



DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2019.180391

http://xbyxb.csu.edu.cn/xbwk/fileup/PDF/2019121344.pdf

Vasohibin-1, MACC1和KAI1在浆液性卵巢癌中的表达及其临床意义

俞岚¹, 毛旭¹, 焦云杰², 宋文庆¹, 王丹娜¹

(1. 蚌埠医学院第一附属医院病理科, 蚌埠医学院病理学教研室, 安徽省感染与免疫重点实验室;

2. 蚌埠医学院临床医学系, 安徽 蚌埠 233030)

[摘要] 目的: 探讨浆液性卵巢癌中血管生成抑制蛋白-1(vasohibin-1)、结肠癌转移相关蛋白1(metastasis-associated in colon cancer-1, MACC1)和抗癌1号蛋白(KAI1)表达之间的关系及其临床意义。方法: 收集124例卵巢浆液性癌(卵巢浆液性癌组)和30例卵巢浆液性囊腺瘤(卵巢浆液性囊腺瘤组)术后组织标本, 采用免疫组织化学ElivisionTM法检测所有肿瘤组织中vasohibin-1, MACC1和KAI1蛋白的表达情况。结果: 卵巢浆液性癌组vasohibin-1和MACC1蛋白的阳性表达率分别为48.4%和58.1%, 均高于卵巢浆液性囊腺瘤组(分别为10.0%和13.3%); 而卵巢浆液性癌组KAI1蛋白阳性表达率为33.9%, 低于浆液性囊腺瘤组(86.7%), 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$); 3种蛋白的表达与浆液性卵巢癌的病理组织学分级、国际妇产科联盟(Federation International of Gynecology and Obstetrics, FIGO)分期以及盆腔淋巴结转移有关(均 $P<0.05$); KAI1蛋白的表达与vasohibin-1和MACC1的表达呈负相关(r 值分别为-0.500和-0.600, 均 $P<0.01$), 同时, vasohibin-1与MACC1蛋白的表达呈正相关($r=0.518$, $P<0.01$)。Kaplan-Meier生存分析表明: vasohibin-1和MACC1的过表达以及KAI1的低表达均与患者的生存率有关, vasohibin-1和MACC1表达阳性及KAI1表达阴性的患者生存率明显低于vasohibin-1和MACC1表达阴性及KAI1表达阳性的患者(均 $P<0.05$)。多因素分析表明: FIGO分期、vasohibin-1和KAI1蛋白的表达是影响浆液性卵巢癌根治术后患者预后的独立因素(RR值分别为2.185, 3.893, 0.413; 95% CI分别为1.263~3.779, 2.190~6.921, 0.251~0.681; 均 $P<0.05$)。结论: 浆液性卵巢癌组织中vasohibin-1和MACC1的表达上调以及KAI1的表达下调与肿瘤的分化程度、临床分期、转移和预后等因素相关, 这些指标的联合检测可作为判断浆液性卵巢癌患者肿瘤演进及生存预后的重要指标。

[关键词] 浆液性卵巢癌; 血管生成抑制蛋白-1; 结肠癌转移相关蛋白1; 抗癌1号蛋白; 预后

Expression of vasohibin-1, MACC1 and KAI1 proteins in serous ovarian cancer and their clinical significance

YU Lan¹, MAO Xu¹, JIAO Yunjie², SONG Wenqing¹, WANG Danna¹

(1. Department of Pathology, First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College; Department of Pathology,

Bengbu Medical College; Anhui Key Laboratory of Infection and Immunology;

2. Department of Clinical Medicine, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

收稿日期(Date of reception): 2018-06-29

第一作者(First author): 俞岚, Email: yulan790210@163.com, ORCID: 0000-0002-0251-1467

通信作者(Corresponding author): 俞岚, Email: yulan790210@163.com, ORCID: 0000-0002-0251-1467

基金项目(Foundation item): 安徽省高校自然科学研究重点项目(KJ2017A224); 国家级大学生创新训练项目(201610367015)。This work was supported by the Nature Science Key Program of College and the University of Anhui Province (KJ2017A224) and the National College Student Innovation Training Program (201610367015), China.

ABSTRACT

Objective: To examine the expression of vasohibin-1, metastasis-associated in colon cancer-1 (MACC1) and KAI1 proteins in serous ovarian cancer and their clinical significance.

Methods: In 124 specimens of serous ovarian cancer (serous ovarian cancer group) and 30 specimens of ovarian serous cystadenoma (ovarian serous cystadenoma group), the expression of vasohibin-1, MACC1 and KAI1 proteins were detected by immunohistochemistry Elivision™ method.

Results: In the serous ovarian cancer group, the positive rates of vasohibin-1 and MACC1 proteins were 48.4% and 58.1%, respectively, which were both higher than those in the ovarian serous cystadenoma group (10.0% and 13.3%, respectively); while the positive rate of KAI1 protein in the serous ovarian cancer group was 33.9%, which was lower than that in the ovarian serous cystadenoma group (86.7%), there were significant differences between the 2 groups (all $P < 0.05$). In the serous ovarian cancer group, the expression of the 3 proteins were closely related to the pathological grade, Federation International of Gynecology and Obstetrics (FIGO) stage and pelvic lymph node metastasis (all $P < 0.05$). The KAI1 protein was negatively correlated with the levels of vasohibin-1 and MACC1 ($r = -0.500, -0.600$, respectively, both $P < 0.01$); while there was a positive correlation between the vasohibin-1 and the MACC1 ($r = 0.518, P < 0.01$). Kaplan-Meier survival analysis showed that the over-expression of vasohibin-1, MACC1 and the low-expression of KAI1 protein were related to the survival rates (all $P < 0.05$). Multi-factor analysis showed that the expression of vasohibin-1, KAI1 protein and the FIGO stage were independent prognosis factors for radical operation of serous ovarian cancer (RR=2.185, 3.893, 0.413; 95% CI=1.263–3.779, 2.190–6.921, 0.251–0.681; all $P < 0.05$).

Conclusion: The up-regulation of vasohibin-1, MACC1 and down-regulation of KAI1 in serous ovarian cancer are related to the tumor differentiation, clinical stage, metastasis and prognosis. Combined detection of these indexes is useful in predicting the progression and prognosis of serous ovarian cancer.

KEY WORDS

serous ovarian cancer; vasohibin-1; metastasis-associated in colon cancer-1; KAI1 protein; prognosis

卵巢癌是病死率最高的一种妇科恶性肿瘤, 同时也是造成女性癌症死亡的第5大常见原因^[1]。全球每年约有20万人被诊断为卵巢癌, 约12.5万人因此死亡^[2]。据估计, 2015年我国约有新发卵巢癌病例5.21万, 造成患者死亡约2.25万例^[3]。卵巢癌中85%~90%为上皮性卵巢癌(epithelial ovarian cancer, EOC), 具体又可分为浆液性癌、黏液性癌、子宫内膜样癌和透明细胞癌等诸多亚型, 其中浆液性癌占EOC总病例数的75%~80%^[4]。由于卵巢癌起病隐匿, 所以能否进行早期的诊断和治疗成为临床面临的最大挑战。约70%的卵巢癌患者就诊时已是肿瘤进展期, 50%的患者已伴有腹腔扩散和腹水形成, 治疗效果不佳, 预后极差, 5年生存率低于30%^[5]。

血管形成是所有肿瘤生长和恶性进展的必需条件, 血管形成过程在卵巢癌通过腹膜扩散的特征性增殖模式中发挥关键性作用, 因此可以通过

靶向这一过程来治疗卵巢癌^[6]。血管生成抑制蛋白-1(vasohibin-1)是一种由内皮细胞合成的血管生成抑制因子, 也是迄今发现的唯一一种通过负反馈调节方式参与血管生成的调节因子, 其功能是增加内皮细胞对压力的耐受性, 此功能对维持血管的完整性至关重要^[7]。Vasohibin-1可以被血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和成纤维生长因子-2(fibroblast growth factor, FGF-2)等因子诱导, 抑制血管内皮细胞的增殖以及新生血管的形成。已有研究^[8]显示: vasohibin-1可以通过抑制人卵巢癌细胞株SKOV-3荷瘤模型小鼠的血管生成而抑制卵巢癌的生长和腹膜播散, 并延长宿主的存活时间。结肠癌转移相关蛋白1(metastasis-associated in colon cancer-1, MACC1)基因是一种癌基因, 最初发现于结肠癌病灶中, 其表达与结肠癌的发生和转移密切相关^[9]。MACC1基因定位于肝细胞生长因子受体c-Met上游,

在肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)/c-Met信号通路调控中发挥核心作用, 当人体出现该信号的异常会促进肿瘤的发生, 甚至导致肿瘤的侵袭和转移^[10]。抗癌1号蛋白(KAI1)基因是1995年由Dong等^[11]研究发现的一种新型肿瘤转移抑制基因, 其主要作用是通过影响瘤细胞之间的聚集、黏附、运动以及信号转导等诸多方面, 参与细胞的生长调节。KAI1蛋白基因在乳腺、前列腺、胰腺、膀胱等正常的上皮组织中均有丰富的表达, 而在对应的肿瘤组织中则出现表达下调或缺失, 这种表达水平的变化与肿瘤的侵袭和转移有关^[12]。KAI1蛋白基因也可以通过抑制VEGF的分泌, 减少肿瘤新生血管的产生, 最终抑制肿瘤细胞的浸润和转移^[13]。

目前, 国内外有关vasohibin-1, MACC1和KAI1蛋白的表达与浆液性卵巢癌恶性进展之间的关系及其相关机制的研究较少。本研究通过免疫组织化学方法检测124例浆液性卵巢癌组织中vasohibin-1, MACC1和KAI1蛋白的表达, 分析三者之间的相互关系, 探讨其表达与浆液性卵巢癌侵袭、转移和预后的关系。

1 资料与方法

1.1 标本与患者资料

收集2008年1月至2011年12月期间安徽省蚌埠医学院第一附属医院病理科存档石蜡包埋组织标本154例, 其中浆液性卵巢癌124例(浆液性卵巢癌组), 患者术前均未行放射治疗(以下简称放疗)、化学治疗(以下简称化疗)及其他抗肿瘤治疗; 卵巢浆液性囊腺瘤标本30例(卵巢浆液性囊腺瘤组)。所有入选病例均具备完整的临床、病理及随访资料, 随访至患者死亡或截止至2016年10月, 时间为6~105个月, 患者年龄22.0~76.0(中位年龄52.6)岁, ≥ 53 岁者60例, < 53 岁者64例。肿瘤组织平均长径(D)为6.25 cm, $D \geq 6.0$ cm者56例, $D < 6.0$ cm者68例。依据国际妇产科联盟(Federation International of Gynecology and Obstetrics, FIGO)制订的2014卵巢癌FIGO手术-病理分期, 早期(FIGO I+II期)癌53例, 晚期(FIGO III+IV期)癌71例; 高级别浆液性癌58例, 低级别浆液性癌66例。35例患者伴有盆腔淋巴结转移, 50例伴腹水, 35例伴腹腔种植。本实验在经蚌埠医学院伦理委员会批准后进行。所有入选病例的组织病理学切片均经过复阅及确诊后选取存档的石蜡块进行切片实验。

另外, 根据卵巢浆液性癌患者年龄(≥ 53 岁组与 < 53 岁组)、肿瘤直径(≥ 6.0 cm组与 < 6.0 cm组)、肿瘤分化程度(高级别浆液性癌组与低级别浆液性癌组)、FIGO分期(I+II期组与III+IV期组)、盆腔淋巴结转移

(转移组与无转移组)、腹水(腹水组与无腹水组)、腹腔种植(种植组与无种植组)以及vasohibin-1表达(阳性组与阴性组)、MACC1表达(阳性组与阴性组)、KAI1蛋白表达(阳性组与阴性组)等因素进行分组, 进行临床病理学分析和Cox回归分析。

1.2 试剂

实验所需兔抗人vasohibin-1多克隆抗体及兔抗人MACC1多克隆抗体均购自美国Abcam公司; 鼠抗人KAI1蛋白单克隆抗体、ElivisionTM plus试剂盒及DAB显色试剂盒均购自福州迈新生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组织化学方法

两组标本离体后均经4%中性甲醛溶液固定和石蜡包埋处理, 以4 μm 厚度进行连续切片, 烤片后再置于二甲苯以及梯度浓度的乙醇溶液中脱蜡至水洗。实验中使用的免疫组织化学染色法严格依照ElivisionTM plus试剂盒说明书操作步骤进行。最后切片经过DAB显色、水洗, 再以苏木精溶液复染细胞核、盐酸乙醇溶液分化、返蓝、脱水透明, 并使用树胶封片。实验染色过程中, 同时设立阴性对照组(以PBS液替代一抗进行滴加处理)及阳性对照组(选取已知的vasohibin-1, MACC1和KAI1蛋白染色阳性组织切片进行操作)。

1.3.2 免疫组织化学结果判定

Vasohibin-1和MACC1染色阳性均为肿瘤细胞的胞质内出现黄色或棕黄色颗粒; KAI1蛋白染色阳性则是肿瘤细胞的细胞质和细胞膜出现黄色或棕黄色颗粒。上述3个标记的免疫组织化学结果主要通过细胞染色强度和阳性率细胞比例分值综合计分^[14], 即肿瘤细胞不着色记为0分, 淡黄色记为1分, 黄色记为2分, 棕黄色记为3分; 随机选择10个高倍视野计算出阳性肿瘤细胞百分比, $< 10\%$ 为0分, $11\% \sim 25\%$ 为1分, $26\% \sim 50\%$ 为2分, $51\% \sim 75\%$ 为3分, $> 75\%$ 为4分。两个计数分值相乘为积分结果, < 3 分为阴性, ≥ 3 分为阳性。由2位高年资病理医师采用独立双盲法来判定实验中的所有免疫组织化学标记结果。

1.4 统计学处理

采用SPSS 20.0统计软件进行统计学分析。Vasohibin-1, MACC1和KAI1蛋白在卵巢浆液性癌和浆液性囊腺瘤组织的表达以及与各临床病理因素的关系采用 χ^2 检验; 卵巢浆液性癌中3种蛋白表达的相关性采用Spearman等级相关检验, 表达阳性组与阴性组之间生存分析使用Kaplan-Meier法, 组间比较使用log-rank检验, 并采用Cox回归模型进行多因素分

析, 检验水准均为 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 卵巢浆液性癌中vasohibin-1的表达及其与各临床病理因素之间的关系

卵巢浆液性癌组和浆液性囊腺瘤组vasohibin-1的阳性表达率分别为48.4%(60/124)和10.0%(3/30), 两组间差异有统计学意义($P<0.01$)。Vasohibin-1的阳

性表达率在高级别浆液性癌组要高于低级别浆液性癌组($P<0.05$); 临床分期III+IV组vasohibin-1的阳性表达率显著高于I+II组, 差异有统计学意义($P<0.01$); 同时, 伴有盆腔淋巴结转移组的vasohibin-1阳性表达率也要高于无转移组, 差异亦具有统计学意义($P<0.01$)。Vasohibin-1阳性表达率与浆液性卵巢癌患者的年龄、肿瘤大小以及患者是否伴有腹水和腹腔种植等因素之间差异均无统计学意义(均 $P>0.05$; 图1, 表1)。

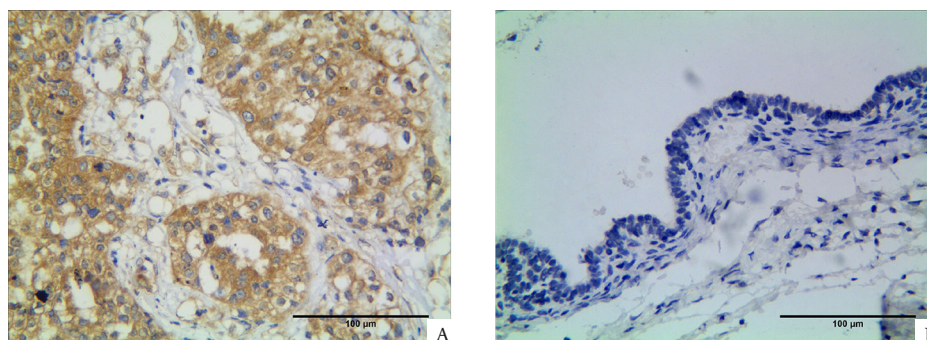


图1 Vasohibin-1在卵巢浆液性癌组和浆液性囊腺瘤组中的表达(Elivision™, ×400)

Figure 1 Expression of vasohibin-1 in the serous ovarian cancer group and the ovarian serous cystadenoma group (Elivision™, ×400)

A: Serous ovarian cancer group; B: Ovarian serous cystadenoma group. Scale bar is 100 μm

表1 124例浆液性卵巢癌组织中vasohibin-1, MACC1和KAI1蛋白的表达与临床病理因素的关系

Table 1 Relationship of the expression of vasohibin-1, MACC1, KAI1 proteins with the clinicopathologic factors in 124 patients with serous ovarian cancer

临床病理因素	KAI1蛋白		Vasohibin-1		MACC1	
	阳性/[例数(%)]	P	阳性/[例数(%)]	P	阳性/[例数(%)]	P
年龄/岁						
<53	27(42.2)	0.058	29(45.3)	0.069	34(53.1)	0.278
≥53	15(25.0)		35(58.3)		38(63.3)	
直径/cm						
<6.0	26(38.2)	0.341	32(47.1)	0.284	40(58.8)	0.857
≥6.0	16(28.6)		32(57.1)		32(57.1)	
分级						
高级别浆液性癌	13(22.4)	0.014	36(62.1)	0.032	40(69.0)	0.029
低级别浆液性癌	29(43.9)		28(42.4)		32(48.5)	
FIGO分期						
I+II	25(47.2)	0.008	15(28.3)	<0.001	22(41.5)	0.002
III+IV	17(23.9)		49(69.0)		50(70.4)	
淋巴结转移						
有	5(14.3)	0.006	27(77.1)	0.001	27(77.1)	0.008
无	37(41.2)		37(41.6)		45(50.6)	
腹水						
有	17(34.0)	1.000	24(48.0)	0.584	28(56.0)	0.751
无	25(33.8)		40(54.1)		44(59.5)	
种植						
有	12(34.3)	1.000	20(57.1)	0.550	19(54.3)	0.687
无	30(33.7)		44(49.4)		53(59.6)	

2.2 MACC1在卵巢浆液性癌组织中的表达及其与临床病理因素的关系

MACC1蛋白在浆液性卵巢癌组中的阳性表达率为58.1%(72/124),而在浆液性囊腺瘤组中的阳性表达率为13.3%(4/30),差异有统计学意义($P<0.01$)。高级别浆液性卵巢癌组MACC1的阳性表达率高于低级别浆液性卵巢癌组,差异有统计学意义($P<0.05$);临

床分期III+IV的浆液性卵巢癌组MACC1阳性表达率高于I+II期,差异有统计学意义($P<0.01$);伴有盆腔淋巴结转移组MACC1蛋白的阳性表达率亦高于无转移组,差异有统计学意义($P<0.01$)。MACC1蛋白的阳性表达率与浆液性卵巢癌组患者的年龄、肿瘤直径、有无腹水以及有无腹腔种植之间差异均无统计学意义(均 $P>0.05$;图2,表1)。

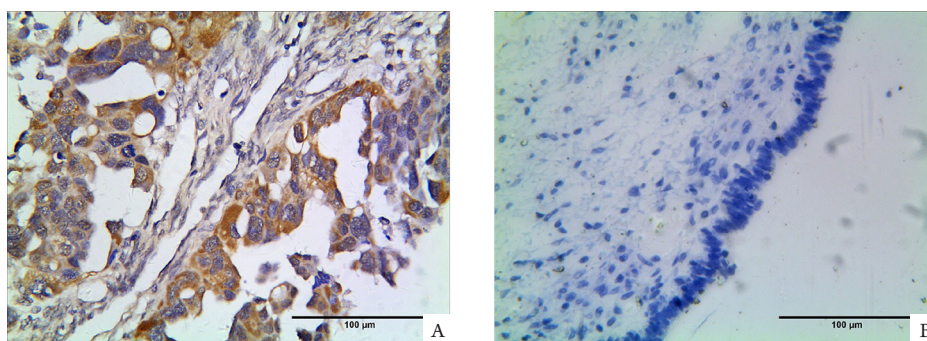


图2 MACC1蛋白在卵巢浆液性癌组和浆液性囊腺瘤组中的表达(Elivision™, ×400)

Figure 2 Expression of MACC1 protien in the serous ovarian cancer group and the ovarian serous cystadenoma group (Elivision™, ×400)

A: Serous ovarian cancer group; B: Ovarian serous cystadenoma group

2.3 KAI1蛋白在卵巢浆液性癌中的表达及其与临床病理因素的关系

浆液性卵巢癌组KAI1蛋白阳性表达率为33.9%(42/124),而卵巢浆液性囊腺瘤组KAI1的阳性表达率为86.7%(26/30),两组间差异有统计学意义($P<0.01$)。KAI1蛋白的表达与卵巢浆液性癌组患者的

年龄、肿瘤的大小以及有无腹水和有无腹腔种植之间差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。随着浆液性卵巢癌组患者组织学级别的增高、FIGO分期的增加以及盆腔淋巴结的转移,肿瘤组织KAI1蛋白阳性表达率显著降低,组间差异均有统计学意义(分别 $P<0.05$ 或 $P<0.01$;图3,表1)。

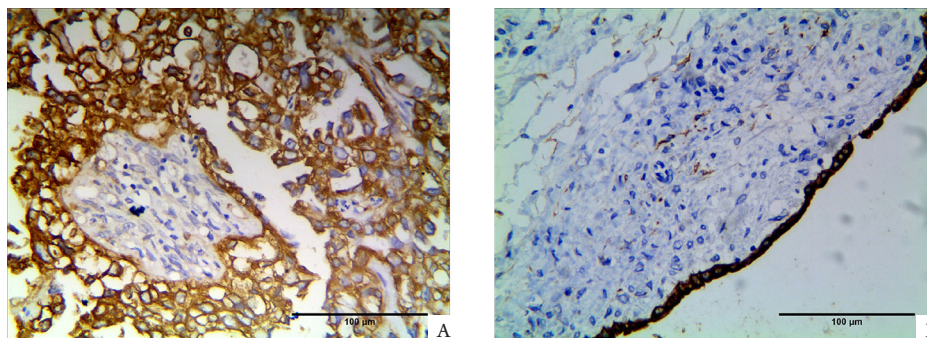


图3 KAI1蛋白在卵巢浆液性癌组和浆液性囊腺瘤组中的表达(Elivision™, ×400)

Figure 3 Expression of KAI1 protien in the serous ovarian cancer group and the ovarian serous cystadenoma group (Elivision™, ×400)

A: Serous ovarian cancer group; B: Ovarian serous cystadenoma group

2.4 卵巢浆液性癌组织中vasohibin-1, MACC1和KAI1蛋白表达水平之间的关系

Spearman相关分析显示: KAI1蛋白的表达分别与vasohibin-1和MACC1的表达呈负相关(r 值分别为-0.500和-0.600, 均 $P<0.01$); vasohibin-1与MACC1的表达则呈正相关($r=0.518$, $P<0.01$; 表2)。

2.5 Cox回归分析

将卵巢浆液性癌患者各分组指标带入Cox模型进行分析, 结果提示: FIGO分期、vasohibin-1和KAI1蛋白的表达均为影响浆液性卵巢癌患者生存时间的独立预后因素(表3)。

2.6 生存分析

本次实验患者5年总生存率为38.7%。Kaplan-Meier生存分析显示: vasohibin-1表达阳性组与阴性组患者5年生存率分别为4.7%和75.0%, 阳性组的生存率低于阴性组, 两组生存率差异有统计学意义($P<0.01$, 图4A); MACC1表达阳性组与阴性组5年生存率分别为13.9%和73.1%, 阳性组的生存率亦低于阴性组, 两组间差异有统计学意义($P<0.01$, 图4B); KAI1蛋白表达阳性组与阴性组5年生存率分别为83.3%和15.9%, 组间生存率差异有统计学意义, KAI1蛋白表达阳性组患者生存率高于阴性组($P<0.01$, 图4C)。

表2 124例浆液性卵巢癌组织中vasohibin-1, MACC1及KAI1蛋白的表达与临床病理因素的关系

Table 2 Relationship of the expression of vasohibin-1, MACC1, KAI1 protein with the clinicopathologic factors in 124 patients with serous ovarian cancer

变量	Vasohibin-1		r	MACC1		r
	阴性	阳性		阴性	阳性	
KAI1蛋白						
阴性	25	57	-0.500	17	65	-0.600
阳性	35	7		35	7	
MACC1			0.518			
阴性	41	11				
阳性	19	53				

均 $P<0.01$

表3 浆液性卵巢癌患者的多因素生存分析

Table 3 Multivariate survival analysis in patients with serous ovarian cancer

协变量	B	SE	RR	95% CI	P
FIGO分期	0.782	0.280	2.185	1.263~3.779	0.005
Vasohibin-1	1.359	0.294	3.893	2.190~6.921	<0.001
KAI1蛋白	-0.883	0.255	0.413	0.251~0.681	0.001

均 $P<0.01$

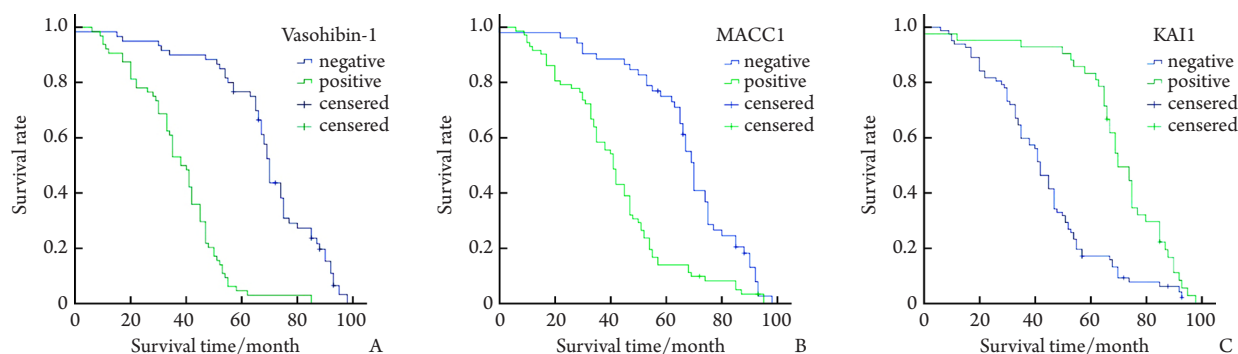


图4 浆液性卵巢癌患者生存曲线

Figure 4 Survival curves in patients with serous ovarian cancer

A: Vasohibin-1; B: MACC1; C: KAI1 protein

3 讨论

血管生成,即新生血管网络的形成过程。肿瘤组织内血液供应的有效建立,可为瘤细胞提供氧气、营养物质和各种生长因子,可促进肿瘤快速的生长,也是造成肿瘤细胞直接进入血管腔而导致实体瘤发生侵袭演进的潜在途径之一。通常情况下,血管形成过程受到机体血管生长的刺激因子和抑制因子的调节,这种调节的平衡决定了血管生成过程的启动与否^[15]。Vasohibin-1作为一种新近被发现的由血管内皮细胞合成的内源性负反馈调节剂,它能选择性地作用于血管内皮细胞,并在VEGF和FGF-2的诱导下,通过激活蛋白激酶C- δ (protein kinase C- δ , PKC- δ)信号通路而诱导vasohibin-1产生,最终抑制血管的形成^[16]。纯化的vasohibin-1蛋白可以抑制体外培养的人脐静脉内皮细胞的迁移和血管网络的形成。在多种肿瘤组织中,vasohibin-1也被证实具有抗血管生成以及预防肿瘤生长和转移的作用^[17]。近来有学者^[18-22]报道:在食管癌、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌和肝细胞癌等多种恶性肿瘤中,vasohibin-1的表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移和TNM分期有关,可视为这些肿瘤患者的预后不良因素,这一观点似乎与其血管生成抑制蛋白的作用相矛盾。Kimura等^[23]通过进一步的研究揭示:vasohibin-1是表达在血管内皮细胞出芽端之后的终止序列,其作用是中断血管的生长,而并非是在血管萌芽前抑制其出芽。因此,vasohibin-1在多种恶性肿瘤中呈现表达升高状态,很可能是VEGF等血管生成刺激因子在肿瘤组织高表达的一种正反馈效应。本实验结果显示:卵巢浆液性癌组织vasohibin-1蛋白的阳性表达率为48.4%,其阳性率与患者不同的临床分期、肿瘤的组织学级别和淋巴结转移之间的差异具有统计学意义,并且有vasohibin-1蛋白阳性表达的患者具有临床分期晚、病理组织学级别高、更易于发生盆腔淋巴结转移的特点。生存分析显示:vasohibin-1蛋白阳性表达患者的生存时间显著低于阴性表达患者,这表明具有vasohibin-1蛋白高表达的卵巢癌侵袭性更强,vasohibin-1高表达可以作为浆液性卵巢癌患者预后的预测指标之一,此结果与上述报道^[19-22]一致。

MACC1基因定位于人类染色体7p21.1,由于该基因对结肠癌细胞具有促进增殖、侵袭和转移的作用,并可作为结肠癌患者转移和生存预后的独立预测因素,因此得名。对于恶性肿瘤侵袭性生物学行为的形成和维持而言,MACC1主要通过转录调控下游癌基因、促进肿瘤血管形成、参与上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)过程以及激活相关信号通路等方式来实现。异常表达的MACC1

通过调控HGF/c-Met信号转导通路而参与肿瘤组织血管的形成过程,进而促进肿瘤的侵袭和转移。一方面,MACC1的表达上调可增强HGF/c-Met信号通路的活性,通过参与相关血管生成因子的分泌与调节,直接促进肿瘤血管的形成^[24];另一方面,在HGF的刺激下,瘤细胞细胞质内的转录因子扭曲蛋白(TWIST)进入细胞核参与EMT的转录调节过程,促进肿瘤细胞直接构成拟态血管(vasculogenic mimicry, VM)^[25]。本课题组在前期的相关实验^[26]中也证实,在上皮性卵巢癌中,MACC1的高表达与VM形成具有正相关关系。由此可见,MACC1在肿瘤的侵袭过程中与肿瘤血管的形成极为密切。此外,MACC1也可通过诱导糖原合成酶激酶3 β (glycogen synthase kinase, GSK3 β)的磷酸化,促进 β -链蛋白(β -catenin)进入细胞核,启动其下游靶基因细胞周期素D1(cyclin D1)、基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP9)等的转录,促进肿瘤的增殖及转移^[27]。在本研究中,MACC1蛋白的阳性表达与浆液性卵巢癌的组织学分级、FIGO分期和盆腔淋巴结转移均有关,但是与患者的年龄、肿瘤直径、腹水形成和腹腔种植等因素无关。生存分析显示:MACC1蛋白的阳性表达患者的生存时间要明显低于阴性表达患者,表明具有MACC1高表达的浆液性卵巢癌侵袭性强、转移率高,患者的生存期更短,预后更差。

KAI1基因是一种肿瘤转移抑制基因,最早从人前列腺癌杂交细胞中克隆得到,由于该基因转录编码的蛋白质与已知的CD82具有完全相同的结构,故又称其为KAI1/CD82基因。KAI1基因定位于人类染色体11p11.2,属于穿膜四超家族(transmembrane 4 superfamily, TM4SF)成员,该家族成员通过影响细胞之间以及细胞与细胞外基质之间的信号转导,参与细胞增殖、分化、黏附和运动的调节^[28-29]。体外研究^[30]表明:KAI1表达减少可引起细胞外基质中一些特定的黏附分子(如纤维黏连蛋白)的水平发生变化,进而降低了瘤细胞之间的相互作用力,使其运动活性增强,从而获得更多的侵袭和转移能力。KAI1被认为是多种人类恶性肿瘤转移的抑制基因^[31-32],可以通过控制 β -catenin在肿瘤细胞中的分布而调控Wnt信号通路^[33],也可通过抑制 β -catenin酪氨酸磷酸化过程和稳定E-钙黏素- β -catenin复合物,从而阻止肿瘤细胞从原发肿瘤部位产生播散^[34]。本实验免疫组织化学结果显示:KAI1蛋白在卵巢浆液性囊腺瘤的阳性表达率明显高于卵巢浆液性癌组织,差异有统计学意义。进一步的研究发现:随着癌组织分化程度的降低、FIGO期别的增加,KAI1蛋白的表达水平逐渐降低,并且在伴有盆腔淋巴结转移患者中的阳性表达率要显著低于不伴有转移患者的表达率,差异均有

统计学意义,提示KAI1蛋白表达水平的降低很可能参与了卵巢浆液性癌的侵袭和转移过程,这与其他研究者^[12-13, 31, 35]的实验结果相符。

本实验的多因素分析显示:FIGO分期、vasohibin-1和KAI1蛋白的表达均为影响浆液性卵巢癌患者生存预后的独立因素。Spearman等级相关分析显示:vasohibin-1与MACC1的表达呈正相关,而KAI1蛋白表达与vasohibin-1及MACC1表达均呈负相关。上述结果提示:3种蛋白表达水平的变化与浆液性卵巢癌侵袭演进之间可能存在某些内在联系。在恶性肿瘤增长至直径为1~2 μm 时,微环境所能提供的养分已不能再满足其快速生长,肿瘤内部出现缺血、缺氧,缺氧的刺激诱导肿瘤细胞合成并分泌大量VEGF,从而刺激血管内皮细胞不断增殖与迁移。尽管在肿瘤组织中vasohibin-1的作用是抑制其血管的形成,但在此过程中VEGF和vasohibin-1的表达失衡、VEGF的高表达通过正反馈效应刺激vasohibin-1的大量产生,促进大量基底膜缺乏、结构不健全的肿瘤血管生成;与此同时,肿瘤的快速生长刺激瘤细胞上调MACC1的表达,通过调控HGF/c-Met信号转导通路促进血管内皮的增殖以及EMT过程,共同促进肿瘤新生血管和VM的形成^[24-25]。众所周知,新生血管的产生是恶性肿瘤增殖、转移的必要条件,而这些血管的内皮细胞功能还不够健全,通透性较高,蛋白水解酶的作用亦较强,可导致组织基质的降解增加,因此瘤细胞的运动性增强;由于肿瘤组织中转移抑制基因KAI1的表达下调,可导致细胞间黏附力降低,移动能力增强,加上血流的快速冲击,瘤细胞很容易脱离原发部位,继而通过通透性增加的血管内皮间隙进入血管或淋巴管,造成侵袭和转移^[35]。同时,KAI1蛋白也能够通过与c-Met形成复合物或者直接抑制HGF活化的方式阻止MACC1的活化,抑制肿瘤细胞的迁移^[36]。因此,KAI1蛋白表达的减少可能会失去对MACC1活化和肿瘤血管淋巴管生成的抑制作用,从而促进瘤细胞侵袭和转移。另有研究^[27, 33]显示:MACC1和KAI1蛋白的异常表达都可以调控 β -catenin在瘤细胞中的分布,通过Wnt途径促进肿瘤细胞的转移发生。由此可见,在恶性肿瘤侵袭和转移的过程中,MACC1和KAI1蛋白很可能分别通过HGF/c-Met和Wnt/ β -catenin信号通路的相关分子促进肿瘤血管的新生,而vasohibin-1作为一种血管生成抑制蛋白则直接参与肿瘤血管的生成过程。因此,vasohibin-1,MACC1和KAI1蛋白对于恶性肿瘤侵袭和转移的发生可能具有协同作用,但其中涉及的具体分子机制还有待后续进一步的体外实验加以证实。

综上所述,卵巢浆液性癌组织KAI1表达的下调以及MACC1和vasohibin-1蛋白表达的上调均在其肿瘤

的侵袭和转移中发挥了极为重要的作用,这可为卵巢癌的早期诊断、预后评估以及靶向治疗提供新的思路。

利益冲突声明:作者声称无任何利益冲突。

参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(1): 7-30.
 - [2] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108.
 - [3] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
 - [4] Kim J, Coffey DM, Creighton CJ, et al. High-grade serous ovarian cancer arises from fallopian tube in a mouse model[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(10): 3921-3926.
 - [5] Oberaigner W, Minicozzi P, Bielska-Lasota M, et al. Survival for ovarian cancer in Europe: the across-country variation did not shrink in the past decade[J]. *Acta Oncologica*, 2012, 51(4): 441-453.
 - [6] Takahashi Y, Saga Y, Koyanagi T, et al. Vasohibin-1 expression inhibits advancement of ovarian cancer producing various angiogenic factors[J]. *Cancer Sci*, 2016, 107(5): 629-637.
 - [7] Takeda E, Suzuki Y, Sato Y. Age-associated downregulation of vasohibin-1 in vascular endothelial cells[J]. *Aging Cell*, 2016, 15(5): 885-892.
 - [8] Takahashi Y, Saga Y, Koyanagi T, et al. The angiogenesis regulator vasohibin-1 inhibits ovarian cancer growth and peritoneal dissemination and prolongs host survival[J]. *Int J Oncol*, 2015, 47(6): 2057-2063.
 - [9] Stein U, Walther W, Arlt F, et al. MACC1, a newly identified key regulator of HGF-MET signaling, predicts colon cancer metastasis[J]. *Nat Med*, 2009, 15(1): 59-67.
 - [10] Rolle CE, Kanteti R, Surati M, et al. Combined MET inhibition and topoisomerase I inhibition block cell growth of small cell lung cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(3): 576-584.
 - [11] Dong JT, Lamb PW, Rinker-Schaeffer CW, et al. KAI1, a metastasis suppressor gene for prostate cancer on human chromosome 11p11.2[J]. *Science*, 1995, 268(5212): 884-886.
 - [12] Miranti CK. Controlling cell surface dynamics and signaling how CD82 /KAI1 suppresses metastasis[J]. *Cell Signal*, 2009, 21(2): 196-211.
 - [13] 崔荣花, 陈剑群, 孙旻. 塞来昔布对肝癌HepG2细胞生长及KAI1/CD82蛋白表达的影响[J]. *世界华人消化杂志*, 2011, 19(13): 1336-1341.
- CUI Ronghua, CHEN Jianqun, SUN Min, et al. Celecoxib inhibits cell growth and up-regulates KAI1/CD82 protein expression in

- human hepatocellular carcinoma cell line HepG2[J]. *World Chinese Journal of Digestology*, 2011, 19(13): 1336-1341.
- [14] Wu S, Yu L, Wang D, et al. Aberrant expression of CD133 in nonsmall cell lung cancer and its relationship to vasculogenic mimicry[J]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 535.
- [15] Ribatti D. Novel angiogenesis inhibitors: addressing the issue of redundancy in the angiogenic signaling pathway[J]. *Cancer Treat*, 2011, 37(5): 344-352.
- [16] Heishi T, Hosaka T, Suzuki Y, et al. Endogenous angiogenesis inhibitor vasohibin1 exhibits broad-spectrum antilymphangiogenic activity and suppresses lymph node metastasis[J]. *Am J Pathol*, 2010, 176(4): 1950-1958.
- [17] Sato Y, Sonoda H. The vasohibin family: a negative regulatory system of angiogenesis genetically programmed in endothelial cells[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(1): 37-41.
- [18] 郭晓峰, 杨鲲鹏, 葛晓晴, 等. 食管鳞状细胞癌组织中VASH1蛋白的表达[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2014, 49(2): 150-152.
- GUO Xiaofeng, YANG Kunpeng, GE Xiaoqing, et al. Expression of VASH1 protein in esophageal squamous cell carcinoma tissue[J]. *Journal of Zhengzhou University. Medical Science*, 2014, 49(2): 150-152.
- [19] Yan Y, Shen Z, Ye Y, et al. A novel molecular marker of prognosis in colorectal cancer: Vasohibin-1[J]. *Med Oncol*, 2014, 31(2): 816.
- [20] Tamaki K, Moriya T, Sato Y, et al. Vasohibin-1 in human breast carcinoma: a potential negative feedback regulator of angiogenesis[J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(1): 88-94.
- [21] Kosaka T, Miyazaki Y, Miyajima A, et al. The prognostic significance of vasohibin-1 expression in patients with prostate cancer[J]. *Br J Cancer*, 2013, 108(10): 2123-2129.
- [22] Wang Q, Tian X, Zhang C, et al. Upregulation of vasohibin-1 expression with angiogenesis and poor prognosis of hepatocellular carcinoma after curative surgery[J]. *Med Oncol*, 2012, 29(4): 2727-2736.
- [23] Kimura H, Miyashita H, Suzuki Y, et al. Distinctive localization and opposed roles of vasohibin-1 and vasohibin-2 in the regulation of angiogenesis[J]. *Blood*, 2009, 113(19): 4810-4818.
- [24] Sun L, Duan J, Jiang Y, et al. Metastasis-associated in colon cancer-1 upregulates vascular endothelial growth factor-C/D to promote lymphangiogenesis in human gastric cancer[J]. *Cancer Lett*, 2015, 357(1): 242-253.
- [25] Wang L, Lin L, Chen X, et al. Metastasis-associated in colon cancer-1 promotes vasculogenic mimicry in gastric cancer by upregulating TWIST1/2[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(13): 11492-11506.
- [26] Yu L, Zhu B, Wu S, et al. Evaluation of the correlation of vasculogenic mimicry, ALDH1, KiSS-1, and MACC1 in the prediction of metastasis and prognosis in ovarian carcinoma[J]. *Diagn Pathol*, 2017, 12(1): 23.
- [27] Zhen T, Dai S, Li H, et al. MACC1 promotes carcinogenesis of colorectal cancer via β -catenin signaling pathway[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(11): 3756-3769.
- [28] Malik FA, Sanders AJ, Jiang WG. KAI-1/CD82, the molecule and clinical implication in cancer and cancer metastasis[J]. *Histol Histopathol*, 2009, 24(4): 519-530.
- [29] Yáñez-Mó M, Barreiro O, Gordon-Alonso M, et al. Tetraspanin-enriched microdomains: a functional unit in cell plasma membranes[J]. *Trends Cell Biol*, 2009, 19(9): 434-446.
- [30] Jackson P, Marreiros A, Russell PJ. KAI1 tetraspanin and metastasis suppressor[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, 37(3): 530-534.
- [31] Takeda T, Hattori N, Tokuhara T, et al. Adenoviral transduction of MRP-1/CD9 and KAI-1/CD82 inhibits lymph node metastasis in orthotopic lung cancer model[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(4): 1744-1749.
- [32] Wang G, Jiang H, Xu H, et al. Clinical significance of KAI1/CD82 protein expression in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(4): 1681-1686.
- [33] Chigita S, Sugiura T, Abe M, et al. CD82 inhibits canonical Wnt signalling by controlling the cellular distribution of β -catenin in carcinoma cells[J]. *Int J Oncol*, 2012, 41(6): 2021-2028.
- [34] Abe M, Sugiura T, Takahashi M, et al. A novel function of CD82/KAI-1 on E-cadherin-mediated homophilic cellular adhesion of cancer cells[J]. *Cancer Lett*, 2008, 266(2): 163-170.
- [35] 武世伍, 承泽农, 俞岚, 等. CD82/KAI1和HIF-1 α 在非小细胞肺癌中的表达及其与血管生成拟态的关系[J]. *中国肺癌杂志*, 2011, 14(12): 918-925.
- WU Shiwu, CHENG Zenong, YU Lan, et al. Expression of CD82/KAI1 and HIF-1 α in non-small cell lung cancer and their relationship to vasculogenic mimicry[J]. *Chinese Journal of Lung Cancer*, 2011, 14(12): 918-925.
- [36] Liu WM, Zhang F, Moshiah S, et al. Tetraspanin CD82 inhibits protrusion and retraction in cell movement by attenuating the plasma membrane-dependent actin organization[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e51797.

(本文编辑 傅希文)

本文引用: 俞岚, 毛旭, 焦云杰, 宋文庆, 王丹娜. Vasohibin-1, MACC1和KAI1在浆液性卵巢癌中的表达及其临床意义[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2019, 44(12): 1344-1352. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2019.180391

Cite this article as: YU Lan, MAO Xu, JIAO Yunjie, SONG Wenqing, WANG Danna. Expression of vasohibin-1, MACC1 and KAI1 proteins in serous ovarian cancer and their clinical significance[J]. *Journal of Central South University. Medical Science*, 2019, 44(12): 1344-1352. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2019.180391