

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.05.029

子宫内膜癌组织中 GDF-15 和 p-mTOR 蛋白的表达及临床意义

杨胜利¹ 曹芳芹¹ 郭粉莉¹ 吕萍¹ 王芳^{2Δ}

(1 渭南市妇幼保健院病理科 陕西 渭南 714000; 2 渭南市妇幼保健院妇科 陕西 渭南 714000)

摘要 目的:研究子宫内膜癌组织中生长分化因子 15(GDF-15)和磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)的表达,并分析其临床意义,为临床治疗提供依据。**方法:**选取 2011 年 1 月到 2016 年 2 月我院子宫内膜癌组织 75 例为研究组,另选取同期正常子宫内膜组织 75 例为对照组,应用免疫组化法检测 GDF-15 和 p-mTOR 蛋白的表达。**结果:**研究组 GDF-15 和 p-mTOR 蛋白的表达阳性率显著高于对照组,比较差异具有统计学意义($P<0.05$);子宫内膜癌分期 III-IV 期、淋巴结转移者、病理分级 G2+G3、肌层浸润深度 $\geq 1/2$ 的 GDF-15 和 p-mTOR 蛋白的表达阳性率均较高($P<0.05$);子宫内膜癌组织 GDF-15 与 p-mTOR 蛋白表达呈正相关关系($P<0.05$)。**结论:**子宫内膜癌组织中 GDF-15 与 p-mTOR 蛋白表达升高,且与肿瘤转移、临床分期、肌层浸润深度有关。

关键词:子宫内膜癌;生长分化因子 15;磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白

中图分类号:R737.33 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)05-913-03

Expression and Clinical Significance of GDF-15 and p-mTOR Protein in Endometrial Carcinoma

YANG Sheng-li¹, CAO Fang-qin¹, GUO Fen-li¹, LV Ping¹, WANG Fang^{2Δ}

(1 Department of Pathology, Weinan Maternity and Child Health Care Hospital, Weinan, Shaanxi, 714000, China;

2 Department of Gynaecology, Weinan Maternity and Child Health Care Hospital, Weinan, Shaanxi, 714000, China)

ABSTRACT Objective: To study the expression of growth differentiation factor 15 (GDF-15) and phosphorylated mammalian target of rapamycin (p-mTOR) in endometrial carcinoma, and analysis of its clinical significance, and analysis of its clinical significance, to provide basis for clinical treatment. **Methods:** 75 cases of endometrial carcinoma from January 2011 to February 2016 in our hospital were selected as the study group, another 75 cases of normal endometrial tissue were selected as control group, the expression of GDF-15 and p-mTOR protein was detected by immunohistochemistry. **Results:** The expression positive rate of GDF-15 and p-mTOR protein in the study group was significantly higher than that in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$); GDF-15 and p-mTOR protein expression positive rate of endometrial cancer stage III-IV, lymph node metastasis, Pathological grading G2+G3, muscular layer infiltration depth $\geq 1/2$ were higher ($P<0.05$); positive correlation between GDF-15 and p-mTOR protein in endometrial carcinoma tissue ($P<0.05$). **Conclusion:** Increased expression of GDF-15 and p-mTOR protein in endometrial carcinoma, and the tumor metastasis, clinical stage, the depth of the depth of the muscle invasion.

Key words: Endometrial carcinoma; Growth differentiation factor 15; Phosphorylated mammalian target of rapamycin

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

Article ID: 1673-6273(2017)05-913-03

前言

子宫内膜癌是妇科常见疾病,高居恶性肿瘤的第三位,且近年来,子宫内膜癌的发生率呈逐年增加的趋势,是引起女性死亡的主要原因之一。子宫内膜癌早期诊断和治疗是改善患者预后的关键^[1]。因此,提高早期诊断的准确性具有重要意义。生长分化因子 15(Growth differentiation factor 15, GDF-15)是转化生长因子家族中的成员之一,在肿瘤的发生和发展中具有重要意义,与肿瘤的转移具有较大关系^[2]。磷酸化哺乳动物雷帕霉

素靶蛋白(Phosphorylated mammalian target of rapamycin, p-mTOR)是一种调节细胞增殖和生长的重要物质,在肿瘤的发生和发展中发挥重要作用^[3]。也有研究显示, GDF-15 可以通过 p-mTOR 信号通路来促进肿瘤的发生和发展^[4]。本研究旨在分析子宫内膜癌组织中 GDF-15 和 p-mTOR 蛋白的表达,并观察其与子宫内膜癌组织病理的关系,为临床诊疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2011 年 1 月到 2016 年 2 月我院子宫内膜癌组织 75 例为研究组,纳入标准:所有患者均经显微镜下病理证实为子宫内膜癌,均为原发性子宫内膜癌。排除标准:继发性子宫内膜癌者,存在免疫系统疾病者,存在血液系统疾病者。年龄介于 29-69 岁,平均年龄为(47.8 $\pm$ 2.4)岁,另选取同期正常子宫内膜

作者简介:杨胜利(1970-),男,本科,主治医师,从事病理方面的研究, E-mail: 931877706@qq.com

Δ 通讯作者:王芳(1974-),女,本科,副主任医师,从事妇产方面的研究, E-mail: 1930728409@qq.com

(收稿日期:2016-09-26 接受日期:2016-10-25)

组织 75 例为对照组,所有入选者均为良性子宫平滑肌瘤,均经显微镜病理证实为正常子宫内膜,年龄介于 28-70 岁,平均年龄为(47.3± 5.2)岁,两组入选者年龄比较均无显著差异($P>0.05$),具有可比性,研究经医学伦理委员会批准,所有入选者均知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法

应用宫腔镜给予入选者子宫内膜检查,并进行取材,将病理标本进行石蜡固定,然后进行病理切片。应用免疫组化法检测 GDF-15 和 p-mTOR 蛋白的表达,检测试剂盒和显色试剂盒均由上海生物技术有限公司提供,实验操作均由副高级操作说明进行操作。GDF-15 和 p-mTOR 蛋白染色阳性为细胞质棕黄色颗粒或黄素颗粒,综合染色阳性和染色强弱进行评分。阳性细胞占比评分:0 分表示阴性,1 分表示阳性细胞 $\leq 10\%$,2 分表示阳性细胞为 11-50%;3 分表示阳性细胞 51-75%,4 分表示阳性细胞数 $>75\%$ 。染色强度评分:0 分表示无染色,1 分表示淡黄色,2 分表示棕黄色,3 分表示棕褐色;染色阳性和染色强

弱的乘积 >3 分表示阳性^[9]。

1.3 统计学方法

应用 SPSS17.0 软件统计分析数据,计数资料应用 χ^2 检验,应用 Pearson 相关性检验分析 GDF-15 和 p-mTOR 蛋白相关性,以 $P<0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 GDF-15 和 p-mTOR 蛋白表达比较

研究组 GDF-15 和 p-mTOR 蛋白的表达阳性率分别为 70.67% (53/75)、77.33% (58/75) 显著高于对照组的 6.67% (5/75)、9.33% (7/75),比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 病理资料与 GDF-15 和 p-mTOR 蛋白表达关系

子宫内膜癌分期 III-IV 期、淋巴结转移者、病理分级 G2+G3、肌层浸润深度 $\geq 1/2$ 的 GDF-15 和 p-mTOR 蛋白的表达阳性率均较高($P<0.05$),GDF-15 和 p-mTOR 蛋白的表达与年龄无关($P>0.05$)。见表 1。

表 1 GDF-15 和 p-mTOR 蛋白的表达与病理资料关系(例,%)

Table 1 The relationship between expression of IGDF-15 and p-mTOR protein and pathological data(case,%)

病理资料 Pathological data	例数 Case	GDF-15 阳性	χ^2	P	p-mTOR 阳性	χ^2	P
年龄	≤ 50 岁(≤ 50 years)	41	29(70.73)	0.082	32(78.05)	0.577	0.453
Age	>50 岁(>50 years)	34	24(70.59)		26(76.47)		
分期	I-II 级(I-II level)	39	20(51.28)	10.983	23(58.97)	7.983	0.001
by stages	III-IV 级(III-IV level)	36	33(91.67)		35(97.22)		
病理分级	G1	50	31(62.00)	5.098	35(70.00)	6.089	0.006
Pathological grading	G2+G3	25	22(88.00)		23(92.00)		
转移	是(Yes)	36	30(83.33)	5.883	34(94.44)	7.985	0.001
transfer	否(No)	39	23(58.97)		24(61.54)		
肌层浸润	$<1/2$	43	24(55.81)	8.983	28(65.12)	6.438	0.003
Muscle layer infiltration	$\geq 1/2$	32	29(90.63)		30(93.75)		

2.3 相关性分析

Pearson 相关性分析显示: 子宫内膜癌组织 GDF-15 与 p-mTOR 蛋白表达呈正相关关系($r=0.868$, $P<0.05$)。

3 讨论

子宫内膜癌的发生和发展与多种因素有关,但是其具体发病机制尚不明确,临床上也无特异性较高的早期诊断指标,手术仍然是治疗子宫内膜癌的重要方式,孕激素是临床保守治疗或术后辅助治疗的重要药物治疗,临床疗效也存在较大差异^[6]。早期诊断和治疗无疑是改善患者预后的重要因素,了解子宫内膜癌发生和发展过程中的信号传递通路,为临床诊断、治疗寻找新的靶点具有重要意义,对患者预后和生存质量也有较高的价值^[7]。GDF-15 在肿瘤的发生、血管形成和转移中均发挥重要作用,可以参与机体应激反应、造血系统形成以及骨形成等,但是 GDF-15 在肿瘤的具体作用机制存在较大差异^[8]。有研究显示^[9,10],GDF-15 在多种恶性肿瘤转移和侵袭中明显表达升高,且组织、血液及血清中均有较高的表达水平,与恶性肿瘤的不良预后存在较大关系。也有研究证实^[11],GDF-15 对卵巢癌的早期诊断具有重要意义,是一种有效的生物分子标志物。在早期

肝癌发病中,GDF-15 也具有较高的表达水平,对早期肝癌诊断也具有一定临床意义^[12]。本研究显示,子宫内膜癌组织中 GDF-15 表达阳性率明显高于对照组,且与临床分期、淋巴结转移者、病理分级 G2+G3、肌层浸润深度有关,提示 GDF-15 在子宫内膜癌组织中表达明显升高,且与子宫内膜癌的侵袭转移有较大关系。

mTOR 是 AKT 信号通路中的关键酶,为非典型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶中的一种,是磷脂酰肌醇 32 激酶的家族成员,活化之后的 mTOP 导致细胞增殖和分化,在恶性肿瘤中会引起细胞增殖和分化增快,加快细胞的运行周期,促进恶性肿瘤的发生和发展^[13,14]。有研究证实^[15],mTOR 在恶性肿瘤中发挥作用主要以磷酸化的形式进行。有对子宫内膜癌体外研究证实 mTOR 可以促进子宫内膜癌增殖,且以磷酸化形式发挥作用,当加入 mTOR 抑制剂以后子宫内膜癌的增殖和分化速度明显降低。有研究证实^[16,17],mTOR 在卵巢癌中也会异常表达,推测 mTOR 与妇科恶性肿瘤存在较大关系。本研究显示,子宫内膜癌组织中 p-mTOR 表达阳性率显著高于对照组,且 p-mTOR 表达与临床分期、淋巴结转移者、病理分级 G2+G3、肌层浸润深度有关,提示子宫内膜癌组织中 p-mTOR 表达水平升高,且与

肿瘤进展有较大关系。相关性分析显示, 子宫内膜癌组织 GDF-15 与 p-mTOR 蛋白呈正相关关系, 与其他研究结果具有相似性^[18,19], 提示 GDF-15 与 p-mTOR 在子宫内膜癌发生和发展中具有协同作用, GDF-15 可能激活 mTOR 以及其下游的信号通路来促进肿瘤的发生和发展。有动物实验证实^[20], GDF-15 可以促进 mTOR 磷酸化, 进而提高 mTOR 促进细胞分裂增殖作用。

综上所述, 子宫内膜癌组织中会出现 GDF-15 和 p-mTOR 阳性表达率升高, 且与肿瘤进展有较大关系, GDF-15 与 p-mTOR 存在正相关关系, GDF-15 可以通过调节 mTOR 通路来促进肿瘤的发生和发展。

参考文献(References)

- [1] Marnitz S. Postoperative radiation therapy for endometrial cancer: Rigorous and evidence-based processing of data still required [J]. *Strahlenther Onkol*, 2016, 192(4): 269-272
- [2] Trovik J, Salvesen HB, Cuppens T, et al. Growth differentiation factor-15 as biomarker in uterine sarcomas [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2014, 24(2): 252-259
- [3] Azim HA, Kassem L, Treilleux I, et al. Analysis of PI3K/mTOR Pathway Biomarkers and Their Prognostic Value in Women with Hormone Receptor-Positive, HER2-Negative Early Breast Cancer [J]. *Transl Oncol*, 2016, 9(2): 114-123
- [4] Wang J, Li W, Wang Y, et al. The H6D genetic variation of GDF15 is associated with genesis, progress and prognosis in colorectal cancer [J]. *Pathol Res Pract*, 2015, 211(11): 845-850
- [5] Staff AC, Trovik J, Eriksson AG, et al. Elevated plasma growth differentiation factor-15 correlates with lymph node metastases and poor survival in endometrial cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(14): 4825-4833
- [6] Doster A, Schwarzig U, Zygmunt M, et al. Unfractionated Heparin Selectively Modulates the Expression of CXCL8, CCL2 and CCL5 in Endometrial Carcinoma Cells [J]. *Anticancer Res*, 2016, 36 (4): 1535-1544
- [7] Zamani N, Modares Gilani M, Zamani F, et al. Utility of Pelvic MRI and Tumor Markers HE4 and CA125 to Predict Depth of Myometrial Invasion and Cervical Involvement in Endometrial Cancer[J]. *J Family Reprod Health*, 2015, 9(4): 177-183
- [8] Li C, Wang J, Kong J, et al. GDF15 promotes EMT and metastasis in colorectal cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(1): 860-872
- [9] Ji H, Lu HW, Li YM, et al. Twist promotes invasion and cisplatin resistance in pancreatic cancer cells through growth differentiation factor 15[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(3): 3841-3848
- [10] Lerner L, Hayes TG, Tao N, et al. Plasma growth differentiation factor 15 is associated with weight loss and mortality in cancer patients[J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2015, 6(4): 317-324
- [11] Griner SE, Joshi JP, Nahta R. Growth differentiation factor 15 stimulates rapamycin-sensitive ovarian cancer cell growth and invasion[J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85(1): 46-58
- [12] Liu X, Chi X, Gong Q, et al. Association of serum level of growth differentiation factor 15 with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0127518
- [13] Li Z, Ji X, Wang W, et al. Ammonia Induces Autophagy through Dopamine Receptor D3 and MTOR [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (4): e0153526
- [14] Huang HY, Chang HF, Tsai MJ, et al. 6-Mercaptopurine attenuates tumor necrosis factor- α production in microglia through Nur77-mediated transrepression and PI3K/Akt/mTOR signaling-mediated transcriptional regulation[J]. *J Neuroinflammation*, 2016, 13(1): 78
- [15] Fujiwara M, Kanayama K, Hirokawa YS, et al. ASF-4-1 fibroblast-rich culture increases chemoresistance and mTOR expression of pancreatic cancer BxPC-3 cells at the invasive front, and promotes tumor growth and invasion[J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(4): 2773-2779
- [16] Andorfer P, Heuwieser A, Heinzel A, et al. Vascular endothelial growth factor A as predictive marker for mTOR inhibition in relapsing high-grade serous ovarian cancer[J]. *BMC Syst Biol*, 2016, 10(1): 33
- [17] Zi D, Zhou ZW, Yang YJ, et al. Danusertib Induces Apoptosis, Cell Cycle Arrest, and Autophagy but Inhibits Epithelial to Mesenchymal Transition Involving PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway in Human Ovarian Cancer Cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(11): 27228-27251
- [18] Carrillo-García C, Prochnow S, Simeonova IK, et al. Growth/differentiation factor 15 promotes EGFR signalling, and regulates proliferation and migration in the hippocampus of neonatal and young adult mice[J]. *Development*, 2014, 141(4): 773-783
- [19] Wang X, Chrysovergis K, Kosak J, et al. hNAG-1 increases lifespan by regulating energy metabolism and insulin/IGF-1/mTOR signaling [J]. *Aging(Albany NY)*, 2014, 6(8): 690-704
- [20] Wang CY, Huang AQ, Zhou MH, et al. GDF15 regulates Kv2.1-mediated outward K⁺ current through the Akt/mTOR signalling pathway in rat cerebellar granule cells[J]. *Biochem J*, 2014, 460(1): 35-47

(上接第 888 页)

- [18] Krebs J, Pelosi P, Tsagogiorgas C, et al. Effects of positive end-expiratory pressure on respiratory function and hemodynamics in patients with acute respiratory failure with and without intra-abdominal hypertension: a pilot study[J]. *Crit Care*, 2009, 13(5): R160
- [19] Van Veen TR, Panerai RB, Haeri S, et al. Effect of breath holding on cerebrovascular hemodynamics in normal pregnancy and preeclampsia[J]. *J Appl Physiol*, 2015, 118(7): 858-862
- [20] 杨春丽, 陈志, 卢院华, 等. 不同呼气末正压水平对急性呼吸窘迫综合征患者脑血流和脑血管自动调节功能影响的研究[J]. *中华危重病急救医学*, 2014, 26(5): 335-338

合征患者脑血流和脑血管自动调节功能影响的研究[J]. *中华危重病急救医学*, 2014, 26(5): 335-338

Yang Chun-li, Chen Zhi, Lu Yuan-hua, et al. The influence of positive end-expiratory pressure on cerebral blood flow and cerebrovascular autoregulation in patients with acute respiratory distress syndrome[J]. *Chinese Critical Care Medicine*, 2014, 26(5): 335-338

- [21] Al Masry A, Boules ML, Boules NS, et al. Optimal method for selecting PEEP level in ALI/ARDS patients under mechanical ventilation [J]. *J Egypt Soc Parasitol*, 2012, 42(2): 359-372