

肿瘤多学科研究专题

上皮性卵巢癌组织中配对盒基因 8、波形蛋白表达
与临床病理特征及化疗后复发的关系

李由由, 卢丹

(扬州大学临床医学院 妇产科, 江苏 扬州, 215000)

摘要: 目的 探讨上皮性卵巢癌(EOC)组织中配对盒基因 8(PAX8)、波形蛋白与临床病理特征及化疗后复发的关系。方法 采用免疫组化法检测 86 例患者上皮性卵巢癌组织内的 PAX8、波形蛋白表达情况, 分析 PAX8、波形蛋白不同表达与患者临床病理特征及化疗后复发的关系。结果 PAX8、波形蛋白在上皮性卵巢癌中呈高表达, 阳性率分别为 81.4%、55.8%; PAX8、波形蛋白阳性表达患者肿瘤临床分期及发生淋巴结转移、腹水占比均高于阴性表达患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。化疗后复发的上皮性卵巢癌患者中, PAX8、波形蛋白阳性表达患者数量高于阴性表达患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。PAX8、波形蛋白共同表达阳性与上皮性卵巢癌患者化疗后复发具有显著相关性($P < 0.001$)。结论 PAX8、波形蛋白在上皮性卵巢癌中呈高表达, 对上皮性卵巢癌病变严重程度及预后评估具有一定价值。

关键词: 上皮性卵巢癌; 配对盒基因 8; 波形蛋白; 临床病理特征; 化疗; 复发

中图分类号: R 711.75; R 446.8 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2023)18-001-04 DOI: 10.7619/jcmp.20232092

Correlations of expression of paired-box gene
family 8 and vimentin in epithelial ovarian cancer
tissue with clinicopathologic features
and recurrence after chemotherapy

LI Youyou, LU Dan

(Department of Obstetrics and Gynecology, Clinical Medical College of Yangzhou
University, Yangzhou, Jiangsu, 215000)

Abstract: **Objective** To investigate relationships of paired-box gene family 8(PAX8) and vimentin in epithelial ovarian cancer (EOC) with clinicopathologic features and recurrence after chemotherapy. **Methods** Immunohistochemistry was used to detect the expression of PAX8 and vimentin in epithelial ovarian cancer tissues of 86 cases, and the relationships of PAX8 and vimentin with clinicopathologic features and recurrence after chemotherapy. **Results** PAX8 and vimentin were highly expressed in epithelial ovarian cancer, and their positive rates were 81.4% and 55.8%. The clinical stage, proportions of lymph node metastasis and ascites in patients with PAX8 and vimentin positive expression were higher than those with negative expression ($P < 0.05$). In patients with recurrent epithelial ovarian cancer after chemotherapy, the number of patients with both positive expression of PAX8 and vimentin was significantly higher in patients with negative expression ($P < 0.05$); positive co-expression of PAX8 and vimentin was significantly correlated with recurrence after chemotherapy in patients with epithelial ovarian cancer ($P < 0.001$). **Conclusion** PAX8 and vimentin are highly expressed in epithelial ovarian cancer, which has a certain value in evaluating the severity and prognosis of epithelial ovarian cancer.

Key words: epithelial ovarian cancer; paired-box gene family 8; vimentin; clinicopathologic features; chemotherapy; recurrence

收稿日期: 2023-06-30 修回日期: 2023-08-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(82072088); 江苏省中药局科技项目(YB201972);

扬州大学研究生科研与实践创新资助计划项目(KYCX21_3291)

通信作者: 卢丹, E-mail: ludan1968@126.com

上皮性卵巢癌(EOC)是卵巢恶性肿瘤中最常见的类型,病死率位居妇科恶性肿瘤的首位。目前手术治疗和以铂类药物为基础的联合化疗为主要治疗手段^[1]。虽然多数患者初次治疗反应较好,但 75% 的晚期卵巢癌患者 3 年内会出现肿瘤复发^[2],影响患者生存状态。配对盒基因 8(PAX8)是 Mullerian 管的正常发育所必需的,是促进肿瘤细胞增殖及上皮间质转化的重要介质^[3-4]。波形蛋白是中间丝蛋白家族中表达最广泛且高度保守的蛋白质之一,参与肿瘤细胞凋亡、上皮间质转化、血管生成等病理、生理过程^[5]。本研究探讨上皮性卵巢癌组织中 PAX8、波形蛋白表达水平与临床病理特征及化疗后复发的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

根据纳入及排除标准,选取 2018 年 1 月—2021 年 12 月于本院治疗并经病理确诊的 86 例上皮性卵巢癌患者为研究对象,患者年龄 33~75 岁,平均(56.1±9.7)岁。纳入标准:①术前未接受治疗者;②入院后接受手术治疗(全面分期术或肿瘤细胞减灭术)者;③术后接受铂类药物为基础的化疗≥4 次者;④临床及术后随访资料完整者。排除标准:①术前接受新辅助化疗患者;②合并其他肿瘤、严重基础疾病、自身免疫性疾病者;③临床病理资料不完整,未定期复查,失访患者。通过电话、门诊定期复查随访,随访截止时间为 2023 年 1 月 1 日,以患者复发为终点事件,随访期间复发 40 例,未复发 46 例;复发患者均为首次复发,通过临床表现、血清肿瘤标志物测定、超声或 CT 检查确诊。临床数据资料见表 1。

1.2 免疫组织化学法检测

手术切除标本经福尔马林固定和石蜡包埋,常规将标本均制备成厚度为 4 μm 的切片,按流程脱蜡至水,使用 3% 过氧化氢 20 min 阻断内源性过氧化物酶,随后进行抗原修复,一抗孵育过夜,温度 4℃。复温后 PBS 洗涤 3 次,3 min/次,加入二抗孵育,使用 DAB 盒显色,苏木素进行复染,氨水返蓝后冲洗,脱水、透明以及封片。PAX8 蛋白定位于细胞核中,其染色阳性表现为棕黄色或褐色颗粒。波形蛋白阳性染色为细胞质内出现淡黄色、棕黄色或棕褐色颗粒。使用 PBS 替代一抗为阴性对照。严格按照试剂盒说明书进行操作,试剂盒由福州迈新生物技术开发有限公司提

表 1 上皮性卵巢癌病例临床资料和病理特征

临床病理特征	分类	例数	百分比/%
年龄	≤50 岁	24	27.9
	>50 岁	62	72.1
病理类型	浆液性癌	56	65.1
	黏液性癌	9	10.5
	子宫内膜样癌	11	12.8
	透明细胞癌	10	11.6
临床分期	早期(I~II期)	35	40.7
	晚期(III~IV期)	51	59.3
分化程度	低分化	69	80.2
	中高分化	17	19.8
肿瘤直径	≤10 cm	50	58.1
	>10 cm	36	41.9
腹水	有	37	43.1
	无	49	56.9
淋巴结转移	有	36	41.9
	无	50	58.1
复发	是	40	46.5
	否	46	53.5

供。本研究获本院伦理委员会批准。

1.3 结果判读

高倍镜视野下根据细胞染色强度与阳性细胞百分比进行综合评分。①细胞染色强度评分:无色为 0 分;淡黄色为 1 分;棕色为 2 分;棕褐色为 3 分。②根据阳性细胞百分比进行评分:阳性细胞<10%为 0 分,10%~50%为 1 分,>50%~75%为 2 分,>75%为 3 分。③计算阳性细胞百分比得分与着色强度得分乘积,≥3 分为阳性表达,<3 分为阴性表达。结果判读由苏北人民医院 2 名高年资的病理医师在双盲情况下共同完成。

1.4 观察指标

根据门诊随访结果,通过临床症状评估、影像学检查和糖类抗原 125(CA125)水平等来评估肿瘤复发情况。满足下列 5 项指标中的任意 2 项可定义为肿瘤复发^[6]:①肿瘤标志物升高,CA125>35 U/mL 为阳性,人附睾蛋白 4(HE4)>72 pmol/L 为阳性;②影像学检查发现肿块;③查体发现肿块;④原因未明的肠梗阻;⑤胸腔积液或腹水。

1.5 统计学方法

使用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析,计数资料用[n(%)]表示,组间差异比较采用χ²检验。P<0.05 表示差异有统计学意义。

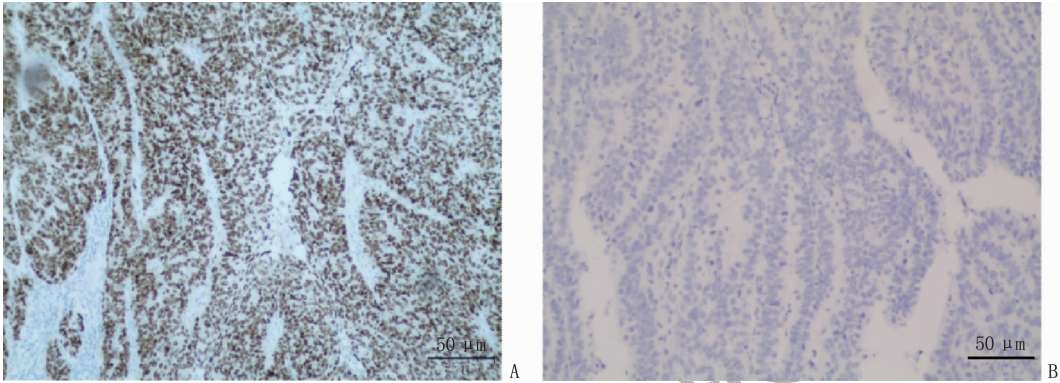
2 结果

2.1 PAX8、波形蛋白在卵巢癌中的表达情况

PAX8 定位于细胞核中,其染色阳性者细胞核染成棕黄色(图 1);波形蛋白染色阳性表现为

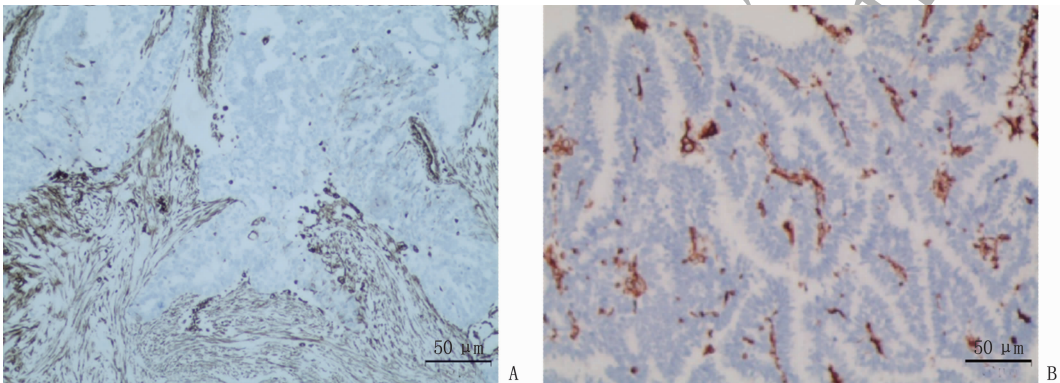
细胞质内出现淡黄色、棕黄色或棕褐色颗粒(图2);本研究纳入的86例卵巢癌组织中,PAX8呈

阳性表达70例,波形蛋白呈阳性表达48例,阳性率分别为81.4%、55.8%。



A: 上皮性卵巢癌中 PAX8 表达阳性; B: 上皮性卵巢癌中 PAX8 表达阴性。

图 1 上皮性卵巢癌中 PAX8 阳性及阴性表达(免疫组化法,放大 100 倍)



A: 上皮性卵巢癌中波形蛋白表达阳性; B: 上皮性卵巢癌中波形蛋白表达阴性。

图 2 上皮性卵巢癌中波形蛋白阳性及阴性表达(免疫组化法,放大 100 倍)

2.2 PAX8、波形蛋白表达与临床病理特征关系

PAX8、波形蛋白阳性表达均与肿瘤临床分期、腹水、淋巴结转移相关($P<0.05$),见表2、表3。

2.3 PAX8、波形蛋白与上皮性卵巢癌化疗后复发关系

截至随访日期,上皮性卵巢癌患者化疗后复

发40例,未复发46例,复发率46.5%。复发患者中,PAX8、波形蛋白阳性表达率高于阴性表达率,差异均有统计学意义($P<0.05$)。PAX8、波形蛋白共同表达阳性与上皮性卵巢癌复发有显著相关性($P<0.001$),见表4。

表 2 PAX8 在上皮性卵巢癌中表达情况

临床病理特征	分类	n	PAX8		阳性率/%	P
			阳性(n=70)	阴性(n=16)		
年龄	≤50岁	24	18	6	75.0	0.523
	>50岁	62	52	10	83.9	
病理类型	浆液性癌	56	47	9	83.9	0.085
	黏液性癌	9	9	0	100.0	
	子宫内膜样癌	11	7	4	63.7	
	透明细胞癌	10	7	3	70.0	
临床分期	早期(Ⅰ~Ⅱ期)	35	24	11	68.6	0.011
	晚期(Ⅲ~Ⅳ期)	51	46	5	90.2	
分化程度	低分化	69	59	10	85.5	0.104
	中高分化	17	11	6	64.7	
肿瘤直径	≤10 cm	50	40	10	80.0	0.695
	>10 cm	36	30	6	83.3	
腹水	有	37	36	1	97.3	<0.001
	无	49	34	15	69.4	
淋巴结转移	有	36	33	3	91.7	0.038
	无	50	37	13	74.0	

表 3 波形蛋白在上皮性卵巢癌中表达情况

病理特征	分类	n	波形蛋白		阳性率/%	P
			阳性(n=48)	阴性(n=38)		
年龄	≤50 岁	24	9	15	37.5	0.033
	>50 岁	62	39	23	62.9	
病理类型	浆液性癌	56	32	24	57.1	0.723
	黏液性癌	9	5	4	55.6	
	子宫内膜样癌	11	7	4	63.6	
	透明细胞癌	10	4	6	40.0	
临床分期	早期(Ⅰ~Ⅱ期)	35	15	20	42.9	0.045
	晚期(Ⅲ~Ⅳ期)	51	33	18	64.7	
分化程度	低分化	69	39	30	56.5	0.790
	中高分化	17	9	8	52.9	
肿瘤直径	≤10 cm	50	31	19	62.0	0.173
	>10 cm	36	17	19	47.2	
腹水	有	37	27	10	72.9	0.005
	无	49	21	28	42.9	
淋巴结转移	有	36	27	9	75.0	0.002
	无	50	21	29	42.0	

表 4 PAX8、波形蛋白表达与上皮性卵巢癌化疗后复发的关系[n(%)]

指标	分类	复发		P
		是(n=40)	否(n=46)	
PAX8	阳性	38(95.0)	32(69.6)	0.003
	阴性	2(5.0)	14(30.4)	
波形蛋白	阳性	31(77.5)	17(37.0)	<0.001
	阴性	9(22.5)	29(63.0)	
PAX8+波形蛋白	阳性	30(75.0)	14(30.4)	<0.001

3 讨论

卵巢癌是最致命的妇科恶性肿瘤,尽管近年来卵巢癌的检测方法和治疗手段在不断进步,但由于肿瘤异质性,仍缺乏可靠的早期诊断方法,且治疗后复发率高仍是一个全球性的问题^[7-9]。PAX8 具有促进细胞增殖、抑制凋亡和终末分化的作用,与胚胎发育、器官的分化有关^[10]。同时,PAX8 是 Mullerian 系统组织的重要转录因子,参与了输卵管和子宫上皮的形成过程,在子宫颈和子宫内膜上皮细胞中可见广泛弥散的强染色,而在正常卵巢上皮细胞中几乎不表达^[3, 11-12]。相关研究^[13-14]表明,PAX8 可以与卵巢癌中突变的 p53 基因结合,导致细胞质 p21 积累,发挥促癌增殖作用。而敲除 PAX8 可抑制癌细胞的增殖、迁移和侵袭,促进凋亡的发生。

波形蛋白是一种可以维持细胞骨架的完整性的中间纤维蛋白,是 EMT 典型标志之一,可使内皮细胞的增生能力增强,血管内皮细胞持续增殖、分裂,促进肿瘤的生长^[15-16]。肿瘤侵袭性表型与

波形蛋白过度表达呈正相关,并且在体外敲除波形蛋白后这些肿瘤侵袭性特征会下降^[17]。本研究发现,上皮性卵巢癌中 PAX8、波形蛋白阳性表达与上皮性卵巢癌进展的严重程度和侵袭性生物学行为具有密切联系,提示 PAX8、波形蛋白不仅可作为病情诊断的有效指标,还可用作上皮性卵巢癌患者化疗后复发的预测指标。

综上所述,上皮性卵巢癌组织中 PAX8 和波形蛋白表达与肿瘤临床分期、腹水、淋巴结转移及化疗后复发关系密切,可用于评估病情进展,预测复发,有助于个体化指导临床治疗,临床应加强随访,以期降低复发率,延长患者生存期。但本研究纳入的样本量较少,各层样本筛选的占比差异较大,仍需要进行更深入细致的研究。

参考文献

[1] LHEUREUX S, GOURLEY C, VERGOTE I, *et al.* Epithelial ovarian cancer [J]. *Lancet*, 2019, 393 (10177): 1240 - 1253.

[2] 陈雨莲, 史庭燕, 臧荣余. 铂敏感复发卵巢癌手术相关问题与规范化诊疗[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2021, 37 (6): 616 - 619.

[3] XIANG L, KONG B H. PAX8 is a novel marker for differentiating between various types of tumor, particularly ovarian epithelial carcinomas[J]. *Oncol Lett*, 2013, 5(3): 735 - 738.

[4] DI PALMA T, LUCCI V, DE CRISTOFARO T, *et al.* A role for PAX8 in the tumorigenic phenotype of ovarian cancer cells[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 292.

[5] BATTAGLIA R A, DELIC S, HERRMANN H, *et al.* Vimentin on the move: new developments in cell migration [J]. *F1000Res*, 2018, 7: F1000FacultyRev - F1000Faculty1796.

- 及凋亡的作用及机制研究[J]. 四川生理科学杂志, 2019, 41(2): 95-98.
- [10] ZHANG H Y, XIE B B, ZHANG Z, *et al.* Tetrandrine suppresses cervical cancer growth by inducing apoptosis in vitro and in vivo[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 119-127.
 - [11] SUN X D, XU Q Q, ZENG L, *et al.* Resveratrol suppresses the growth and metastatic potential of cervical cancer by inhibiting STAT3^{Tyr705} phosphorylation[J]. *Cancer Med*, 2020, 9(22): 8685-8700.
 - [12] LIU S, WANG H Y, MU J, *et al.* MiRNA-211 triggers an autophagy-dependent apoptosis in cervical cancer cells: regulation of Bcl-2[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2020, 393(3): 359-370.
 - [13] REN Y F, DONG J, HE P Y, *et al.* miR-587 promotes cervical cancer by repressing interferon regulatory factor 6[J]. *J Gene Med*, 2020, 22(11): e3257.
 - [14] 刘彬, 刘慰华, 张竞之, 等. 毛蕊异黄酮对人黑色素瘤细胞 A375 增殖、迁移及侵袭的影响[J]. 贵阳医学院学报, 2014, 39(2): 162-166.
 - [15] 周立霞, 关洪全, 马贤德, 等. 毛蕊异黄酮对肺腺癌细胞增殖和迁移功能的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(7): 1474-1477, 1567.
 - [16] TIAN J, WANG Y, ZHANG X, *et al.* Calycosin inhibits the in vitro and in vivo growth of breast cancer cells through WDR7-7-GPR30 Signaling[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1): 153.
 - [17] ZHANG Z X, LIN M, WANG J L, *et al.* Calycosin inhibits breast cancer cell migration and invasion by suppressing EMT via BATF/TGF- β 1[J]. *Aging*, 2021, 13(12): 16009-16023.
 - [18] ZHANG Y, ZHANG J Q, ZHANG T, *et al.* Calycosin induces gastric cancer cell apoptosis via the ROS-mediated MAPK/STAT3/NF- κ B pathway[J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 14: 2505-2517.
 - [19] TWIDDY D, CAIN K. Caspase-9 cleavage, do You need it[J]. *Biochem J*, 2007, 405(1): e1-e2.
 - [20] ZHANG J, YANG S P, WANG K N, *et al.* Crocin induces autophagic cell death and inhibits cell invasion of cervical cancer SiHa cells through activation of PI3K/AKT[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(18): 1180.
 - [21] PENG L P, CHEN Z Z, WANG G C, *et al.* Long noncoding RNA LBX2-AS1-modulated miR-4766-5p regulates gastric cancer development through targeting CXCL5[J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20: 497.
 - [22] CHEN H, WU C, LUO L, *et al.* circ_0000467 promotes the proliferation, metastasis, and angiogenesis in colorectal cancer cells through regulating KLF12 expression by sponging miR-4766-5p[J]. *Open Med*, 2021, 16(1): 1415-1427.

(本文编辑: 周娟 钱锋)

(上接第 4 面)

- [6] 王秋宇, 李晓翔, 朱军义. 上皮性卵巢癌初次肿瘤细胞减灭术后复发情况及影响因素分析[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(2): 307-310.
- [7] LEUNG S O A, KONSTANTINOPOULOS P A. Advances in the treatment of platinum resistant epithelial ovarian cancer: an update on standard and experimental therapies[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2021, 30(7): 695-707.
- [8] POVEDA A, FLOQUET A, LEDERMANN J A, *et al.* Olaparib Tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a final analysis of a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2021, 22(5): 620-631.
- [9] EL BAIRI K, AL JARROUDI O, AFQIR S. Revisiting antibody-drug conjugates and their predictive biomarkers in platinum-resistant ovarian cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2021, 77: 42-55.
- [10] MURATOVSKA A, ZHOU C M, HE S J, *et al.* Paired-Box genes are frequently expressed in cancer and often required for cancer cell survival[J]. *Oncogene*, 2003, 22(39): 7989-7997.
- [11] BOWEN N J, LOGANI S, DICKERSON E B, *et al.* Emerging roles for PAX8 in ovarian cancer and endosalpingeal development[J]. *Gynecol Oncol*, 2007, 104(2): 331-337.
- [12] TACHA D, ZHOU D, CHENG L. Expression of PAX8 in normal and neoplastic tissues: a comprehensive immunohistochemical study[J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2011, 19(4): 293-299.
- [13] RODGERS L H, Ó HAINMHIRE E, YOUNG A N, *et al.* Loss of PAX8 in high-grade serous ovarian cancer reduces cell survival despite unique modes of action in the fallopian tube and ovarian surface epithelium[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(22): 32785-32795.
- [14] GHANNAM-SHAHBARI D, JACOB E, KAKUN R R, *et al.* PAX8 activates a p53-p21-dependent pro-proliferative effect in high grade serous ovarian carcinoma[J]. *Oncogene*, 2018, 37(17): 2213-2224.
- [15] HUO Y, ZHENG Z G, CHEN Y L, *et al.* Downregulation of vimentin expression increased drug resistance in ovarian cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(29): 45876-45888.
- [16] 杨东, 杨宇, 白云波, 等. 卵巢癌组织 ERCC1、波形蛋白表达与临床病理特征及预后的关系分析[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(5): 862-865, 909.
- [17] SATELLI A, LI S L. Vimentin in cancer and its potential as a molecular target for cancer therapy[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(18): 3033-3046.

(本文编辑: 周冬梅 钱锋)