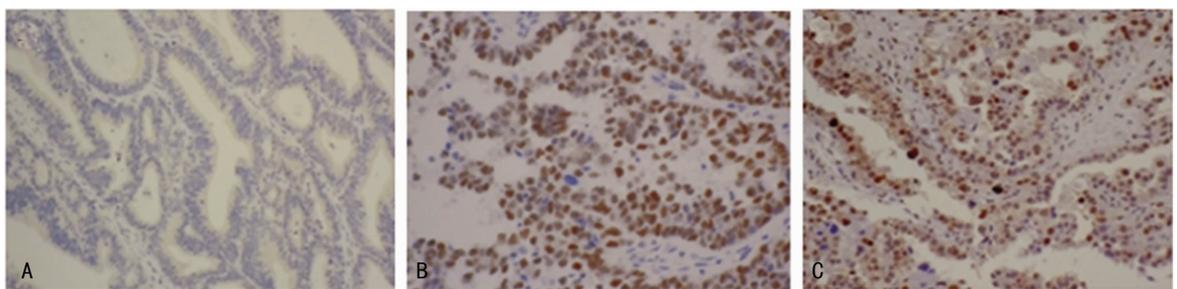
2 结果

2.1 ER、HNF-1 β 及 COX-2 在不同类型 EAOC 中的表达差异 子宫内膜样癌患者中 ER 阳性 17 例,阳性率为 100.0%,透明细胞癌患者中 ER 阳性 3 例,阳性率为 9.5%,卵巢浆液性癌患者中无 ER 阳性,差异具有统计学意义($\chi^2=4.305, P<0.01$);子宫内膜样癌患者中 HNF-1 β 阳性 2 例,阳性率为 11.8%,透明细胞癌患者中 HNF-1 β 阳性 18 例,阳性率为 85.7%,卵巢浆液性癌患者中 HNF-1 β 阳性 6 例,阳性率为 100.0%,差异具有统计学意义($\chi^2=3.585, P<0.01$);COX-2 在子宫内膜样癌患者、透明细胞癌患者和卵巢浆液性癌患者中的阳性率分别 76.5%(13 例)、81.0%(17 例)、83.3%(5 例),差异无统计学意义($\chi^2=0.744, P=0.104$),具体见图 1~3 及表 1。



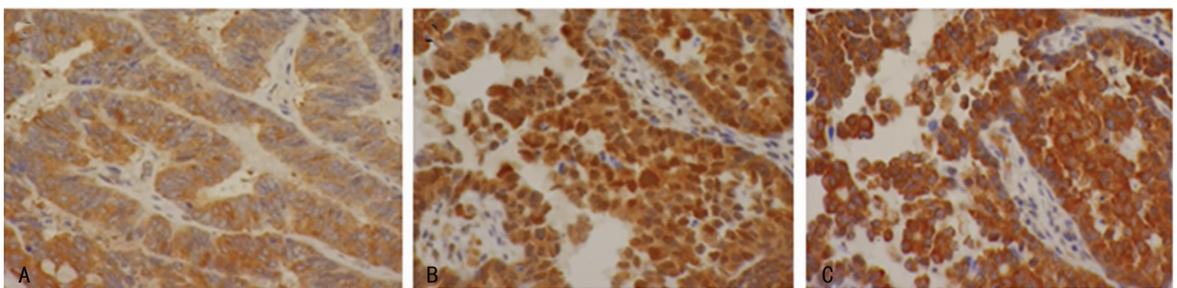
A: 子宫内膜样癌;B: 透明细胞癌;C: 卵巢浆液性癌。

图 1 ER 在不同类型 EAOC 中的表达($\times 400$)



A: 子宫内膜样癌;B: 透明细胞癌;C: 卵巢浆液性癌

图 2 HNF-1 β 在不同类型 EAOC 中的表达($\times 400$)



A: 子宫内膜样癌;B: 透明细胞癌;C: 卵巢浆液性癌

图 3 COX-2 在不同类型 EAOC 中的表达($\times 400$)

表 1 ER、HNF-1 β 及 COX-2 在不同类型 EAOC 中阳性率比较

EAOC	n	ER			HNF-1 β			COX-2		
		阳性	阴性	阳性率(%)	阳性	阴性	阳性率(%)	阳性	阴性	阳性率(%)
子宫内膜样癌	17	17	0	100.0	2	15	11.8	14	3	76.5
透明细胞癌	21	2	19	9.5	18	3	85.7	17	4	81.0
卵巢浆液性癌	6	0	6	0	6	0	100.0	5	1	83.3
χ^2	/	4.305			3.585			0.744		
P	/	<0.01			<0.01			0.104		

2.2 ER、HNF-1 β 及 COX-2 表达水平的相关性分析
Spearman 秩相关分析表明,ER 和 HNF-1 β 的表达水平呈负相关($r=-0.428, P<0.01$),ER 与 COX-2 的表达水平呈正相关($r=0.204, P=0.013$)。HNF-1 β 与 COX-2 的表达水平无明显相关性。

3 讨论

EM 最常异位于卵巢,为育龄期妇女的常见良性疾病,但具有类似恶性肿瘤的生物学特性,并且可以发生恶变,其恶变的种类包括子宫内膜样癌、透明细胞癌、卵巢浆液性癌、鳞状腺癌、卵巢腺肉瘤等,其中以子宫内膜样癌和透明细胞癌最为常见。有研究表明 EM 通过影响并改变肿瘤微环境中的一系列生物标志物如 PTCH2、真核翻译延长因子 1A2(eEF1A2)、ER、HNF-1 β 、p53、PTEN、COX-2 等来诱导 EAOC 的发生^[4-5],并且近来 Worley 等^[6]的研究显示大量生物标志物不仅与 EAOC 相关,并且在 EAOC 发生、发展的过程中不断变化,对 EAOC 发生发展起到重要的影响,但是目前国内外很少有研究分析不同类型 EAOC 中这些生物标志物的表达差异,本研究旨在探究 ER、HNF-1 β 、COX-2 3 种经典的生物标志物在子宫内膜样癌、透明细胞癌及卵巢浆液性癌中的表达差异及表达水平的相关性,为 EAOC 的致癌机制提供新的依据。

ER 激素受体是固醇类激素受体蛋白超家族成员之一,于 1977 年首次在子宫内膜细胞中被发现,其分布广泛,可与激素发生特异性结合而形成激素-受体复合物,使激素发挥其生物学效应。最近研究表明 ER 在启动恶性卵巢癌的发生以及促进其发展的过程中具有重要的作用^[7]。本研究结果显示 ER 在子宫内膜样癌中呈高表达,阳性率为 100%,且表达水平较高,在透明细胞癌中表达较少,仅占 9.5%,在卵巢浆液性癌中不表达,均为阴性,差异具有统计学意义($\chi^2=4.305, P<0.01$)。Lai 等^[8]的研究也表明 ER 主要表达于子宫内膜样癌患者,与本研究具有一定的相似性。这一研究结果表明雌激素对子宫内膜样癌具有非常重要的影响,而对透明细胞癌患者及卵巢浆液性癌患者的影响较小,同时这一研究结果也暗示,临床上常用的雌激素受体调节剂他莫昔芬(TAM)可能对子宫内膜样癌患者疗效更好,而对于 ER 阴性的透明细胞癌患者及卵巢浆液性癌患者治疗效果会相对较差。本研究对 HNF-1 β 免疫染色的结果显示 HNF-1 β 在透明细胞癌患者和卵巢浆液性癌患者中的表达较高,阳性率分别为 85.7%和 100.0%,而在子宫内膜样癌中 HNF-1 β 阳性患者仅为 11.7%,差异具有统计学意义($\chi^2=3.585, P<0.01$)。早前 DeLair 等^[9]对 155 例透明细胞癌患者的肿瘤组织进行了形态学及免疫组织化学的研究表明,HNF-1 β 为透明细胞癌患者特异的肿瘤标志物,而 Tsuchiya 等^[10]更是将 HNF-1 β 作为透明细胞癌临床诊断的特有肿瘤标志物,而本研究发现 HNF-1 β 不仅在透明细胞癌中

呈高表达,在卵巢浆液性癌中的表达也较高,这为不同类型子宫内膜异位相关性乳腺癌的诊断提供了新的生物学标志物。COX-2 在肿瘤发生早期起着重要作用,有研究表明 COX-2 在正常卵巢表面上皮细胞上几乎不表达,但是在子宫内膜异位症及卵巢囊肿瘤变前的上皮细胞中呈高表达^[11]。本研究结果显示,COX-2 在 3 种不同类型的 EAOC 的表达不存在显著性差异,均具有较高的表达,阳性率在 80%左右。Sivula 等^[12]研究发现浸润性乳腺癌组织中 COX-2 的阳性表达率为 66%,且 COX-2 阳性患者较 COX-2 阴性患者预后更差,这提示 COX-2 可能是治疗乳腺癌的有效靶点,维持 COX-2 的低表达或合理应用特异性 COX-2 抑制剂将成为乳腺疾病预防的新途径。此外本研究采用 Spearman 秩相关性分析探讨了三者表达水平的相关性,结果表明,ER 和 HNF-1 β 的表达水平呈负相关($r=-0.428, P<0.01$),ER 与 COX-2 的表达水平呈正相关($r=0.204, P=0.013$)。HNF-1 β 与 COX-2 的表达水平无相关性($P>0.05$)。

综上所述,本研究结果表明 ER 主要表达于子宫内膜样癌患者中,HNF-1 β 主要表达于透明细胞癌和卵巢浆液性癌患者中,而 COX-2 在子宫内膜样癌,透明细胞癌及卵巢浆液性癌中均呈高表达,且 ER 和 HNF-1 β 的表达水平呈负相关与 COX-2 的表达水平呈正相关。本研究结果为不同类型 EAOC 的临床诊断以及治疗提供了新的合理依据,EAOC 发病机制错综复杂,近年来就有研究表明 miRNA 也是影响子宫内膜异位症及 EAOC 的重要因子^[13],因此笔者认为应全面分析 EAOC 相关的新的生物标志物以及这些生物标志物在致病过程中的变化,为 EAOC 的发病机制提供新的见解。

参考文献

- [1] Bulun SE. Endometriosis[J]. N Engl J Med, 2009, 360(3):268-279.
- [2] Aris A. Endometriosis-associated ovarian cancer; a ten-year cohort study of women living in the Estrie Region of Quebec, Canada[J]. J Ovarian Res, 2010, 3(1):89-92.
- [3] Mogensen JB, Kjer SK, Mellekjær L, et al. Endometriosis and risks for ovarian, endometrial and breast cancers; a nationwide cohort study[J]. Gynecol Oncol, 2016, 7(16):95-101.
- [4] Borgfeldt C, Andolf E. Cancer risk after hospital discharge diagnosis of benign ovarian cysts and endometriosis[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 2004, 83(83):395-400.
- [5] Melin A, Sparen P, Persson I, et al. Endometriosis and the risk of cancer with special emphasis on ovarian cancer[J]. Hum Reprod, 2006, 21(5):1237-1242. (下转第 3807 页)

观察两组患者的疗效变化。本研究也存在一定局限性:(1)没有对患者进行随机分组,MIPO 组四部分骨折患者较 ORIF 组少,因此肩关节评分可能出现偏倚;(2)病例数较少,未对不同年龄段患者进行对比分析;(3)手术并非由同一术者完成,结果可能存在一定偏倚。

综上所述,MIPO 和 ORIF 治疗肱骨近端骨折均可取得良好的临床疗效,术后患者关节功能和生活质量均可明显改善,但 MIPO 手术创伤小、出血少,更有利于患者关节功能的早期恢复,因此可能是更为理想的微创手术方法。

参考文献

- [1] Bachelier F, Pizanis A, Schwitalla J, et al. Treatment for displaced proximal humerus fractures: comparison of interlocking plate fixation versus minimal invasive techniques[J]. *Eur J Orthop Surg Traumatol*, 2014, 24(5): 707-714.
- [2] Chen H, Hu X, Tang H, et al. Minimal Invasive Percutaneous osteosynthesis for elderly valgus impacted proximal humeral fractures with the PHILOS[J]. *Biomed Res Int*, 2015(3):1-5.
- [3] Zhou ZB, Gao YS, Tang MJ, et al. Minimally invasive percutaneous osteosynthesis for proximal humeral shaft fractures with the PHILOS through the deltopectoral approach[J]. *Int Orthop*, 2012, 36(11): 2341-2345.
- [4] 商澜锴, 周方, 姬洪全, 等. 微创锁定接骨板与传统切开复位内固定术治疗肱骨近端骨折的疗效比较[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2013, 45(5): 711-716.
- [5] 蔡俊丰, 尹峰, 祝建光, 等. 微创经皮钢板内固定治疗肱骨近端骨折[J]. *中华创伤杂志*, 2010, 26(7): 606-610.
- [6] 张岩, 杨铁毅, 刘树义, 等. 应用锁定接骨板微创固定治疗肱骨近端骨折 31 例初步随访分析[J]. *中国矫形外科杂志*, 2009, 17(12): 898-900.
- [7] Gardner MJ, Weil Y, Barker JU, et al. The importance of medial support in locked plating of proximal humerus fractures[J]. *J Orthop Trauma*, 2007, 21(3): 185-191.
- [8] Ortmaier R, Filzmaier V, Hitzl W, et al. Comparison between minimally invasive, percutaneous osteosynthesis and locking plate osteosynthesis in 3-and 4-part proximal humerus fractures[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2015, 16(1): 297.
- [9] Lin T, Xiao B, Ma X, et al. Minimally invasive plate osteosynthesis with a locking compression plate is superior to open reduction and internal fixation in the management of the proximal humerus fractures[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2014, 15(1): 1-7.
- [10] 陆坚, 李云峰, 王晖, 等. 微创钢板内固定结合肱骨近端锁定钢板在肱骨骨折治疗中的应用[J/CD]. *中华关节外科杂志(电子版)*, 2014, 8(6): 765-768.
- [11] Brorson S, Rasmussen JV, Frich LH, et al. Benefits and harms of locking plate osteosynthesis in intraarticular (OTA Type C) fractures of the proximal humerus: a systematic review[J]. *Injury*, 2012, 43(7): 999-1005.
- [12] Helmy N, Hintermann B. New trends in the treatment of proximal humerus fractures[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2006, 442(1): 100-108.
- [13] Visser CP, Coene LN, Brand R, et al. Nerve lesions in proximal humeral fractures[J]. *J Shoulder Elbow Surg*, 2001, 10(5): 421-427.
- [14] Hepp P, Theopold J, Voigt C, et al. The surgical approach for locking plate osteosynthesis of displaced proximal humeral fractures influences the functional outcome[J]. *J Shoulder Elbow Surg*, 2008, 17(1): 21-28.

(收稿日期:2016-12-26 修回日期:2017-05-14)

(上接第 2803 页)

- [6] Worley MJ, Liu S, Hua Y, et al. Molecular changes in endometriosis-associated ovarian clear cell carcinoma [J]. *Eur J Cancer*, 2015, 360(13): 1831-1842.
- [7] 陈安安, 汪炬. 肿瘤中雌激素信号转导通路的研究进展[J]. *中国病理生理杂志*, 2012, 28(3): 570-576.
- [8] Lai CR, Hsu CY, Chen YJ, et al. Ovarian cancers arising from endometriosis: a microenvironmental biomarker study including ER, HNF-1 β , p53, PTEN, BAF250a, and COX-2[J]. *J Chin Med Assoc*, 2013, 76(11): 629-634.
- [9] DeLair D, Oliva E, Kobel M, et al. Morphologic spectrum of immunohistochemically characterized clear cell carcinoma of the ovary: a study of 155 cases[J]. *Am J Surg Pathol*, 2011, 35(1): 36-44.
- [10] Tsuchiya A, Sakamoto M, Yasuda J, et al. Expression profiling in ovarian clear cell carcinoma: identification of hepatocyte nuclear factor-1 beta as a molecular marker and a possible molecular target for therapy of ovarian clear cell carcinoma[J]. *Am J Pathol*, 2003, 163(6): 2503-2512.
- [11] Carli C, Metz CN, Al-Abed Y, et al. Up-regulation of cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production in human endometriotic cells by macrophage migration inhibitory factor: involvement of novel kinase signaling pathways [J]. *Endocrinology*, 2009, 150(7): 3128-3137.
- [12] Sivula A, Talvensaaari-Mattila A, Lundin J, et al. Association of cyclooxygenase-2 and matrix metalloproteinase-2 expression in human breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2005, 89(3): 21-25.
- [13] 易金玲, 沈艳丽, 冯文广, 等. 子宫内膜异位症患者异位内膜组织中 miR-556-3 p、VEGF 表达变化 [J]. *山东医药*, 2016, 56(7): 50-52.

(收稿日期:2016-12-08 修回日期:2017-05-26)