

特征分析。

## 参考文献

- [1] 尹湧华,孔玉洁,王美玉,等.《血站技术操作规程(2015版)》研读[J].中国输血杂志,2016,29(11):1303-1305.
- [2] 孙连明.献血者健康检查相关标准和规程的理解与实施要点[J].中国输血杂志,2012,25(7):710-714.
- [3] 王丽艳,秦倩倩,葛琳,等.我国50岁及以上艾滋病病毒感染者/艾滋病患者特征分析[J].中华流行病学杂志,2016,37(2):222-226.
- [4] 杨琼芳,刘力铭.遂宁市无偿献血人群结构统计分析[J].中国卫生事业管理,2016,33(7):555-556.
- [5] 王霞,郑欣,吴桂丹,等.深圳地区无偿献血者HIV合并乙肝、丙肝、梅毒感染情况与特征分析[J].中国输血杂志,2015,28(9):1124-1127.
- [6] 段友红,程卫芳,吴君胜,等.合肥地区无偿献血人群HIV的检测及流行病学研究[J].国际检验医学杂志,2015,36(5):641-642.
- [7] 何成涛,黄敏,马贵明,等.核酸检测对提高南京地区HIV检出率的分析研究[J].中国输血杂志,2017,30(2):156-

## · 临床研究 ·

# 原癌基因 Wip1 在卵巢癌中的表达及临床意义

顾笑梅,康晓芳,高淑凤,李娟

(唐山市妇幼保健院,河北唐山 063000)

**摘要:**目的 观察原癌基因Wip1在卵巢癌患者中的表达及临床意义。方法 选取该院2002年1月至2012年1月收治的120例卵巢癌患者为观察对象,所有患者均经病理检查确诊。另选取同期活检正常卵巢组织120例作为对照,采用免疫组化法检测Wip1蛋白并进行比较分析。结果 正常卵巢组织细胞中,Wip1免疫组化染色阴性或微弱。卵巢癌组织中Wip1染色呈浅黄色至黄褐色不等。采用蛋白质免疫印迹检测的Wip1蛋白在卵巢癌组织的阳性表达率为73.5%(88/120),高于正常卵巢组织20.8%(25/120),差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),与P53表达水平存在关联( $P<0.05$ )。结论 Wip1在卵巢癌中表达量高于正常卵巢组织,且其水平与年龄、雌孕激素状态、HER2、淋巴结状态、TNM分期均无关,与P53表达水平存在关联。

**关键词:**Wip1; 卵巢癌; 基因表达

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.24.049

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)24-3478-03

随着科学技术的发展,人们对于卵巢癌形成原因和发病过程的认识变得更加深刻。卵巢癌的产生以及整个发病过程是和原癌基因紧密相关的。目前临床主要使用免疫组化、蛋白质免疫印迹(WB)及半定量逆转录-聚合酶链反应(qPCR)的方法检测原癌基因在卵巢癌组织及正常卵巢癌组织当中的表达情况进行分析,并且分析Wip1在整个卵巢癌产生和成长的过程当中起到什么作用,主要是为了能够使得卵巢癌的治疗及以后的判断和预防能够更加的准确。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集本院2002年1月至2012年1月120例卵巢癌患者,经手术切除卵巢癌蜡块标本进行研究,标本均被病理证实。另外选取同期活检正常卵巢组织120例作为对照。所有的患者临床标本都经过本院病理科病理确诊,全部为散发病例,无家族病史,平均年龄为 $(46.6 \pm 17.3)$ 岁,其中最小26岁,最大70岁。其中上皮性癌72例,生殖细胞癌28例,其他类型卵巢癌20例。I期卵巢癌患者59例,II期卵巢癌患者42例,III期患者19例。

158.

- [8] 张巧琳,田耘博,张琴,等.2012—2013年重庆市无偿献血者HIV感染情况分析[J].重庆医学,2015,44(8):1120-1121.
- [9] 黄力勤,查伟,姚凤兰,等.无偿献血人群HIV检测结果多样性分析[J].中国输血杂志,2016,29(5):505-508.
- [10] 李庚娣,刘永梅.无偿献血HIV抗体初筛阳性确认结果分析[J].国际检验医学杂志,2016,37(15):2112-2114.
- [11] 陈敏,刘晋洪,张健,等.深圳市大宝安地区2008年-2014年无偿献血人群特征分析[J].中国现代医学杂志,2015,25(34):82-85.
- [12] 苏武锦,陈悦,黄茜.南宁地区2006—2015年无偿献血者HIV阳性的分布特征[J].重庆医学,2016,45(29):4110-4112,4116.
- [13] 陈盛旺,黄冬瑞,黄林辉,等.贺州市无偿献血人群HIV确认阳性情况分析[J].中国输血杂志,2016,29(7):750-752.

(收稿日期:2017-05-15 修回日期:2017-07-28)

**1.2 仪器及试剂**超提纯-RNA试剂盒,RealSuper Mixture, DNase 1,WIPI 1免抗人多克隆抗体,蛋白抽提试剂、BCA蛋白定量试剂盒、2 mg/mL BSA标准品、5×还原样品缓冲液、10×Tris-Glycine-SDS电泳缓冲液、考马斯亮蓝染色液(赛诺博)。

**1.3 方法** (1)免疫组化染色后由两名专业的病理科医师,在对患者临床资料未知的情况下采用双盲操作方法进行计数。Wip1的表达量以细胞阳性百分率进行判定。细胞阳性百分率规范分为4个等级:小于等于5%计0分,5%到25%计1分,25%到50%计2分,大于50%计3分;细胞染色强度分数标准:无染色记0分,弱染色(浅黄色)记1分,中等染色(棕黄色)记2分,强染色(黄褐色)记3分。另外,细胞染色强度得分,把两项之和相加标准分数进行评判:0分为阴性(-),1~2分为弱阳性(+),3~4分为中等阳性(++)+,5~6分为强阳性(++)。以PBS替代一抗作为阴性对照。-、+为低表达,++、+++为高表达。(2)WB测定Wip1蛋白表达水平。(3)半定量qPCR检测总RNA。

**1.4 统计学处理** 应用SPSS16.0软件进行分析,计数资料

采用百分率(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验,计量资料均以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较用 *t* 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 卵巢癌组织、正常卵巢组织 Wip1 免疫组化染色结果

正常卵巢组织细胞中,Wip1 免疫组化染色阴性或微弱。卵巢癌组织中 Wip1 染色呈浅黄色至黄褐色不等。Wip1 蛋白在卵巢癌组织的阳性表达率为 73.5%(88/120),高于正常卵巢组织 20.8%(25/120),差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 2.2 Wip1 蛋白在卵巢癌组织、正常卵巢组织 WB 结果 卵巢

癌组织 Wip1 蛋白为  $(0.785 \pm 0.079)\mu\text{g}/\text{mL}$  高于正常卵巢组织  $(0.225 \pm 0.027)\mu\text{g}/\text{mL}$ ,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 2.3 Wip1 mRNA 在卵巢癌组织、正常卵巢组织 qPCR 结果

Wip1mRNA 表达在卵巢癌组织高于正常卵巢组织,基因表达值分别为  $(0.726 \pm 0.076)$  和  $(0.185 \pm 0.021)$ ,其差异经统计学检验,具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 2.4 Wip1 表达量与卵巢癌临床分析病理因素的关系 Wip1

的表达水平与年龄、雌孕激素状态、人表皮生长因子受体-2(HER2)、淋巴结状态、TNM 分期均无关( $P > 0.05$ ),与 P53 表达水平存在关联( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 Wip1 表达与卵巢癌临床病理因素的关系(*n*)

相关因素	年龄		淋巴结状态		TNM 分期		雌激素受体		孕激素受体		HER2		P53	
	≤50	>50	N+	N0	I	II~III	-	+	-	+	+	-	+	-
<i>n</i>	47	73	40	80	52	68	37	83	48	72	45	75	37	76
Wip1 —~+	12	29	13	30	19	25	16	32	22	32	15	28	7	49
蛋白表达 ++~+++	35	44	27	50	43	43	21	51	46	40	30	47	27	26
$\chi^2$		2.56		0.68		0.54		0.23		2.158		0.196		24.65
<i>P</i>		0.12		0.68		0.57		0.68		0.16		0.69		0

注:N+ 表示淋巴结转移 N。0 表示无淋巴结转移。

## 3 讨 论

近年来,原癌基因的临床研究日益广泛,而 Wip1 是一种新型发现的原癌基因,在多种研究中都有所发现,并且在各种肿瘤中存在过表达,也有研究显示,如在乳腺癌、结直肠癌,肺癌、肾癌等肿瘤的发生、发展甚至预后密切相关,但其致癌作用尚未完全研究清楚。体内外实验均表明<sup>[1]</sup>,Wip1 的活性受到抑制,或者其基因缺失,将会减慢人癌细胞株肿瘤生长的速度及加速肿瘤细胞的凋亡,这为恶性肿瘤有新的靶向治疗提供了临床依据。卵巢肿瘤是女性最常见的恶性肿瘤之一,其具有病程发展快、术后易复发、恶性度高等特点。Wip1 与卵巢肿瘤的研究尚不明确,某些原癌基因的激活以及抑癌基因的失活可能也参与肿瘤的形成及其恶性的转化<sup>[2]</sup>,例如抑癌基因 P53 的突变或者缺失在恶性肿瘤的形成中起着重要的作用<sup>[3]</sup>,这是到目前为止,所发现的最常见的基因改变之一,也是肿瘤恶性进展的重要信号之一。过表达的 Wip1 又对 p38MAPK /P53 信号通路起负反馈抑制作用,这是 P53 突变的可能原因<sup>[4]</sup>。最近研究表明 DNA 损伤时,ATM 使点激酶 2(Chk2)磷酸化,抑制肿瘤产生<sup>[5]</sup>。高表达的 Wip1 能够使用 DNA 进行自我修复,主要是能够促进细胞周期进程从而产生肿瘤。使用内外以及体内的有关研究去证明,Chk2 在 Wip 作用下,去磷酸化而失去活性,从而致使肿瘤的形成<sup>[6]</sup>。明确 Wip1 优势表达细胞株具有重要的临床意义。

本研究通过对卵巢癌及正常卵巢组织中的 Wip1 蛋白和 Wip1mRNA 表达水平的检测发现,和正常的卵巢组织相比,卵巢癌组织中的 Wip1 的表达明显升高,两者的表达差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结果提示 Wip1 高表达与卵巢癌的发生密切相关。临床病理因素分析也表明,Wip1 高表达与年龄、肿瘤大小、TNM 分期、腋窝淋巴结转移、雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)表达均无关;与 P53 表达水平存在关联。目前,在卵巢癌的治疗中,基因治疗发挥了它的价值,但同时也存在一定

的缺陷。例如,在卵巢癌的治疗中,目标基因太少,并没有找到发病的具体机制。目前的研究表明,在卵巢癌组织中,Wip1 表达量很高,Wip1 与 P53 的结合,促进了 P53 抑癌基因的功能,导致卵巢癌的恶性发展。Wip1 同时还抑制其他抑癌基因的活性,因此在卵巢癌细胞的研究中,以 Wip1 为靶基因,通过对 Wip1 功能的抑制,增加抑癌基因的活性,探讨治疗卵巢癌的有限途径。目前有关于 Wip1 活性抑制剂的发展是国外的研究焦点,可进一步增强抗肿瘤药物的抗增值功能<sup>[7]</sup>。经过方面的研究,有助于临床对肿瘤的早期诊断、早期治疗,以及设定治疗策略和协助判断临床患者的预后。

## 参 考 文 献

- [1] Natrajan R, Lambros MB, Rodriguez-Pinilla SM, et al. Tiling path genomic profiling of grade 3 invasive ductal breast cancers[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(8): 2711-2722.
- [2] Yue WY, Yu SH, Zhao SG, et al. Molecular markers relating to malignant progression in Grade II astrocytoma[J]. J Neurosurg, 2009, 110(4): 709-714.
- [3] Holstege H, Joosse SA, Van Oostrom CT, et al. High incidence of protein-truncating TP53 mutations in BRCA1-related breast cancer[J]. Cancer Res, 2009, 69(8): 3625-3633.
- [4] Batista LF, Roos WP, Christmann M, et al. Differential sensitivity of malignant glioma cells to methylating and chloroethylating anticancer drugs: P53 determines the switch by regulating xpc, ddb2, and DNA doublestrand breaks[J]. Cancer Res, 2007, 67(24): 11886-11895.
- [5] Natrajan R, Lambros MB, Rodriguez-Pinilla SM, et al. Tiling path genomic profiling of grade 3 invasive ductal

- breast cancers[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(8): 2711-2722.
- [6] Hu W, Feng Z, Modica I, et al. Gene amplifications in Well-Differentiated pancreatic neuroendocrine tumors inactivate the P53 pathway[J]. Genes Cancer, 2010, 1(4): 360-368.

## • 临床研究 •

# 秦皇岛地区儿童 25-羟基维生素 D<sub>3</sub> 检测结果分析

刘冬妹, 吴红丽<sup>△</sup>, 李 兰, 刘雅琪

(河北省秦皇岛市妇幼保健院检验科, 河北秦皇岛 066000)

**摘要:**目的 检测并分析秦皇岛地区儿童血清 25-羟基维生素 D<sub>3</sub>[25-(OH)D<sub>3</sub>]的水平, 指导秦皇岛地区儿童合理进行维生素 D 补充。方法 选取 2016 年 1 月至 2016 年 12 月于该院保健部进行健康体检的 1246 例 0~6 岁儿童作为调查对象, 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 水平, 并对检测结果进行分析。结果 对秦皇岛地区 0~6 岁儿童的血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 检测结果进行分析发现, 该地区儿童血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 平均水平为  $(25.398 \pm 7.765) \mu\text{g/L}$ , 维生素 D 缺乏率为 25.12%。不同性别儿童之间血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 水平对比差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 不同年龄段儿童的血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 水平对比差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 新生儿、婴儿以及 3~6 岁学龄前儿童维生素 D 缺乏率较高。结论 秦皇岛地区 0~6 岁儿童的血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 缺乏率较高, 应针对不同年龄段儿童的个体差异和发育特点, 有针对性地进行维生素 D<sub>3</sub> 的监测和补充。

**关键词:**秦皇岛地区; 25-(OH)D<sub>3</sub>; 儿童

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2017.24.050

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2017)24-3480-02

维生素 D 作为一种营养素和激素, 具有广泛的生理功能。其不仅能够对骨组织钙化以及人体内钙和磷的代谢产生影响, 同时还与心血管和免疫系统疾病以及糖尿病、肿瘤等疾病密切关联<sup>[1-2]</sup>。维生素 D 缺乏是当前世界范围内备受关注的公共卫生问题。婴幼儿时期是儿童骨骼生长发育的重要时期, 维生素 D 缺乏极容易引发佝偻病<sup>[3]</sup>。因此监测儿童维生素 D 水平对于佝偻病的防治工作具有重要意义。25-羟基维生素 D<sub>3</sub>[25-(OH)D<sub>3</sub>]是维生素 D 在人体血液循环中的重要存在形式, 其与血浆维生素 D 结合蛋白的结合较稳固, 同时拥有较长的半衰期, 是评估人体内维生素 D 水平的重要指标<sup>[4-5]</sup>。为了解秦皇岛地区儿童血清维生素 D 水平, 为科学合理补充维生素 D 提供有效依据, 现对本院保健部进行健康体检的儿童进行血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 水平进行检测, 并对检测结果进行分析。现将检测和分析结果报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2016 年 1 月至 2016 年 12 月于本院保健部进行健康体检的 1246 例 0~6 岁儿童作为调查对象。年龄范围 0~6 岁之间, 其中 0~<1 个月 108 例, 1~<3 个月 123 例, 3 个月至<1 岁 236 例, 1~<3 岁 309 例, 3~6 岁 470 例。纳入标准:(1)儿童为秦皇岛地区常住人口或居住时间在 6 个月以上;(2)儿童均为足月出生同时体质量符合正常标准;(3)儿童及父母均身体健康, 无慢性疾病史并且距离检测 2 周内无腹泻症状。排除标准:早产、伴有代谢性或感染性疾病、甲状腺功能异常、胃肠或肝肾功能紊乱以及服用过抗癫痫药物。本次调查研究经所有研究对象和家属知情同意。

**1.2 方法** 采集空腹状态下外周静脉血 3 mL, 利用酶联免疫吸附测定(ELISA)法对血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 水平进行检测。本研

- [7] Macrek L, Lindqvist A, Voets O, et al. Wip1phosphatase is associated with chromatin and dephosphorylates gammaH2AX to promote checkpoint inhibition[J]. Oncogene, 2010, 29(15):2281-2291.

(收稿日期:2017-05-30 修回日期:2017-08-19)

究中酶联免疫吸附试剂盒购于北京博辉创新光电技术有限公司。记录所有儿童的性别、年龄、平均每天补充维生素 D 量等一般资料。

**1.3 判定标准** 维生素 D 充足:血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 水平在  $30 \sim 50 \mu\text{g/L}$  之间;维生素 D 不足:血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 水平在  $21 \sim 29 \mu\text{g/L}$  之间;维生素 D 缺乏:血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 水平  $\leq 20 \mu\text{g/L}$ ; 维生素 D 严重缺乏:血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 水平  $\leq 10 \mu\text{g/L}$ ; 维生素 D 中毒:血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 水平在  $150 \mu\text{g/L}$  以上<sup>[6]</sup>。

**1.4 统计学处理** 使用 SPSS 21.0 统计学软件对本研究中数据进行统计分析计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用 *t* 检验和方差分析; 计数资料以百分率(%)表示, 采用  $\chi^2$  检验进行比较。 $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 秦皇岛地区儿童血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 检测结果** 对秦皇岛地区儿童血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 水平进行检测发现, 0~6 岁儿童的血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 平均水平为  $(25.398 \pm 7.765) \mu\text{g/L}$ , 男童和女童之间血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 水平对比差异没有统计学意义( $P > 0.05$ ), 不同年龄段儿童的血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 水平对比差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 秦皇岛地区儿童血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

月龄或年龄	血清 25-(OH)D <sub>3</sub> ( $\mu\text{g/L}$ )		
	男	女	总体
0~<1 个月	$20.745 \pm 4.413$	$19.451 \pm 5.006$	$20.011 \pm 4.734$
1~<3 个月	$22.354 \pm 6.203$	$19.274 \pm 4.096$	$21.476 \pm 5.757$
3 个月至<1 岁	$26.397 \pm 8.538$	$28.954 \pm 4.676$	$27.348 \pm 7.371$
1~<3 岁	$30.012 \pm 7.253$	$27.633 \pm 7.308$	$28.853 \pm 7.278$