

瘦素及其受体在卵巢癌的表达及临床病理特征关系*

侯森¹ 马莉² 张国安¹ 崔文¹ 李亮^{2△}

(¹ 济宁医学院法医学与医学检验学院, 济宁 272067; ² 济宁医学院附属济宁市第一人民医院, 济宁 272011)

摘要 目的 研究瘦素(Leptin)及其受体(OBR)在卵巢癌中的表达与临床病理特征的关系。方法 利用免疫组化检测 102 例卵巢癌组织中 Leptin 及其 OBR 的表达情况及其与年龄、肿块大小、TMN 分期、转移和复发等临床病理特征的相关研究。结果 在 102 例卵巢癌组织中 Leptin 在卵巢癌组织中的阳性表达率为 71.57%; OBR 在卵巢癌组织中的阳性表达率为 66.67%, 两者表达之间无显著性统计学意义($P > 0.05$)。在卵巢癌组织中 Leptin 和 OBR 阳性表达的肿块直径均明显大于其阴性表达, 差别有统计学意义($P < 0.05$)。在卵巢癌 II/III 期中 Leptin 的表达明显高于 I 期($P < 0.05$)。在 Leptin 阳性表达时, OBR 阳性的肿瘤直径明显大于 OBR 阴性($P < 0.05$)。无论 Leptin 阳性表达与否, OBR 阳性表达与肿瘤分期有关($P < 0.05$)。Leptin 和 OBR 表达与患者年龄、转移、复发和绝经情况无关。结论 Leptin 和 OBR 的表达与卵巢癌肿瘤大小、肿瘤分期有关, Leptin 和 OBR 可能促进卵巢癌细胞的增殖、生长、分化或抑制其凋亡。

关键词 瘦素; 卵巢癌; 免疫组化; 临床病理特征

中图分类号: R736.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2017)04-110-04

Expression and clinicopathological features of Leptin and OBR in ovarian cancer

HOU Sen¹, MA Li², ZHANG Guoan¹, CUI Wen¹, LI Liang²

(¹ Institute of Forensic Medicine and Laboratory Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, China;

² Jining First People's Hospital & the Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining 272011, China)

Abstract; Objective To explore the correlation between the clinical features and expressions of leptin and OBR in ovarian cancer. **Methods** The expressions of leptin and OBR were detected by immunohistochemistry (IHC) and researched the relation to clinical pathological characteristics as age, tumor size, TMN staging, metastasis and recurrence in 102 ovarian cancer tissues. **Results** The positive expression rates of leptin and OBR were 71.57% and 66.67% in 102 ovarian cancer tissues. There was not a significant association between leptin with OBR in ovarian cancer. But the tumor size of both positive expression groups of leptin and OBR was obviously different with the negative expression groups' in ovarian cancer tissues. The differences were significant ($P < 0.05$). In ovarian cancer II/III mid-term expression of leptin was obviously higher than that of I period ($P < 0.05$). While leptin was positive, the tumor size of OBR positive group was obviously larger with the negative's. The OBR expression related to tumor stage whether leptin express or not. And the expression of leptin and OBR was no significant related to age, menopausal status, metastasis and recurrence. **Conclusion** The expressions of leptin and OBR are maybe association with ovarian tumor size and TMN staging, which accelerat tumor cell proliferation and growth or inhibit the apoptosis.

Keywords: Leptin; Ovarian cancer; Immunohistochemistry; Clinicopathological features

* [基金项目] 济宁市医药卫生科技项目(2012JNJC21); 济宁医学院校级青年基金项目(JYK14KJ11); 山东省教育厅山东省高等学校科技计划(J13LK14)

△ [通信作者] 李亮, E-mail: SDLL2000@sina.com

卵巢癌的发病率居妇科肿瘤的第二位, 死亡率居第一位^[1]。虽然卵巢癌近些年来的研究取得了许多进展, 但卵巢癌生存率仍是极低的。1994 年瘦素(Leptin)被发现^[2], 1995 年成功克隆 OBR 基因。研究表明, Leptin 及其受体参与某些恶性肿瘤

的发生、发展过程,如子宫颈癌^[3]、乳腺癌^[4]、胰腺癌^[5]等。我们在之前也研究过 Leptin 及 OBR 在乳头状甲状腺癌中的作用^[6]。本文旨在卵巢癌中 Leptin 和 OBR 的表达和临床病理特征之间的关系,为诊断、治疗卵巢癌提供新的方法,为卵巢癌的基础研究提供新的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

济宁医学院附属济宁市第一人民医院病理科 2012~2015 年卵巢癌组织标本 102 例,并收集相对应的临床病理特征资料。

1.2 试剂与材料

Leptin 多克隆抗体 Leptin(A20)及 OBR 多克隆抗体 Ob-R(M18)均购自 Santa Cruz 公司(sc-1834);GTVisionTM III 抗鼠兔通用型免疫组化检测试剂盒购自上海鲁汶生物科技有限公司(GK500705、GK500710、GK500711)。柠檬酸抗原修复液(Ph6.0)购自福州迈新生物技术开发有限公司(MVS-0100/0101)。

1.3 免疫组化

石蜡切片,厚约 4 μ m。方法步骤:1)二甲苯脱蜡,乙醇梯度水化,PBS 清洗;2)在 Ph6.0 的柠檬酸缓冲液中煮 10min 进行抗原修复,冷却至室温,PBS 清洗;3)过氧化物酶阻断剂 37 $^{\circ}$ C 孵育 10min 后 PBS 清洗;4)一抗 4 $^{\circ}$ C 过夜,PBS 清洗;5)试剂 A 室温下孵育 30min 后 PBS 清洗;6)DAB 工作液,光镜下控制显色;7)苏木素复染,脱水,封片。以 PBS 代替一抗做空白对照。

1.4 结果判定

阳性信号为棕黄色,主要位于细胞膜和胞质。每例免疫组化染色的切片由两位有经验的临床病理医师对染色结果进行判读,综合累积高倍镜下阳性细胞百分率评分和染色强度评分。1)按染色强度评分:阴性者为 0 分,弱阳性者为 1 分,中等阳性者为 2 分,强阳性者为 3 分。2)按阳性细胞百分率评分:高倍视野下观察每张切片随机选取 10 个视野,计数 500 个肿瘤细胞,计算每张切片中阳性肿瘤细胞占总计数肿瘤细胞的百分比。 $\leq 5\%$ 为 0 分,5%~25% 为 1 分,25%~50% 为 2 分,>50% 为 3 分。3)染色强度和阳性细胞百分率乘积积分 ≤ 1 分为阴性(-),2~3 分为(+),4~6 分为(++),6 分以上为(+++)。

1.5 统计学方法

应用 SPSS 16.0 统计软件,对实验数据进行统计学分析。

2 结果

2.1 Leptin 和 OBR 表达情况

Leptin 和 OBR 主要表达在卵巢癌组织中的细胞膜和(或)胞质中(图 1~4)。Leptin 和 OBR 在卵巢癌组织中的阳性表达率分别为 71.57% (73/102) 和 66.67% (68/102)。而 Leptin 与 OBR 阳性率差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

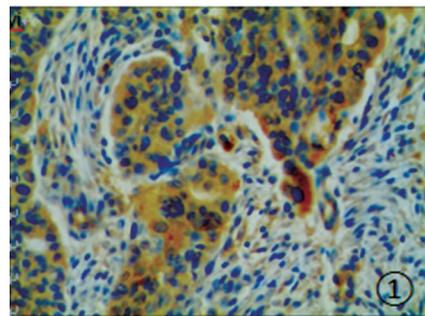


图 1 卵巢癌组织中 Leptin 的阳性表达(HE 染色, $\times 200$)

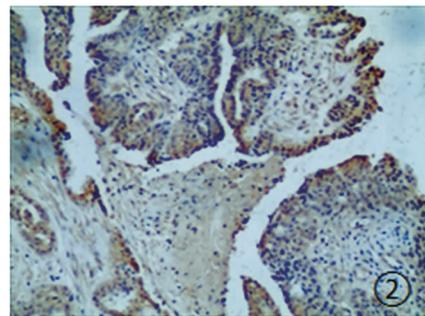


图 2 卵巢癌组织中 OBR 的阳性表达(HE 染色, $\times 200$)

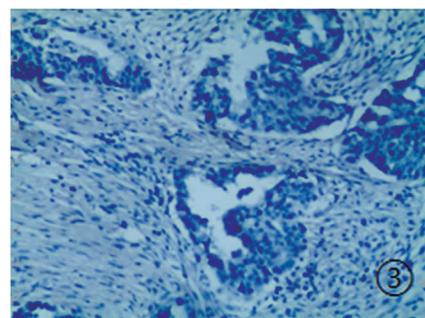


图 3 卵巢癌组织中 Leptin 的阴性表达(HE 染色, $\times 200$)

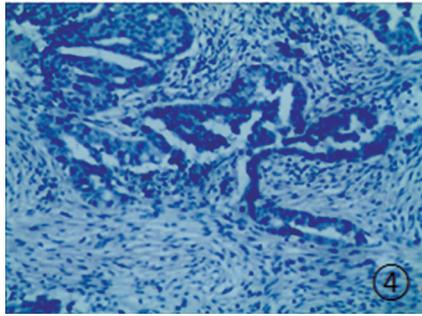


图 4 卵巢癌组织中 OBR 的阴性表达(HE 染色, ×200)

表 1 在卵巢癌中 Leptin 与 OBR 表达之间的关系

		OBR		χ^2	P
		(+)	(-)		
Leptin	(+)	51	22	1.18	0.35
	(-)	17	12		

2.2 Leptin 和 OBR 与临床病理特征分析比较

结果显示 Leptin 和 OBR 表达与患者年龄、转移、复发和绝经情况无关 ($P > 0.05$)。在卵巢癌组织中 LeptinB 阳性表达和 OBR 阳性表达者的肿块直径均大于对应阴性表达者, 差别有统计学意义 ($P < 0.05$), Leptin 阳性表达与卵巢癌 TNM 分期有关, II/III 期的 Leptin 阳性表达率高于 I 期 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 Leptin 和 OBR 相互作用与临床病理特征比较

结果显示在 Leptin 阳性表达时, OBR 阳性的肿瘤直径大小明显大于 OBR 阴性。另外发现无论 Leptin 阳性表达与否, OBR 的表达与肿瘤分期有关 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 102 例卵巢癌组织中 Leptin 和 OBR 表达的临床病理特征比较

临床病理特征	Leptin			OBR		
	(+)	(-)	$t/\chi^2(P)$	(+)	(-)	$t/\chi^2(P)$
n	73	29		68	34	
年龄(岁)	55.29 ± 11.26	54.79 ± 10.67	0.64(0.43)	54.01 ± 11.23	57.41 ± 10.46	0.48(0.49)
肿瘤大小(cm)	7.51 ± 4.49	4.05 ± 2.22	3.95(0.001)*	7.14 ± 5.29	5.30 ± 3.06	2.09(0.04)*
TNM 分期						
I	9	9	4.62(0.041)*	11	7	0.59
II/III	64	20		57	27	
转移	24	8	0.274(0.65)	23(33.8)	9(26.5)	0.50
复发	6	1	0.838(0.67)	4(5.9)	3(8.8)	0.68
绝经	38	16	0.081(0.83)	34(50.0)	20(58.8)	0.53

注: * $P < 0.05$

表 3 Leptin 与 OBR 相互作用及临床病理特征分析

临床病理特征	Leptin(+)			Leptin(-)		
	OBR(+)	OBR(-)	$t/\chi^2(P)$	OBR(+)	OBR(-)	$t/\chi^2(P)$
n	51	22		17	12	
年龄(岁)	54.33 ± 10.97	57.50 ± 11.86	0.007(0.93)	53.06 ± 12.27	57.25 ± 7.71	1.99(0.17)
肿瘤大小(cm)	8.24 ± 4.76	5.83 ± 3.31	5.14(0.03)*	3.86 ± 2.16	4.33 ± 2.36	0.05(0.82)
TNM 分期						
I	8	1	6.31(0.04)*	3	6	8.06(0.02)*
II/III	43	21		14	6	
转移	18	6	0.73(0.69)	5	3	0.33(0.85)
复发	3	3	2.19(0.34)	1	0	1.12(0.57)
绝经	24	14	1.79(0.41)	10	6	0.30(0.86)

注: * $P < 0.05$

3 讨论

近年来肥胖的发生率越来越高,使其成为一个重要的医学和社会问题。有研究表明肥胖增加卵巢癌患病率的风险^[7]。Mendez-Lopez 等^[8]曾研究得到 OBR 在卵巢癌的血清和组织中的表达明显高于子宫内膜癌和正常人群。本文结果显示 Leptin 和 OBR 在卵巢癌中的阳性率分别为 71.57% (73/102) 和 66.67% (68/102),均提示 Leptin 和 OBR 在卵巢癌中高表达。另外在我们结果显示,Leptin 及其受体共同表达率为 50%。虽然 Leptin 与其受体之间的表达没有明显的统计学意义,但在其他肿瘤中两者的共同表达存在着联系,如在乳头状甲状腺癌中^[8]。Lu 研究认为 Leptin 的表达可以作为判断卵巢癌的候选血清标志物^[9],尤其在 2 型卵巢癌中更为明显。

本文结果显示在卵巢癌中 Leptin 和 OBR 的表达均与肿瘤大小有关。一些研究者在其他肿瘤研究中表明 Leptin 可能促进肿瘤增殖和抑制细胞凋亡,也证实了 Leptin 及其受体与某些分子和机制有关^[10]。Kato 等^[11]在卵巢癌细胞系中研究发现 Leptin 可以刺激细胞的迁移、浸润,并维护细胞的肿瘤特性。

研究还发现 Leptin 的表达与卵巢癌的肿瘤分期有关。在 II/III 期中 Leptin 的表达明显高于 I 期。Grabowskiz^[12]也在卵巢癌患者中研究得到血清中 Leptin 在高分化与低分化肿瘤之间的表达有明显差异。另外,Grabowskiz 还发现在第 1 次化疗后血清中 Leptin 表达降低,可能影响患者的预后和生存。Uddin^[13]发现 OBR 的高表达与卵巢癌的低生存率有关。

本文进一步证实 Leptin 和 OBR 在卵巢癌中的表达,并且证明了 Leptin 和 OBR 表达与肿瘤的大小相关,与肿瘤分期有关,为探明 Leptin 和 OBR 在卵巢癌的作用机制提供了新的理论依据。Leptin 可能成为诊断肿瘤、治疗和评估预后的新的靶点或标志物。

参考文献:

[1] Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics, 2010 [J]. CA Cancer J Clin, 2010, 60 (5): 277-300. DOI: 10.3322/caac.20073.
 [2] Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue[J].

Nature, 1994, 372 (6505): 425-432. DOI: 10.1038/372425a0.
 [3] 袁勇,王晓敏,陆建荣,等. Leptin 对子宫颈癌 Hela 细胞生物学行为的影响及机制[J]. 临床与实验病理学杂志, 2012, 28 (2): 162-165. DOI: 10.3969/j.issn.1001-7399.2012.02.012.
 [4] Tessitore L, Vizio B, Pesola D, et al. Adipocyte expression and circulating levels of leptin increase in both gynaecological and breast cancer patients[J]. Int J Oncol, 2004, 24 (6): 1529-1535.
 [5] Stolzenberg-Solomon RZ, Newton CC, Silverman DT, et al. Circulating leptin and risk of pancreatic cancer: a pooled analysis from 3 cohorts [J]. Am J Epidemiol, 2015, 182 (3): 187-197. DOI: 10.1093/aje/kwv041.
 [6] 侯森,崔文,张国安,等. OBR 在甲状腺乳头状癌中的表达与临床关系研究[J]. 济宁医学院学报, 2012, 35 (6): 402-404.
 [7] Protani MM, Nagle CM, Webb PM. Obesity and ovarian cancer survival: a systematic review and meta-analysis [J]. Cancer Prev Res (Phila), 2012, 5 (7): 901-910. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-12-0048.
 [8] Méndez-López LF, Dávila-Rodríguez MI, Zavala-Pompa A, et al. Expression of leptin receptor in endometrial biopsies of endometrial and ovarian cancer patients [J]. Biomed Rep, 2013, 1 (4): 659-663. DOI: 10.3892/br.2013.125.
 [9] Lu D, Kuhn E, Bristow RE, et al. Comparison of candidate serologic markers for type I and type II ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol, 2011, 122 (3): 560-566. DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.05.039.
 [10] Stattin P, Sderberg S, Hallmans G, et al. Leptin is associated with increased prostate cancer risk: a nested case-referent study [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86 (3): 1341-1345. DOI: 10.1210/jcem.86.3.7328.
 [11] Kato S, Abarzua-Catalan L, Trigo C, et al. Leptin stimulates migration and invasion and maintains cancer stem-like properties in ovarian cancer cells: an explanation for poor outcomes in obese women [J]. Oncotarget, 2015, 6 (25): 21100-21119. DOI: 10.18632/oncotarget.4228.
 [12] Grabowski J P, Markowska A, Markowska J. Evaluation of leptin serum concentrations during surgery and first-line chemotherapy in primary epithelial ovarian cancer patients [J]. Współczesna Onkologia, 2014, 5: 318-322. DOI: 10.5114/wo.2014.46323.
 [13] Uddin S, Bu R, Ahmed M, et al. Overexpression of leptin receptor predicts an unfavorable outcome in Middle Eastern ovarian cancer [J]. Mol Cancer, 2009, 8 (1): 74. DOI: 10.1186/1476-4598-8-74.

(收稿日期 2016-12-20)

(责任编辑:甘慧敏)