

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.12.024

卵巢癌中结缔组织生长因子的表达及其临床病理意义*

张宗臻 邵 婷 陈秀玮[△] 王树香 刘天伯 刘运铎

(哈尔滨医科大学附属第三医院妇一科 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要 目的:探讨卵巢癌中结缔组织生长因子(CTGF)的表达及其与卵巢癌临床病理特征的关系。**方法:**采用免疫组化法检测 116 例卵巢癌和 25 例正常卵巢组织中 CTGF 表达,并分析其与卵巢癌临床病理参数的关系。**结果:**正常卵巢组织及卵巢癌中 CTGF 的阳性表达率分别 96%(24/25)、65%(75/116),卵巢癌中 CTGF 的阳性表达率显著低于正常卵巢组织($P<0.05$)。CTGF 的表达降低与卵巢癌患者的淋巴结转移、腹膜内转移及对化疗的敏感性显著相关($P<0.05$);进一步的多因素 Logistic 回归分析显示 CTGF 的表达与卵巢癌腹膜转移($P=0.006$, $OR=4.185$, 95% $CI=1.447-11.352$)和淋巴结转移($P<0.001$, $OR=6.336$, 95% $CI=2.563-15.972$)均显著相关。**结论:**卵巢癌中 CTGF 的表达缺失,是卵巢癌腹膜转移和淋巴结转移的独立影响因素,可能作为预测卵巢癌转移的参考指标。

关键词: 结缔组织生长因子; 卵巢癌; 转移

中图分类号: R737.33 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2015)12-2302-05

CTGF is a Novel Predictor of Metastasis in Ovarian Cancer*

ZHANG Zong-zhen, SHAO Ting, CHEN Xiu-wei[△], WANG Shu-xiang, LIU Tian-bo, LIU Yun-duo

(The First Department of Obstetrics and Gynaecology, the third Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150086, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of CTGF expression and its correlation with clinicopathological characteristics of ovarian cancer. **Methods:** Immunohistochemistry was used to detect the expression of CTGF in 116 cases of ovarian cancer and 25 cases of normal ovarian tissue, and analyze the relationship between CTGF expression and clinicopathological characteristics of ovarian cancer. **Results:** The positive rate of CTGF expression in normal ovarian tissue and ovarian cancer were 96% (24/25) and 65% (75/116) respectively, which was significantly lower in the ovarian cancer than that of normal ovarian tissue. The decrease of CTGF expression was found to be associated with the lymph node metastasis, intraperitoneal metastasis and response to chemotherapy of ovarian cancer($P<0.05$). Further multivariate logistic regression analysis showed that CTGF expression was significantly associated with the intraperitoneal metastasis of ovarian cancer ($P=0.006$, $OR=4.185$, 95% $CI=1.447-11.352$) and lymph node metastasis ($P<0.001$, $OR=6.336$, 95% $CI=2.563-15.972$). **Conclusion:** The loss of CTGF expression was independent influencing factor of lymph node metastasis and intraperitoneal metastasis of ovarian carcinoma, which may be used as an potential biomarker for the metastasis of ovary carcinoma.

Key words: CTGF; Ovarian carcinoma; Metastasis

Chinese Library Classification(CLC): R737.33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)12-2302-05

前言

1991 年, Bradham 等在人类脐静脉内皮细胞中发现结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)蛋白, 由 349 个氨基酸组成, 分子量为 34~38KD, 是一富含半胱氨酸的分泌肽。CTGF 是一种多效能生物分子, 通过促进细胞的增殖和迁移、细胞外基质的沉积、血管生成等发挥重要的生理作用^[1,2]; 同时, CTGF 参与了组织纤维化、肿瘤发生等一系列病理过程^[3]。CTGF 的作用机制复杂, 在不同的组织细胞中发挥不同的作用, 在处于不同环境下的相同细胞中的作用亦不同, 甚至相反。

目前, CTGF 在卵巢癌中的表达及作用尚不清楚。本研究通过免疫组化检测正常卵巢组织及卵巢癌中 CTGF 的表达, 并分析其与卵巢癌临床病理因素的关系, 旨在探讨 CTGF 在卵巢癌中的临床意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集哈尔滨医科大学附属第三医院 2005 年 1 月~2008 年 1 月经手术切除的卵巢癌患者共 116 例, 患者平均年龄 53.26 岁(25-77 岁), 其中 <54 岁者 58 例, ≥ 54 岁者 58 例。病理确诊

* 基金项目: 黑龙江省科技厅自然科学基金面上项目(H201336; H1621)

作者简介: 张宗臻(1978-), 女, 硕士, 主要研究方向: 妇科肿瘤, 电话: 15104544833, E-mail: 1019092053@qq.com

△ 通讯作者: 陈秀玮, E-mail: chenxiuwei1023@163.com

(收稿日期: 2014-04-26 接受日期: 2014-05-20)

的病理类型:浆液性卵巢癌 85 例,透明细胞癌 4 例,子宫内膜样癌 10 例,粘液性癌 17 例;病理分化程度:高分化 30 例,中-低分化 86 例;手术病理分期:I 期 10 例,II 15 例,III-IV 期 91 例;盆腔淋巴结有转移者 43 例,无淋巴结转移者 73 例;术后残余灶>1 cm 者 19 例,≤1 cm 者 97 例。另外随机选取因子宫良性疾病或宫颈良性疾病而切除的正常卵巢组织。所有患者术后均规律的应用铂为基础的联合化疗方案化疗足疗程,所有组织均经病理学明确诊断;临床资料和随访资料完整。

1.2 实验方法

石蜡包埋标本 4 μm 连续切片,脱蜡、水化、高压抗原修复, H₂O₂ 封闭内源性过氧化物酶,兔抗人 CTGF 多克隆抗体(1:100 美国 R&D 公司),4℃ 过夜,滴加生物素标记的二抗(北京中杉), 37℃ 温箱孵育 30 分钟,PBS 冲洗,DAB 显色,苏木素复染,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树脂封片,PBS 代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判定

CTGF 的阳性结果为胞浆内出现黄色或棕黄色颗粒,阳性

细胞数计分,无阳性细胞为 0 分,阳性细胞≤25%为 1 分,阳性细胞>25%且≤50%为 2 分,阳性细胞>50%且<75%为 3 分,阳性细胞≥75%为 4 分;染色的强度计分:无着色为 0 分,很弱着色为 1 分,弱着色为 2 分,中等着色为 3 分,强染色为 4 分;阳性细胞比例与细胞染色强度之和为最终的染色结果,根据染色结果分为低表达,中表达及高表达。

1.4 统计学分析

所有数据采用 SPSS 13.0 统计学软件进行统计处理,CTGF 表达水平与临床病理参数的比较采用 X² 检验或 Fishers 确切概率法,多因素 Logistic 回归分析评估 CTGF 表达与卵巢癌转移的关系,以 P 值<0.05 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 CTGF 在卵巢癌组织与正常卵巢组织中的表达

卵巢癌组织中,CTGF 高表达 25 例,中表达 55 例,低表达 41 例,CTGF 的阳性表达为 96%(24/25);正常卵巢组织中,CTGF 高表达 15 例,中表达 9 例,低表达 11 例,CTGF 的阳性表

表 1 CTGF 在卵巢癌组织及正常卵巢组织中的表达
Table 1 Expression of CTGF in normal ovarian tissue and ovarian cancer

		CTGFexpression			Percentage(%)		
		Strong	Moderate	Weak			
Ovarian cancer	116	20	55	41	17	47	36
Normal ovary	25	15	9	1	60	36	4

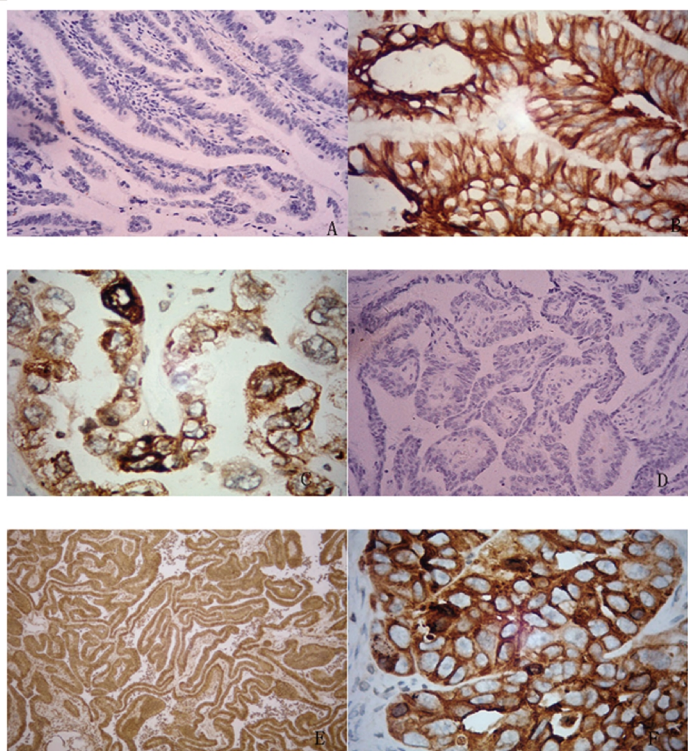


图 A 卵巢癌 CTGF 阴性表达(×400) CTGF-negative in ovarian cancer(×400)

图 B 卵巢粘液癌组织 CTGF 高表达(×400) CTGF-positive in mucinous ovarian cancer(×400)

图 C 卵巢透明细胞癌组织 CTGF 高表达(×400) CTGF-positive in clear cell cancer(×400)

图 D 卵巢癌 PBS 阴性对照组(×400) PBS-negative control in ovarian cancer(×400)

图 E 卵巢子宫内膜样癌中 CTGF 高表达(×200) CTGF-positive endometrial ovarian cancer(×200)

图 F 卵巢浆液性癌组织 CTGF 高表达(×200) CTGF-positive in serous ovarian cancer(×200)

达为 65%(75/116), 卵巢癌中 CTGF 的阳性表达率显著高于正常卵巢组织($P<0.05$)。见表 1, 图 A-F。

2.2 CTGF 的表达与卵巢癌临床病理参数的关系

CTGF 的表达降低与患者淋巴结转移、腹膜内转移及患者

对化疗的敏感性显著相关($P<0.05$), 但与患者的年龄、残留病灶大小、腹水、组织类型、病理分级、FIGO 分期均无关($P>0.05$), 见表 2。

表 2 CTGF 表达与卵巢癌临床病理参数的关系
Table 2 Correlation of CTGF expression with clinicopathological characteristics of ovarian cancer

Variables	No.=116	CTGF expression			P-value
		Strong	Moderate	Weak	
Age (years)					0.311
≤ 54	58	12	27	19	
>54	58	8	28	22	
Ascites(ml)					0.523
≤ 500	40	7	18	15	
>500	76	13	37	26	
FIGO stage					0.415
I	10	2	4	4	
II	15	3	7	5	
III-IV	91	15	44	32	
Histological type					0.126
Serous	85	15	38	32	
Mucinous	17	4	8	5	
Endometrioid	10	2	5	3	
Clear cell	4	1	1	2	
Histologic grade					0.115
G1	30	5	12	10	
G2-G3	86	15	43	31	
Residual tumour size					0.764
≤ 1	97	17	46	34	
>1	19	3	9	7	
Response to chemotherapy					0.012
Platinum sensitive	76	15	39	23	
Platinum resistant	40	7	15	18	
Intraperitoneal metastasis					0.007
No	39	9	21	11	
Yes	77	11	36	30	
Lymph node metastasis					0.009
No	73	17	35	21	
Yes	43	3	20	20	

2.3 CTGF 表达与卵巢癌淋巴结转移和腹膜转移相关性的多因素 Logistic 回归分析

多因素 Logistic 回归分析显示:CTGF 的表达与卵巢癌腹膜转移($P=0.006$, $OR=4.185$, 95% $CI=1.447-11.352$)和淋巴结转

移($P<0.001$, $OR=6.336$, 95% $CI=2.563-15.972$)均显著相关, 表明 CTGF 表达是卵巢癌腹膜转移和淋巴结转移的独立影响因素。

3 讨论

表 3 CTGF 表达与卵巢癌腹膜转移和淋巴结转移的多因素 Logistic 回归分析

Table 3 The relationship of CTGF expression with intraperitoneal metastasis and lymph node metastasis of ovarian cancer using multivariate Logistic Regression analysis

Variables	B	S.E.	P-value	OR	95% CI
Intraperitoneal metastasis	1.432	0.561	0.006	4.185	1.447-11.352
Lymph node metastasis	1.842	0.461	P<0.001	6.336	2.563-15.972

注: B and S.E 样本回归系数及标准误, CI 可信区间, OR 优势比。

Note: Abbreviations: B and S.E the parameter estimator of association coefficient and its standard error; CI confidence interval, OR odds ratio.

CTGF 存在于心、脑、肾、肝、子宫等多种组织器官中,通过促进细胞增殖和迁移、诱导细胞分化^[4,5]、刺激血管生成及细胞外基质的沉积等发挥其生理及病理作用^[6]。在生理状态下,CTGF 的表达水平较低,作用不明显;但在病理情况下,特别是在许多纤维化疾病中,其表达水平明显增加^[7]。研究发现 CTGF 在纤维化肺组织中的表达水平明显升高,并且与肺纤维化程度呈显著正相关^[8]。血浆 CTGF 水平与心力衰竭的评级及临床症状正相关^[9],可协助心衰的诊断^[10]。同时,CTGF 可作为糖尿病肾病独立的预后预测因子^[11]。

CTGF 也参与了肿瘤的发生与发展,且 CTGF 的作用具有细胞特异性、环境特异性,在不同肿瘤中的表达不同,作用也不同。如 CTGF 在胆囊癌中的表达明显增高,且高表达 CTGF 的胆囊癌患者比低表达或不表达 CTGF 的胆囊癌患者预后更好,而体外抑制内源性 CTGF 的表达可使胆囊癌细胞的生长及迁移能力明显降低^[12,13]。CTGF 在头颈部鳞状细胞瘤中也呈高表达,并可作为肿瘤预后的独立预测因子^[14]。在胰腺癌细胞中,CTGF 的表达增加能够促进胰腺癌细胞的侵袭、转移^[15],体外抑制 CTGF 的表达可减弱细胞的侵袭、增殖^[16]。CTGF 在肝癌、胃癌中也呈高水平表达^[17,18],抑制 CTGF 的高表达后,肝癌的侵袭及转移能力明显降低。CTGF 还能促进使骨肉瘤细胞对顺铂诱导凋亡产生抵抗^[19]。以上研究表明 CTGF 可促进肿瘤的发生和发展。而与此相反,一些肿瘤相关的研究显示 CTGF 是一种肿瘤抑制蛋白。如无淋巴结转移、分化程度高的结直肠癌 CTGF 表达的阳性率明显高于有淋巴结转移及分化程度低者^[20],同时,CTGF 同样直肠癌向腹膜的转移^[21]。CTGF 在非小细胞肺癌中也发挥抑癌作用,CTGF 高表达的非小细胞肺癌患者的预后明显优于 CTGF 低表达的非小细胞肺癌患者^[22]。当研究方法或条件不同时,即使在相同的肿瘤中,CTGF 的作用也不同,甚至相反。体内研究发现,CTGF 能够促进乳腺癌细胞的侵袭、转移,增强乳腺癌细胞向骨转移的能力^[23],但是在体外乳腺癌的细胞培养中,CTGF 则能诱导 MCF-7 细胞的凋亡^[24]。因此,CTGF 对不同类型的肿瘤发生和发展的具体作用仍有待于进一步的研究证实。

本研究主要探讨了 CTGF 在卵巢癌中的表达及其临床意义,结果显示 CTGF 在卵巢癌中的表达水平明显低于正常卵巢组织,且与卵巢癌的淋巴结转移、腹膜内转移及对化疗的敏感性显著相关。进一步通过多因素 Logistic 回归分析,结果显示 CTGF 的表达与卵巢癌腹膜转移和淋巴结转移相关,为卵巢癌的独立预后预测因子,这与 Frank^[25]的研究一致。CTGF 为一多效能生物因子,其作用机制非常复杂,在不同的疾病中有不同的表达及作用,在处于不同环境的同一疾病过程中,CTGF 发

挥的作用仍可能不同,甚至相反。因此,进一步阐明 CTGF 在不同疾病中发挥的具体作用及其机制具有重要的临床意义,可将其更好地应用于疾病的个体化诊断与治疗,从而获得更多的临床价值。

参考文献(References)

- [1] Brigstock D R. The connective tissue growth factor/cysteine-rich 61/nephroblastoma overexpressed (CCN) family [J]. *Endocr Rev*, 1999, 20(2): 189-206
- [2] Perbal B. The CCN family of genes: a brief history [J]. *Mol. Pathol*, 2001, 54(2): 103-104
- [3] Meng H, Wang X, Fong Y, et al. Outcomes of radical surgery for gallbladder cancer patients with lymphatic metastases [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2011, 41(8): 992-998
- [4] 廖晓莉,陈超,陈涛,等. CTGF 反义寡核苷酸对人肾小管上皮细胞转分化的影响[J]. *上海交通大学学报*, 2010, 5(2): 1674-8115
Liao Xiao-li, Chen Chao, Chen Tao, et al. Effects of CTGF antisense oligodeoxynucleotide on transition of human kidney epithelial cells [J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Medical Science)*, 2010, 5(2): 1674-8115
- [5] 徐国兴,庄华,徐巍,等. CTGF 反义寡核苷酸对人晶状体上皮细胞转分化的探讨[J]. *国际眼科杂志*, 2011, 11(2): 216-219
Xu Guo-xing, Zhuang Hua, Xu Wei, et al. Influence of CTGF antisense oligonucleotide on human lens epithelial cell's trans-differentiation [J]. *Int J Ophthalmol*, 2011, 11(2): 216-219
- [6] Hussain A, Wyatt AW, Wang K, et al. SGK1-dependent upregulation of connective tissue growth factor by angiotensin II [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2008, 31(2): 80-86
- [7] Kovalenko E, Tacke F, Gressner OA, et al. Validation of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) and its gene polymorphisms as noninvasive biomarkers for the assessment of liver fibrosis [J]. *Viral Hepat*, 2009, 16(9): 612-620
- [8] Thannickal VJ, Toews GB, White ES, et al. Mechanisms of pulmonary fibrosis [J]. *Annu Rev Med*, 2004, 55B395
- [9] Matsui Y, Sadoshima J. Rapid upregulation of CTGF in cardiac myocytes by hypertrophic stimuli implication for cardiac fibrosis and hypertrophy [J]. *Mol Cell Cardio*, 2004, 37(2): 477-481
- [10] Koitabashi N, Arai M, Niwano K, et al. Plasma connective tissue growth factor is a novel potential biomarker of cardiac dysfunction in patients with chronic heart failure [J]. *Eur J Heart Fail*, 2008, 10(4): 373-379
- [11] Nguyen TQ, Tarnow L, Jorsal A, et al. Plasma connective tissue growth factor is an independent predictor of end-stage renal disease and mortality in type 1 diabetic nephropathy [J]. *Diabetes Care*, 2008,

- 31(6): 1177-1182
- [12] Garcia P, Leal P, Alvarez H, et al. Connective Tissue Growth Factor Immunohistochemical Expression Is Associated With Gallbladder Cancer Progression[J]. Arch Pathol Lab Med, 2013, 137(2): 245-250
- [13] Garcia P, Leal P, Ili C, et al. Inhibition of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) in gallbladder cancer cells leads to decreased growth in vitro[J]. Int J Exp Pathol, 2013, 94(3): 195-202
- [14] Kikuchi R1, Kikuchi Y, Tsuda H, et al. The expression and clinical significance of connective tissue growth factor in advanced head and neck squamous cell cancer[J]. Hum Cell, 2014 Apr 4. [Epub ahead of print]
- [15] Bai YC, Kang Q, Luo Q, et al. Role of connective tissue growth factor (CTGF) in proliferation and migration of pancreatic cancer cells[J]. Chinese Journal of Oncology, 2011, 33(10): 732-736
- [16] Kevin L Bennewith, Xin Huang, Christine M Ham, et al. The Role of Tumor Cell-Derived Connective Tissue Growth Factor (CTGF/CCN2) in Pancreatic Tumor[J]. Growth Cancer Res, 2009, 69(3): 775-784
- [17] Jia XQ, Cheng HQ, Li H, et al. Inhibition of connective tissue growth factor overexpression decreases growth of hepatocellular carcinoma cells in vitro and in vivo[J]. Chin Med J, 2011, 124(22): 3794-3799
- [18] Cheng TY, Wu MS, Hua KT, et al. Cyr61/CTGF/Nov family proteins in gastric carcinogenesis [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(7): 1694-700
- [19] Tsai HC, Huang CY, Su HL, et al. CCN2 enhances resistance to cisplatin-mediating cell apoptosis in human osteosarcoma [J]. PLoS One, 2014, 9(3): e90159
- [20] Ladwa R, Pringle H, Kumar R, et al. CTGF and Cyr61 in colorectal cancer[J]. Clin Pathol, 2011, 64(1): 58-64
- [21] Lin BR1, Chang CC, Chen RJ, et al. Connective tissue growth factor acts as a therapeutic agent and predictor for peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer[J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(10): 3077-3088
- [22] Chen PP, Li WJ, Wang Y, et al. Expression of Cyr61, CTGF, and WISP-1 correlates with clinical features of lung cancer[J]. PLoS One, 2007, 2(6): e534
- [23] Xie D, Nakachi K, Wang H, et al. Elevated levels of connective tissue growth factor, WISP-1, and CYR61 in primary breast cancers associated with more advanced features[J]. Cancer Res, 2001, 61(24): 8917-8923
- [24] Hishikawa K, Oemar BS, Tanner FC, et al. Connective tissue growth factor induces apoptosis in human breast cancer cell line MCF-7[J]. Biol Chem, 1999, 274(52): 37461-37466
- [25] Inverse Expression of Cystein-rich 61 (Cyr61/CCN1) and Connective Tissue Growth Factor (CTGF/CCN2) in Borderline Tumors and Carcinomas of the Ovary[J]. Int J Gynecol Pathol, 2012, 31(5): 405-415

(上接第 2369 页)

- [22] Qu KZ, Zhang K, Li H, et al. Circulating microRNAs as biomarkers for hepatocellular carcinoma[J]. J Clin Gastroenterol, 2011, 45(4): 355-360
- [23] Sukata T, Sumida K, Kushida M, et al. Circulating miRNAs, possible indicators of progress of rat hepatocarcinogenesis from early stages [J]. Toxicol Lett, 2011, 200(1-2): 46-52
- [24] Li J, Wang Y, Yu W, et al. Expression of serum miRNA-221 in human hepatocellular carcinoma and its prognostic significance [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 406(1): 70-73
- [25] Xu J, Wu C, Che X, et al. Circulating microRNAs, miR-21, miR-122, and miR-223, in patients with hepatocellular carcinoma or chronic hepatitis[J]. Mol Carcinog, 2011, 50(2): 136-142
- [26] 郭晓东, 杨美, 皋月娟, 等. 肝癌患者血清乙肝病毒特异性 miRNAs 水平指标检测与术后肿瘤复发的相关性研究[J]. 现代生物医学进展, 2013, 9: 1742-1744
- Guo Xiao-dong, Yang Mei, Gao Yue-juan, et al. Serum miRNAs index detection of HBV-specific hepatocellular carcinoma is correlated with Tumor recurrence [J]. Modern Adv Biomedicine, 2013, 9: 1742-1744
- [27] Liu AM, Yao TJ, Wang W, et al. Circulating miR-15b and miR-130b in serum as potential markers for detecting hepatocellular carcinoma: a retrospective cohort study[J]. BMJ open, 2012, 2(2): e000825
- [28] Li L, Guo Z, Wang J, et al. Serum miR-18a: a potential marker for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma screening [J]. Dig Dis Sci, 2012, 57(11): 2910-2916
- [29] 吴瑞珊, 温旺荣. 外周血 miRNA 的诊断意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2012, 4(2): 131-134
- Wu Rui-shan, Wen Wang-rong. Diagnostic significance of peripheral blood miRNA[J]. J Molecular Diagn Treat, 2012, 4(2): 131-134
- [30] 胡学玲, 范公忍. microRNA 在乙型、丙型肝炎中的作用[J]. 临床肝胆病杂志, 2012, 28(11): 877-880
- Hu Xue-ling, Fan Gong-ren. Functional role of miRNAs in viral hepatitis infections[J]. J Clin Hepatol, 2012, 28(11): 877-880