

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.01.036

◇临床医学◇

斯钙素-2 在子宫内膜癌中的表达

付长红^{1,2}, 陆晓媛¹作者单位:¹徐州医科大学附属医院妇产科, 江苏 徐州 221001; ²枣庄市立医院妇科, 山东 枣庄 277101

通信作者: 陆晓媛, 女, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向为妇科肿瘤, E-mail: fch2171@126.com.

摘要:目的 探讨斯钙素-2(stanniocalcin2, STC2)在子宫内膜癌中的表达以及与临床诊断中病理因素的相关性。**方法** 对50例子宫内膜癌病人利用半定量RT-PCR检测和蛋白质印迹法检测STC2mRNA和STC2蛋白在子宫内膜癌中表达的情况, 分析STC2表达与子宫内膜癌病人在临床诊断中病理因素的相关性。**结果** 在50例子宫内膜癌肿瘤组织中, STC2mRNA相对表达值为 2.45 ± 0.27 , 显著高于癌旁组织 1.19 ± 0.13 ($t = 28.5, P = 0.0034$), STC2蛋白相对表达为 1.33 ± 0.27 , 显著高于癌旁组织 0.28 ± 0.05 ($t = 26.4, P = 0.0266$); STC2的表达与病人的年龄与病理类型无明显关联 ($\chi^2 = 0.028, P = 0.743$), 而与FIGO分期 ($\chi^2 = 10.118, P = 0.036$)、腺癌病理分化程度 ($\chi^2 = 11.184, P = 0.033$)及淋巴结转移 ($\chi^2 = 14.322, P = 0.012$)相关。**结论** STC2 mRNA和STC2蛋白在子宫内膜癌肿瘤组织中的表达显著高于癌旁组织; STC2表达与子宫内膜癌远处转移相关。

关键词: 子宫内膜肿瘤; 淋巴转移; 肿瘤浸润; 因果律; 斯钙素-2

Expression of calcitonin-2 in endometrial carcinoma

FU Changhong^{1,2}, LU Xiaoyuan¹

Author Affiliations: ¹Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou Jiangsu 221001, China; ²Department of Gynecology, Zaozhuang Municipal Hospital, Zaozhuang, Shandong 277101, China

Abstract: Objective To discuss the expression of STC2 in endometrial carcinoma and the relationship with pathology factors in diagnosis. **Methods** Fifty patients with endometrial carcinoma were chosen to detect the expression of STC2 mRNA and protein by semi-quantitative RT-PCR and Western blot. Relationship with pathology factors was analyzed. **Results** In 50 cases of endometrial cancer, the relative expression of STC2 mRNA was 2.45 ± 0.27 , which was significantly higher than that of adjacent tissues 1.19 ± 0.13 ($t = 28.5, P = 0.0034$). The relative expression of STC2 protein was 1.33 ± 0.27 , which was significantly higher than that of adjacent tissues (0.28 ± 0.05) ($t = 26.4, P = 0.0266$). STC2 expression was not significantly related to age and pathological classification ($\chi^2 = 0.028, P = 0.743$), but was significantly related to FIGO staging ($\chi^2 = 10.118, P = 0.036$), pathological differentiation degree ($\chi^2 = 11.184, P = 0.033$) and lymph node metastasis ($\chi^2 = 14.322, P = 0.012$). **Conclusion** Expressions of STC2 mRNA and protein in endometrial carcinoma tumor tissues are significantly higher than those of para-carcinoma tissue. Expression of STC2 is relevant to distant metastasis of endometrial carcinoma.

Key words: Endometrial neoplasms; Lymphatic metastasis; Neoplasm invasiveness; Causality; Stanniocalcin-2

子宫内膜癌(endometrial cancer, EC)为子宫内膜上皮来源的恶性肿瘤,是女性生殖系统中常见的三大恶性肿瘤之一。绝大多数的子宫内膜癌来源于单层上皮细胞。目前发现有多种因素影响到子宫内膜的恶变、进展,包括有不同的癌基因、抑癌基因及转录信号,如甲状腺转录因子-1(TTF-1)、癌相关成纤维细胞(CAFs)、骨桥蛋白等通过参与细胞黏附、信号传导、细胞凋亡等多种病理生理过程,与内膜癌的发生有着一定的联系。斯钙素-2(stanniocalcin2, STC2)是糖蛋白激素^[1],在人体各组织中均有广泛性表达,参与调节人体多种生理、病理变化过程。近年来对STC2的系列研究证明,STC2对人

体多种肿瘤的发生、发展均存在密切关联^[2]。STC2能够通过调控细胞增殖而促进结肠、直肠癌细胞的侵袭和转移^[3]。胃癌病人的血液、癌组织细胞中的STC2表达明显升高^[4],对胃癌诊断的敏感性超过了CA199^[5]和CEA。食管鳞癌、肝癌^[6]、喉癌、卵巢癌^[7]、非小细胞性肺癌、鼻咽癌^[8]、前列腺癌、宫颈癌^[8]、神经母细胞瘤等恶性肿瘤均发现存有STC2异常表达。以上研究发现:STC2在组织中的高表达多与肿瘤的恶性程度密切相关,肿瘤倾向于深度浸润、脉管侵袭及淋巴结转移,对预测肿瘤疗效或预后提示价值。

目前,关于STC2在子宫内膜癌中表达的研究报

道较少,我们采用半定量 RT-PCR 检测和蛋白质印迹法检测方法观察 STC2 在子宫内膜癌中的表达,探讨 STC2 与子宫内膜癌生物学行为的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取徐州医科大学第二附属医院 2017 年 1 月至 2018 年 9 月的子宫内膜癌病人 50 例,年龄范围为 45~62 岁,年龄(53.8±5.6)岁,其中 >50 岁的病人 32 例,占 64%;FIGO 分期为 I a 期 5 例,占 10%,I b 期 8 例,占 16%,II 期 10 例,占 20%,III 期 20 例,占 40%,IV 期 7 例,占 14%;病理类型为鳞癌 5 例,占 10%,腺癌 45 例,占 90%,其中腺癌 45 例中,病理呈高分化有 15 例,占 33%,中分化 16 例,占 36%,低分化的 14 例,占 31%;盆腔淋巴结发生转移的 27 例,占 54%,淋巴结无转移的 23 人,占 46%。所有样本均于手术离体后癌灶中心组织及癌灶周围 3 cm 的正常组织,生理盐水冲洗后切取,约为花生粒体积大小。为避免取样组织被 RNA 酶破坏,获得样品在组织离体后的 10 min 内装入冻存管。

1.2 方法

1.2.1 半定量 RT-PCR 检测 STC2 mRNA 在中的表达 取 50~100 mg 子宫内膜癌组织研磨均化,4℃下离心分层出 STC2 mRNA。再将 mRNA 沉淀、洗涤、重溶、-80℃超低温保存。抽提处于对数快速生长期的子宫内膜癌细胞,使用 Trizol 与组织 RNA 抽取类似,收集提取样本总 RNA。采用 DNase I 处理去除基因组 DNA。每个样本取 2 μg 的总 RNA,用 M-MLV Reverse Transcriptase 二步法逆转录合成 cDNA。以 Taq 酶体系 PCR 扩增 STC2 基因,引物序列:STC2:F-ATGCTACCTCAAGCACGACCF, R-TCTGCTCACTGAACCF;GAPDH:F-FTGTTGACACTCCTCCGTCAGCFF, R-FCAAATCCCCAATACGACGTT。PCR 条件均为 94℃预变性 5 min;94℃变性 30 s,55℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,共 34 循环(β-actin 为 29 循环);72℃延伸 5 min。取出扩增后的 PCR 产物,以 β-Actin 作为内对照,2%琼脂糖凝胶电泳观察 PCR 产物。

1.2.2 蛋白质印迹法检测 STC2 蛋白在子宫内膜癌中的表达 取 200 mg 子宫内膜癌样品及周围正常组织分别粉碎匀浆、离心,取上清液-80℃超低温冰箱保存。配置浓度为 2 000 μg/mL 和 1 600 μg/mL 的 BSA 溶液设为 A 液 B 液,按照 50:1 混匀,各取 100 μL 分别和 5 μL 正常组织蛋白及 5 μL 内膜癌样品蛋白混匀,对蛋白定量绘制蛋白含量标准曲线推算样品浓度。配置 5% 浓缩胶,取两种样品沸水加热使蛋白质变性、上样、电泳进行蛋白质印迹法检测后

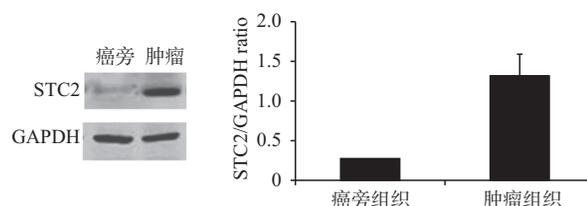
用聚偏二氟乙烯膜转膜。将转膜后的 PVDF 膜与兔抗人 STC2 抗体封闭进行免疫反应约 7 h。取出 PVDF 膜 X 光底片显色,拍照成像。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析;计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均值比较用 *t* 检验,计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 子宫内膜癌组织 STC2 mRNA 的表达增加 在这 50 例子宫内膜癌组织中 STC2 mRNA 的相对表达值为 2.45±0.27,而癌旁组织仅为 1.19±0.13,两组差异有统计学意义($t = 28.5, P = 0.0034$)。

2.2 子宫内膜癌中 STC2 蛋白表达增加 在 50 例子宫内膜癌组织中 STC2 蛋白表达和癌旁组织比较差异有统计学意义($t = 26.4, P = 0.0266$),见图 1 及表 1。



注:STC2为斯钙素-2,GAPDH为内参值

图1 子宫内膜癌病人50例子宫内膜癌组织及癌旁组织中STC2蛋白的表达

表1 子宫内膜癌病人50例子宫内膜癌组织及癌旁组织蛋白质印迹法条带灰度值检测结果 $\bar{x} \pm s$

组别	STC2	GAPDH	STC2/GAPDH
子宫内膜癌组织	475.32±12.24	356.16±11.23	1.33±0.27
癌旁组织	88.21±9.23*	319.66±12.17	0.28±0.05

注:STC2为斯钙素-2,GAPDH为内参值;两组比较, $t = 26.4, P = 0.0266$

2.3 与子宫内膜癌各项临床病理参数的相关性 本研究对 50 例样本中 STC2 的表达与子宫内膜癌病人临床病理参数的相关性进行分析。计算结果显示,在病人年龄(≤50 岁或 >50 岁)、病理类型腺癌(鳞癌)方面,STC2 高表达组与低表达组差异无统计学意义($P > 0.05$);关于 FIGO 分期 > II 期、病理为低分化癌及盆腔淋巴结转移阳性者^[10],STC2 的高表达组与低表达组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。详见表 2。

3 讨论

子宫内膜癌是严重危及女性生命健康的恶性肿瘤。目前子宫内膜癌的诊治方案^[11]比较成熟,经过规范的手术辅以放化疗和孕激素综合治疗,病人通常能够取得较满意的治疗效果^[12]。随着人类对肿瘤研究的不断深入和临床运用,肿瘤标志物已不

表2 斯钙素-2表达与子宫内膜癌
临床病理参数相关性/例

组别	例数	高表达	低表达	χ^2 值	P值
年龄				0.028	0.743
≤50岁	18	10	8		
>50岁	32	18	14		
FIGO分期				10.118	0.036
≤Ⅱ期	23	4	19		
>Ⅱ期	27	19	8		
腺癌				11.184	0.033
高分化	15	4	11		
中分化	16	5	11		
低分化	14	12	2		
鳞癌				13.456	0.921
淋巴转移	5	2	3		
阴性	23	8	15		
阳性	27	19	8	14.322	0.012

单单局限于对肿瘤的诊断、复查和随访,在治疗方案的选择、疗效的判定、存活率的预测等方面也逐渐发挥着重要作用^[13]。较常用的肿瘤标志物有CEA、CA199、CA125等,对于子宫内膜癌的术前病理分期诊断的帮助、治疗方案的指导及术后病情监测等方面敏感性较低。寻找子宫内膜癌新的、特异性的肿瘤标志物是研究的热点。

STC2是1998年从人类骨肉瘤cDNA文库中克隆出的第二个STC基因,其编码为302个氨基酸。多项研究显示STC2 mRNA和STC2蛋白在肿瘤组织中高表达^[14],及肿瘤组织的侵袭、病人预后等存在相关性^[15]。STC2目前在肿瘤细胞的作用机制尚不清楚,但研究表明在许多肿瘤中发挥促癌细胞生长增殖、促癌侵袭转移的作用^[16]。高表达多与肿瘤的恶性度相关,并有较好的预后提示价值。

本研究发现子宫内膜癌组织的STC2 mRNA及STC2蛋白表达明显高于相应癌旁组织。肿瘤的相关性分析显示子宫内膜癌病人多项临床的病理参数中,STC2表达与年龄^[17]、鳞癌无显著相关性($P > 0.05$);但是与FIGO分期、病理分化程度及盆腔淋巴结转移存在显著相关。本次研究的27例发生淋巴结转移子宫内膜癌病人中,STC2阳性表达率为70.37%;病理呈中低分化的STC2阳性表达为88.24%。故FIGO分期高,病理呈低分化,存在盆腔淋巴结转移,均提示子宫内膜癌侵袭能力较强,肿瘤复发可能性大和预后的生存期短,故高表达的STC2间接预示病人预后不良。

综上,本研究显示STC2在子宫内膜癌中的表达

高于其癌旁组织,且与子宫内膜癌的病理分期,病理分化程度及是否存在淋巴结转移具有一定关联性,提示病人可能存在不良的预后。本研究样本量少,有一定的局限性,且对STC2在子宫内膜癌中的表达相关性及其机制也尚待进一步研究。

参考文献

- [1] WESTBERG JA, SERLACHIUS M, LANKILA P, et al. Hypoxic preconditioning induces neurotoxic stanniocalcin-1 in brain via IL-6 signaling[J]. Stroke, 2007, 38: 1025-1030.
- [2] 杨舒雯, 马奔, 周力, 等. 斯钙素的生物学特征及其与人体肿瘤关系研究进展[J]. 中国癌症杂志, 2016, 26(10): 875-880.
- [3] DU YZ, GU XH, LI L, et al. The diagnostic value of circulating stanniocalcin-1 mRNA in non-small cell lung cancer [J]. J Surg Oncol, 2011, 104(7): 836-840.
- [4] ZHANG ZH, WU YG, QIN CK, et al. Stanniocalcin2 expression predicts poor prognosis of hepato cell ularcarcinoma [J]. Oncol Lett, 2014, 8(5): 2160-2164.
- [5] 刘国振, 罗兵台, 德军. CA125 CA72-4 CA19-9 在子宫内膜癌诊断中的评价[J]. 安徽医药, 2012, 16(2): 200-202.
- [6] SHEN XJ, GU K, SHI JP, et al. Increased expression of stanniocalcin 2 is associated with tumor progression after radiotherapy in patients with cervical carcinoma [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(12): 8770-8776.
- [7] HAYASE S, SASAKI Y, MATSUBARA T, et al. Expression of stanniocalcin 1 in thyroid side population cells and thyroid cancer cells[J]. Thyroid, 2015, 25(4): 425-436.
- [8] 肖丽, 孟祥玲, 赵恩锋, 等. 激活蛋白-2 α 在鼻咽癌患者表达的作用及意义[J]. 安徽医药, 2014, 18(11): 2102-2105.
- [9] 沈小健, 吴锦昌. STC-2在宫颈癌表达的功能研究及其临床意义[D]. 南京: 南京医科大学, 2011: 1-104.
- [10] 喻启桂. 肿瘤治疗的新突破: 溶瘤病毒治疗[J]. 安徽医药, 2018, 22(1): 1-7.
- [11] 施晓燕, 施晓莺, 田梅, 等. 子宫恶性肿瘤根治术中盆腔淋巴结清扫的手术入路探讨[J]. 安徽医药, 2015, 19(3): 549-551.
- [12] 马丁, 于世英, 陈安民. 妇产科学疾病诊疗指南[M]. 3版. 北京: 科学出版社, 2013: 430-435.
- [13] SHAW A, BRADLEY MD, ELYAN S, et al. Tumor biomarkers: diagnosable prognostic and predictive[J]. BMJ, 2015, 351: 3449.
- [14] JIHYE SHIN, YOUNG CHANG SOHN. Transcriptional regulation of 5'-flanking regions of stanniocalcin genes by estrogen receptor and estrogen receptor-related receptor [J]. Genes & Genomics, 2016, 38(5): 421-428.
- [15] WANG YY, LI L, ZHAO ZS, et al. Clinical utility of measuring expression levels of KAP1, TIMP1 and STC2 in peripheral blood of patients with gastric cancer[J]. World J Surg Oncol, 2013, 11: 84.
- [16] WANG H, WU K, SU Y, et al. STC2 is up regulated in hepatocellular carcinoma and promotes cell proliferation and migration in vitro [J]. EMB Reports, 2012, 45(11): 629-634.
- [17] 方旖靡, 周猷伟, 颜士杰. 绝经前后子宫内膜癌166例病例分析[J]. 安徽医药, 2013, 17(12): 2058-2060.

(投稿日期: 2018-10-14, 修回日期: 2019-01-11)