

# HMGA1 在卵巢上皮性癌组织中的表达及临床意义

张英芝, 劳佩维, 白延青

(宁波大学医学院附属医院, 浙江 宁波 315020)

**摘要:** [目的] 探讨高迁移率族蛋白 A1 (HMGA1) 在卵巢上皮性癌中的表达及其临床意义。[方法] 应用 RT-PCR 技术和免疫组化法检测 38 例卵巢上皮性癌组织中及 44 例正常卵巢组织中 HMGA1 mRNA 和蛋白的表达情况。[结果] HMGA1 mRNA 和蛋白在卵巢上皮性癌组织中的阳性表达率均明显高于正常卵巢组织 ( $P<0.01$ )。HMGA1 蛋白在组织学分级 G3 癌组织中的阳性表达率高于在 G1、G2 级 ( $P<0.05$ ), 在有淋巴结转移、脉管浸润的癌组织中的阳性表达率高于无淋巴结转移、脉管浸润的癌组织 ( $P<0.05$ )。[结论] HMGA1 在卵巢癌组织中呈高表达, 高水平 HMGA1 表达与肿瘤组织学分级、淋巴结转移、脉管浸润等一系列导致较差预后的临床病理因素相关, 提示 HMGA1 的表达不仅有助于卵巢癌的诊断, 也有助于预后的判断。

**关键词:** 高迁移率族蛋白 A1; 卵巢肿瘤; 预后; 临床病理学

**中图分类号:** R737.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2014)01-0051-04

**doi:** 10.11735/j.issn.1671-170X.2014.01.B011

## Expression of HMGA1 in Ovarian Cancer and Its Clinical Significance

ZHANG Ying-zhi, LAO Pei-wei, BAI Yan-qing

(Affiliated Hospital of Ningbo University Medical College, Ningbo 315020, China)

**Abstract:** [Purpose] To investigate the expression of high mobility group A 1(HMGA1) in ovarian cancer and its clinical significance. [Methods] Expression of HMGA1 mRNA and protein in 38 cases with ovarian cancer and 44 cases of normal ovarian tissues was detected by real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR) and immunohistochemical method. [Results] The positive expression of HMGA1 mRNA and protein in ovarian cancer was higher significantly than that in normal ovarian tissues ( $P<0.01$ ). The positive expression rate of HMGA1 protein in the group with histological grade G3 was higher than that in the group with histological grade G1 and G2 ( $P<0.05$ ), and it was higher in the group with lymph node metastasis and vascular invasion than that in the group without lymph node metastasis and vascular invasion ( $P<0.05$ ). [Conclusion] HMGA1 is high expression in ovarian cancer. High expression of HMGA1 is related to some clinicopathologic factors, such as histological grade, lymph node metastasis and vascular invasion which closely relate with poor prognosis. It suggested that HMGA1 not only is helpful to the diagnosis of ovarian carcinoma, but also to prognosis judgment.

**Subject words:** high mobility group A 1; ovarian neoplasms; prognosis

高迁移率族蛋白 A1 (high mobility group A1, HMGA1) 是高迁移率族蛋白 (HMG) 家族成员, 在分化成熟细胞或不分化的成熟细胞中水平非常低或检测不到。现已证实 HMGA1 在许多恶性肿瘤中有高表达, 并与恶性肿瘤的侵袭转移能力呈正相关。本研究检测卵巢癌组织中的 HMGA1 mRNA 和蛋白的表达, 以探讨 HMGA1 在卵巢癌的发生、发展以及预

后中的作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

收集 2011 年 3 月至 2012 年 8 月在宁波大学医学院附属医院妇科手术治疗的患者的卵巢组织共 82 例, 其中卵巢上皮性癌组织 38 例, 包括浆液性囊

收稿日期: 2013-07-24; 修回日期: 2013-08-15

腺癌 14 例,黏液性囊腺癌 15 例,子宫内膜样癌 9 例,患者中位年龄 54 岁(42~70 岁);正常卵巢组织 44 例,其中取自子宫肌瘤患者 36 例,子宫腺肌症患者 8 例,44 例均取正常卵巢的部分组织,患者中位年龄 41 岁(32~51 岁)。38 例卵巢癌临床分期根据 2010 年国际妇产科联盟(FIGO)的手术—病理分期标准:I 期 4 例,II 期 16 例,III 期 11 例,IV 期 7 例,组织学分级:G1 级 8 例,G2 级 14 例,G3 级 16 例。所有患者均签署知情同意书,并获得所在医院伦理委员会批准,术前均无放、化疗史。手术室内取新鲜标本,分成两份,一份立即液氮保存,另一份用 10% 甲醛固定,石蜡包埋、切片。

## 1.2 方法

### 1.2.1 RT-PCR 检测 HMGA1 mRNA 的表达

将液氮保存的标本取出,采用 Trizol 试剂(美国 Inwitrigen 公司生产)一步法提取细胞总 RNA,分光光度仪测定 RNA 试样的浓度,取 5 $\mu$ l RNA 试样与 1.0% 琼脂糖凝胶(含 0.5 $\mu$ g/ml 溴化乙锭)上电泳鉴定 RNA 试样的完整性。取 3 $\mu$ g RNA 逆转录合成 cDNA,具体操作步骤按照相应试剂盒(试剂盒由 MBI Fermentas 公司生产)说明进行。引物序列参照文献设计<sup>[1]</sup>,由上海生工生物技术有限公司合成, HMGA1 产物长度 478bp, 人内参  $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)扩增片段长度为 527bp。PCR 扩增 cDNA 反应条件为 95 $^{\circ}$ C 预变性 4min, 95 $^{\circ}$ C 变性 45s, 60 $^{\circ}$ C 退火 45s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 45s, 共进行 30 个循环,最后 72 $^{\circ}$ C 终止平衡 5min。PCR 扩增产物均以 5 $\mu$ l 试样于 1.5% 琼脂糖凝胶(含 0.5 $\mu$ g/ml 溴化乙锭)上电泳,凝胶成像分析系统照相扫描。

### 1.2.2 免疫组化法检测组织中 HMGA1 蛋白表达

待测标本常规石蜡包埋、切片后,采用链霉菌抗生物素蛋白—生物素复合物法(SABC)(SABC 检测试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司)检测,具体操作按试剂盒说明进行。以 PBS 缓冲液代替一抗作为对照,光镜检测组织切片中 HMGA1 蛋白的表达。结果判定标准:以细胞质和细胞核中出现棕黄色颗粒者为阳性细胞。切片中无阳性细胞计 0 分,阳性细胞比例 $\leq$ 25%计 1 分,

26%~50%计 2 分, $\geq$ 51%计 3 分。染色强度评分标准:不着色计 0 分,呈淡黄色计 1 分,呈棕黄色计 2 分,呈棕褐色计 3 分。根据染色程度与阳性细胞数比例评分相加所得分数进行染色分级: $\leq$ 1 分为阴性(-),2 分为弱阳性(+), $\geq$ 3 分为阳性(++), $\geq$ 5 分为强阳性(+++)。

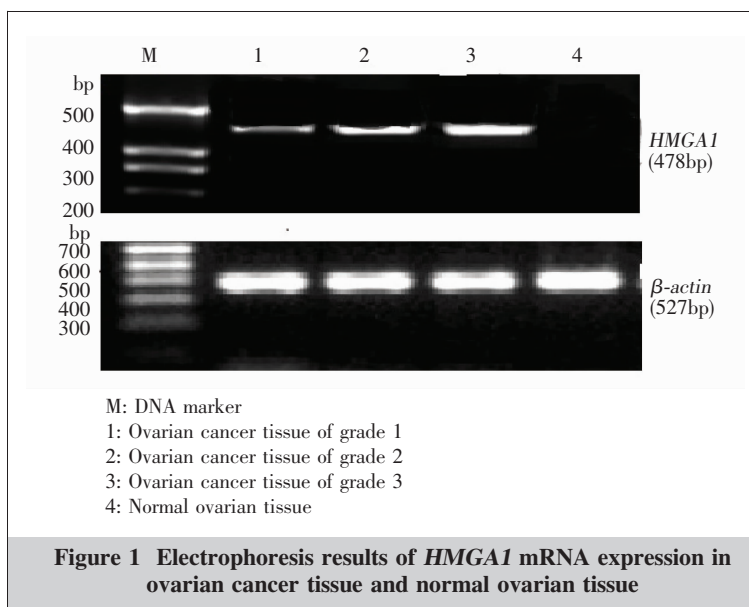
## 1.3 统计学处理

使用 SPSS 18.0 统计软件对实验数据进行处理,结果分析采用 $\chi^2$ 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HMGA1 mRNA 的表达

RT-PCR 结果显示 HMGA1 mRNA 在正常卵巢组织中几乎不表达,而在卵巢癌组织中呈现高表达(Figure 1)。卵巢癌组织与正常卵巢组织中的 HMGA1 mRNA 的阳性表达率分别为 76.32% (29/38) 和 11.36% (5/44), 两者比较差异有统计学意义 ( $\chi^2=35.44, P<0.01$ )。



### 2.2 HMGA1 蛋白的表达

HMGA1 蛋白的阳性信号为棕黄色细颗粒,主要表达在卵巢癌细胞核及核膜,细胞质中弱阳性表达或不表达(Figure 2),阳性率为 65.79%,而在正常卵巢组织中几乎不表达(Figure 3),阳性率为 4.55%,两者比较差异有统计学意义( $P<0.01$ )(Table 1)。

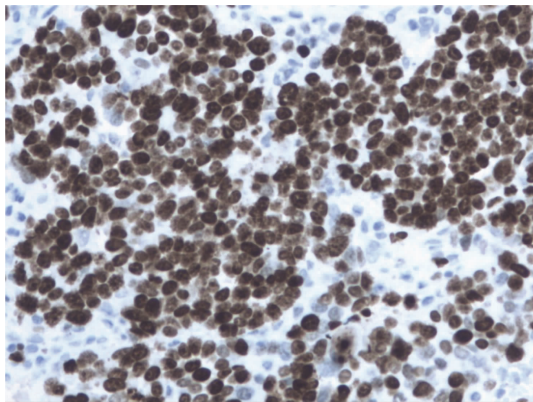


Figure 2 Positive expression of HMGA1 protein in ovarian cancer

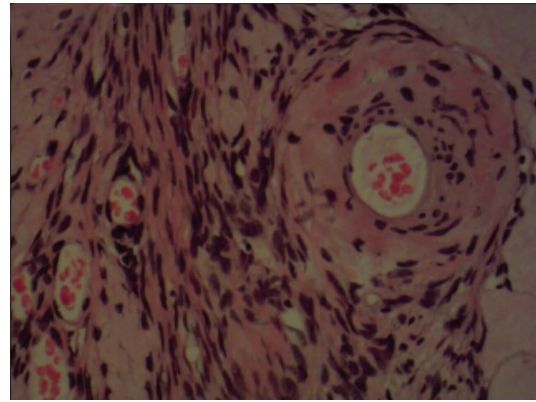


Figure 3 Negative expression of HMGA1 protein in normal ovarian tissue

在卵巢癌组织中, HMGA1 蛋白的表达与组织学分级相关 (Table 2)。G3 卵巢癌中有 81.25% 呈强阳性表达, G1 和 G2 卵巢癌中有 54.55% 呈阳性表达 ( $P < 0.05$ ); 而不同临床分期卵巢癌的 HMGA1 蛋白表达无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 不同病理分型的 HMGA1 蛋白表达亦无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

HMGA1 蛋白的表达与卵巢癌的淋巴结转移、脉管浸润有关 (Table 2), HMGA1 蛋白在有淋巴结转移者组织中的表达高于无淋巴结转移者 ( $P < 0.05$ ); 在有脉管浸润者组织中的表达高于无脉管浸润者 ( $P < 0.05$ ), 差异有统计学意义。

### 3 讨论

HMG 由 Goodwin 等<sup>[2]</sup>于 1973 年首次在胸腺细胞中发现, 它是细胞核内一类水溶性强, 在聚丙烯酰胺凝胶电泳中呈现高迁移率的小分子蛋白质。HMGA1 是其家族中的一员。当 HMGA1 与 DNA 结合后将导致 DNA 分子形态结构发生变化。由于被结合 DNA 序列不同、结构差异或长度有别, 这些结构改变可以是弯曲、拉直、卷曲和诱导成环等<sup>[3,4]</sup>, 因此也被称为“构架转录因子”。最

Table 1 The expression of HMGA1 protein in different ovarian tissues

| Groups         | N  | + | ++ | +++ | -  | Positive rate (%) | $\chi^2$ | P     |
|----------------|----|---|----|-----|----|-------------------|----------|-------|
| Ovarian cancer | 38 | 8 | 10 | 7   | 13 | 65.79             | 34.63    | <0.01 |
| Normal ovary   | 44 | 2 | 0  | 0   | 42 | 4.55              |          |       |

Table 2 The expression of HMGA1 protein in different clinicopathological factors of ovarian cancer tissue

| Clinicopathologic features  | N  | Positive number | Positive rate (%) | $\chi^2$ | <i>P</i> |
|-----------------------------|----|-----------------|-------------------|----------|----------|
| Histological grade          |    |                 |                   |          |          |
| G1                          | 8  | 3               | 37.50             | 9.60     | 0.02     |
| G2                          | 14 | 7               | 50.00             |          |          |
| G3                          | 16 | 15              | 93.75             |          |          |
| Clinical staging            |    |                 |                   |          |          |
| I                           | 4  | 2               | 50.00             | 0.63     | 0.89     |
| II                          | 16 | 11              | 68.75             |          |          |
| III                         | 11 | 7               | 63.64             |          |          |
| IV                          | 7  | 5               | 71.43             |          |          |
| Pathological type           |    |                 |                   |          |          |
| Serous cystadenocarcinoma   | 14 | 9               | 64.29             | 0.82     | 0.67     |
| Mucinous cystadenocarcinoma | 15 | 11              | 73.33             |          |          |
| Endometrioid adenocarcinoma | 9  | 5               | 55.56             |          |          |
| Lymphatic metastasis        |    |                 |                   |          |          |
| Yes                         | 13 | 12              | 92.31             | 6.17     | 0.01     |
| No                          | 25 | 13              | 52.00             |          |          |
| Vascular invasion           |    |                 |                   |          |          |
| Yes                         | 23 | 19              | 82.61             | 7.32     | 0.01     |
| No                          | 15 | 6               | 40.00             |          |          |

近的研究表明, HMGA1 参与了许多与恶性肿瘤有关的基因的转录调控。Rho 等<sup>[5]</sup>检测头颈部鳞状细胞癌组织中 HMGA1 蛋白的表达时发现, 87.6% 的癌组织中 HMGA1 呈高表达, 而癌旁正常组织中不表

达或微弱表达。类似的研究结果在胰腺癌<sup>[6]</sup>、乳腺癌<sup>[7]</sup>、结直肠癌<sup>[8]</sup>等恶性肿瘤中都有报道,均提示 HMGA1 的高表达与恶性肿瘤的发生密切相关。

本研究采用免疫组化法和 RT-PCR 技术检测卵巢癌组织及正常卵巢组织中 HMGA1 的表达,结果显示 HMGA1 在卵巢癌中的表达明显高于正常卵巢组织,证实 HMGA1 与卵巢癌有密切关系,提示 HMGA1 可能在卵巢癌的发生机制中起一定作用。本研究还发现, HMGA1 在组织学分级 G3 的卵巢癌中的表达高于在 G1、G2 的卵巢癌中的表达,这表明 HMGA1 的表达与肿瘤细胞的恶性程度相关。本研究同时发现,在卵巢癌组织中,高水平 HMGA1 表达与肿瘤的淋巴结转移、脉管浸润等一系列导致较差预后的临床病理因素相关,提示 HMGA1 的表达不仅有助于卵巢癌的诊断,更有助于预后的判断。Wood 等<sup>[9]</sup>报道 HMGA1 可通过调节抑癌基因 *c-Myc* 的表达,对乳腺癌细胞的转化和生长起到关键性的作用。HMGA1 在卵巢癌中是否也通过某些原癌基因或抑癌基因的调控而调节卵巢癌细胞的生长与分化,有待于进一步的深入研究。另外,许永华等<sup>[10]</sup>检测 HMGA1 在肝细胞癌中的表达时发现 HMGA1 mRNA 的表达与临床分期有关,而本研究显示 HMGA1 与卵巢癌的临床分期无明显相关性,推测其原因可能为,卵巢癌的发病过程中有多种因素参与,单一 HMGA1 的过度表达并不能完全判断其预后,亦可能与研究中的样本量小、实验条件不同等因素有关,需要进一步的研究。

## 参考文献:

- [1] Nam ES, Kim DH, Cho SJ, et al. Expression of HMGI(Y) associated with malignant phenotype of human gastric tissue[J]. *Histopathology*, 2003, 42(5):466-471.
- [2] Goodwin GH, Sanders C, Johns EW. A new group of chromatin-associated proteins with a high content of acidic and basic amino acids[J]. *Eur J Biochem*, 1973, 38(1):14-19.
- [3] Reeves R. Molecular biology of HMGA proteins: hubs of nuclear function[J]. *Gene*, 2001, 277(1-2):63.
- [4] Huth JR, Bewley CA, Nissen MS, et al. The solution structure of an HMGI(Y)-DNA complex defines a new architectural minor groove binding motif[J]. *Nat Struct Biol*, 1997, 4(8):657.
- [5] Rho YS, Lim YC, Park IS, et al. High mobility group HMGI(Y) protein expression in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Acta Otolaryngol*, 2007, 127(1):76-81.
- [6] Hristov AC, Cope L, Di Cello F, et al. HMGA1 correlates with advanced tumor grade and decreased survival in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Mod Pathol*, 2010, 23(1):98-104.
- [7] Chiappetta G, Ottaiano A, Vuttariello E, et al. HMGA1 protein expression in familial breast carcinoma patients[J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46(2):332-339.
- [8] Balcerzak E, Balcerzak M, Mirowski M. Quantitative analysis of HMGA1 gene expression in human colorectal cancer[J]. *Int J Integ Biol*, 2008, 2(1):1-7.
- [9] Wood LJ, Mukherjee M, Dolde CE, et al. HMGI/Y a new *c-Myc* target gene and potential oncogene[J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 20:5490-5502.
- [10] Xu YH, Li CX, Chen J, et al. The expression and clinical significance of HMGA1 in hepatocellular carcinoma [J]. *Acta Universitatis Medicinalis Nanjing (Natural Science)*, 2010, 30(3):304-308. [许永华, 李长贤, 陈杰, 等. 高迁移率族蛋白 A1(HMGA1)在肝细胞癌中的表达及临床意义[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2010, 30(3):304-308.]