

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.10.007

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.10.007

SUMO特异性蛋白酶1和ER α 在I型子宫内膜癌组织中的表达及其临床意义

崔鑫^{1,2}, 张采欣², 李云辉³, 亓永云¹, 丁晓燕⁴, 黑淑敏¹, 黄维清²

(1. 青岛大学第三附属医院病理科, 山东 青岛 266000; 2. 青岛市市立医院病理科, 山东 青岛 266000;
3. 青岛大学附属医院妇产科, 山东 青岛 266100; 4. 青岛大学附属医院病理科, 山东 青岛 266100)

[摘要] 目的: 探讨小泛素相关修饰物(small ubiquitin-related modifier, SUMO)特异性蛋白酶1(SUMO specific protease 1, SENP1)和ER α 在I型子宫内膜癌中的表达, 并分析两者之间的相互关系。方法: 收集I型子宫内膜癌组织及其配对癌旁组织各50例, 采用免疫组织化学法检测SENP1蛋白及雌激素受体(ER α)的表达, 分析其表达与患者临床病理参数的关系。结果: I型子宫内膜癌中SENP1蛋白在癌旁组织中的表达明显高于肿瘤组织。SENP1蛋白在高分化肿瘤中的表达明显高于低分化肿瘤组织。SENP1阳性表达与ER α 表达呈正相关, 而与患者的年龄、肿瘤浸润的深度、肿瘤分期及淋巴结转移无关。结论: SENP1在I型子宫内膜癌的发生、发展中发挥重要作用, 有望成为治疗子宫内膜癌的新靶点。

[关键词] 子宫内膜癌; SUMO特异性蛋白酶1; 雌激素受体; 免疫组织化学

Expression and significance of SUMO specific protease 1 and ER α in type-I endometrial carcinoma

CUI Xin^{1,2}, ZHANG Caixin², LI Yunhui³, QI Yongyun¹, DING Xiaoyan⁴, HEI Shumin¹, HUANG Weiqing²

(1. Department of Pathology, Third Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong 266000; 2. Department of Pathology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao Shandong 266000; 3. Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Medical College of Qingdao University, Qingdao Shandong 266100; 4. Department of Pathology, Affiliated Medical College of Qingdao University, Qingdao Shandong 266100, China)

Abstract **Objective:** To investigate the expression and relationship of SUMO specific protease 1 (SENP1) and ER α in type-I endometrial carcinoma. **Methods:** Fifty endometrial cancer cases were involved in this study. Immunohistochemical method was performed to study SENP1 protein and estrogen receptor (ER) expression in endometrial cancer tissues and para-carcinoma tissues. Correlations between SENP1 and ER α , as well as clinical pathological parameters were also analyzed. **Results:** Expression of SENP1 protein in type-1 endometrial carcinoma was significantly higher than that in the para-cancer tissues. Expression of SENP1 protein was significantly higher in well-differentiated tumors than in poorly-differentiated tumors. Expression of SENP1 was positively correlated with the expression

收稿日期 (Date of reception): 2017-06-22

通信作者 (Corresponding author): 黄维清, Email: 18678909697@126.com

基金项目 (Foundation item): 青岛市医疗卫生重点学科建设项目。This work was supported by Qingdao Key Health Discipline Development Fund, China.

of ER α , but not with the age of patients, the depth of tumor invasion, tumor stage and lymph node metastasis.

Conclusion: SENP1 may play an important role in the occurrence and development of type-1 endometrial carcinoma, which may be a new target for the treatment of endometrial carcinoma.

Keywords endometrial carcinoma; SUMO specific protease 1; estrogen receptor; immunohistochemistry

子宫内膜癌是一种发生于子宫内膜的上皮性恶性肿瘤,好发于围绝经期和绝经后女性,是最常见的女性生殖系统肿瘤之一。每年有接近20万的新发病例,是导致死亡的第3位常见妇科恶性肿瘤(仅次于卵巢癌和宫颈癌)。子宫内膜癌组织学分为I型和II型,I型子宫内膜癌是雌激素相关性的低级别肿瘤,占90%左右。I型子宫内膜癌病因及发病机制迄今尚未明确,目前已知PTEN, k-RAS等基因突变及微卫星不稳定性均与其发病密切相关。小泛素相关修饰物(small ubiquitin-related modifier, SUMO)是存在于真核生物中高度保守的参与蛋白质小泛素化相关修饰的一类蛋白^[1],主要通过和底物蛋白的共价结合来调节靶蛋白的功能,即SUMO化修饰,这是一个动态可逆的过程,把SUMO和靶蛋白分离过程中发挥着重要作用的酶称之为SUMO特异性蛋白酶(SUMO-specific proteases, SENPs),其能够在多种肿瘤组织中参与表达,并参与其病理生理过程^[2-4]。SENP1是SENP家族中的一种,能够催化大量SUMO和靶蛋白分离。研究^[5-7]发现:SENP1在前列腺癌、胃癌、乳腺癌等组织中高表达,但在子宫内膜癌中的表达情况尚无相关报道。本研究采用免疫组织化学法检测子宫内膜癌组织及其配对癌旁组织中SENP1蛋白的表达,并分析其与临床病理因素间的关系,旨在探讨SENP1和ER α 在子宫内膜癌中发生、发展的作用,同时分析SENP1和ER α 两者之间的关系拟明确泛素化修饰在ER通路中的重要作用。

1 对象与方法

1.1 对象

随机选取青岛市立医院经手术切除的子宫内膜癌组织及其配对癌旁组织各50例,均经术后组织病理学检查明确诊断,其中高分化者9例,中分化者16例,低分化者25例;年龄42~70(中位56)岁,<50岁者14例, \geq 50岁者36例。按2009年国际妇产科联盟(International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO)子宫内膜癌分期方法分期: I期患者21例,

II期20例, III期9例, IV期0例;有淋巴结转移23例,无淋巴结转移27例。本研究已获得青岛市市立医院医学伦理委员会批准。

1.2 主要试剂

兔抗人SENP1抗体为美国Abcam公司产品;酶标羊抗小鼠/兔IgG聚合物、3%过氧化氢为北京中杉金桥生物技术有限公司产品;兔抗人ER α 抗体、动物血清(羊)为迈新生物科技有限公司产品。

1.3 试验方法

标本经10%中性甲醛固定24 h,然后石蜡包埋,切成厚度6 μ m的切片,经过二甲苯脱蜡,梯度酒精脱水,高压修复,3%过氧化氢去除内源性酶,加入动物血清(羊),加入一抗:兔抗人SENP1抗体(工作浓度1:400),二抗酶标羊抗小鼠/兔IgG聚合物,DAB显色,苏木精复染,盐酸酒精分化、脱水、透明、封片、显微镜检查。用睾丸组织作为阳性对照(参照SENP1抗体说明书);用PBS代替一抗作为阴性对照。

1.4 判断标准

判断标准参照许良中等^[8]的方法,在200倍光学显微镜下进行观察,细胞内出现明显的棕黄色颗粒为阳性细胞。SENP1蛋白阳性表达主要位于肿瘤细胞及间质细胞的细胞质,呈粗细不等、深浅不一的棕色颗粒。每张切片随机观察10个高倍视野,按细胞着色深浅依次分为4个等级:无,0分;弱,1分;中,2分;强,3分。按阳性细胞占肿瘤细胞百分比分为4个等级:<10%,0分;10%~30%,1分;31%~60%,2分;>60%,3分。二者相加为阳性表达的最终结果:0~1分,“-”;2~3分,“+”;4~5分,“++”;6分,“+++”。采用双盲法判定最终结果,每张切片均由2名病理医师分别计数,计数相差10%以上则重新计数。

1.5 统计学处理

采用SPSS 16.0统计分析软件对计数资料进行 χ^2 检验,采用Fisher精确概率法;采用Spearman方法进行关联分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 子宫内膜癌和癌旁正常组织中 SENP1 蛋白表达比较

SENP1蛋白阳性表达主要定位于配对的癌旁组织中, 肿瘤组织中也有所表达, 但是其阳性率明显低于和其配对的癌旁组织, 肿瘤组织中 SENP1的阳性率54%(27/50), 癌旁组织中的阳性率100%(50/50), SENP1在子宫内膜癌组织中的阳性率低于其配对的癌旁组织中的阳性率, 差异具有统计学意义($P<0.001$, 表1, 图1)。

表1 子宫内膜癌和癌旁组织中SENP1蛋白的表达($n=50$)

Table 1 Expression of SENP1 protein in endometrial carcinoma and para-cancer tissues ($n=50$)

组别	SENP1				χ^2	P
	-	+	++	+++		
子宫内膜癌组	23	3	6	18		
癌旁组	0	5	7	38	30.72	<0.001

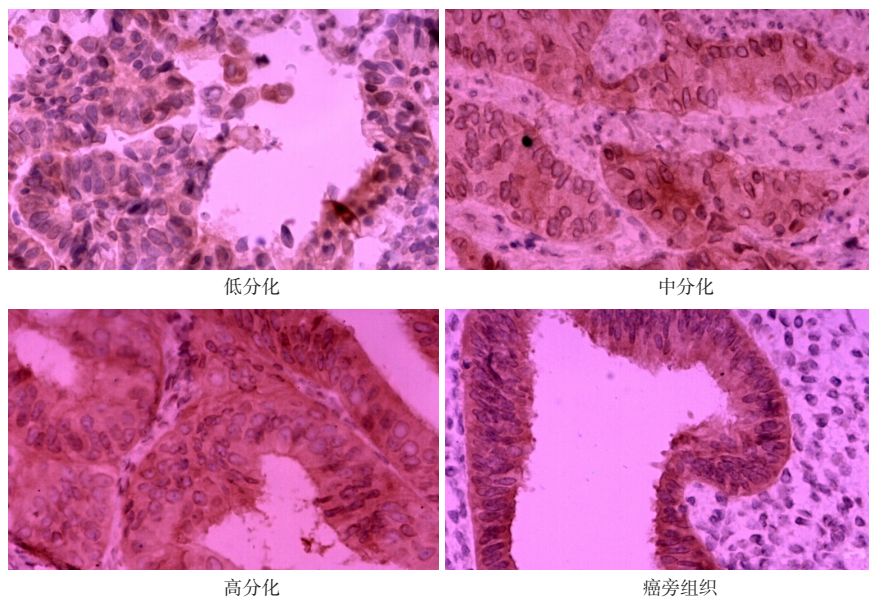


图1 SENP1在I型子宫内膜癌及癌旁组织中的表达(HE, $\times 200$)

Figure 1 Expression of SENP1 in type I endometrial carcinoma and its adjacent tissues (HE, $\times 200$)

2.2 SENP1 蛋白表达与子宫内膜癌分化程度的关系

SENP1蛋白阳性染色主要定位于高分化的子宫内膜癌组织中, 低分化的癌组织中表达较低, 高分化癌组织中SENP1蛋白阳性率为88.89%(8/9), 中分化癌组织中SENP1蛋白阳性率为75%(12/16), 低分化癌组织中SENP1蛋白阳性率为28%(7/25), SENP1在高分化的子宫内膜癌中阳性率明显高于低分化子宫内膜癌, 差异有统计学意义($P<0.05$, 表2)。

2.3 SENP1 蛋白表达与肿瘤临床病理特征的关系

分析患者的临床资料与SENP1表达强弱之间的关系, 结果显示SENP1的表达与患者的年龄、肿瘤浸润深度、FIGO分期以及有无淋巴结转移均无相关性($P>0.05$, 表3)。

2.4 SENP1 与 ER α 的相关性

Spearman法分析显示, SENP1的表达与ER α 的表达呈正相关($P<0.05$, 表4)。

表2 SENP1蛋白表达与子宫内膜癌分化程度的关系

Table 2 Relationship between SENP1 protein expression and endometrial carcinoma differentiation

组别	n	SENP1				χ^2	P
		-	+	++	+++		
低分化组	25	18	1	3	3		
中分化组	16	4	2	2	8		
高分化组	9	1	0	1	7	0.005	0.003

表3 SENP1蛋白表达与肿瘤临床病理特征的关系

Table 3 Relationship between SENP1 protein expression and clinical pathological features of tumor

组别	n	SENP1				P
		-	+	++	+++	
年龄/岁						0.096
<50	14	7	2	3	2	
\geq 50	36	16	1	3	16	
浸润深度						0.919
<1/2肌层	19	8	1	2	8	
\geq 1/2肌层	31	15	2	4	10	
淋巴结转移						0.863
有	27	12	2	4	9	
无	23	11	1	2	9	
FIGO分期						0.292
I	21	9	0	2	10	
II	20	8	2	3	7	
III	9	6	1	1	1	

表4 SENP1与ER α 的相关性Table 4 Correlation between SENP1 and ER α protein expression

SENP1表达	SENP1	ER α	r	P
-	23	12		
+	3	11		
++	6	8		
+++	18	19		
合计	50	50	0.6	0.039

3 讨论

SUMO化修饰是一个动态可逆的过程, 主要是通过活化、结合、连接、修饰构成的^[9]。SUMO化修饰的过程虽然和泛素化相似, 但是比泛素化修饰的蛋白质更加稳定, 也更不容易被蛋白酶所降解; SUMO化修饰的逆反应过程就是SUMO和靶蛋白分离过程, 称为去SUMO化, 主要是靠SUMO特异性蛋白酶家SENPs来完成^[10]。SENP1是SENPs家族中的一种, 能够催化大量SUMO和靶蛋白分离。虽然SENPs在肿瘤的发生、发展中的具体作用机制尚不清楚, 但研究^[11]表明: SUMO化修饰动态平衡的破坏促进肿瘤的发生、发展。而SENPs作为去SUMO化过程中的重要酶, 在维持SUMO化修饰动态平衡中发挥重要的作用^[11]。因此, 深入研究SENPs的功能以及其在去SUMO化中的具体机制能加深理解SUMO化修饰这样一个动态、可逆的平衡机制, 从而更加深入了解肿瘤的发生、发展, 甚

至有望找到治疗肿瘤的潜在靶点。

肿瘤的生长需要营养物质的供应。影响营养物质供应的因素很多, 缺氧是其中之一, 其作用机制主要是通过缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor 1, HIF-1 α)协调进行的^[12]。Cheng等^[13]报道: 敲除SENP1基因能够增强HIF-1 α 的SUMO化, 致使HIF-1 α 降解, 最终导致SENP1基因敲除的小鼠因无新血管形成而死亡, 说明SENP1在肿瘤的发生、发展过程中发挥重要作用。

雌激素受体ER分为两种亚型: ER α 和ER β , 两者均参与I型子宫内膜癌的发生、发展^[14], 目前关于ER α 的研究更深入, Hilmi等^[15]认为: ER α 为SUMO-1作用的靶基因, 共同参与调节选择性雌激素受体下调因子(selective estrogen receptor down-regulator, SERD)的表达和功能。Yuan等^[14]发现SUMO-1和ER α 在I型子宫内膜癌中存在共表达关系, 两者在子宫内膜癌的发生和发展过程中发挥协同作用, 而SENP1作为SUMO化修饰逆反应过程

中的重要酶, 是否通过参与ER通路在I型子宫内膜癌中发挥作用, 尚无相关方面的报道。

本研究用SENP1抗体检测I型子宫内膜癌组织及其配对癌旁组织中SENP1蛋白的表达, 结果发现SENP1蛋白在I型子宫内膜癌中的阳性表达率明显低于其配对的正常癌旁组织, 说明SENP1在I型子宫内膜癌的发生、发展过程中起一定的作用。本研究同时发现: SENP1蛋白在高分化子宫内膜癌患者中的阳性率明显高于低分化子宫内膜癌患者; SENP1的表达和ER α 的表达存在正相关, SENP1可能通过ER通路参与I型子宫内膜癌的肿瘤发生及进展过程。因此, 深入研究SENP1的作用机制, 有可能成为治疗子宫内膜癌的一个新靶点。

参考文献

- Hannoun Z, Greenhough S, Jaffray E, et al. Post-translational modification by SUMO[J]. *Toxicology*, 2010, 278(3): 288-293.
- Burdelski C, Menan D, Tsourlakis MC, et al. The prognostic value of SUMO1/Sentrin specific peptidase 1 (SENP1) in prostate cancer is limited to ERG-fusion positive tumors lacking PTEN deletion [J]. *BMC Cancer*, 2015, 15: 538.
- Bawa-Khalife T, Cheng J, Wang Z, et al. Induction of the SUMO-specific protease 1 transcription by the androgen receptor in prostate cancer cells[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(52): 37341-37349.
- Cheng J, Wang D, Wang Z, et al. SENP1 enhances androgen receptor-dependent transcription through desumoylation of histone deacetylase 1[J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(13): 6021-6028.
- Wang Q, Xia N, Li T, et al. SUMO-specific protease 1 promotes prostate cancer progression and metastasis[J]. *Oncogene*, 2013, 32(19): 2493-2498.
- 陈军, 高琦, 史媛, 等. SENP1和P53在胃癌中的表达及其意义[J]. *外科理论与实践*, 2012, 17(6): 659-663.
CHEN Jun, GAO Qi, SHI Yuan, et al. Expression of SENP1 and P53 in gastric carcinoma and its significance[J]. *Journal of Surgery Concepts & Practice*, 2012, 17(6): 659-663.
- 陈军, 王坚, 顾红玉, 等. SENP1与CerBb-2蛋白表达在乳腺癌中的临床意义[J]. *诊断学理论与实践*, 2009, 8(2): 175-179.
CHEN Jun, WANG Jian, GU Hongyu, et al. The clinical significance of expression of SENP1 and CerBb-2 in breast carcinoma[J]. *Journal of Diagnostics Concepts & Practice*, 2009, 8(2): 175-179.
- 许良中, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. *中国癌症杂志*, 1996, 6(4): 229-231.
XU Liangzhong, YANG Wentao. Criteria for judging the immunohistochemistry results[J]. *Chinese Journal of Cancer*, 1996, 6(4): 229-231.
- Dohmen RJ. SUMO protein modification[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1695(1/3): 113-131.
- Yeh ET, Gong L, Kamitani T. Ubiquitin-like proteins: new wines in new bottles[J]. *Gene*, 2000, 248(1/2): 1-14.
- 韩琳, 伍会健. SENPs对肿瘤发展的分子调控机理[J]. *生理科学进展*, 2013, 44(1): 55-58.
HAN Lin, WU Huijian. Molecular mechanisms of SENPs on regulating tumor development[J]. *Progress in Physiological Sciences*, 2013, 44(1): 55-58.
- 程金科. SUMO蛋白酶1与肿瘤[J]. *癌症*, 2008, 27(7): 771-774.
CHENG Jinke. SUMO protease 1 and tumor[J]. *Cancer*, 2008, 27(7): 771-774.
- Cheng J, Kang X, Zhang S, et al. SUMO-specific protease 1 is essential for stabilization of HIF1alpha during hypoxia [J]. *Cell*, 2007, 131(3): 584-595.
- 袁俐, 袁梦岚, 陈旭红, 等. SUMO-1及ERS在子宫内膜癌中的表达及相关性研究[J]. *国际妇产科学杂志*, 2015, 42(4): 470-472.
YUAN Li, YUAN Menglan, CHEN Xuhong, et al. Study on expression and correlation of SUMO-1 and ER α in endometrial carcinoma[J]. *Journal of International Obstetrics and Gynecology*, 2015, 42(4): 470-472.
- Hilmi K, Hussein N, Mendoza-Sanchez R, et al. Role of SUMOylation in full antiestrogenicity[J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(19): 3823-3837.

本文引用: 崔鑫, 张采欣, 李云辉, 亓永云, 丁晓燕, 黑淑敏, 黄维清. SUMO特异性蛋白酶1和ER α 在I型子宫内膜癌组织中的表达及其临床意义[J]. *临床与病理杂志*, 2017, 37(10): 2062-2066. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.10.007

Cite this article as: CUI Xin, ZHANG Caixin, LI Yunhui, QI Yongyun, DING Xiaoyan, HEI Shumin, HUANG Weiqing. Expression and significance of SUMO specific protease 1 and ER α in type-1 endometrial carcinoma[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2017, 37(10): 2062-2066. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.10.007