

DOI: 10.16872/j.cnki.1671-4652.2021.06.013

引文格式: 韩云, 黄梦卉, 薛莉莉, 等. WT1 和 SPRY2 在上皮性卵巢癌中的作用研究 [J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2021, 42(6): 81-86.

WT1 和 SPRY2 在上皮性卵巢癌中的作用研究

韩云, 黄梦卉, 薛莉莉, 韩煜雯, 陈霞, 杨美玲, 陈晶晶, 鲁晓燕*, 郑艳莉*

(南通大学第二附属医院/南通市第一人民医院妇产科, 江苏南通 226001)

摘要: 为探讨肾母细胞瘤(WT1)基因和信号通路特异性抑制蛋白(SPRY2)在上皮性卵巢癌(EOC)中的临床意义, 通过 qRT-PCR 和 Western blot 检测 WT1 与 SPRY2 的表达, 分析两者与 EOC 患者临床病理特征及复发的关系; 分析两者之间的相关性; 通过体外细胞试验初探两者在 EOC 细胞侵袭中的作用机制。结果表明: EOC 原发灶中 WT1 呈高表达, SPRY2 呈低表达, 两者与临床 FIGO 分期、病理分级及复发率密切相关; 与原发灶相比, EOC 转移灶中 WT1 表达水平进一步升高, SPRY2 表达水平进一步降低; 原发灶和转移灶中 WT1 与 SPRY2 的表达均呈负相关; WT1 敲减后 EOC 细胞株 SKOV3 细胞的侵袭能力减弱, SPRY2 表达明显上调, ERK1/2 磷酸化明显受到抑制。WT1 和 SPRY2 表达与 EOC 发生发展密切相关, 可作为 EOC 恶性程度及不良预后的评价指标, WT1 可能通过下调 SPRY2 进而调控 ERK1/2 信号通路促进 EOC 细胞的侵袭转移。

关键词: 上皮性卵巢癌; WT1; SPRY2; ERK1/2 信号通路; 复发

中图分类号: R 737.31

文献标志码: A

文章编号: 1671-4652(2021)06-0081-06

The study on the role of WT1 and SPRY2 in epithelial ovarian cancer

HAN Yun, HUANG Menghui, XUE Lili, HAN Yuwen, CHEN Xia, YANG Meiling,
CHEN Jingjing, LU Xiaoyan, ZHENG Yanli

(Department of Obstetrics and Gynecology, the First People's Hospital of Nantong City/
the Second Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, China)

ABSTRACT: To investigate the expression and clinical significance of WT1 and SPRY2 in epithelial ovarian cancer (EOC), qRT-PCR and Western blot were used to examine the expression of WT1 and SPRY2, analyze their relationships with clinicopathological characteristics and recurrence of EOC patients, and explore the correlation between WT1 and SPRY2. Moreover, the underlying mechanisms of WT1 and SPRY2 in EOC were verified. The expression of WT1 was up-regulated, but the expression of SPRY2 was down-regulated in EOC primary tumor tissues, which were both closely associated with clinical FIGO stage, pathology grade and recurrence rate. Compared with primary tumor tissues, the expression of WT1 was further higher and the level of SPRY2 was further lower in metastatic tumor tissues. The expression of WT1 was negatively correlated with SPRY2 in both primary and metastatic tumor tissues. In cultured cells models, WT1 depletion significantly suppressed SKOV3 cell invasion, promoted SPRY2 expression and inhibited ERK1/2 phosphorylation. The expressions of WT1 and SPRY2 were closely related with the process of EOC, which may act as indicators for the degree of malignancy and poor prognosis of EOC. WT1 may promote the invasion and metastasis of EOC cells by reducing SPRY2 expression and activating ERK1/2 signaling.

KEY WORDS: epithelial ovarian cancer; WT1; SPRY2; ERK1/2 signaling pathway; recurrence

卵巢癌发病率在女性生殖道恶性肿瘤中位居第 3, 但致死率高居首位^[1], 其组织病理类型以上皮性卵巢癌(EOC)为主, 占 85%~90%。目前, 临床上虽在改善 EOC 的有效治疗方面做了很大的努力, 但远期疗效仍不理想, 治疗后高复发和易转移仍是妇产领域亟待解决的难题^[2]。

收稿日期: 2021-04-21

基金项目: 江苏省妇幼健康科研项目(F201836); 江苏省科教强卫青年医学人才项目(QNRC2016414); 南通市科技局面上项目(MS12019004、MS22020004)

作者简介: 韩云(1984—), 女, 江苏南通人, 南通市第一人民医院副主任医师、博士, 主要从事妇科肿瘤学研究。

* 通信作者, 鲁晓燕, 南通市第一人民医院主任医师, 主要从事妇科肿瘤学及妇科内分泌学研究; E-mail: lxy200710@163.com。
郑艳莉, 南通市第一人民医院主任医师、副教授、硕导, 主要从事妇科肿瘤学研究; E-mail: gaoshan1189@sina.com。

肾母细胞瘤(WT1)基因被证实可通过多种途径促进肿瘤的发生发展^[3],在卵巢癌的浸润转移中发挥重要作用^[4-5]。目前,国际上有多项以 WT1 为靶点的恶性肿瘤主动特异性免疫治疗项目进入临床转化研究阶段^[6]。WT1 作为当前肿瘤免疫治疗的研究热点^[7],有望成为治疗上皮性卵巢癌(EOC)的新靶点^[8]。

WT1 具有功能多样性,在恶性肿瘤中的调控是一个复杂的过程。ChIP-DSL 启动子芯片分析结果显示^[9],WT1 参与多种信号通路相关基因的转录调控,其中主要包括 MAPK/ERK 信号通路相关基因、AKT 等凋亡及细胞周期调控相关基因等。SPRY2 作为信号通路特异性抑制蛋白(SPRY)家族的成员之一,可通过负反馈抑制 MAPK/ERK 信号通路,进而调控细胞增殖、迁移及侵袭^[10-11],与 EOC 的肿瘤恶性行为密切相关^[12]。然而,目前关于 WT1 和 SPRY2 在 EOC 中的相互作用以及两者与 EOC 关系的研究少见。本研究通过检测 WT1 和 SPRY2 的表达,分析两者与 EOC 患者的临床分期、病理分级及复发的关系,并分析两者在 EOC 原发灶及转移灶中的表达差异以及两者之间的相关性,通过体外细胞试验初步探讨 WT1 和 SPRY2 在 EOC 细胞侵袭中的作用机制,为 EOC 的临床治疗提供新的研发思路。

1 材料与方法

1.1 研究对象

本研究经南通市第一人民医院医学伦理委员会批准,选择 2011 年 1 月至 2018 年 1 月本院妇科手术、临床病例资料详实的 EOC 患者 43 例。所有患者均知情同意,均首选手术治疗,术前无放疗、化疗史,术中留取 43 例 EOC 原发灶癌组织及其癌旁卵巢组织,并留取 32 例 EOC 转移灶的癌组织,术后病理检查证实为原发性 EOC,并按 FIGO 病理分期及 WHO 肿瘤分类标准进行手术分期和病理分级,术后行规范化化疗,均未应用聚腺苷酸二磷酸核糖基聚合酶(PARPi)抑制剂和贝伐株单抗维持,所有研究对象均随访至 2020 年 6 月。

1.2 卵巢癌复发的诊断标准

按照中华医学会妇产科学分会妇科肿瘤学组^[13]制订的复发性卵巢恶性肿瘤的标准,符合以下 1 项即可考虑为肿瘤复发:① 肿瘤标志物升高;② 身体检查发现肿块;③ 影像学检查发现肿块;④ 出现胸腹水;⑤ 发生不明原因肠梗阻。

1.3 主要试剂与仪器

总 RNA 提取试剂 TRIzol (南京诺唯赞生物科技公司),高性能 RNA-to-cDNA 试剂盒(美国 Applied Biosystems 公司),SYBR green PCR master mix、辣根过氧化物酶标记二抗、ECL 化学发光超敏显色液(上海翊圣生物公司),兔抗人 WT1 抗体、兔抗人 SPRY2 抗体(英国 Abcam 公司),兔抗人 p-ERK1/2 抗体(Thr202/204)、兔抗人 ERK1/2 抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司),鼠抗人 GAPDH 抗体(美国 Santa Cruz Biotechnology 公司),BCA 法蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术公司),梯度 PCR 仪(美国 ABI 公司),StepOnePlus PCR 仪(美国 ABI 公司),酶标仪(美国 BioTek 公司),数码化学发光成像系统(上海天能科技公司),shRNA 质粒 LV3-GFP-WT1 和 LV3-shNC 质粒(上海吉凯基因医学科技公司)。

1.4 实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)

按照 TRIzol 试剂盒提取组织中的总 RNA,按高性能 RNA-to-cDNA 试剂盒说明书操作将 RNA 反转录为 cDNA,然后以 cDNA 为模板,采用 SYBR green PCR master mix 在 StepOnePlus PCR 仪上进行 RT-PCR。引物序列:WT1 引物为 5'-GAGAGCCAGCCCGCTATTC-3' (F)、5'-CATGGGATCCTCATGCTTG-3' (R),SPRY2 引物为 5'-GCGATCACGGAGTTCAG-3' (F)、5'-GTGGAGTCTCTCGTGT-3' (R),GAPDH 引物为 5'-ACCCATCACCATCTTCCAGGAG-3' (F)、5'-GAAGGGGCGGAGATGATGAC-3' (R)。反应条件:95 °C 10 min;95 °C 15 s,60 °C 1 min,共 40 个循环。以 GAPDH 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 WT1 和 SPRY2 的 mRNA 相对表达量。

1.5 Western blot 检测

采用 RIPA 裂解液和蛋白酶抑制剂提取组织和细胞蛋白质,用 BCA 法检测蛋白质浓度,取 100 g 组织,10%聚丙烯酰胺凝胶电泳后转 NC 膜,室温下 5%脱脂奶粉封闭孵育 2 h 后加入一抗:WT1 抗体(1:500)(ab89901,英国 Abcam 公司)、SPRY2 抗体(1:500)(ab180527,英国 Abcam 公司)、p-ERK1/2 抗体(Thr202/204,1:1 000)(4370,美国 CST 公司),ERK1/2 抗体(1:1 000)(4695,美国 CST 公司),GAPDH 抗体(1:1 000)(sc-47724,美国 Santa Cruz Biotechnology 公司),4 °C 封闭过

夜, TBST 洗 3 次, 加入 HRP 标记二抗 (1:2 000), 室温孵育 2 h, TBST 洗涤 3 次, 增强化学荧光发光法显影、曝光, 使用 Image J 图像分析软件计算分析。

1.6 细胞培养及 WT1 敲减稳定细胞株构建

EOC 细胞株 SKOV3 及 293T 细胞分别在 37 °C、5% CO₂ 含 10% FBS、100 U · mL⁻¹ 青霉素及 100 μg · mL⁻¹ 链霉素的 RPMI-1640 培养基、高糖 DMEM 培养基中培养。通过磷酸钙沉淀方式在 293T 细胞中重组慢病毒。采用 Lipofectamine 2000 (美国 Invitrogen 公司) 在 SKOV3 细胞中将 WT1 敲减的 shRNA 慢病毒表达载体 [LV3(H1/GFP&Puro)-WT1-homo, 靶序列为 GCTTACCCAGGCT GCAATAAG] 和空载的 shRNA 慢病毒表达载体 (LV3-shNC) 进行转染, 分别构建 WT1 敲减稳定细胞株 (WT1 敲减组) 和阴性对照组细胞株 (对照组)。

1.7 Transwell 试验

细胞加入放置 transwell 小室的 24 孔板中, 上层小室加入无血清培养基, 下层加入含 10% FBS 的培养基, 孵育 48 h 后取出, 4% 多聚甲醛固定, 0.1% 结晶紫染色, 倒置显微镜下拍照。

1.8 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件数据分析, GraphPad Prism 5 软件作图。计量资料两组间比较采用 *t* 检验, 计数资料采用率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 相关性分析采用 Pearson 相关分析, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 WT1 和 SPRY2 在 EOC 原发灶中的表达

采用 qRT-PCR 和 Western blot 方法检测 43 例 EOC 患者原发灶癌组织和癌旁卵巢组织中 WT1 和 SPRY2 的表达情况, 结果如图 1 所示。与癌旁卵巢组织相比, EOC 原发灶癌组织中 WT1 的 mRNA 和蛋白质表达水平显著上调, 而 SPRY2 的表达水平则明显下降。这说明 WT1、SPRY2 均与 EOC 的发生密切相关。

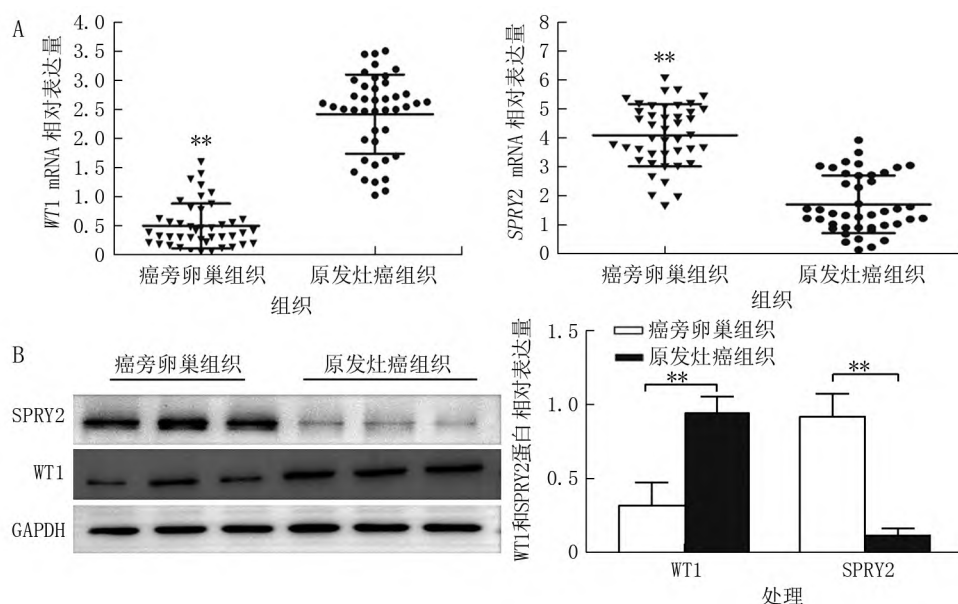


图1 WT1、SPRY2 在原发灶 EOC 癌组织中的表达

Fig. 1 The expression of WT1 and SPRY2 in primary tumor tissues of EOC

A. qRT-PCR 检测 EOC 原发灶癌组织及癌旁卵巢组织中 WT1 和 SPRY2 mRNA 表达, B. Western blot 检测 EOC 原发灶癌组织及癌旁卵巢组织中 WT1 和 SPRY2 蛋白表达, 右侧为统计图; GAPDH 为内参, ** $P < 0.01$

2.2 EOC 原发灶 WT1 和 SPRY2 的表达与临床病理特征及复发的关系

上述 43 例 EOC 原发灶癌组织中 WT1、SPRY2 的 mRNA 平均表达值分别为 2.42、1.71, 以此为界划分 WT1 mRNA 高表达、低表达患者及 SPRY2 mRNA 高表达、低表达患者, 分析原发灶癌组织中 WT1、SPRY2 表达与 EOC 患者临床病理特征及复发的关系, 结果见表 1。原发灶癌组织 WT1 及

SPRY2 的表达与 EOC 患者年龄无关。WT1 在晚期(Ⅲ—Ⅳ期) EOC 原发灶的 mRNA 表达水平明显高于早期(Ⅰ—Ⅱ期), SPRY2 的 mRNA 表达水平则在晚期 EOC 原发灶中明显下调;低分化 EOC 患者 WT1 的 mRNA 表达水平明显高于中高分化者, SPRY2 的表达水平随着病理分级的进展而降低; EOC Ⅲ、Ⅳ期患者复发率(75.0%,24/32)明显高于Ⅰ、Ⅱ期的复发率(18.2%,2/11) ($\chi^2=8.81, P=0.003$);原发灶 WT1 高表达的 EOC 复发率为 79.3% (23/29), WT1 低表达的复发率为 21.4% (3/14), 差异有统计学意义($\chi^2=13.23, P<0.001$);原发灶 SPRY2 低表达的 EOC 复发率为 81.5% (22/27), 明显高于 SPRY2 高表达的复发率(25.0%,4/16) ($\chi^2=13.41, P<0.001$)。这些数据表明, 原发灶 WT1 及 SPRY2 的表达与 EOC 患者的临床 FIGO 分期、病理分级及复发密切相关。

表 1 原发灶 WT1、SPRY2 的表达与 EOC 患者临床病理特征的关系*

Tab. 1 Relationship of WT1 and SPRY2 expression in primary lesions of EOC with clinicopathological factors

临床病理特征	例数(n)	WT1 表达				SPRY2 表达			
		低表达 (n=14)	高表达 (n=29)	χ^2	P	低表达 (n=27)	高表达 (n=16)	χ^2	P
年龄/岁				0.087	0.792			0.461	0.497
≤55	12	3 (25.0)	9 (75.0)			9 (75.0)	3 (25.0)		
>55	31	11 (35.5)	20 (64.5)			18 (58.1)	13 (41.9)		
FIGO 分期				4.739	0.029			6.069	0.014
Ⅰ—Ⅱ期	11	7 (63.6)	4 (36.4)			3 (27.3)	8 (72.7)		
Ⅲ—Ⅳ期	32	7 (21.9)	25 (78.1)			24 (75.0)	8 (25.0)		
病理分级				5.361	0.021			6.331	0.012
G1—G2	13	8 (61.5)	5 (38.5)			4 (30.8)	9 (69.2)		
G3	30	6 (20.0)	24 (80.0)			23 (76.7)	7 (23.3)		
复发情况				13.23	<0.001			13.41	<0.001
否	17	11 (64.7)	6 (35.3)			5 (29.4)	12 (70.6)		
是	26	3 (11.5)	23 (88.5)			22 (84.6)	4 (15.4)		

* 括号内数字为表达例数百分比(%)。

2.3 EOC 原发灶、转移灶中 WT1 和 SPRY2 表达的相关性

采用 Pearson 相关分析检测 43 例 EOC 原发灶 WT1 与 SPRY2 的 mRNA 表达水平的相关性,结果(图 2. A)显示, EOC 原发灶中 WT1 与 SPRY2 的表达呈显著负相关($r=0.428, P<0.001$);采用 qRT-PCR 检测 32 例 EOC 转移灶中 WT1 与 SPRY2 的表达水平,结果发现,与相应原发灶相比, EOC 转移灶 WT1 mRNA 表达水平进一步升高(图 2. B),而 SPRY2 的 mRNA 表达水平则进一步下降(图 2. C);再用 Pearson 相关分析发现, EOC 转移灶中 WT1 与 SPRY2 的表达亦呈显著负相关($r=0.572, P<0.001$)(图 2. D)。这说明 WT1 和 SPRY2 可能在 EOC 的侵袭转移中起重要的拮抗作用,为深入研究 WT1 在 EOC 中的分子作用机制奠定了基础。

2.4 EOC 细胞株 SKOV3 细胞中 WT1 和 SPRY2 表达的相关性分析

为探讨 WT1 在 EOC 细胞侵袭转移中发挥的作用,首先,选择 EOC 细胞株 SKOV3 细胞进行 WT1 敲减,通过 transwell 试验证实 WT1 沉默可明显减弱 SKOV3 细胞的侵袭能力(图 3. A)。接着,为验证 WT1 与 SPRY2 在 EOC 细胞中的相互作用, qRT-PCR 和 Western blot 检测 WT1 敲减后 SKOV3 细胞中 SPRY2 的表达变化。结果(图 3. B、C)显示, WT1 沉默后 SKOV3 细胞的 SPRY2 mRNA 和蛋白质表达水平均显著上调,并伴有明显的 ERK1/2 磷酸化下调。本研究从体外细胞水平发现 WT1-SPRY2-ERK1/2 可能在 EOC 细胞侵袭转移过程中发挥着重要的调控作用。

3 讨论

近年来, EOC 的治疗虽然不断取得进步,但 80% 以上的患者最终将因肿瘤复发或转移导致病情恶化^[14], 患者的 5 年生存率仍未得到明显提高^[15]。因此,临床上需要寻找新的或揭示已有癌基因或抑癌基因的功能,进一步揭示 EOC 侵袭转移的作用机制,为改善 EOC 预后提供新的潜在靶点和治疗策略。

肾母细胞瘤基因(WT1)位于人 11 号染色体短臂 1 区 3 带,所编码的锌指蛋白具有转录激活和抑制双重效应的转录因子。WT1 介导的转录调控在细胞增殖、凋亡、侵袭迁移等过程中发挥重要作用, WT1 高表达与多种实体肿瘤的恶性程度及不良预后密切相关,如白血病、乳腺癌、头颈部鳞状细胞癌及卵巢癌等^[3]。本研究结果表明, WT1 在 EOC 原发灶中的表达水平显著高于癌旁组织,且随着 EOC 患

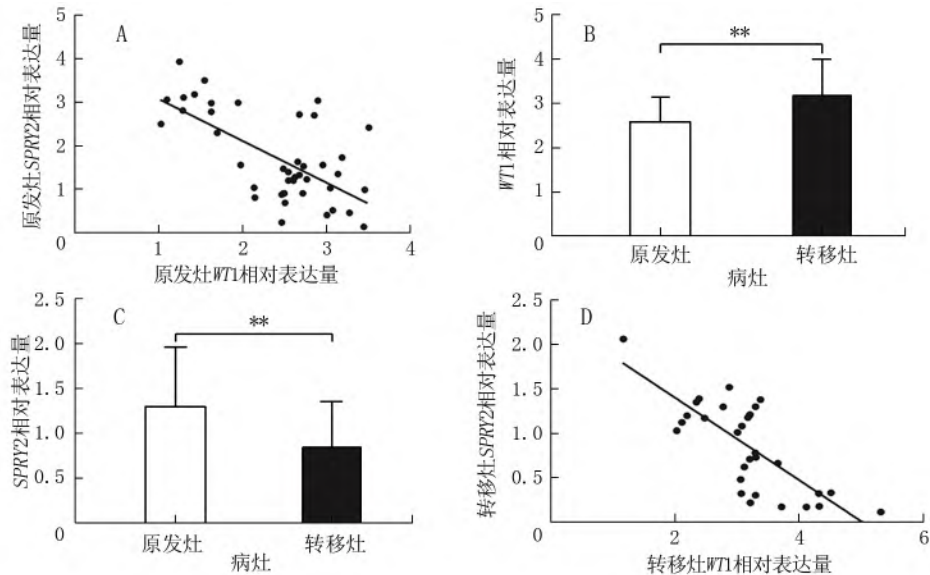


图2 EOC 癌组织中 WT1 与 SPRY2 mRNA 表达水平的相关性分析

Fig. 2 Correlation analysis of WT1 and SPRY2 mRNA expressions in EOC

A. 原发灶 EOC 癌组织中 WT1 与 SPRY2 mRNA 表达的相关性分析, B. WT1 在 EOC 原发灶及转移灶中的差异表达, C. SPRY2 在 EOC 原发灶及转移灶中的差异表达, D. 转移灶 EOC 癌组织中 WT1 与 SPRY2 mRNA 表达的相关性分析; ** $P < 0.01$

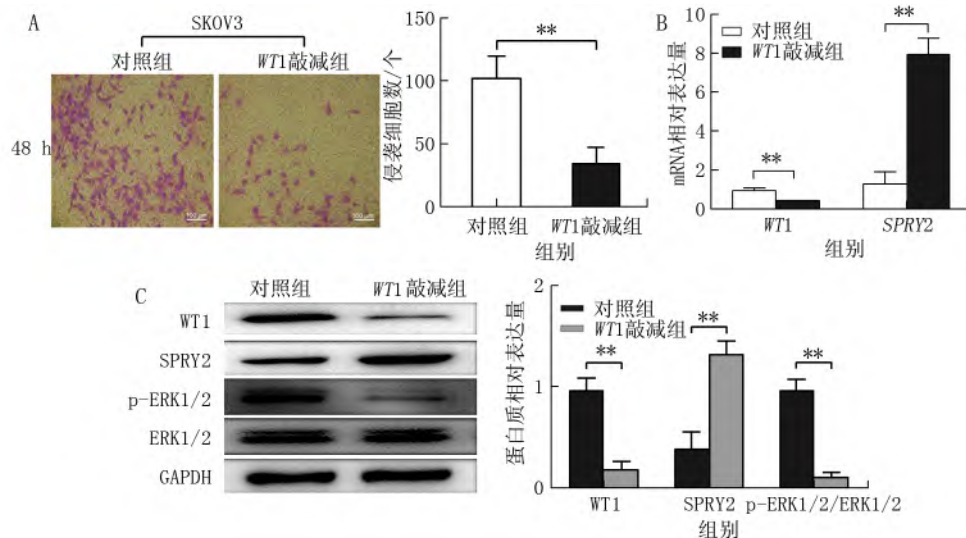


图3 WT1、SPRY2 在 EOC 细胞株 SKOV3 细胞侵袭中的作用研究

Fig. 3 The role of WT1 and SPRY2 in SKOV3 cell invasion

A. Transwell 细胞侵袭试验检测 WT1 敲减后 SKOV3 细胞侵袭能力变化, 右侧为统计图; B. WT1 敲减后 SKOV3 细胞 SPRY2 mRNA 表达水平变化; C. Western blot 检测 WT1 敲减后 SKOV3 细胞 SPRY2、p-ERK1/2 及 ERK1/2 的蛋白质表达情况, GAPDH 为内参, 右侧为统计图; ** $P < 0.01$

者的 FIGO 分期及病理分级的进展而升高, 这与既往 Yamamoto 等^[4] 研究结论一致, 提示 WT1 可促进 EOC 的发生发展。本研究结果还发现, WT1 在 EOC 转移灶中的 mRNA 表达水平显著高于原发灶, 提示 WT1 在 EOC 侵袭转移中发挥重要作用。此外, 鉴于 EOC 在治疗后具有高复发率^[16], 本研究还分析了 WT1 与 EOC 复发的关系, 发现原发灶 WT1 高表达的 EOC 患者的复发率显著高于 WT1 低表达者, 表明 WT1 与 EOC 复发密切相关, 临床上 WT1 可用于 EOC 复发预测, 有助于 EOC 分层治疗。

SPRY2 是一种能反向抑制信号通路的重要生物分子, 目前被视为抑制 MAPK/ERK 信号通路的抑癌基因^[17], 与肿瘤的发生、发展密切相关。研究^[18] 发现, SPRY2 在前列腺癌组织及高转移性前列腺癌细胞系细胞中表达均明显下调。Sutterluty 等^[19] 研究表明, SPRY2 可抑制非小细胞肺癌肿瘤细胞的高增殖及高转移恶性生物学行为。Masoumi-Moghaddam 等^[12] 研究发现 SPRY2 明显影响 EOC 的

肿瘤生物学行为,可作为 EOC 患者存活和复发的独立预测指标。本研究结果显示,SPRY2 在 EOC 转移灶中的 mRNA 表达水平显著低于原发灶,且两者均明显低于癌旁组织,提示 SPRY2 在 EOC 侵袭转移中发挥着重要的抑制作用。本研究结果还表明 EOC 原发灶 SPRY2 mRNA 表达水平与 EOC 患者的临床 FIGO 分期、病理分级及复发密切相关,从 mRNA 水平支持 Masoumi-Moghaddam 等^[12]研究结果,为 EOC 患者初始治疗前诊断及远期结局监测提供了重要指标。

WT1 作为一种参与转录调控的双相调节子,可与各种抑癌或致癌调控因子相互作用^[20]。为探讨 WT1 与 SPRY2 在 EOC 中的相关性,本研究首先从组织学水平检测并发现 EOC 原发灶及转移灶中 WT1 和 SPRY2 的表达均呈显著负相关;接着,从体外细胞学水平验证 WT1 敲减后 EOC 细胞株 SK-OV3 细胞的 SPRY2 mRNA 及蛋白质表达均明显上调,且 SKOV3 细胞的侵袭能力明显减弱,提示 WT1 可能通过调控 MAPK 信号通路相关基因 SPRY2 增强 EOC 细胞的侵袭能力。Masoumi-Moghaddam 等^[12]研究发现 EOC 癌组织中 SPRY2 与 p-ERK/ERK 的表达呈负相关。本研究亦从体外细胞试验探讨了 WT1、SPRY2 与 ERK 信号通路之间的关系,结果表明,WT1 沉默后可上调 SPRY2 表达,并明显抑制 ERK1/2 磷酸化,推测 WT1 可能直接参与 SPRY2 的转录调控,也可能通过与多种转录因子之间复杂的相互作用导致 SPRY2 在 EOC 中的表达下降,进而活化 ERK1/2 信号通路,促进 EOC 细胞的侵袭转移,具体有待体外细胞及动物模型试验进行深入探讨。

参考文献:

- [1] LHEUREUX S, GOURLEY C, VERGOTE I, et al. Epithelial ovarian cancer [J]. Lancet, 2019, 393(10177): 1240-1253.
- [2] AGARWAL R, KAYE S B. Ovarian cancer: Strategies for overcoming resistance to chemotherapy [J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(7): 502-516.
- [3] 齐晓伟, 姜 军. Wilms 瘤基因 1 与实体肿瘤发生、演进关系的研究进展 [J]. 中华外科杂志, 2013, 51(5): 461-463.
- [4] TAUBE E T, DENKERT C, SEHOULI J, et al. Wilms tumor protein 1 (WT1)-not only a diagnostic but also a prognostic marker in high-grade serous ovarian carcinoma [J]. Gynecol Oncol, 2016, 140(3): 494-502.
- [5] BARBOLINA M V, ADLEY B P, SHEA L D, et al. Wilms tumor gene protein 1 is associated with ovarian cancer metastasis and modulates cell invasion [J]. Cancer, 2008, 112(7): 1632-1641.
- [6] 陈虹宇, 刘春燕, 宋婷婷. 以 WT1 为靶点的恶性肿瘤主动特异性免疫治疗的临床转化研究进展 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(1): 68-72.
- [7] NAKATA J, ISOHASHI K, MORIMOTO S, et al. Enhanced immune reaction resulting from co-vaccination of WT1 helper peptide assessed on PET-CT [J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(39): e22417.
- [8] VERMEIJ R, DAEMEN T, DE BOCK G H, et al. Potential target antigens for a universal vaccine in epithelial ovarian cancer [J]. Clin Dev Immunol, 2010, 2010: 891505.
- [9] LI Y, WANG J Y, LI X Y, et al. Role of the Wilms' tumor 1 gene in the aberrant biological behavior of leukemic cells and the related mechanisms [J]. Oncol Rep, 2014, 32(6): 2680-2686.
- [10] FONG C W, CHUA M S, MCKIE A B, et al. Sprouty 2, an inhibitor of mitogen-activated protein kinase signaling, is down-regulated in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Res, 2006, 66(4): 2048-2058.
- [11] EDWIN F, ANDERSON K, YING C Y, et al. Intermolecular interactions of Sprouty proteins and their implications in development and disease [J]. Mol Pharmacol, 2009, 76(4): 679-691.
- [12] MASOUMI-MOGHADDAM S, AMINI A, WEI A Q, et al. Sprouty 2 protein, but not Sprouty 4, is an independent prognostic biomarker for human epithelial ovarian cancer [J]. Int J Cancer, 2015, 137(3): 560-570.
- [13] 中华医学会妇产科学分会妇科肿瘤学组. 复发性卵巢恶性肿瘤的诊治规范(建议) [J]. 中华妇产科杂志, 2003, 38(11): 717-719.
- [14] DAVIDSON B, REICH R, TROPE C G, et al. New determinates of disease progression and outcome in metastatic ovarian carcinoma [J]. Histol Histopathol, 2010, 25(12): 1591-1609.
- [15] 王 芳, 崔金全, 张海玲, 等. TUFT1 在卵巢上皮性癌组织中的表达及对卵巢上皮性癌 SKOV3 细胞生物学功能的影响 [J]. 中华妇产科杂志, 2020, 55(2): 125-129.
- [16] GUPTA S, NAG S, AGGARWAL S, et al. Maintenance therapy for recurrent epithelial ovarian cancer: Current therapies and future perspectives: A review [J]. J Ovarian Res, 2019, 12(1): 103.
- [17] MEI Y, BIAN C J, LI J, et al. miR-21 modulates the ERK-MAPK signaling pathway by regulating SPRY2 expression during human mesenchymal stem cell differentiation [J]. J Cell Biochem, 2013, 114(6): 1374-1384.
- [18] KWABI-ADDU B, WANG J H, ERDEM H, et al. The expression of Sprouty2, an inhibitor of fibroblast growth factor signal transduction, is decreased in human prostate cancer [J]. Cancer Res, 2004, 64(14): 4728-4735.
- [19] SUTTERLÜTY H, MAYER C E, SETINEK U, et al. Down-regulation of Sprouty2 in non-small cell lung cancer contributes to tumor malignancy via extracellular signal-regulated kinase pathway-dependent and -independent mechanisms [J]. Mol Cancer Res, 2007, 5(5): 509-520.
- [20] TOSKA E, ROBERTS S G E. Mechanisms of transcriptional regulation by WT1 (Wilms' tumour 1) [J]. Biochem J, 2014, 461(1): 15-32.

(责任编辑 徐 佳)