恶性肿瘤的诊断与治疗 文章编号：0253-3626（2011）05-0517-03

# 鸟嘌呤交换因子 Dock180 在卵巢肿瘤组织中的表达和意义

王 辉，令狐华，姚珍薇
（重庆医科大学附属第一医院妇产科，重庆 400016）

【摘 要】目的：研究鸟嘌呤交换因子 Dock180 在卵巢癌、卵巢交界性肿瘤、卵巢良性肿瘤组织中的表达，探讨 Dock180 在卵巢癌发生发展中的作用。方法：采用免疫组化 SP 法检测 20 例卵巢良性肿瘤、12 例卵巢交界性肿瘤和 36 例卵巢癌组织中Dock180 蛋白的表达水平。结果：Dock180 蛋白在卵巢癌组织中的阳性表达例数占总例数的 66.7%，高于卵巢交界性肿瘤的 33.3%和卵巢良性肿瘤的 15%，差异有统计学意义（$P<0.01$）。结论：Dock180 在卵巢癌的发生、发展中起重要作用，有望作为反应卵巢癌恶性生物学行为的新指标。

【关键词】卵巢良性肿瘤；卵巢交界性肿瘤；卵巢癌；Dock180 蛋白
【中国图书分类法分类号】R737.31 【文献标志码】A 【收稿日期】2011-03-30

# Expression and significance of guanine nucleotide exchange factor Dock180 in ovarian tumor

*WHNG Hui, LINGHU Hua, YAO Zhen-wei*
(*Department of Gynecology and Obstetrics, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the expression and significance of guanine nucleotide exchange factor Dock180 in ovarian cancer, ovarian borderline tumor and ovarian benign tumor, and to evaluate their relationships with the initiation and progression of ovarian cancer. *Methods*: The expression of Dock180 protein was detected by immunostaining in 20 cases of ovarian benign tumor, 12 cases of ovarian borderline tumor and 36 cases of ovarian cancer. *Results*: Immunostaining revealed that Dock180 protein was expressed in 66.7% of ovarian cancer, 33.3% of ovarian borderline tumor and 15% of ovarian benign tumor ($P<0.01$). *Conclusion*: Over-expression of Dock180 may play an important role in the development of ovarian cancer and it could be used as a new measurement of malignant biological behavior of ovarian cancer.

【Key words】ovarian benign tumor; ovarian borderline tumor; ovarian cancer; Dock180

Crk是细胞内一种重要的信号接合物蛋白，参与细胞内受体整合蛋白和酪氨酸激酶等网络信号分子的信号传导[1]，可与众多的蛋白质分子结合，起着重要的连接作用，广泛参与细胞的粘附、增殖和侵袭[1,2]。鸟嘌呤交换因子 Dock180 位于 Crk 的下游，通过与 Crk 的 SH3 结构域的结合，将细胞内信号传递给其下游的小分子 GTP 酶 Rac1，参与细胞的伸展、细胞骨架肌动蛋白的重组和细胞的移动等重要生理过程[3-5]。目前发现 Crk 在多种恶性肿瘤中表达明显增加，并促进肿瘤细胞增殖、转移和侵袭[7,8]，而其下游的鸟嘌呤交换因子Dock180 在肿瘤组织中的表达及其与肿瘤之间的关系研究较少，仅见于国外学者对人类恶性神经胶质瘤中 Dock180 的研究。Dock180 在恶性神经胶质瘤中表达明显增加，且与肿瘤的侵袭能力明显相关[9]，关于卵巢癌中 Dock180 的研究国内外未见报道。本研究对卵巢癌，卵巢交界性肿瘤，卵巢良性肿瘤组织进行了 Dock 180 蛋白表达的检测和分析，探讨 Dock180 在卵巢癌发生发展过程中的作用及其在卵巢癌恶性生物学行为中的价值。

作者介绍：王 辉(1971-)，女，副教授，博士，研究方向：妇科肿瘤。
通信作者：令狐华，女，教授，Email：linghu_hua@126.com。
基金项目：国家自然科学基金资助项目（编号：30772330）；重庆市科委自然科学基金资助项目（编号：CSTC，2010BB5387）；重庆市卫生局资助项目（编号：2010-2-062）。

## 1 材料与方法

### 1.1 组织标本来源

在重庆医科大学基础学院病理科收集 2004 年 1 月至 2008 年 8 月间石蜡存档标本，20 例卵巢良性肿瘤，均为浆液性囊腺瘤；12 例卵巢交界性肿瘤，均为浆液性交界性囊腺瘤；36 例卵巢癌，其中 28 例为浆液性囊腺癌，8 例为黏液性囊腺癌。36 例卵巢癌患者年龄 25~68 岁，平均年龄 48 岁，按 FIGO 分期（2000 年）：Ⅰ期 7 例、Ⅱ期 13 例、Ⅲ期 16 例；按组织学分级，高中低分化各为 9 例、12 例、15 例。所有标本均经病理学诊断确定，10%福尔马林固定，石蜡包埋，4 μ 连续切片。各例标本在取材前均未接受化疗。

表 2 Dock180 蛋白表达与卵巢癌临床病理特征的关系

| 组 别 | 例数 | Dock180 | | | | 阳性比例（%） | 强阳性比例（%） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | - | + | ++ | +++ | | |
| 临床期别 | | | | | | | |
| Ⅰ | 7 | 3 | 2 | 1 | 1 | 57.1 | 14.3 |
| Ⅱ | 13 | 5 | 2 | 3 | 3 | 61.5 | 23.1 |
| Ⅲ | 16 | 4 | 3 | 4 | 5 | 75.0 | 31.3 |
| 病理分级 | | | | | | | |
| 高分化 | 9 | 6 | 2 | 1 | 0 | 33.3 | 0 |
| 中分化 | 12 | 3 | 2 | 3 | 4 | 75.0* | 25.0* |
| 低分化 | 15 | 3 | 3 | 4 | 5 | 80.0* | 33.3* |

*：$P<0.05$ 与高分化组比较，$r=0.385$，随着病理分级增加，蛋白表达也在增加

2.2 Dock180 蛋白表达与卵巢癌临床分期的关系

卵巢癌的Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ期中，Dock180 蛋白表达的阳性比例和强阳性比例比较，其差异无统计学意义（$P>0.05$），随着临床分期的增加，Ⅱ、Ⅲ期患者的 Dock180 蛋白表达的阳性比例和强阳性比例较Ⅰ期患者有明显增高趋势，见表 2。

2.3 Dock180 蛋白表达与卵巢癌组织学分化程度的关系

卵巢癌中，随着病理组织学分级的降低，Dock180 蛋白表达阳性比例和强阳性比例呈逐渐递增趋势，组织学分级为中、低分化的卵巢癌与高分化的相比，Dock180 蛋白表达阳性比例和强阳性比例，差异均有统计学意义（$P<0.05$），见表 2。

## 3 讨 论

卵巢癌由于其起病隐匿，很多患者在诊断时已属晚期，肿瘤的广泛浸润和转移使患者的预后较差，恶性肿瘤发生浸润和转移的首要条件是肿瘤细胞动力的增加，而这种变化与细胞信号传导有着密切的关系。鸟嘌呤交换因子 Dock180 在细胞内信号结合物蛋白 Crk 的下游，能与 Crk 的 SH3 结构域特异性的结合，将上游的细胞内信号传递给下游的小分子 GTP 酶 Rac1，并通过激活 Rac1 而参与细胞骨架肌动蛋白的调节，细胞增殖的基因表达及质膜转运等重要生理过程，如果在细胞信号传导中出现信号分子传导异常，则可能会导致肿瘤的发生[11-15]。目前国外学者在人类神经恶性胶质瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌等多种肿瘤中检测到 Crk 蛋白的过度表达，其表达水平与恶性肿瘤的发生发展相关[7,8,11,16]。同时，在研究癌细胞生物学行为时发现：增高的 Crk 蛋白可与多种蛋白连接形成复合物，参与细胞粘着斑的组装和细胞骨架的重组，调节细胞与细胞外基质间的反应，促进癌细胞的侵袭和转移。Crk 在肿瘤发生发展的这种作用可否通过其下游信号分子 Dock180 进行传导，以及 Dock180 在这种信号传导路径中是否有着与 Crk 类似的作用，是我们想要探讨的问题。我们用免疫组化 SP 法对卵巢良性肿瘤，卵巢交界性肿瘤和卵巢癌组织进行了 Dock180 蛋白的半定量检测，以了解 Dock180 在卵巢癌中的表达情况及其在卵巢癌的发生发展中的作用。

本研究显示，Dock180 蛋白在卵巢良性肿瘤中的阳性表达比例为 15%，在卵巢交界性肿瘤中为 33.3%，在卵巢癌中为 66.7%，表明，Dock180 蛋白在卵巢交界性肿瘤中表达开始逐渐增高，在卵巢癌中明显增高，提示当卵巢肿瘤开始出现一定的恶变倾向时，Dock180 即开始有所变化，可能与肿瘤的发生发展有关。另外，本研究还发现，随着卵巢癌的临床分期和病理分级的递增，Dock180 蛋白阳性表达率也逐渐递增。Jarzynka 等[9]在人类神经恶性胶质瘤的研究中发现 Dock180 在肿瘤侵袭区域的阳性率高于肿瘤发生的边缘区域和中心区域，肿瘤边缘区域的 Dock180 阳性率高于肿瘤中心区域，而在正常脑组织中没有检测到 Dock180 的表达。由此可见，过度表达的 Dock180 具有促进肿瘤发生发展的作用，在肿瘤的侵袭和转移中发挥着重要作用。可能由于过度表达的 Dock180 将细胞内信号以有序且增强的方式传递给下游的小分子 GTP 酶 Rac1，并激活这一细胞内分子开关，通过形成稳定的粘着斑和细胞骨架的重组，来激活癌细胞的增殖、侵袭及迁徙等信号通路，以改变卵巢癌的恶性生物学行为。

本实验结果表明 Dock180 与卵巢癌的发生发展及病理学分级有着密切的关系，可望作为卵巢癌早期诊断和反应其恶性生物学行为的一种新标志物，为我们进一步研究 Crk/Dock180/Rac1 信号传导通路在卵巢癌恶性生物学行为中的作用奠定了基础。

## 参 考 文 献

[1] Feller S M.Crk family adaptors-signalling complex formation and biological role[J].Oncogene,2001,20(44):6348-6371.

[2] Zheng J,Machida K,Antoku S,et al.Proteins that bind the Src homology 3 domain of CrkI have distinct roles in Crk transformation[J].Oncogene,2010,29:6378-6389.

[3] Brugnera E,Haney L,Grimsley C,et al.Unconventional Rac-GEF activity is mediated through the Dock180-ELMO complex[J].Nat Cell Biol,2002,4:574-582.

[4] Grimsley C M,Kinchen J M,Tosello-Trampont A,et al.Dock180 and ELMO1 proteins cooperate to promote evolutionarily conserved Rac-dependent cell migration[J].J Biol Chem,2004,279(7):6087-6097.

[5] Wang H,Linghu H,Wang J,et al.The role of Crk/Dock180/Rac1

恶性肿瘤的诊断与治疗 文章编号：0253-3626（2011）05-0520-04

# 宫颈癌 HeLa 细胞抑癌蛋白 FBW7 调控机制研究

孙 迪，沈 宜，谢莹珊，隆 霜
（重庆医科大学基础医学院干细胞与组织工程研究室，重庆 400016）

【摘 要】目的：观察 MAPK 信号通路阻断剂 UO-126 对人类宫颈癌细胞株 HeLa 细胞周期素 E（cyclin E）及 F- 盒和含蛋白 7 的 WD 重复结构域 FBW7 表达的影响。方法：采用 RT-PCR、Western blot 检测 UO-126 阻断 MAPK 信号通路前后 cyclin E 和 FBW7 mRNA 及蛋白表达情况。结果：RT-PCR 及 Western blot 结果显示，UO-126 作用后 HeLa 细胞 cyclin E mRNA 表达水平无明显变化，cyclin E 蛋白表达水平明显下降，FBW7 mRNA 及蛋白表达水平较未处理 HeLa 细胞均明显增高。结论：宫颈癌 HeLa 细胞中 FBW7 异常表达与 MAPK 信号通路激活密切相关。UO-126 阻断 MAPK 信号通路可下调 cyclin E 表达，上调 FBW7 表达。

【关键词】UO-126；MAPK；宫颈癌细胞株（HeLa 细胞）；细胞周期素 E；FBW7；
【中国图书分类法分类号】R730.23 【文献标志码】A 【收稿日期】2010-11-03

# Study on the regulatory mechanism of tumor suppressor protein FBW7 in cervical cancer HeLa cells

*SUN Di, SHEN Yi, XIE Ying-shan, LONG Shuang*
(*Department of Pathophysiology, Institute of Stem Cell and Tissue Engineering, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effects of UO-126, a MAPK inhibitor, on the expression of cyclin E and F-box and WD repeat domain-containing protein 7 (FBW7) of human cervical cancer cell line (HeLa cells). *Methods*: The mRNA and protein expression of cyclin E and FBW7 were detected by RT-PCR and Western blot before and after MAPK signal was blocked by UO-126, a MAPK inhibitor. *Results*: RT-PCR and Western blot exhibited that cyclin E mRNA expression had no significant changes and cyclin E protein had significantly decreased after HeLa cells were treated with UO-126, and FBW7 mRNA and protein expression had significantly increased after HeLa cells were treated

作者介绍：孙 迪（1983-），女，硕士，研究方向：肿瘤免疫。
通信作者：沈 宜，女，教授，Email：shenyicq@163.com。
基金项目：重庆市渝中区科委资助项目（编号：2009）。

pathway in the malignant behavior of human ovarian cancer cell SKOV3[J]. Tumor Biology, 2010, 31(1): 59-67.

[6] Kiyokawa E, Matsuda M. Regulation of focal adhesion and cell migration by ANKRD28-DOCK180 interaction[J]. Cell Adhesion & Migration, 2009, 3: 281-284.

[7] Nishihara H, Tanaka S, Tsuda M, et al. Molecular and immunohistochemical analysis of signaling adaptor protein Crk in human cancers[J]. Cancer Letters, 2002, 180: 55-61.

[8] Rodrigues S P, Fathers K E, Chan G, et al. Crk Ⅰ and Crk Ⅱ funtion as key signaling integrators for migration and invasion of cancer cells[J]. Mol Cancer Res, 2005, 3(4): 183-194.

[9] Jarzynka M J, Hu B, Hui K M, et al. ELMO1 and Dock180, a bipartite Rac1 guanine nucleotide exchange factor, promote human glioma cell invasion[J]. Cancer Res, 2007, 67(15): 7203-7211.

[10] Shimizu M, Saitoh Y, Itoh H. Immunohistochemical staining of Ha-ras oncogene product in normal, benign and malignant human pancreatic tissues[J]. Hum Pathol, 1990, 21(6): 607-612.

[11] Linghu H, Tsuda M, Makino Y, et al. Involvement of adaptor protein Crk in malignant feature of human ovarian cancer cell line MCAS[J]. Oncogene, 2006, 25: 3547-3556.

[12] Valle A M, Beuvin M, Boyer B. Activation of Rac1 by paxillin-Crk-DOCK180 signaling complex is antagonized by Rap1 in migrating NBT-II cells[J]. J Biol Chem, 2004, 279(43): 44940-44946.

[13] Gu J, Sumida Y, Sanzen N, et al. Laminin-10/11 and fibronectin differentially regulate integrin-dependent Rho and Rac activation via p130 (Cas)-CrkII-DOCK180 pathway[J]. J Biol Chem, 2001, 276(29): 27090-27097.

[14] Etienne-Manneville S, Hall A. Rho GTPase in cell biology[J]. Nature, 2002, 420: 629-635.

[15] Schmidt A, Hall A. Guanine nucleotide exchange factors for Rho GTPases: turning on the switch[J]. Genes Dev, 2002, 16: 1587-1609.

[16] Takino T, Nakada M, Miyamori H, et al. CrkI adapter protein modulates cell migration and invasion in glioblastoma[J]. Cancer Res, 2003, 63(9): 2335-2337.

（责任编辑：冉明会）