

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00734

## 骨桥蛋白在宫颈癌中的表达及临床意义

### Expression of osteopontin in cervical carcinoma and its clinical significance

方芳,张俊洁\*

第二军医大学长海医院妇产科,上海 200433

**[摘要]** **目的:**探讨骨桥蛋白(OPN)在宫颈癌中的表达及其作为诊断和预后指标的临床意义。**方法:**采用免疫组化S-P法检测150例宫颈癌及癌前病变组织(宫颈上皮内瘤样变,CIN)和20例正常宫颈组织中OPN的表达;采用ELISA法检测25例宫颈癌及20例癌前病变(CIN)患者血浆及手术切除标本组织匀浆中OPN的含量,并以10例子宫良性病变(子宫肌瘤、子宫内膜异位症)患者为对照。**结果:**免疫组化法测得OPN在宫颈癌组织中表达阳性率[53.2%(50/94)]显著高于正常宫颈组织[10.0%(2/20)]及CIN[10.7%(6/56), $P<0.05$ ];临床Ⅱ、Ⅲ期宫颈癌组织OPN表达阳性率显著高于Ⅰ期者( $P<0.05$ );宫颈癌有淋巴结转移者OPN表达阳性率显著高于无转移者( $P<0.05$ )。正常宫颈组织、CIN、宫颈癌组织匀浆及相应患者血浆中OPN含量也呈类似的变化趋势。**结论:**OPN可能与宫颈癌的发生、发展和转移有关,定量检测其表达可作为判断宫颈癌的预后和术后复发的评估指标之一。

**[关键词]** 宫颈肿瘤;骨桥蛋白;免疫组织化学;酶联免疫吸附测定

**[中图分类号]** R 737.33 **[文献标志码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2009)06-0734-02

宫颈癌是妇科最常见的恶性肿瘤之一,在一些发展中国家其发病率高居第二位<sup>[1]</sup>。近些年宫颈癌的发病率呈上升趋势,年轻妇女宫颈癌发病率的上升趋势更加明显。骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是一种分泌型钙结合磷酸化糖蛋白,由Senger等<sup>[2]</sup>于1979年首次在恶性转化的上皮细胞株中发现,称之为转化相关性磷酸蛋白。近年来的研究<sup>[3-4]</sup>表明,OPN在肿瘤组织中的表达明显高于良性病变组织,且与肿瘤的分化程度和有淋巴结转移明显相关。为了进一步明确OPN可能参与宫颈癌发生发展以及侵袭转移的过程,本研究采用免疫组织化学法和ELISA法检测宫颈癌组织、癌旁正常组织、手术切除淋巴结组织及血浆中OPN的表达,旨在探讨OPN与宫颈癌侵袭转移的相关规律。

#### 1 材料和方法

**1.1 研究对象** 150例宫颈癌及癌前病变标本、20例正常宫颈活检组织标本均取自第二军医大学长海医院病理科2004~2009年归档的蜡块。所有标本均经病理学检查确诊,其中宫颈上皮内瘤样病变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)56例(CINⅠ期7例,CINⅡ期4例,CINⅢ期45例),宫颈癌94例(Ⅰ期40例,Ⅱ期44例,Ⅲ期10例;鳞癌82例,腺癌12例;有淋巴结转移16例,无淋巴结转移78例)。所有标本均经中性甲醛溶液固定,常规石蜡包埋,厚度4 $\mu$ m连续切片。另取25例宫颈癌(鳞癌22例,腺癌3例)及20例CIN患者血浆标本、手术切除的新鲜标本,10例子宫良性病变(子宫肌瘤、子宫内膜异位症)患者血浆标本及手术切除的正常宫颈组织,均为第二军医大学长海医院妇产科住院手术

患者,均知情同意。

**1.2 试剂和方法** 分别采用免疫组化S-P法和ELISA法对宫颈癌组织、癌旁正常组织、手术切除淋巴结组织及血浆中的OPN进行检测。鼠抗OPN单克隆抗体及S-P免疫组化试剂盒购自Santa Cruz公司,DAB显色试剂盒购自华美生物工程公司上海分公司,ELISA试剂盒购自ADL公司。

**1.3 免疫组化结果的判定** 显微镜下观察OPN免疫组化信号为棕褐色颗粒,定位于肿瘤细胞的胞质内及胞膜上。OPN染色阳性结果的判定标准:肿瘤细胞胞质中呈棕黄色至棕褐色颗粒为阳性着色,高倍镜下( $\times 200$ )对每张切片随机选择5个视野,每个视野计数200个细胞,共计1000个细胞。(1)按切片中阳性细胞数占细胞总数的比例计分:0分,无阳性细胞;1分,阳性细胞 $<25\%$ ;2分,阳性细胞 $25\% \sim 50\%$ ;3分,阳性细胞 $>50\%$ 。(2)按切片中细胞显色强度计分:0分,细胞无显色;1分,细胞呈浅黄色(弱染色);2分,细胞呈棕黄色(中等染色);3分,细胞呈棕褐色(强染色)。两者分数相加之和 $\geq 3$ 分记为阳性。

**1.4 ELISA法结果的判读** 于波长450 nm的酶标仪上读取各孔的光密度(D)值。以D值为纵坐标(Y),相应的OPN标准品浓度为横坐标(X),绘制相应的曲线,样品的OPN含量可根据D值由标准曲线换算。

**1.5 统计学处理** 应用SPSS 13.0软件进行数据处理,采用 $\chi^2$ 检验和t检验进行相关分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

#### 2 结果

**2.1 OPN在正常及宫颈病变组织中的表达** 免疫组化结

**[收稿日期]** 2009-04-09 **[接受日期]** 2009-05-23

**[作者简介]** 方芳,硕士生. E-mail:fang83710@yahoo.com.cn

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel:021-81871617, E-mail:zhangjj910@tom.com

果显示,OPN 主要表达于癌细胞胞质中,呈强染色或中等染色,巢状或片状分布,部分腺腔上皮细胞和血管内皮细胞亦呈中等染色,间质细胞中无或呈弱染色(图1)。正常宫颈组

织、CIN、宫颈癌组织中 OPN 的表达阳性率分别为 10.0% (2/20)、10.7% (6/56)、53.2% (50/94),宫颈癌组织 OPN 表达阳性率显著高于正常宫颈组织及 CIN( $P < 0.05$ )。

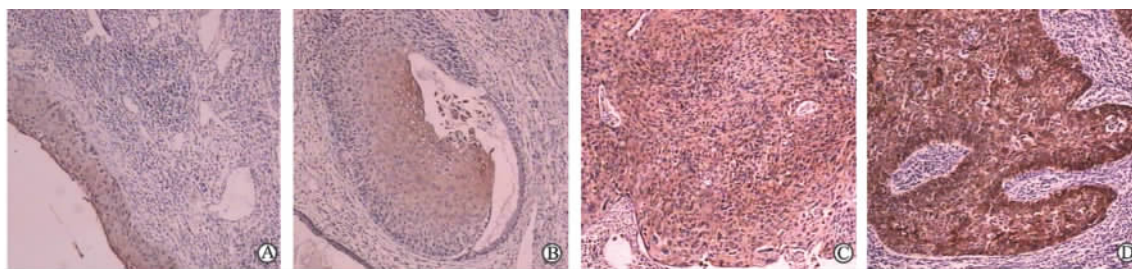


图1 正常及病变宫颈组织中 OPN 的表达

A: 正常宫颈组织, OPN 弱阳性表达; B: 宫颈上皮内瘤样病变(CIN)组织, OPN 弱阳性表达; C: 宫颈癌 I 期组织, OPN 阳性表达; D: 宫颈癌 III 期组织, OPN 强阳性表达。Original magnification:  $\times 100$

2.2 OPN 表达与宫颈癌临床特征的关系 OPN 在宫颈鳞癌及腺癌中的表达阳性率分别为 59.8% (49/82) 和 58.3% (7/12), 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 临床 I、II 期宫颈癌组织 OPN 表达阳性率 [63.0% (34/54)] 显著高于 III 期者 [40% (16/40),  $P < 0.05$ ]; 宫颈癌有淋巴结转移者 OPN 表达阳性率 [81.3% (13/16)] 显著高于无转移者 [55.1% (43/78),  $P < 0.05$ ]。

2.3 正常及宫颈病变组织匀浆、患者血浆中 OPN 的检测结果 正常宫颈组织、CIN、宫颈癌组织匀浆中 OPN 的检测值分别为 (100 ± 3.05)、(280 ± 10.11)、(702 ± 17.37) ng/ml, 宫颈癌 I 期、II 期组织匀浆中 OPN 检测值分别为 (560 ± 12.58)、(825 ± 15.33) ng/ml。宫颈良性病变 ( $n = 10$ )、CIN ( $n = 20$ )、宫颈癌 I 期 ( $n = 15$ )、II 期 ( $n = 10$ ) 患者血浆 OPN 检测值分别为 (100 ± 2.68)、(176 ± 10.25)、(290 ± 13.11)、(412 ± 11.39) ng/ml。OPN 在正常宫颈组织、CIN、宫颈癌 I 期、II 期组织匀浆及血浆中的测定值呈递增趋势。OPN 在淋巴结转移 ( $n = 6$ ) 和非淋巴结转移患者 ( $n = 39$ ) 血浆、组织匀浆液中的测定值分别为 (442 ± 7.11) 和 (285 ± 9.71) ng/ml、(830 ± 9.14) 和 (480 ± 15.67) ng/ml, 血浆及病变组织匀浆 OPN 测定值在淋巴结转移组与非转移组之间差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

OPN 是近年来发现的一种具有多种生物学活性的分泌型钙结合磷酸化糖蛋白, 是细胞外基质中的一种非胶原性黏附分子。研究<sup>[3,5-7]</sup>显示, OPN 不仅在一些正常组织如肾、内耳、胎盘、蜕膜、激活的 T 细胞、巨噬细胞中少量表达, 而且在胃癌、肝癌、肺癌、子宫内膜癌、卵巢癌等原发性肿瘤及转移瘤组织中高表达, 在肿瘤的发生及侵袭转移方面具有重要意义。本研究结果表明, 随着癌前病变、宫颈浸润癌的逐渐进展, 病变程度加重, OPN 的阳性表达率也逐渐增高, 宫颈癌组织 OPN 表达阳性率显著高于良性病变组 ( $P < 0.05$ ), 提示 OPN 可能参与了宫颈癌的癌变进展过程。有文献<sup>[3]</sup>报道, 在某些肿瘤中, 如大肠癌、肾癌、膀胱癌等, OPN 的阳性表达与肿瘤的临床分期和病理特征有关。Allan 等<sup>[8]</sup>研究发现 OPN 表达与乳腺癌的淋巴结转移相关且影响乳腺癌患者的预后, OPN 阳性表达的患者生存期短, 存活率低。本研究也发现,

OPN 表达与宫颈浸润癌的临床分期、有无淋巴结转移有关, 临床分期越晚, OPN 的阳性表达率越高, 有淋巴结转移者, OPN 的阳性表达率也越高, 说明 OPN 的表达与宫颈浸润癌的病变发展和预后有关。血液中特异性肿瘤标志物的改变能反映疾病的状态, 并提供一种简单、无创的方法用于疾病的诊断。本研究结果表明, OPN 在组织匀浆及血浆中的表达结论是一致的, 提示 OPN 在肿瘤的发生、发展和侵袭转移中可能具有重要的作用, 外周血 OPN 可能作为一个新的肿瘤标志物用于临床诊断和预后判断。

### [参考文献]

- [1] Bauer H M, Ault K. Human papillomavirus; current prevalence and future protection[J]. Sex Transm Dis, 2006, 33: 509-511.
- [2] Senger D R, Wirth D F, Hynes R O. Transformed mammalian cells secrete specific proteins and phosphoproteins [J]. Cell, 1979, 16: 885-893.
- [3] Coppola D, Szabo M, Boulware D, Muraca P, Alsarraj M, Chambers A F, et al. Correlation of osteopontin protein expression and pathological stage across a wide variety of tumor histologies [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10 (1 Pt 1): 184-190.
- [4] Bramwell V H, Doig G S, Tuck A B, Wilson S M, Tonkin K S, Tomiak A, et al. Serial plasma osteopontin levels have prognostic value in metastatic breast cancer[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(11 Pt 1): 3337-3343.
- [5] Chakraborty G, Jain S, Behera R, Ahmed M, Sharma P, Kumar V, et al. The multifaceted roles of osteopontin in cell signaling, tumor progression and angiogenesis[J]. Curr Mol Med, 2006, 6: 819-830.
- [6] Hashiguchi Y, Tsuda H, Bandera C A, Nishimura S, Inoue T, Kawamura N, et al. Comparison of osteopontin expression in endometrioid endometrial cancer and ovarian endometrioid cancer [J]. Med Oncol, 2006, 23: 205-212.
- [7] Kim J H, Skates S J, Uede T, Wong K K, Schorge J O, Feltmate C M, et al. Osteopontin as a potential diagnostic biomarker for ovarian cancer[J]. JAMA, 2002, 287: 1671-1679.
- [8] Allan A L, George R, Vantyghe S A, Lee M W, Hodgson N C, Engel C J, et al. Role of the integrin-binding protein osteopontin in lymphatic metastasis of breast cancer [J]. Am J Pathol, 2006, 169: 233-246.