

卵巢癌转移相关基因异常表达的相关性研究

罗晓莲¹,秦风雪^{1△},林 珍¹,李永良²

(青海省交通医院:1. 妇产科;2. 普外科,西宁 810001)

摘 要:目的 进行卵巢癌(OC)转移相关基因异常表达的相关性研究。方法 对 NCBI 中 GEO 数据库中的若干数据集数据进行表达量分析、生存分析和相关性分析。结果 研究分析表明,Snail 和 Twist1 等 OC 转移相关基因在 OC 患者中存在明显的高表达。Snail 和 Twist1 等的高表达会导致 OC 患者的总生存率和无疾病生存率明显降低(Snail, $P<0.05$;Twist1, $P<0.05$)。Snail 和 Twist1 在药物治疗后的 OC 患者中有明显的高表达情况(Snail, $P<0.05$;Twist1, $P<0.05$)。Snail 和 Twist1 在 OC 患者中的表达情况呈正相关($r=0.452,P<0.01$)。结论 OC 转移相关基因的异常表达与 OC 患者疾病的发展存在相关性,并且对其药物耐受和预后都有影响。

关键词:卵巢癌; 基因表达谱; 雷替曲塞; 耐药; 预后

中图分类号:R711.75

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)08-1136-04

Correlation study of abnormal expression of metastatic genes in ovarian cancer

LUO Xiaolian¹,QIN Fengxue^{1△},LIN Zhen¹,LI Yongliang²

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Qinghai Communications Hospital, XiNing, Qinghai 810001, China; 2. Department of General Surgery, Qinghai Traffic Hospital, Xining, Qinghai 810001, China)

Abstract: Objective Based on relevant database data analysis, to explore the correlation of the abnormal expression of ovarian cancer-related gene and ovarian cancer. **Methods** Based on some data sets of GEO in the NCBI database, to perform express analysis, survival analysis and correlation analysis. **Results** The results showed that Snail1 and Twist1 in ovarian cancer patients significantly higher expressed. The high expression of Snail and Twist1 could lead to a significant reduction in overall survival and disease-free survival in ovarian cancer patients(Snail, $P<0.05$, Twist1, $P<0.05$). Snail and Twist1 had significant high expression in ovarian cancer after drug therapy(Snail, $P<0.05$, Twist1, $P<0.05$). Snail and Twist1 positively correlated in ovarian cancer($r=0.452,P<0.01$). **Conclusion** The abnormal expression of ovarian cancer metastasis-related genes associated with the development of ovarian cancer patients and had effecton on their drug tolerance and prognosis.

Key words: ovarian cancer; gene expression profile; raltitrexed; drug resistance; prognosis

卵巢癌(OC)是最常见的妇科恶性肿瘤之一,大多数 OC 患者一经发现就已处于癌症晚期了。它具有较高的病死率,是引起女性癌症死亡的第五大原因^[1]。目前,诊断为 OC 的患者仍然在逐年增加^[2]。在过去 20 年,虽然通过更好的手术和更多可选择的化疗方式使得晚期 OC 患者的生存率有所增加,但是药物治疗所带来的细胞毒性是非选择性的,经常导致显著的毒性和短期的抗肿瘤反应^[3-4]。此外,大多数患有 OC 的女性在一线治疗后将遭受很大的肿瘤复发的风险,并且肿瘤均会产生对化疗药物的抗药性,从而降低患者预后,影响患者的生存状态,乃至导致

OC 患者死亡^[5]。据统计,由于耐药性的存在,在转移性 OC 患者中 5 年生存率仅为 5%^[6-8]。虽然目前一些靶向治疗药物可以在一定程度上降低患者复发,改善预后,但是其对于 OC 的治愈率也仅为 15%~20%,对于很多恶性 OC 仍然无法治愈^[9]。所以鉴定驱动 OC 生长转移的分子生物学事件对于发展最佳的治疗策略是至关重要的。

对于众多 OC 的化疗药物,雷替曲塞作为一种有效的胸苷酸合酶(TS)抑制剂,在 OC 的治疗中发挥着重要的作用。雷替曲塞是一种 CB3717 的水溶性类似物,而 CB3717 是一种在 20 世纪 80 年代最初研究的

基于喹唑啉的抗叶酸类似物。由于雷替曲塞具有良好的水溶性,所以它不会引起肾脏毒性反应^[10]。此外,该化合物通过还原的叶酸盐载体进入细胞,并通过叶酰聚谷氨酸合成酶(FPGS)进行快速聚谷氨酸化,因而具有良好的治疗效果^[11]。然而,也有研究报道,雷替曲塞作为化疗药物在某些 OC 患者中也同样会引起肿瘤的耐药性变化,随之而来的便是肿瘤的恶化复发和浸润转移。

恶性肿瘤转移的过程会发生上皮-间质转化(EMT),越来越多的研究表明它与上皮细胞恶性肿瘤的发生、发展关系密切,并且受到了高度的关注^[12]。由于肿瘤细胞 EMT 是上皮样肿瘤细胞获得迁移能力的有效方式,所以在成体中成为占恶性肿瘤 90% 以上的上皮细胞癌浸润转移的一个重要途径。目前体内和体外试验证据都表明,EMT 在包含 OC 在内的多种恶性肿瘤的原发性浸润和继发性转移中起着举足轻重的作用。也有研究证明,EMT 是一个潜在的肿瘤耐药机制,其相关基因的表达对于肿瘤的耐药起着非常重要的作用^[13]。

因此,探究 OC 转移相关基因及 EMT 相关的基因对于 OC 耐药性及治疗的研究具有重要意义。然而,到目前为止,并没有更多的研究揭示雷替曲塞化疗与 OC 复发恶化的关系,也没有研究在此过程中 OC 部分转移相关基因表达谱的变化。本研究探讨了 OC 患者相关 OC 转移相关基因的异常表达,并以此为基础分析了 OC 转移相关基因的异常表达与 OC 耐药的相关性,以及 OC 转移相关基因的异常表达对 OC 预后及生存的影响,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 所有材料均来自于 NCBI 的 GEO 数据库,见表 1。

表 1 研究中所用到的 GES 数据集			
数据集	标本量(n)	标本类型	分析方法
GSE81228	27	OC	表达量分析、相关性分析
GSE73906	36	OC	表达量分析、生存分析
GSE75935	28	OC	表达量分析、相关性分析
GSE69207	100	OC	表达量分析

1.2 方法

1.2.1 表达量分析 基于数据库特定研究标本数据集中特定目标基因的表达量的相对值进行表达量的分析,所有数据都经过对数转换和中位数中心化处理。根据表达量处理后数据进行聚类 and 差异分析。为了检测 OC 转移相关基因及 EMT 对于 OC 的发生、发展关系,笔者选取了 3 个参与 EMT 过程的 OC 转移相关基因,分别为 Snail、Twist1 和 SIP1,据以往

在其他肿瘤中的相关研究表明,它们在 EMT 的过程中表达量上调,并且在此过程中发挥着重要的作用。文中热图由 Hem I 软件制作,比较差异分析图由 GraphPad Prism 5 软件制作。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

1.2.2 生存分析 基于数据库特定研究标本数据集中特定目标基因的表达量的相对值及对应标本的总生存(OS)和无疾病生存(DFS)信息进行生存分析,所有数据都经过对数转换和中位数中心化处理,并采用 Kaplan-Meier 分析方法进行分析。

1.2.3 相关性分析 基于数据库特定研究标本数据集中特定目标基因的表达量的相对值进行相关性分析,所有数据都经过对数转换和中位数中心化处理。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义, $r<0$ 表示呈负相关, $r>0$ 表示呈正相关。

2 结果

2.1 OC 转移相关基因在 OC 患者中的表达分析 OC 标本和正常卵巢组织标本的相关基因表达谱的聚类分析结果表明,Snail、Twist1 和 SIP1 在 OC 标本中均存在高表达,见图 1。

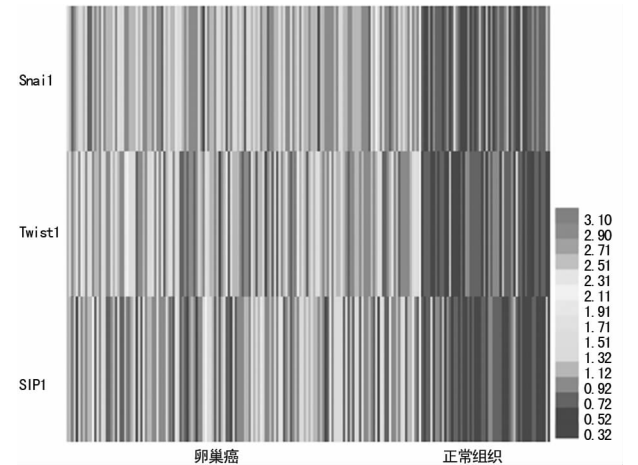


图 1 OC 数据集中 OC 转移相关基因的表达谱分析

2.2 OC 转移相关基因对 OC 患者生存及预后的影响 在 OC 患者中,Snail 的高表达会导致 OC 患者的总生存率明显降低($P<0.05$),并且在 OC 患者中,Snail 的高表达也同样会导致 OC 患者的无疾病生存率明显降低($P<0.05$)。与此类似,也在同样的数据集中对 Twist1 的高表达对 OC 患者的总生存率和无疾病生存率进行了分析,结果表明, Twist1 的高表达同样会导致 OC 患者的总生存率和无疾病生存率明显降低($P<0.05$),见图 2。

2.3 OC 转移相关基因在雷替曲塞治疗后的表达分析 结果表明,与在 OC 患者中的表达情况相似, Snail 和 Twist1 在药物治疗后的 OC 患者中也有明显的高表达情况(Snail, $P<0.05$; Twist1, $P<0.05$);

而与上述结果不同的是,在药物治疗后的 OC 患者中,SIP1 的表达量变化差异无统计学意义($SIP1, P > 0.05$),见图 3。

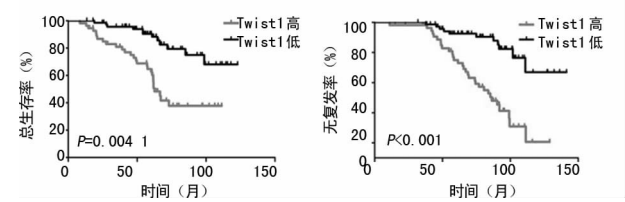


图 2 OC 转移相关基因的表达与 OC 患者生存状态的 Kaplan-Meier 分析

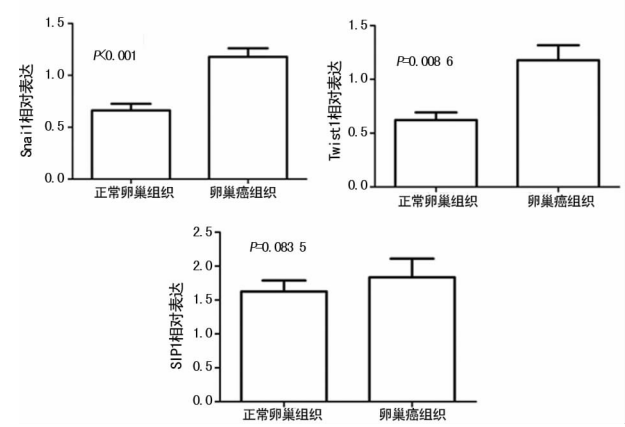


图 3 OC 转移相关基因在耐药性 OC 患者中的表达差异比较

2.4 OC 转移相关基因在 OC 患者中表达的相关性分析 Snail 和 Twist1 在 OC 患者中的表达呈正相关($r=0.452, P<0.01$),见图 4。

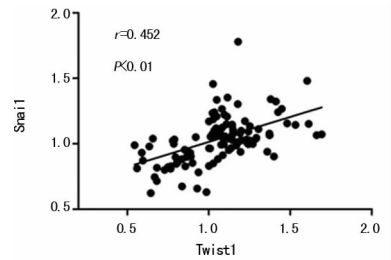


图 4 OC 转移相关基因在耐药性 OC 患者中的表达相关性分析

3 结 论

肿瘤细胞转移的进行由多个生物学过程组成,该过程的实现对于恶性肿瘤的多种恶化事件都具有促进作用,包括肿瘤复发、浸润、转移和药物耐受等。因此,这些过程需要众多细胞内分子参与发挥作用,其中包括一些生长因子、激酶受体和转录因子等在此过程中发挥着重要的作用^[14-15]。据此,本研究以 Snail、Twist1 和 SIP1 3 个肿瘤转移相关的因子为基础,针对 OC 转移和雷替曲塞耐药进行了相关性分析。虽然,近年来 OC 治疗方式有所转变,但是化疗仍然是 OC 治疗的支柱,所以对于 OC 耐药相关的研究仍具

有重要的价值。此外,上述这些转移相关的调节因子对于肿瘤的调控存在着不同的模式,这与 EMT 在恶性肿瘤的早期阶段所存在的时间和空间上的异质性有关,同时也对肿瘤耐药性的出现有着不同的调控机制。因此,肿瘤转移相关的调节因子的鉴定和研究是必要的。目前,随着肿瘤耐药性研究的不断深入,其在 OC 转移复发中发挥的作用也不断地被发现,耐药性产生的分子机制也不断地被揭示。本研究中,着重于 3 个已知的 OC 转移相关基因在 OC 组织中表达的研究,这些调节因子对于 OC 的发生、发展、转移、耐药及预后生存都有着重要的作用,探讨他们与 OC 的关系,对于 OC 的诊断和治疗都具有重要的意义。

本研究分析表明,Snail、Twist1 和 SIP1 在 OC 患者中存在明显的高表达,这些基因的表达异常与 OC 患者的生存及预后有着密切的关系,这与以往的一些研究结果相一致。基于此,笔者又对耐药性标本进行分析,发现部分 OC 转移相关基因在耐药性 OC 患者中也表现出明显的异常表达,该结果证明多因子调控的肿瘤转移过程,不仅对于 OC 的发生、发展有重要的促进作用,而且对于 OC 的耐药性也具有一定的作用。

最后,通过对 OC 转移相关基因在 OC 患者中的相关性分析表明,OC 转移相关基因的异常表达之间存在明显的相关性,某些促进 OC 转移的调节因子会抑制某些促凋亡因子的表达,同时促进某些促增殖因子的表达。随后,笔者分析了 OC 转移相关基因的异常表达对 OC 患者预后生存的影响。单一变量分析显示,Snail、Twist1 和 SIP1 的高表达降低了 OC 患者的总生存期,同时促进了 OC 患者治疗后疾病的复发。尽管没有研究表明 Twist 与 OC 患者预后相关,但是 Twist 作为一个重要的细胞内转录因子,通过转录抑制 E-cadherin 的表达,使得 E-cadherin 所介导的细胞间连接缺失,促进细胞运动转移。本研究分析结果同样也与这一结论相一致,包括 Twist 在内的部分 OC 转移相关基因对于 OC 的转移和恶化都存在促进作用。最终,笔者提出部分 OC 转移相关基因的高表达会导致 OC 患者总生存期降低,同时也会使得患者的无复发生存期降低。

综上所述,本研究评估了多种参与肿瘤转移的基因在 OC 恶化、复发及耐药性产生中的可能作用,同时也在一定程度上揭示了多因子调控的肿瘤转移过程与 OC 患者的预后生存等存在着密切的联系。这将为 OC 相关标志物的选择和 OC 患者的诊断治疗提供一定理论基础。

参考文献

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statis-

tics,2015[J]. CA Cancer J Clin,2015,65(1):5-29.

[2] AGHAJANIAN C,GOFF B,NYCUM L R,et al. Final overall survival and safety analysis of OCEANS,a phase 3 trial of chemotherapy with or without bevacizumab in patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol,2015,139(1):10-16.

[3] PUJADE-LAURAIN E,HILPERT F,WEBER B,et al. Bevacizumab combined with chemotherapy for platinum-resistant recurrent ovarian cancer:the AURELIA open-label randomized phase III trial[J]. J Clin Oncol,2014,32(13):1302-1308.

[4] STOCKLER M R,HILPERT F,FRIEDLANDER M,et al. Patient-reported outcome results from the open-label phase III AURELIA trial evaluating bevacizumab-containing therapy for platinum-resistant ovarian cancer[J]. J Clin Oncol,2014,32(13):1309-1316.

[5] MONK B J,POVEDA A,VERGOTE I,et al. Anti-angiopoietin therapy with trebananib for recurrent ovarian cancer(TRINOVA-1):a randomised,multicentre,double-blind,placebo-controlled phase 3 trial[J]. Lancet Oncol,2014,15(8):799-808.

[6] 卢丹,王志学,陶小压. 卵巢癌组织中多药耐药基因蛋白表达及其临床价值[J]. 肿瘤防治杂志,2004,11(5):512-514.

[7] DU BOIS A,FLOQUET A,KIM J W,et al. Incorporation of pazopanib in maintenance therapy of ovarian cancer[J]. J Clin Oncol,2014,32(30):3374-3382.

[8] LEDERMANN J A,CANEVARI S,THIGPEN T. Targeting the folate receptor:diagnostic and therapeutic approaches to personalized cancer treatments[J]. Ann Oncol,2015,26(10):2034-2043.

[9] GONEN N Y,ASSARAF G. Antifolates in cancer therapy:structure,activity and mechanisms of drug resistance[J]. Drug Resistance Updates,2012,15(4):183-210.

[10] 刘国艳,王城,于小华,等. 耐药相关蛋白与卵巢恶性肿瘤[J]. 国外医学妇产科学分册,2000,279(8):230-234.

[11] NAUMANN R W,COLEMAN R L,BURGER R A,et al. Precedent;a randomized phase II trial comparing vinorelbine (EC145) and pegylated liposomal doxorubicin (PLD) in combination versus PLD alone in patients with platinum-resistant ovarian cancer[J]. J Clin Oncol,2013,31(35):4400-4406.

[12] NETWORK T C. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma[J]. Nature,2011,474(7353):609-615.

[13] 刘丙立,李子荣,孙伟,等. 酒精性股骨头坏死与亚甲基四氢叶酸还原酶 677C/T 单核苷酸多态性的关系[J]. 中国修复重建外科杂志,2009,23(9):1079-1108.

[14] VISVADER J E, LINDEMAN G J. Cancer stem cells in solid tumours: accumulating evidence and unresolved questions[J]. Nat Rev Cancer,2008,8(10):755-768.

[15] IWATSUKI M,MIMORI K,YOKOBORI T,et al. Epithelial-mesenchymal transition in cancer development and its clinical significance[J]. Cancer Sci,2010,101(2):293-299.

(收稿日期:2017-09-16 修回日期:2017-11-28)

(上接第 1135 页)

生长因子与子宫肌瘤生长的关系[J]. 中华妇产科杂志,2000,35(3):175-177.

[6] 田玉翠,代荫梅. 子宫肌瘤剔除术后残留和复发的临床危险因素分析[J]. 中华妇产科杂志,2014,49(8):594-598.

[7] SHUSHAN A,ROJANSKY N,LAUFER N,et al. The AG1478 tyrosine kinase inhibitor is an effective suppressor of leiomyoma cell growth[J]. Hum Reprod,2004,19(9):1957-1967.

[8] 张丽凤,苏应宽,盖凌. 表皮生长因子受体在子宫内膜、早孕蜕膜及滋养细胞中的表达[J]. 中华妇产科杂志,1999,34(6):357-359.

[9] 李卫平,严隽鸿,林其德,等. 表皮生长因子受体与子宫平滑肌瘤的关系[J]. 上海交通大学学报(医学版),2003,23(2):131-133.

[10] 王立群,赵静,张丽芬. 子宫肌瘤中表皮细胞生长因子受体变化及其与雌激素和孕激素受体的关系[J]. 中国全科医学,2010,13(21):2391-2393.

[11] YE H J,REIN M,NOWAK R. Presence of messenger ribonucleic acid for epidermal growth factor (EGF) and EGF receptor demonstrable in monolayer cell cultures of myometria and leiomyomata[J]. Fertil Steril,1991,56(5):997-1000.

[12] STEWART E A,LAUGHLIN-TOMMASO S K,CATHERINO W H,et al. Uterine fibroids[J]. Nature Rev Dis Prim,2016(2):16043.

[13] 倪小平,雷丽红,李丽燕. 雌、孕激素受体及表皮生长因子受体表达与子宫肌瘤术后复发的相关性研究[J]. 中国医师进修杂志,2012,35(6):25-27.

[14] 杨幼林,郑淑蓉,张志文,等. 米非司酮对子宫肌瘤组织中表皮生长因子基因表达的影响[J]. 中华妇产科杂志,1998,33(1):38-39.

[15] 刘文博,陈玲玲,曹丽娟,等. 外周血基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)和血管内皮生长因子检测在子宫肌瘤早期诊断中的应用研究[J]. 中国实验诊断学,2015,19(6):983-984.

(收稿日期:2017-09-27 修回日期:2017-12-18)