

半乳凝素-3 在宫颈上皮瘤变和宫颈鳞状细胞癌中的表达

唐 瑶, 何 丽, 李珏杉

(成都市妇女儿童中心医院 妇科, 四川 成都 610000)

[摘要] **目的:** 探讨半乳凝素-3 (Galectin-3) 在宫颈上皮瘤变 (CIN)、宫颈鳞状细胞癌组织中的表达及其意义。**方法:** 选择 80 例宫颈鳞状细胞癌组织标本、60 例 CIN 标本及 20 例正常宫颈组织标本作为研究对象, 采用免疫组化法检测组织中 Galectin-3 蛋白表达, 观察不同 CIN 分级及宫颈鳞状细胞癌患者的分化程度、病灶大小、是否发生淋巴转移、年龄及临床分期与 Galectin-3 蛋白阳性表达率的关系。**结果:** 3 组 Galectin-3 蛋白阳性表达率比较, 宫颈鳞状细胞癌组织中显著高于 CIN 和正常宫颈组织 ($P < 0.05$), CIN 组织和正常宫颈组织差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 不同 CIN 分级患者组织中 Galectin-3 蛋白阳性表达率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 宫颈鳞癌组织中 Galectin-3 蛋白阳性表达率在低分化、病灶 $\geq 2\text{cm}$ 及癌细胞未发生淋巴转移患者中显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 在不同年龄和不同临床分期患者间比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论:** 宫颈鳞癌组织中 Galectin-3 蛋白阳性表达率显著增高, 与患者的癌细胞的分化程度、病灶大小及淋巴结转移有关。

[关键词] 半乳凝素-3; 宫颈上皮瘤变; 宫颈鳞状细胞癌; 免疫组织化学; 淋巴转移; 肿瘤分期

[中图分类号] R737.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2016)08-0967-04

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2016.08.025

Expression and Significance of Galectin-3 in CIN and Cervical Squamous Cell Carcinoma

TANG Yao, HE Li, LI Jueshan

(Department of Gynaecology, Chengdu Center Hospital of Women and Children, Chengdu 610000, Sichuan Province, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression and significance of -3 (Galectin-3) in cervical squamous cell carcinoma (CIN) and cervical squamous cell carcinoma (SCC). **Methods:** 80 cases of cervical squamous cell carcinoma tissue specimens and 60 cases of CIN tissues, 20 cases of normal cervical tissue specimens were collected, using immunohistochemical method to detect the expressive intensity of galectin-3 in three groups, and analyzing galectin-3 protein and cervical squamous cell carcinoma patients clinical pathological features. **Results:** In squamous cell carcinoma of cervix galectin-3 protein positive expression rate was 82.50% significantly than 31.67% in CIN tissues and normal cervical tissues of 35.00%, the difference has statistical significance ($P < 0.05$); normal cervical tissue and CIN and galectin-3 protein positive expression rate differences had no statistical significance ($P > 0.05$). Cervical squamous cell carcinoma in galectin-3 protein positive expression rate in patients with different degree of differentiation, tumor size, whether lymph node metastasis has a statistically significant relationship ($P < 0.05$), and the age of patients, the clinical staging was not significant ($P > 0.05$). **Conclusion:** The positive expression rate of Galectin-3 protein in cervical squamous cell carcinoma was significantly increased, and it had a certain relationship with the degree of differentiation, the size of the lesion and lymph node metastasis.

[Key words] Galectin-3; cervical intraepithelial neoplasia; cervical squamous cell carcinoma; immunohistochemistry; lymphnode metastasis; tumor stage

宫颈癌以及宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)是宫颈细胞长期病变的结果,大多学者认为宫颈上皮 HPV 病毒感染是导致 CIN 及宫颈原位癌连续性病变的主要因素,但近年来的研究发现,单纯的 HPV 感染不足以导致宫颈原位癌或者浸润型癌的发生^[1-2]。有学者提出细胞增殖周期调节、代谢以及细胞生理特征调控可能参与了宫颈病变的发生过程,半乳凝素-3(Galectin-3)是一个富含多 N-乙酰基乳糖的外源凝集素家族成员,在调节机体免疫反应、血管新生和肿瘤进展等方面具有重要的意义,特别是对于早期异常增生或者肿瘤细胞同型诱导聚集作用更为明显^[3-4]。相关研究证实 Galectin-3 在乳腺癌、卵巢癌以及甲状腺癌等恶性肿瘤中异常表达,并与肿瘤的临床分期、淋巴转移等临床特征相关^[5-6]。关于 Galectin-3 在宫颈病变中的研究较少。本研究观察宫颈鳞状细胞癌组织、CIN 及正常宫颈组织中 Galectin-3 蛋白表达水平,为研究宫颈癌的发生机制提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2013 年 1 月~2015 年 1 月宫颈鳞状细胞癌组织标本 80 例、CIN 标本 60 例以及正常宫颈组织标本 20 例。80 例宫颈鳞状细胞患者,39~59 岁,平均(46.3±6.9)岁;癌细胞高分化 10 例,中分化 21 例,低分化 49 例;临床分期为 I 期 35 例,II 期 29 例,III 期 16 例。60 例 CIN 组患者,33~57 岁,平均(44.6±9.0)岁;CIN I 级 26 例,II 级 22 例,III 级 12 例。20 例正常宫颈组织人群,35~57 岁,平均(46.1±7.2)岁。宫颈鳞癌组织、CIN 组织均来源于手术后标本,宫颈鳞癌患者术前均未接受放疗化疗及免疫治疗;正常宫颈组织来源于常规妇科检查获取的正常宫颈组织;纳入研究对象的各项资料完整。

1.2 方法

1.2.1 组织标本处理 采用石蜡切片脱蜡至水,切片厚度 3 mm,3% H₂O₂ 室温孵育 5 min,去离子水冲洗 3 次,3 min/次,采用浓度为 10% 牛奶蛋白(1 g 蛋白加入 100 mL 纯水)封闭,室温孵育 5 min,加入 Galectin-3 抗体(鼠来源,南京碧云天生物科技有限公司),37℃ 孵育 2 h,PBS 缓冲液冲洗 3 次,5 min/次,滴加 HRP 标记的二抗(兔来源,购自罗氏检测公司),37℃ 孵育 30 min,PBS 冲洗 3

次,5 min/次,加入 NBT/BCIP 色剂显色 5 min,复染,脱水,透明,封片,镜下观察。OLIPICS 电子显微镜购自上海精密仪器有限公司,配套试剂购自南京泰康生物科技有限公司。

1.2.2 结果判定及评分 Galectin-3 蛋白的阳性主要着色于细胞浆,在细胞核及细胞表面也有少量表达,呈黄色、棕黄色、褐色表达。(1)根据着色强度进行评分:0 分为无色,1 分为淡黄色,2 分为棕黄色,3 分为褐色或黑色。(2)根据阳性细胞比例进行评分:阳性细胞数<10%为 1 分,11%~50%为 2 分,51%~75%为 3 分,>75%为 4 分。两种积分相乘总分<3 分为阴性,≥3 分为阳性。

1.3 观察指标

比较 3 组被检者组织中 Galectin-3 蛋白表达阳性率,按年龄、癌细胞分化程度、病灶大小、临床分期、是否有淋巴转移对宫颈鳞状细胞癌患者进行分组,记录各组间的 Galectin-3 蛋白阳性表达病例数,分析不同细胞分化程度、病灶大小、是否发生淋巴转移、年龄及临床分期与 Galectin-3 蛋白表达的关系。

1.4 统计学方法

数据用 SPSS 13.0 统计软件分析处理,计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,数据比较采用单因素方差分析,两两比较采用 *t* 检验;计数资料采用百分率(%)表示,数据比较采用 χ^2 检验;*P*<0.05 为差异有统计学意义。

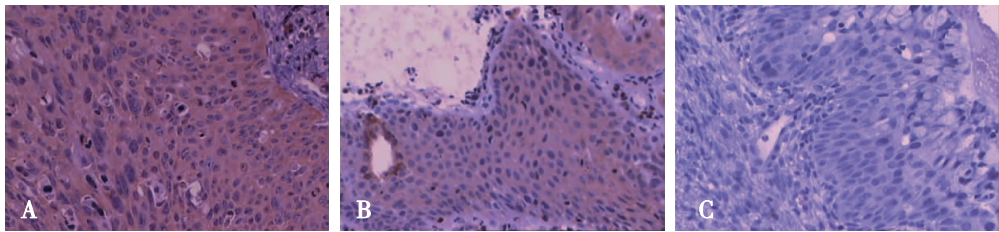
2 结果

2.1 Galectin-3 蛋白表达

3 组组织中均有 Galectin-3 蛋白表达,细胞浆中均可见黄色、棕黄色、褐色颗粒(图 1),3 组 Galectin-3 蛋白阳性表达率比较,宫颈鳞状细胞癌组织显著的高于 CIN 组织和正常宫颈组织,差异有统计学意义($\chi^2 = 37.144$, $\chi^2 = 18.316$, *P*<0.05),CIN 组织和正常宫颈组织差异无统计学意义($\chi^2 = 0.076$, *P*>0.05)。见表 1。

表 1 3 种子宫颈组织标本中 Galectin-3 蛋白表达
Tab.1 Galectin-3 protein expression of 3 tissue samples

标本类型	<i>n</i>	Galectin-3 蛋白表达(<i>n</i> ,%)		χ^2	<i>P</i>
		阳性	阴性		
宫颈鳞状细胞癌	80	66(82.50)	14(17.50)	53.089	<0.001
CIN 组	60	19(31.67)	41(68.33)		
正常宫颈	20	7(35.00)	13(65.00)		



注:为 A 为宫颈鳞癌组织,B 为 CIN 组织,C 为正常宫颈组织
图 1 3 种组织子宫颈标本中 Galectin-3 的表达(SP, ×200)

Fig. 1 SP staining of 3 tissue samples

2.2 不同 CIN 分级组织中 Galectin-3 蛋白表达

不同 CIN 分级组织中 Galectin-3 蛋白表达阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 不同 CIN 分级子宫颈组织中 Galectin-3 蛋白表达(n,%)

Tab. 2 Galectin-3 protein expression of CIN stratification					
CIN 分级	n	Galectin-3 蛋白表达(n,%)		χ^2	P
		阳性	阴性		
I 级	26	7(26.92)	19(73.08)	2.31	0.315
II 级	22	9(40.91)	13(59.09)		
III 级	12	3(25.00)	9(75.00)		

2.3 Galectin-3 蛋白表达与子宫颈鳞癌患者临床病理特征的关系

宫颈鳞癌组织中 Galectin-3 蛋白阳性表达率在低分化、病灶 ≥ 2 cm 及癌细胞未发生淋巴转移患者显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$);在不同年龄和不同临床分期患者间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

3 讨论

近年来性生活紊乱、性伴侣的频繁更换以及过早地进行性生活等,均可促进宫颈 CIN 以及宫颈癌的发生,相关研究证实 CINI 的发病率在年龄 18~28 岁可达 2.5% 以上,CINII-III 级的发病率也可达 0.7% 以上^[7-8]。宫颈 HPV 病毒感染通过整合 E6/E7 病毒基因进入柱状上皮,经不断的扩增繁殖,促进上皮细胞增殖周期失调,细胞侵袭和转移能力均明显增加,进而调控细胞增殖、凋亡、分化、血管侵袭以及早期肿瘤细胞的浸润。Galectin-3 作为凝集素家族成员,由 2 个糖识别结构区域以及胶原蛋白和纤维蛋白 C5 融合结构,14 号染色体的相关 Galectin-3 基因编码和翻译成功后,Galectin-3 蛋

表 3 Galectin-3 蛋白表达与子宫颈鳞癌患者临床病理特征的关系

Tab. 3 Relationship between Galectin-3 protein expression and clinical pathologic feature of cervical squamous carcinoma patients				
临床病理特征	Galectin-3 蛋白表达(n,%)		χ^2	P
	阳性率 (n=66)	阴性率 (n=14)		
年龄(岁)			0.204	0.652
≥ 50	23(34.85)	4(28.57)		
< 50	43(65.15)	10(71.43)		
分化程度			11.338	0.001
高+中分化	20(30.30)	11(78.57)		
低分化	46(69.70)	3(21.43)		
病灶大小(cm)			7.727	0.005
≥ 2	41(62.12)	3(21.43)		
< 2	25(37.88)	11(78.57)		
临床分期			1.237	0.266
I 级	27(40.91)	8(57.14)		
II 级+III 级	39(59.09)	6(42.86)		
淋巴转移			5.373	0.020
是	26(39.39)	1(7.14)		
否	40(60.61)	13(92.86)		

白可以通过其氨基末端的巯基多重功能区域,进入宿主细胞核发挥调控细胞增殖和分化等生物学活性作用^[9-10]。有研究发现,Galectin-3 在乳腺癌以及卵巢癌中的平均阳性表达率可分别达 45%、37%,且随临床分期、淋巴转移率增高、细胞分化的降低,Galectin-3 的阳性表达率升高^[11-12]。然而迄今为止对于 Galectin-3 在宫颈 CIN 以及宫颈癌中的研究报道较少,仅有部分学者认为 Galectin-3 的表达与宫颈癌的病死率有一定的关系^[13]。

本研究发现宫颈癌组患者中 Galectin-3 的阳性表达率可达 80% 以上,明显高于 CIN 组以及正常对照组,免疫组化切片分析可见 Galectin-3 主要表达于宫颈鳞状上皮增殖较为活跃的区域,且细胞

的异型性越为明显, Galectin-3 的表达强度越高, 提示 Galectin-3 蛋白的异常表达在宫颈癌早期发生发展过程中可能发挥了重要的调节作用。但正常对照组以及宫颈 CIN 组患者中并未发现 Galectin-3 表达的差异, 考虑在正常宫颈上皮发展至宫颈 CIN 的过程中, HPV 感染可能发挥了主导作用, 而 Galectin-3 的生物学活性作用不明显, 另一方面也可能与本次研究纳入的低级别的 CIN I 级病例数量较多有关。对于不同分级的 CIN 中 Galectin-3 表达阳性率的分析发现, Galectin-3 的表达并未随着 CIN 病变等级的上升而升高, 表明 CIN 分期并不影响 Galectin-3 的表达, 其表达率基本维持在 15% 左右, 持续性地维持在较低的水平。本研究重点探讨 Galectin-3 与宫颈癌患者相关临床特征间的关联, 结果提示, 低分化的宫颈癌患者 Galectin-3 阳性率达到了 70%, 而肿瘤病灶 > 2 cm 以及发生了淋巴结转移的患者 Galectin-3 的阳性率也可达 60% 左右, 明显高于低分化组、病灶 < 2 cm 组以及未转移组, 表明 Galectin-3 的表达与宫颈癌患者的临床病理特征具有密切的关系。肿瘤病灶 > 2 cm 的患者, 其对于宫旁组织的浸润率较高, 浸润程度较深, 而 Galectin-3 可以通过增加宫颈癌细胞的同型聚集能力, 增强其侵袭和转移的能力, 进一步促进肿瘤病灶的扩大, 另外 Galectin-3 可以增加宫颈癌细胞对于淋巴管内皮的粘附, 进而增加淋巴结转移率。徐美容等^[14-15] 也认为, 在低分化宫颈鳞状细胞癌中, Galectin-3 的阳性率较高, 并认为 Galectin-3 可以增加 HPV 病毒对于宿主细胞的整合能力, 进而进一步增加宫颈癌细胞的溢出和脱落, 增加淋巴结转移率。但本次研究的局限性在于未能探讨 Galectin-3 在 CIN II-III 级患者宫颈锥切术后的改变, 宫颈锥形切除术切缘 Galectin-3 阳性率对于指导临床工作更具指导意义。

综上所述, 虽然 Galectin-3 在不同 CIN 分级中并无显著差异性表达, 但宫颈癌组织中的 Galectin-3 蛋白表达阳性率较高, 且与患者细胞分化程度、病灶大小、是否发生淋巴结转移密切相关, 临床上通过检测宫颈癌术后标本的 Galectin-3 表达水平, 可为指导临床预后提供一定的参考。

4 参考文献

- [1] 刘变利, 郭霞. 高迁移率蛋白 1(HMGB1)在宫颈癌中表达及其意义[J]. 现代仪器与医疗, 2015 (6):86-87.
- [2] 孔守芳, 戴淑真, 孙选, 等. Stathmin-1、P27 及 ki-67 在宫颈上皮内瘤变的表达与残留、复发相关性的研究[J]. 中国妇产科临床杂志, 2015 (1):19-21.
- [3] 林姣, 张朋新, 庞露, 等. Dyrk1b 蛋白在不同程度子宫颈病变组织及子宫颈癌细胞中的表达及意义[J]. 中华妇产科杂志, 2016(1):40-45.
- [4] 程杨, 夏薇, 陈华云, 等. 半乳糖凝集素 3 在血管内皮生长因子 C 促宫颈癌转移中的作用[J]. 中山大学学报:医学科学版, 2013 (4):553-557.
- [5] 卢淮武, 刘昀昀, 王东雁, 等. 半乳糖凝集素-3 对上皮性卵巢癌细胞生物学行为的影响[J]. 广东医学, 2016 (3):328-331.
- [6] 彭俊, 黄勇. 90 例年轻宫颈癌患者临床特征及术后复发和预后相关因素分析[J]. 实用妇产科杂志, 2016 (1):42-45.
- [7] 冀静, 刘海娟, 宁芬茹, 等. Sox2 通过 Wnt 信号通路对宫颈癌侵袭及迁移能力的影响[J]. 西安交通大学学报:医学版, 2016 (2):230-233.
- [8] 揭伟霞, 薛武进, 史志华, 等. 宫颈上皮内瘤变与宫颈癌患者人乳头状瘤病毒感染的临床分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016 (6):1380-1381.
- [9] 李晓文, 袁俐, 张俊平, 等. 宫颈癌侧群细胞的恶性行为特征分析[J]. 天津医药, 2014 (3):211-213.
- [10] Yu Q, Shen W, Zhou H, et al. Knockdown of LI-cadherin alters expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 and galectin-3[J]. Mol Med Rep, 2016 (5):4469-4474.
- [11] Wang L, Guo XL. Molecular regulation of galectin-3 expression and therapeutic implication in cancer progression[J]. Biomed Pharmacother, 2016 (6):165-171.
- [12] Mori Y, Akita K, Yashiro M, et al. Binding of Galectin-3, a beta-Galactoside-binding lectin, to MUC1 Protein enhances phosphorylation of extracellular Signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2) and Akt, promoting tumor Cell malignancy[J]. J Biol Chem, 2015 (43):26125-26140.
- [13] Liu J, Cheng Y, He M, et al. Vascular endothelial growth factor C enhances cervical cancer cell invasiveness via upregulation of galectin-3 protein[J]. Gynecol Endocrinol, 2014 (6):461-465.
- [14] Ahmed H, Alsadek DM. Galectin-3 as a potential target to prevent Cancer metastasis[J]. Clin Med Insights Oncol, 2015 (4):113-121.
- [15] 徐美容, 王先进, 张书莲, 等. Galectin-3 和 VEGF 在宫颈病变组织中的表达及意义[J]. 南昌大学学报:医学版, 2014 (3):13-17.

(2016-01-31 收稿, 2016-07-09 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 赵毅