

## 血清 S100A6 检测对卵巢上皮性癌的诊断价值\*

郑福利<sup>1</sup>, 张颖<sup>2</sup>, 王建<sup>3</sup> (1. 陕西中医学院第二附属医院妇产科, 陕西咸阳 712000;

2. 解放军第三二三医院妇产科, 西安 710054; 3. 第四军医大学西京医院妇产科, 西安 710032)

**摘要:**目的 探讨血清 S100A6 对卵巢上皮性癌的诊断及疾病进展临床诊断的指导价值。方法 采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测 40 例卵巢上皮性癌患者、20 例卵巢良性肿瘤患者及 20 例正常体检者血清中 S100A6 的浓度。结果 卵巢癌与良性卵巢肿瘤, 正常对照患者相比, S100A6 血清浓度显著升高, 差异具有统计学意义( $t=2.66, P<0.01$ )。中晚期(Ⅲ+Ⅳ期)卵巢癌患者 S100A6 血清浓度显著高于早期(Ⅰ+Ⅱ期)卵巢癌患者( $t=4.68, P<0.001$ )。与高分化和中分化相比, 低分化的卵巢癌患者 S100A6 血清浓度显著升高, 差异有统计学意义( $t=2.49, P<0.05$ )。出现淋巴结转移的卵巢癌患者中 S100A6 血清浓度显著高于淋巴结无转移的卵巢癌患者( $t=4.02, P<0.01$ )。S100A6 血清平均浓度与病理类型无关( $t=1.8, P>0.05$ )。结论 血清 S100A6 的血清浓度与卵巢癌病情发展相关, S100A6 有望成为监测卵巢上皮性癌病情发展的分子标志物。

**关键词:** 卵巢癌; 钙结合蛋白 S100A6; 临床诊断

中图分类号: R737.31; R730.43 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)05-022-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.05.007

## Study on Diagnostic Value of Detecting Serum S100A6 in the Epithelial Ovarian Carcinoma

ZHENG Fu-li<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>2</sup>, WANG Jian<sup>3</sup>

(1. Department of Gynecology and Obstetrics, the Second Affiliated Hospital of Shaanxi College of Traditional Chinese Medicine, Shaanxi Xianyang 712000, China; 2. Department of Gynecology and Obstetrics, PLA 323 Hospital, Xi'an 710054, China; 3. Department of Gynecology and Obstetrics, Xijing Hospital of Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the significance of serum S100A6 in epithelial ovarian carcinoma and explore the correlation between the serum S100A6 and clinicopathologic features. **Methods** The serum S100A6 level in 40 patients with epithelial ovarian carcinoma and 20 benign ovarian tumor group, 20 normal control group were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The serum S100A6 level was significantly higher in the EOC group than in the benign ovarian tumor group and normal control group ( $t=2.66, P<0.01$ ). The serum S100A6 level was obviously increased in advanced stage EOC patients compared with early stage EOC patients ( $t=4.68, P<0.001$ ). The serum S100A6 level was significantly higher in the poor-differentiated group than in the well-differentiated group and moderate-differentiated group ( $t=2.49, P<0.05$ ). The serum S100A6 level in lymph node metastasis was obviously higher than nolymp node metastasis in EOC patients ( $t=4.02, P<0.01$ ). The serum S100A6 level was no difference between seroustype and other spathological type ( $t=1.8, P>0.05$ ). **Conclusion** The data suggested that serum S100A6 level can indicate the progression of epithelial ovarian carcinoma, and may be a new promising approach in targeting therapy of ovarian cancer.

**Keywords:** ovarian carcinoma; S100A6 gene; diagnosis

卵巢上皮性癌是常见的女性恶性肿瘤,也是死亡率最高的生殖系统恶性肿瘤。卵巢癌患者早期无典型症状,超过 70% 的患者发现时已是中晚期。目前尚无有效的早期筛查和特异性诊断方法。钙周期蛋白 S100A6 是 S100 蛋白家族成员之一。有研究证实 S100A6 与上皮性癌发生发展相关<sup>[1]</sup>,还有研究表明 S100A6 高表达与胰腺癌、骨肉瘤、胃癌、肺腺癌、黑色素瘤等多种恶性肿瘤的转移和不

良预后相关<sup>[3,9~11]</sup>。但血清 S100A6 与卵巢上皮性癌的相关性尚未见报道。本研究中我们用 ELISA 法对正常体检者、卵巢良性肿瘤和卵巢癌患者血清中 S100A6 的浓度进行了检测,统计分析 S100A6 血清浓度与卵巢癌的相关性,初步探讨血清 S100A6 对卵巢上皮性癌的诊断及疾病进展临床诊断的指导价值。

### 1 材料与方法

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(NO:81172458);国家自然科学基金资助项目(NO:81302243)。

作者简介:郑福利(1978-),女,硕士,主治医师,主要从事妇产科临床, Tel:18049414376, E-mail: zheng.337700@163.com。

通讯作者:王建(1962-),男,教授,主任医师,主要从事妇产科临床与基础研究, E-mail:184183102@qq.com。

1.1 实验样本 在医院伦理委员会批准下收集本院妇产科2014年1月~12月期间就诊的患者80例,包括卵巢上皮性癌患者40例、卵巢良性肿瘤患者20例以及正常体检者20例的外周静脉血清,其中上皮性卵巢癌组40例,患者平均年龄 $48.53 \pm 13.48$ 岁。病理类型分别为:浆液性囊腺癌22例,黏液性囊腺癌12例,子宫内膜样癌6例;细胞学分级分别为:高分化癌14例,中分化癌15例,低分化癌11例。按国际妇产科联盟(FIGO)2012年新的手术病理分期标准,I期5例,II期11例,III期18例,IV期6例。卵巢良性肿瘤组20例,患者平均年龄 $43.53 \pm 11.57$ 岁,其中浆液性囊腺瘤12例,黏液性囊腺瘤8例。排除各种内外科和妇科疾病。此外选择同期就诊的20例健康女性作为正常对照组,平均年龄 $38.25 \pm 10.52$ 岁。病史采集详细记录卵巢癌患者病理类型、细胞学分级、FIGO手术分期、淋巴结转移及腹腔积液情况等临床资料,登记入册。

1.2 试剂及仪器 96T人S100A6酶联免疫分析ELISA试剂盒,酶标分析仪,电热恒温水浴箱,冷冻离心机(德国)。

### 1.3 方法

1.3.1 血清标本处理:抽取患者清晨空腹外周静脉血4 ml,收集于真空促凝抽血管中,自然存放1~2 h后用3 000 r/min离心15 min,分离血清,留取3 ml血清冻存于 $-70^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,依次进行编号。

1.3.2 双抗体夹心法(ELISA)测定:按照人S100A6酶联免疫(ELISA)试剂盒的使用说明书,全部标本均在同一条件下严格按试剂盒说明书操作,DAB显色。

1.3.3 结果测定:使用酶标仪,在450 nm处读取A值,绘制ELISA标准曲线,将标准液的浓度与A值在电脑中计算出标准曲线的回归方程,将样品的A值代入方程式,计算出样品实际浓度。

1.4 统计学分析 用SPSS17.0软件进行统计分析,根据标准曲线计算各组患者血清中S100A6浓度,按均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,与对照组浓度均值行 $t$ 检验,并绘制散点图行曲线回归分析,回归系数显著性检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 卵巢癌、卵巢良性肿瘤患者及正常人群S100A6血清浓度统计分析 结果显示卵巢癌与良性卵巢肿瘤以及正常对照组相比,S100A6血清浓度显著升高( $367 \pm 33.54$  ng/ml vs  $94.28 \pm 21.79$  ng/ml,  $87.76 \pm 17.32$  ng/ml),差异具有统计学意义( $t = 2.66, P = 0.008$ )。

2.2 卵巢癌患者S100A6血清浓度与临床病理因素的关系 见表1。统计分析卵巢上皮性癌患者S100A6血清浓度与临床病理因素的关系,结果显示S100A6血清平均浓度与病理类型无关( $P > 0.05$ )。中晚期(III+IV期)卵巢癌患者S100A6血清浓度显著高于早期(I+II期)卵巢癌患者( $t = 4.68, P < 0.001$ )。高分化和中分化的卵巢癌患者S100A6血清浓度差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。但低分化的卵巢癌患者S100A6血清浓度显著升高,与高分化和中分化相比,差异有统计学意义( $t = 2.49, P < 0.05$ )。出现淋巴结转移的卵巢癌患者中S100A6血清浓度显著高于淋巴结无转移的卵巢癌患者,差异具有统计学意义( $t = 4.02, P < 0.01$ )。

表1 卵巢癌患者不同手术分期的S100A6血清平均浓度( $\bar{x} \pm s$ )

类别	S100A6血清平均浓度(ng/ml)	$t$ 值	$P$ 值
病理类型	浆液性	$258.72 \pm 73.32$	1.8 0.505
	非浆液性	$221.38 \pm 88.76$	
FIGO分期	I+II	$243.76 \pm 27.82$	4.68 <0.001
	III+IV	$387.47 \pm 54.66^{\#}$	
细胞学分级	高分化	$189.35 \pm 37.28$	2.49 0.016
	中分化	$211.63 \pm 45.62$	
	低分化	$285 \pm 52.59^*$	
淋巴结转移	阴性	$146.03 \pm 37.61$	4.02 0.008
	阳性	$265.96 \pm 35.23^{**}$	

注: $^{\#}$  I+II vs III+IV; \* 低分化 vs 中分化、高分化; \*\* 淋巴结转移阴性 vs 阳性。

3 讨论 S100蛋白家族是钙离子结合蛋白中最大的亚类,是一类具有共同的EF双螺旋结构氨基酸序列的多功能信号蛋白,能通过钙离子信号转导途径在细胞周期调控、细胞增殖分化、细胞黏附和运动、酶激活、基因表达及细胞凋亡中发挥重要作用<sup>[12]</sup>。S100A6是S100蛋白家族的一员,近年来,随着研究的深入,S100A6在肿瘤发生发展及侵袭转移等方面发挥的作用越来越受到重视。研究发现S100A6在胰腺癌、肺癌、乳腺癌、肝癌、结直肠癌等多种类型的恶性肿瘤中均出现高表达<sup>[2~8]</sup>。还有证据表明S100A6高表达与胰腺癌、骨肉瘤、胃癌、肺腺癌、黑色素瘤等多种恶性肿瘤的不良预后相关<sup>[3,10~12]</sup>。Luu等<sup>[14]</sup>报道在骨肉瘤细胞中S100A6表达上调可提高肿瘤细胞的黏附能力,抑制细胞的迁移和不依赖支持物生长。S100A6的表达与黑色素瘤细胞的转移能力呈正相关,并与患者存活时间呈负相关<sup>[15]</sup>。在鳞状细胞癌中S100A6与MMP9表达水平相关,提示S100A6参与肿瘤细胞侵袭转移的调控<sup>[9]</sup>。(下转27页)

(上接 23 页)我们前期的研究表明 S100A6 在卵巢上皮性癌组织标本中呈高表达,且 S100A6 siRNA 转染卵巢癌细胞 A2780 后,引起了该细胞 G0/G1 期阻滞,侵袭能力降低<sup>[16]</sup>,与已有的研究一致。有学者提出 S100A6 能否成为监测肿瘤病情发展和预测预后的分子肿瘤标志物呢? 随即有学者对于这一问题进行了可行性分析,裸鼠移植瘤模型中, S100A6 的血清浓度与荷瘤量正相关<sup>[4]</sup>。我们的结果提示, S100A6 的血清浓度在卵巢癌患者中显著升高,并与手术分期和细胞学分级相关,提示 S100A6 的血清浓度与卵巢癌病情发展相关。但本研究由于时间有限,病例样本量较小, S100A6 能否成为监测肿瘤病情发展的分子标志物还需要进一步大样本研究验证。

#### 参考文献:

- [1] Zhu L, Kohda F, Nakahara T, et al. Aberrant expression of S100A6 and matrix metalloproteinase 9, but not S100A2, S100A4, and S100A7, is associated with epidermal carcinogenesis[J]. Journal of Dermatological Science, 2013, 72(3): 311-319.
- [2] Guo ZH, Zhang J, Liang Y, et al. Analyzing S100A6 expression in endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration specimens: a promising diagnostic method of pancreatic cancer[J]. Journal of Clinical Gastroenterology, 2013, 47(1): 69-75.
- [3] Wang XH, Zhang LH, Zhong XY, et al. S100A6 over-expression is associated with poor prognosis and is epigenetically up-regulated in gastric cancer[J]. American Journal of Pathology, 2010, 177(2): 586-597.
- [4] Wei BR, Hoover SB, Ross MM, et al. Serum S100A6 concentration predicts peritoneal tumor burden in mice with epithelial ovarian cancer and is associated with advanced stage in patients[J]. PLoS One, 2009, 4(10): e7670.
- [5] 黄海力, 吴本俨, 朱旭东, 等. 胃癌及其转移灶中 S100A6 基因的表达[J]. 中华肿瘤杂志, 2008, 30(7): 506-510.  
Huang HL, Wu BY, Zhu XD, et al. Expression of S100A6 in primary and metastatic human gastric cancer[J]. Chinese Journal Oncology, 2008, 30(7): 506-510.
- [6] De Petris L, Orre LM, Kanter L, et al. Tumor ex-

pression of S100A6 correlates with survival of patients with stage I non-small-cell lung cancer[J]. Lung Cancer, 2009, 63(3): 410-417.

- [7] McKiernan E, McDermott EW, Evoy D, et al. The role of S100 genes in breast cancer progression[J]. Tumour Biology, 2011, 32(3): 441-450.
- [8] Ito T, Yoshida H, Tomoda C, et al. Expression of S100A2 and S100A6 in thyroid carcinomas[J]. Histo-pathology, 2005, 46(5): 569-575.
- [9] Ishii A, Suzuki M, Satomi K. Increased cytoplasmic S100A6 expression is associated with pulmonary adenocarcinoma progression[J]. Pathology International, 2009, 59(9): 623-630.
- [10] Luo X, Sharff KA, Chen J, et al. S100A6 expression and function in human osteosarcoma[J]. Clinical Orthopaedics and Related Research, 2008, 466(9): 2060-2070.
- [11] Vimalachandran D, Greenhalf W, Thompson C, et al. High nuclear S100A6 (Calcyclin) is significantly associated with poor survival in pancreatic cancer patients[J]. Cancer Research, 2005, 65(8): 3218-3225.
- [12] Salama I, Malone PS, Mihaimeed F, et al. A review of the S100 proteins in cancer[J]. European Journal of Surgical Oncology, 2008, 34(4): 357-364.
- [14] Luu HH, Zhou L, Haydon RC, et al. Increased expression of S100A6 is associated with decreased metastasis and inhibition of cell migration and anchorage independent growth in human osteosarcoma[J]. Cancer Letters, 2005, 229(1): 135-148.
- [15] Maelandsmo GM, Florenes VA, Mellingsaeter T, et al. Differential expression patterns of S100A2, S100A4 and S100A6 during progression of human malignant melanoma[J]. Int J Cancer, 1997, 74(4): 464-469.
- [16] 郑福利, 张颖, 赵亚宁, 等. S100A6 siRNA 对卵巢癌细胞生物学行为的影响[J]. 中国妇幼保健研究, 2014, 25(1): 48-51.  
Zheng FL, Zhang Y, Zhao YN, et al. Influence of S100A6 siRNA on biological features of human ovarian cancer cell[J]. Chinese Journal of Woman and Child Health Research, 2014, 25(1): 48-51.

收稿日期: 2015-07-21

修回日期: 2015-07-28