

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.26.005

c-Src 在上皮性卵巢癌组织中的表达及意义*

谷莉娜 李根英 邢丽楠 冯 跃 张云艳[△]

(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要 目的:探讨上皮性卵巢癌组织中细胞肉瘤蛋白(Cell sarcoma, c-Src)的表达及其临床意义。**方法:**通过 Western blotting 方法检测 4 例正常卵巢组织及 21 例上皮性卵巢癌组织中 c-Src 蛋白的表达。同时,通过免疫组化的方法检测 26 例正常卵巢组织和 134 例上皮性卵巢癌组织中 c-Src 的表达。统计分析 c-Src 的表达与上皮性卵巢癌的临床病理因素之间的关系。**结果:**与正常卵巢组织相比,上皮性卵巢癌组织中 c-Src 蛋白的表达明显增高。c-Src 蛋白的过表达与上皮性卵巢癌患者的临床病理分期、组织学分化程度、淋巴结转移情况及肿瘤复发之间差异存在统计学意义($P<0.05$),但与患者的年龄等因素均无显著相关性($P>0.05$)。此外, c-Src 蛋白的高表达,与上皮性卵巢癌患者的预后密切相关($P<0.05$)。**结论:**c-Src 在上皮性卵巢癌组织中过表达,且与肿瘤的恶性生物学行为密切相关,可能作为评估上皮性卵巢癌恶性程度、病情进展的重要指标及分子靶向疗法的新靶点。

关键词:细胞肉瘤蛋白;上皮性卵巢癌;预后;临床意义

中图分类号:R737.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)26-5022-07

Expression and Clinical Significance of c-Src in the Epithelial Ovarian Carcinoma*

GU Li-na, LI Gen-ying, XING Li-nan, FENG Yue, ZHANG Yun-yan

(Haerbin Medical University Cancer Hospital, Harbin, Heilongjiang, 150086, China)

ABSTRACT Objective: we aim to determine the relationship between Cell sarcoma (c-Src) expression in patients with EOC and the disease phenotype. **Methods:** c-Src expression was evaluated using Western blotting analysis in 21 ovarian carcinomas and 4 normal ovarian tissues. Immunohistochemistry was used to evaluate c-Src expression in 134 ovarian carcinomas and 26 normal ovarian tissues. The association between c-Src expression and clinically pathologic characteristics were also assessed in these patients. **Results:** Our results indicated elevated c-Src protein in EOCs compared with that in normal tissues. The overexpression of c-Src was significantly associated with aggressive features, such as advanced disease stage, poor histological grade, lymph node metastasis, and tumor recurrence ($P<0.05$). In addition, the overexpression of c-Src is significantly associated with EOCs' prognosis. **Conclusion:** c-Src overexpression was significantly associated with the malignant biological behavior of tumor, suggesting c-Src as a potential preventive target in these patients.

Key words: Cell sarcoma; Epithelial ovarian carcinoma; Prognosis; Clinical significance

Chinese Library Classification(CLC): R737.31 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)26-5022-07

前言

上皮性卵巢癌是妇科常见的恶性肿瘤之一,近年来其发病率在全球逐年增加,并且呈年轻化的趋势^[1]。卵巢癌的病理组织学类型十分复杂,由于缺乏有效的筛查方法并且早期临床表现并不明显,很多患者就诊时已是晚期,这为卵巢癌的早期诊断及治疗带来了较大的困难。目前,卵巢癌的传统治疗方式为行肿瘤细胞减灭术,术后结合紫杉醇类与铂类为主的联合药物化疗综合治疗。但是其手术治疗和放化疗的疗效并不理想,易早期复发,导致卵巢癌的预后仍然较差,成为威胁女性生命的极度恶性肿瘤疾病^[2,3]。因此,探讨针对卵巢癌靶向疗法的分子靶点研究具有重要的临床意义。目前,在临床上被广泛应用的蛋

白分子如 CA125、CEA、P53 等肿瘤标志物对于肿瘤晚期患者的早期诊断与治疗仍未取得理想的效果^[4,5]。因此,确立进一步筛选与检测有效的特异性卵巢癌患者相关的分子学标记物对于早期发现并诊断卵巢癌、评价卵巢癌的恶性程度、侵袭性及预后十分重要,同时可对卵巢癌的治疗效果及预后起到积极作用。

c-Src(Cell sarcoma)即细胞肉瘤蛋白是原癌基因 c-Src 的表达产物,其最早在 1976 年被 Mike Bishop 和 Harold Varmus 发现。他们以 v-src cDNA 为探针,在鸟类等正常细胞中找到与 v-src 具有高度同源的相关基因,称之为 c-Src 基因,从此揭开了对 c-Src 基因及其表达产物研究的序幕^[6]。近年来,研究显示:c-Src 的表达与肿瘤的生长、增殖、分化等生物学方面具有重要作用。c-Src 在介导涉及体外细胞生长、增殖、分化、凋亡等肿

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81372786);黑龙江省教育厅科研基金项目(12541371)

作者简介:谷莉娜(1986-),女,硕士研究生,主要研究方向:肿瘤学妇科,E-mail: 330720496@qq.com

[△] 通讯作者:张云艳(1972-),女,博士生导师,教授,主要研究方向:肿瘤学妇科,电话:0451-86298578, E-mail: zhangyuyan_1972@163.com

(收稿日期:2017-04-10 接受日期:2017-04-30)

瘤形成过程和体内肿瘤形成、转移过程中均具有重要的病理生理学地位^[7-11]。c-Src 在促进很多肿瘤的致癌作用和肿瘤进展中的增殖以及侵袭能力中扮演了十分重要的角色,包括结肠癌、乳腺癌、肝细胞癌、胰腺癌、头颈部癌等等^[12-15]。c-Src 蛋白可使 STAT3 蛋白磷酸化,从而激活 STAT3 蛋白,使之二聚化并转入细胞核,激活 c-myc 基因的转录表达,即通过 src/STATs/c-myc 通路促进肿瘤细胞的增殖及提高其侵袭力^[16,17]。但目前对于 c-Src 在上皮性卵巢癌组织中的表达情况及其与患者预后之间的关系均无报道。

本研究采用 Western blotting 和免疫组化的方法检测 c-Src 在上皮性卵巢癌组织的表达,同时分析其表达水平与临床病理因素及预后之间的关系,旨在为卵巢癌的早期诊断和治疗提供理论依据和实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料

收集并整理 2005 年 1 月-2009 年 12 月哈尔滨医科大学附属肿瘤医院行卵巢癌肿瘤细胞减灭术并经病理诊断证实、临床病理资料完整的上皮性卵巢癌组织 134 例,正常卵巢 26 例患者的蜡块。其中包括子宫内膜样腺癌 10 例,黏液性囊腺癌 20 例,透明细胞癌 5 例,浆液性囊腺癌 99 例。我们同时收集术中切取的新鲜组织标本包括正常卵巢组织 4 例,上皮性卵巢癌组织 21 例,立即放入液氮中并随即转入 -80℃ 冰箱中保存。所有患者术前均未接受放、化疗及免疫治疗,随访日期截止为 2015 年 8 月 31 日。患者年龄为 22-77 岁,平均年龄为 53.38(±10.51)岁。

根据国际妇产科协会(FIGO)2000 年制定的标准^[20]我们将临床分期为 I-II 期 25 例,III-IV 期 109 例。根据世界卫生组织(WHO)分级标准^[21]将组织学病理分级为高分化 24 例,中低分化 110 例。

1.2 试剂

鼠抗人 c-Src 蛋白的单克隆抗体为美国 Santa 公司产品,羊抗鼠 IgG 抗体为北京中杉金桥生物技术有限公司,均购自哈尔滨博士德生物工程有限公司;PVDF 滤纸为美国 Millipore 公司产品,鼠抗 β -HRP 抗体(KC-5A08)为中国康成生物工程有限公司产品,RIPA 裂解液(P0013B)为中国碧云天生物工程有限公司产品,均购自购自沈阳万类生物工程有限公司。

1.3 检测方法

1.3.1 Western blotting 将 4 例正常卵巢组织及 21 例上皮性卵巢癌组织根据实验所用体积进行分装,并混入分装体积 1% 的 PMSF 备用。根据每个样本的质量及体积加入相应体积的 RIPA 裂解液,置于冰上,用剪刀将其剪碎并用匀浆机将其制成组织匀浆液,然后继续置于冰上静置 5 min。后置低温冷冻离心机,12000 rpm,4℃,离心 10 min,分离上清为所得的蛋白质抽提物。将分子量为 60 kDa 的蛋白提取物经过 10%聚丙烯酰胺凝胶分离浓度凝胶分离后电泳并转印到 PVDF 滤纸上,然后进行封闭。用 5%(M/V)脱脂奶粉稀释抗体,制成抗体工作液,将 1:200 比例 c-Src 抗体工作液倒入杂交袋中,放入封闭好的 PVDF 膜,用压膜机封口,在 4℃ 调解下进行过夜抗体孵育。而后通过内参抗体孵育后,行 ECL 底物发光。

1.3.2 免疫组化检测 将我们选取蜡块行切片准备,切片厚度为 4 μ m 为最佳。将备好的切片分别置于二甲苯及分级浓度的酒精中脱蜡及水化。然后将切片置于 3%双氧水中 10 分钟阻断内源性过氧化酶。将切片置于 pH6.0 柠檬酸钠缓冲溶液在 95℃ 高温下加热 3 分钟来修复抗原。将修复好的切片置于孵育盒中加入 1:400 稀释比例的 c-Src 抗体 4℃ 过夜孵育。孵育完成并用 PBS 缓冲液进行冲洗后,加入羊抗鼠 IgG 二抗孵育。后使用 DAB 试剂显色,置于苏木素中复染,脱水、透明、封片、自然晾干、镜检、照片。

1.3.3 免疫组化诊断标准及结果判定 c-Src 表达水平的判定采用双盲法,以细胞浆或细胞膜内呈棕黄色细胞颗粒着色为 c-Src 蛋白阳性表达。参照综合肿瘤细胞阳性细胞数(占总细胞数的百分比)和染色强度来进行定量处理。(1)阳性细胞数评分方法:阳性细胞占总细胞数的 0-5%者计为 0 分,6-25%者计为 1 分,26-50%者计为 2 分,51-75%者计为 3 分,大于 75%者计为 4 分。(2)染色强度按下列标准评分:细胞无染色者为 0 分,细胞呈浅黄色者为 1 分,细胞呈棕黄色者为 2 分,细胞呈棕褐色者为 3 分。上述两项评分(1)*(2),以 4 分为界, ≥ 4 分着为高表达, <3 者为低表达。所有病例有两位独立、对临床病理资料不详的病理科家分别进行评分。c-Src 表达位于细胞质中,癌细胞染色呈棕黄色,细胞核无染色。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件进行统计学分析。用 χ^2 检验来分析 c-Src 的表达水平与肿瘤患者临床病理因素之间的关系,用 Kaplan-Meier 法计算生存率并绘制生存曲线,采用和 log-rank 检验方法比较两组患者生存时间的差异,最后用 Cox 比例风险回归模型进行多因素分析,以评估 c-Src 蛋白在上皮性卵巢癌患者预后中的独立作用。双侧检验 P 值 <0.05 即认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 上皮性卵巢癌组织和正常卵巢组织中 c-Src 的表达比较

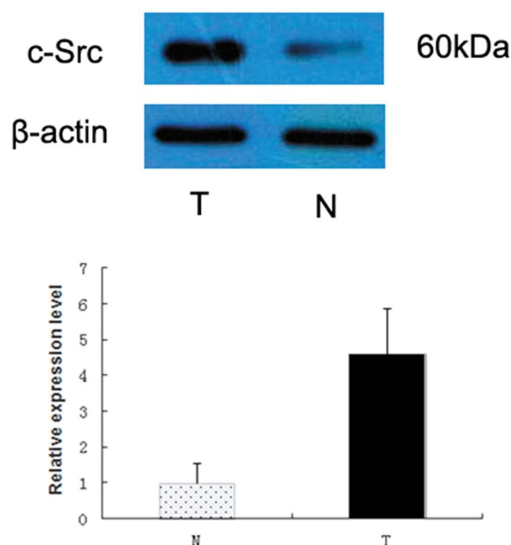


图 1 Western blot 检测上皮性卵巢癌组织和正常卵巢组织中 c-Src 的表达比较

Fig. 1 Western blotting analysis c-Src expression in EOCs and normal ovaries tissue

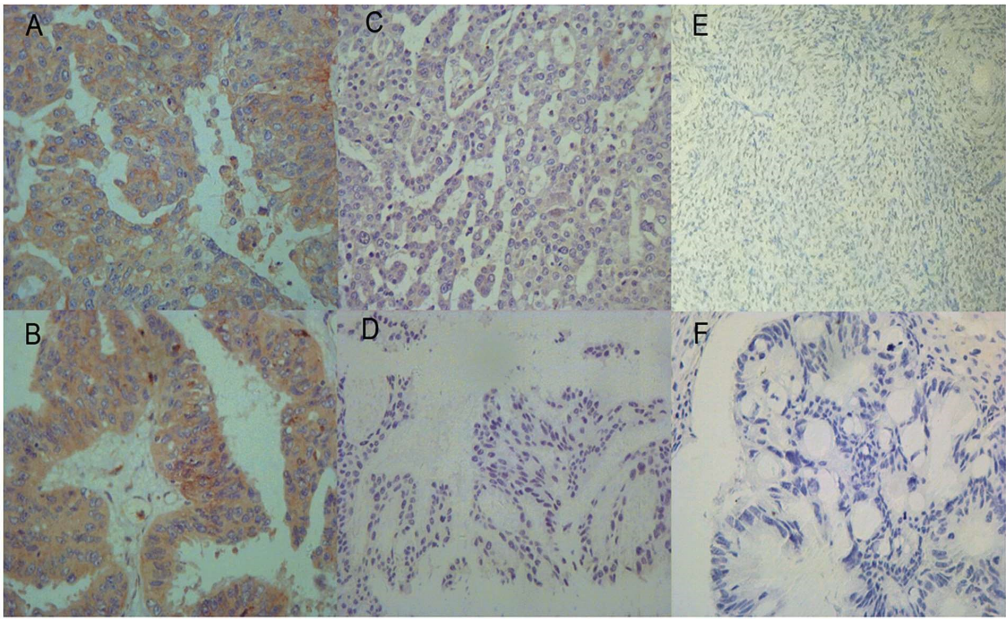


图 2 免疫组织化学检测上皮性卵巢癌组织和正常卵巢组织中 c-Src 的表达比较

Fig.2 Comparison of c-Src expressions between ovarian carcinoma and normal ovarian tissues by immunohistochemistry

注:A-B 为 c-Src 在上皮性卵巢癌组织中的过表达。C-D 为 c-Src 在上皮性卵巢癌组织中的低表达。E 为 c-Src 在正常卵巢组织中的低表达。F 为 c-Src 在上皮性卵巢癌组织中的阴性对照,c-Src 在上皮性卵巢癌组织中的表达明显高于正常卵巢组织,有显著统计学差异($P<0.001$)。

Note: A and B High expression of c-Src in ovarian carcinoma, C and D Low expression of c-Src in ovarian carcinoma, E Negative staining in normal ovary, F Negative control in ovarian carcinoma. The expression of c-Src in epithelial ovarian carcinoma was significantly higher than that in normal ovary ($P<0.001$)

如图 1 所示,N 为 c-Src 在正常组织中的表达,T 为 c-Src 在上皮性卵巢癌组织中的表达,western blot 检测结果显示:通过 Western blotting 检测示,与正常卵巢组织相比,c-Src 蛋白在上皮性卵巢癌组织中 c-Src 蛋白的表达明显增高($P<0.05$)。如图 2 所示,免疫组织化学检测结果显示:正常卵巢组织中 c-Src 不表达,而上皮性卵巢癌组织中 c-Src 的阳性表达率为 52.24% (70/134),较正常卵巢组织显著升高(图 1; $P<0.001$)。

2.2 c-Src 的表达与上皮性卵巢癌患者临床病理特征之间的关系

c-Src 蛋白的过表达与上皮性卵巢癌的 FIGO 分期($P<0.001$)、组织学分化程度($P<0.001$)、淋巴结转移情况($P=0.033$)以及肿瘤复发情况($P<0.001$)均显著相关,而与上皮性卵巢癌患者的年龄、组织学类型、CA-125 水平、肿瘤残余大小均无显著相关性($P>0.05$)(见表 1)。

表 1 c-Src 的表达与卵巢癌患者临床病理特征的关系

Table 1 Relationship between the Clinicopathological features and c-Src expression in the epithelial ovarian carcinoma

Variables	No. n=134	c-Src expression		<i>P</i> *
		Low(%)	High(%)	
Age(y)				
≤ 55	78	37(47.4)	41(52.6)	0.929
>55	56	27(48.2)	29(51.8)	
Histological type				
Endometrioid	10	8(80)	2(20)	0.076
Mucinous	20	12(60)	8(40)	
Clear cell	5	2(40)	3(60)	
Serous	99	42(42.4)	57(57.6)	
FIGO stage				
I+II	25	23(92)	2(8)	<0.001
III+IV	109	41(37.6)	68(62.4)	
Histologic grade				

表 1 c-Src 的表达与卵巢癌患者临床病理特征的关系(续表 1)

Table 1 Relationship between the Clinicopathological features and c-Src expression in the epithelial ovarian carcinoma

Variables	No. n=134	c-Src expression		P*
		Low(%)	High(%)	
G1	24	22(91.6)	2(8.4)	<0.001
G2/G3	110	42(38.1)	68(61.9)	
Lymph node metastasis				0.033
No	73	41(56.1)	32(43.9)	
Yes	61	23(37.7)	38(62.3)	
Serum CA125 level(U/mL)				0.191
≤ 35	14	9(64.2)	5(35.8)	
>35	120	55(45.8)	65(54.2)	
Residual tumor size(cm)				0.789
<1	114	55(48.2)	59(51.8)	
≥ 1	20	9(45)	11(55)	
Recurrence				<0.001
No	36	27(75)	9(25)	
Yes	98	37(37.8)	61(62.2)	

注:*, Fishers 精确检验或 χ^2 检验; FIGO, International Federation of Gynecology and Obstetrics.

Note: *, Fishers precise test/ χ^2 test; FIGO indicates International Federation of Gynecology and Obstetrics.

2.3 上皮性卵巢癌患者总生存和无病生存影响因素的单因素分析

卵巢癌患者五年生存率 28.11%。通过 Kaplan-Meier 评估 c-Src 的表达与患者总生存 (Overall survival, OS) 及无病生存 (Progression-free survival, PFS) 之间的关系, 并绘制生存曲线(图 3)。我们通过 Log-rank 检验比较两组患者生存时间的差异, 发现 c-Src 过表达患者生存率明显低于低表达者(OS=0.003, PFS=0.003, 表 2)。Cox 比例风险回归模型分析结果显示: 患者 FIGO 分期 (OS: HR 3.473, 95%CI 1.587-7.601, P=0.002; PFS: HR 3.683, 95%CI 1.683-8.062, P=0.001) 及淋巴结转移情况 (OS: HR 1.772, 95% CI 1.157-2.713, P=0.008; PFS: HR 1.753, 95%CI 1.145-2.684, P=0.010) 为影响卵巢癌患者预后的独立因素(表 3)。

3 讨论

卵巢癌是妇科三大恶性肿瘤之一, 其死亡率位居女性生殖系统恶性肿瘤中之首^[2], 全球每年约有 20 万女性死于卵巢癌^[2,3,18,39], 严重威胁女性生命健康。上皮来源的肿瘤占卵巢原发性恶性肿瘤的 85%-90%。这类肿瘤多见中老年女性, 40 岁以后迅速增加, 高峰年龄为 50-60 岁, 青春期前女孩和婴幼儿很少发生^[22]。卵巢的病因而尚不清楚, 其发病可能与年龄、生殖内分泌、遗传、环境及精神因素等有关^[1]。由于卵巢癌早期临床表现并不明显, 症状十分隐蔽, 当患者出现不适就诊时, 绝大多数病变已进入晚期, 很难早期诊断并鉴别其组织学类型, 判断其恶性程度。对于卵巢癌的治疗, 传统方法是在行卵巢肿瘤细胞减灭术基础上联合药物(紫杉醇类和铂类为主的联合化疗)治疗。但其对

于上皮性癌只能改善 2-3 年的近期存活率。迄今, 卵巢癌五年生存率只有 25%-30%^[19], 主要是因为卵巢上皮性癌手术及化疗后的复发率很高、复发后生存时间短。

卵巢深居盆腔之中, 一旦发生恶性肿瘤, 症状十分隐蔽, 当患者不适就诊时, 大多数已是肿瘤晚期, 或已经发现远处转移, 这导致超过 70% 患者在初诊时即发现盆腹腔转移^[23]。c-Src 在许多器官发生癌变过程中都起到了重要作用, 其参与调控细胞周期传导通路及许多病理生理的相关过程, 包括肿瘤细胞异常增殖、侵袭和转移等等。我们的研究结果显示 c-Src 在其他肿瘤中均有明显表达, 包括结肠癌、乳腺癌、肝细胞癌、胰腺癌等^[12-15]。本研究的结果提示 c-Src 的过表达与上皮性卵巢癌肿瘤进展密切相关。

早期研究表明作为活跃的蛋白酪氨酸激酶的 Src 家族成员, c-Src 在调节细胞生长、增殖、黏附、迁移及信号转导扮演了十分重要的作用^[7]。Src 家族在细胞信号转导, 调节细胞增殖及分化等与肿瘤生成密切相关的信号通路^[24-26], 包括 PI3K/Akt、GSK-3 β 等中起到了非常重要的作用^[27-29]。Yamamoto 等人研究指出, c-Src 在子宫内膜间质细胞蜕膜形成中起到了重要作用^[30], 同时 Stewart 等人发现, 蜕膜形成与上皮性卵巢癌的发生密切相关^[31]。以上都表明 c-Src 家族与上皮性卵巢癌的发生密切相关。此外, Zhao 等人指出当 Src*/SD 定向膜时, 可以促成 PyMT 诱导小鼠乳腺肿瘤细胞生长^[32]。Vergani 等人指出联合 PLX4032/ 威罗菲尼药物或足够 Src 靶向基因 siRNA 能够有效的在黑色素瘤细胞中抑制细胞生长、降低细胞侵袭力及细胞迁移^[33]。在本实验中, 我们分析了 c-Src 蛋白的表达水平与上皮性卵巢癌组织中肿瘤的进展情况, 结果显示 c-Src 蛋白的过表达

表 2 上皮性卵巢癌患者 OS 及 PFS 的单因素分析
Table 2 Univariate survival analysis of overall and progression-free survival of 134 cases of epithelial ovarian carcinoma

Variables	OS			DFS		
	Mean± SE (mo)	95%CI	P*	Mean± SE (mo)	95%CI	P*
Age(y)						
≤ 55	54.46± 2.82	48.92-59.99	0.086	50.86± 3.16	44.66-57.06	0.077
>55	47.17± 3.11	41.07-53.27		42.23± 3.46	35.45-49.02	
Histological type						
Endometrioid	69.10± 5.79	57.76-80.44	0.005	68.20± 6.33	55.80-80.60	0.004
Mucinous	59.70± 5.88	48.18-71.22		56.50± 6.64	43.48-69.52	
Clear cell	39.00± 5.68	27.88-50.12		32.60± 5.43	21.96-43.24	
Serous	48.34± 2.36	43.71-52.96		43.57± 2.62	38.43-48.71	
FIGO stage						
I+II	66.64± 3.67	59.44-73.84	<0.001	64.76± 4.25	56.42-73.10	<0.001
III+IV	47.25± 2.23	42.87-51.62		42.25± 2.46	37.42-47.08	
Histologic grade						
G1	59.74± 4.80	50.34-69.15	0.018	56.66± 5.53	45.82-67.49	0.017
G2/G3	49.16± 2.26	44.73-53.58		44.61± 2.51	39.70-49.52	
Lymph node metastasis						
No	57.50± 3.04	51.55-63.46	<0.001	54.02± 3.43	47.31-60.74	<0.001
Yes	44.30± 2.60	39.20-49.41		38.26± 2.66	33.05-43.47	
Serum CA125 level (U/mL)						
≤ 35	53.81± 6.81	40.46-67.16	0.477	49.87± 7.15	35.85-63.90	0.445
>35	51.04± 2.23	46.68-55.41		46.64± 2.48	41.78-51.49	
Residual tumor size (cm)						
<1	53.27± 2.33	48.71-57.84	0.021	49.32± 2.60	44.22-54.42	0.021
≥ 1	39.45± 3.60	32.40-46.50		32.85± 3.74	25.52-40.18	
c-Src expression						
Low	57.71± 3.25	51.33-64.08	0.003	54.28± 3.65	47.13-61.42	0.003
High	45.74± 2.55	40.74-50.74		40.19± 2.73	34.85-45.53	

注: * Log-rank 生存检验; CI 可信区间; OS, 总生存时间; PFS, 无病生存时间; FIGO indicates International Federation of Gynecology and Obstetrics.

Note: *Log-rank test; CI, confidence interval; OS, overall survival; DFS, disease-free survival. FIGO indicates International Federation of Gynecology and Obstetrics.

与肿瘤恶性生物学中肿瘤进展:FIGO 分期($P<0.001$)、组织学分化程度($P=0.017$)密切相关。

Bendinelli 等人指出 c-Src 可以作为预测抗癌药物肿瘤转移敏感模型的生物标志物^[34]。Hawthorne 等人证实 ErbB2 在乳腺癌细胞中的过表达可以通过 Src 激活 STAT3,从而诱导 p21 (Cip1)转录上调增强泰素的抗药性^[35]。Duxbury 等人在细胞系中 Src 的表达和激酶活化与吉西他滨的耐药性密切相关。研究表明 c-Src 特异 siRNA 抑制 c-Src 表达及激酶活性。c-Src 特异 siRNA 能够增加人工诱导吉西他滨敏感性,介导天冬氨酸特异

性半胱氨酸蛋白酶凋亡^[36]。Masaki 等人活跃的 pp60c-src 在肺癌的恶性转化及肿瘤进程中扮演了十分重要的角色^[37],我们的实验进一步证实了这一发现,如 c-Src 的过表达与卵巢癌患者肿瘤进展中 FIGO 分期 ($P<0.001$)、组织学分化程度($P=0.017$)。此外,侯等人的研究发现,c-Src 蛋白的高表达,可以作为预测宫颈鳞癌患者复发的独立因素^[38]。

c-Src 高水平表达定位在细胞质中,并且其高表达与肿瘤恶性生物学行为密切相关,包括患者 FIGO 分期、组织学分化程度、淋巴结转移情况及肿瘤复发(以上均 $P<0.05$),患者年龄,

表 3 影响卵巢癌患者 OS 及 PFS 的多因素分析

Table 3 Multivariate survival analysis of overall and progression-free survival of 134 cases of epithelial ovarian carcinoma

Variable	OS			PFS		
	HR	95%CI	P*	HR	95%CI	P*
FIGO stage						
I+II	1.00(reference)	1.587-7.601	0.002	1.00(reference)	1.683-8.062	0.001
III+IV	3.473			3.683		
Lymph node metastasis						
No	1.00(reference)	1.157-2.713	0.008	1.00(reference)	1.145-2.684	0.010
Yes	1.772			1.753		

注:*,Cox 比例风险回归模型;OS,总生存时间;PFS,无病生存时间;HR,风险比率;CI 可信区间。

Note: * Cox regression test; OS, overall survival; PFS, progression-free survival; HR, hazard ratio; CI indicates confidence interval.

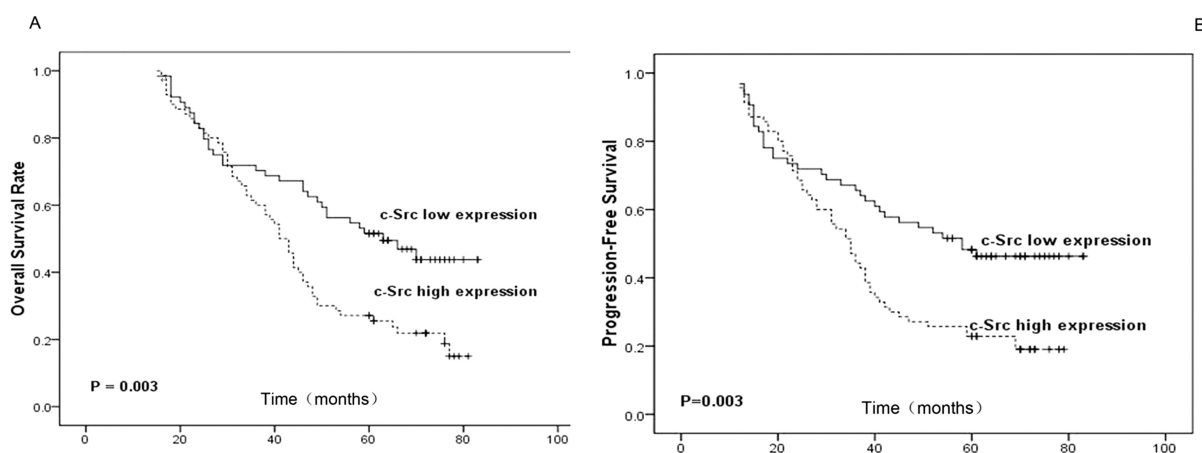


图 3 c-Src 的表达与卵巢癌患者生存之间的关系

Fig.3 Kaplan-Meier analysis for the correlation of c-Src expression with the survival

组织学类型,血清 CA-125 值,术后肿瘤残余大小无统计学差异($P>0.05$)。本文亦指出 c-Src 蛋白高表达的卵巢癌患者生存率明显较低表达者降低 (OS, $P=0.003$;DFS, $P=0.003$)。同时患者 FIGO 分期,淋巴结转移情况是影响患者预后的独立因素。值得注意的是,在多因素分析中,c-Src 蛋白的高表达并非肿瘤患者预后中独立因素。得出这样的结果有很多可能,比如,c-Src 蛋白的过表达与肿瘤患者的恶性生物学行为太过相似,导致统计学无差异($P>0.05$)。为了进一步讨论 c-Src 是否能作为影响上皮性卵巢癌患者预后中的独立因素,我们将投入更大的样本量及随机控制,判断 c-Src 能否作为卵巢癌的有效特异靶向分子。

综上,c-Src 在肿瘤进展中展现了其细胞生长、增殖、侵袭的致癌信号角色。c-Src 的异常表达在上皮性卵巢癌发生、发展中具有重要的作用。此外,c-Src 在肿瘤细胞传导通路、mRNA 水平,并且在肿瘤细胞系中扮演什么样的角色,以及判断 c-Src 是否能够作为卵巢癌有效的特异靶向分子,还需我们通过大量的研究继续探索。

参考文献(References)

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2010 [J]. CA Cancer J Clin, 2010, 60: 277-300
- [2] Yu Y, Xu F, Peng H, et al. NOEY2 (ARHI), an imprinted putative tumor suppressor gene in ovarian and breast carcinomas[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(1): 214-219
- [3] Khan S, Taylor JL, Rinker-Schaeffer CW. Disrupting ovarian cancer metastatic colonization: insights from metastasis suppressor studies [J]. Journal of oncology, 2010, 2010: 286925
- [4] Ozols RF, Bookman MA, Connolly DC, et al. Focus on epithelial ovarian cancer[J]. Cancer Cell, 2004, (1): 19-24
- [5] Yang H, Xiong FX, Lin M, et al. LAPTM4B-35 overexpression is a risk factor for tumor recurrence and poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2010, 136(2): 275-281
- [6] Budde RJ, Ramdas L, Ke S. Recombinant pp60c-src from baculovirus-infected insect cells: purification and characterization[J]. Prep Biochem, 1993, 23(4): 493-515
- [7] Aleshin A, Finn RS. SRC: a century of science brought to the clinic[J]. Neoplasia, 2010, 12: 599-607
- [8] Yeatman TJ. A renaissance for SRC [J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4: 470-480
- [9] Anzick SL, Kononen J, Walker RL, et al. AIB1, a steroid receptor coactivator amplified in breast and ovarian cancer [J]. Science, 1997, 277: 965-968

- [10] Pengetnze Y1, Steed M, Roby KF, et al. Src tyrosine kinase promotes survival and resistance to chemotherapeutics in a mouse ovarian cancer cell line[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 309: 377-383
- [11] Wiener JR1, Nakano K, Kruzelock RP, et al. Decreased Src tyrosine kinase activity inhibits malignant human ovarian cancer tumor growth in a nude mouse model[J]. *Clin Cancer Res*, 1999: 2164-2170
- [12] Secord AA, Teoh DK, Barry WT, et al. A phase I trial of Dasatinib, an SRC-family kinase inhibitor, in combination with Paclitaxel and Carboplatin in patients with advanced or recurrent ovarian cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18: 5489-5498
- [13] Xu W, Allbritton N, Lawrence DS, et al. SRC kinase regulation in progressively invasive cancer[J]. *PLoS ONE*, 2012, 7: e48867
- [14] Peng Z, Raufman JP, Xie G, et al. Src-mediated cross-talk between farnesoid x and epidermal growth factor receptors inhibits human intestinal cell proliferation and tumorigenesis[J]. *PLoS ONE*, 2012, 7: e48461
- [15] Zhang S, Yu D. Targeting Src family kinases in anti-cancer therapies: turning promise into triumph[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2012, 33: 122-128
- [16] Huang YW, Chen C, Xu MM, et al. Expression of c-Src and phospho-Src in epithelial ovarian carcinoma[J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 376: 73-79
- [17] Stabile LP, He G, Lui VW, et al. c-Src Activation Mediates Erlotinib Resistance in Head and Neck Cancer by Stimulating c-Met [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19: 380-392
- [18] Zhang L, Teng Y, Zhang Y, et al. c-Src expression is predictive of poor prognosis in breast cancer patients with bone metastasis, but not in patients with visceral metastasis[J]. *APMIS*, 2012, 120: 549-557
- [19] Sethi G, Kwon Y, Burkhalter RJ, et al. PTN signaling: Components and mechanistic insights in human ovarian cancer [J]. *Mol Carcinog*, 2014, 10.1002/mc.22249 25418856
- [20] Grothey A, Van Cutsem E, Sobrero A, et al. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial[J]. *Lancet*, 2013, 381(9863): 303-312
- [21] Khatun J, Epstein CB, Shores N, et al. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. Nature. Nature Publishing Group, a division of Macmillan Publishers Limited [J]. All Rights Reserved, 2012, 489: 57-74
- [22] Li W, Maloney R.E, Circu ML, et al. Acute carbonyl stress induces occludin glycation and brain microvascular endothelial barrier dysfunction: role for glutathione-dependent metabolism of methylglyoxal[J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 54: 51-61
- [23] Chen H-Z, Ouseph MM, Li J, Pecot T, et al. Canonical and atypical E2Fs regulate the mammalian endocycle [J]. *Nat Cell Biol*, Nature Publishing Group, a division of Macmillan Publishers Limited. All Rights Reserved, 2012, 14: 1192-1202
- [24] Lee YH, Su SB, Huang CC, et al. N-acetylcysteine attenuates hexavalent chromium-induced hypersensitivity through inhibition of cell death, ROS-related signaling and cytokine expression [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e108317
- [25] Piegeler T, Dull RO, Hu G, et al. Ropivacaine attenuates endotoxin plus hyperinflation-mediated acute lung injury via inhibition of early-onset Src-dependent signaling[J]. *BMC Anesthesiol*, 2014, 14, 57
- [26] Mayer RJ, Van Cutsem E, Falcone A, et al. Randomized trial of TAS-102 for refractory metastatic colorectal cancer[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(20): 1909-1919
- [27] Strickler JH, McCall S, Nixon AB, et al. Phase I study of dasatinib in combination with capecitabine, oxaliplatin and bevacizumab followed by an expanded cohort in previously untreated metastatic colorectal cancer[J]. *Invest New Drugs*, 2014, 32(2): 330-339
- [28] Suenaga M, Mizunuma N, Matsusaka S, et al. Phase II study of reintroduction of oxaliplatin for advanced colorectal cancer in patients previously treated with oxaliplatin and irinotecan: RE-OPEN study[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 3099-3108
- [29] Liu X, Du L, Feng R. c-Src regulates cell cycle proteins expression through protein kinase B/glycogen synthase kinase 3 beta and extracellular signal-regulated kinases 1/2 pathways in MCF-7 cells[J]. *Acta Biochimica Biophysica Sin (Shanghai)*, 2013, 45(7): 586-592
- [30] Siravegna G, Mussolin B, Buscarino M, et al. Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients [J]. *Nat Med*, 2015, 21(7): 827
- [31] Morelli MP, Overman MJ, Dasari A, et al. Characterizing the patterns of clonal selection in circulating tumor DNA from patients with colorectal cancer refractory to anti-EGFR treatment [J]. *Ann Oncol*, 2015, 26(4): 731-736
- [32] An O, Pendino V, D'Antonio M, et al. NCG 4.0: the network of cancer genes in the era of massive mutational screenings of cancer genomes[J]. *Database. Oxford University Press*, 2014, 2014: bau015-5
- [33] Kopetz S, Morris VK, Parikh N, et al. Src activity is modulated by oxaliplatin and correlates with outcomes after hepatectomy for metastatic colorectal cancer[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 660
- [34] Chen J, Elfiky A, Han M, et al. The role of Src in colon cancer and its therapeutic implications[J]. *Clin Colorectal Cancer*, 2014, 13(1): 5-13
- [35] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(1): 7-30
- [36] Siegel R, Desantis C, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2014[J]. *CA Cancer J Clin*, 2014, 64(2): 104-117
- [37] Masaki T, Igarashi K, Tokuda M, et al. pp60c-src activation in lung adenocarcinoma[J]. *Eur J Cancer*, 2013, 39: 1447-1455
- [38] Hou T, Xiao J, Zhang H, et al. Phosphorylated c-Src is a novel predictor for recurrence in cervical squamous cell cancer patients[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6: 1121-1127
- [39] Tas F, Karabulut S, Serilmez M, et al. Clinical significance of serum epithelial cell adhesion molecule (EPCAM) and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) levels in patients with epithelial ovarian cancer[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35: 3095-3102