

## 瘦素及瘦素受体在妊娠期尖锐湿疣组织中的表达及意义

贾月琴<sup>1</sup> 姜 新<sup>1</sup> 石长珠<sup>1</sup> 朱应玉<sup>1</sup> 谢贞兰<sup>2</sup> 刘 莹<sup>2</sup>

( 铜陵市人民医院 1.皮肤性病科; 2.病理科,安徽 铜陵 244000)

**【摘要】**目的: 探讨瘦素( Ob) 及瘦素受体( Ob-R) 在妊娠期尖锐湿疣( CA) 组织中的表达及意义。方法: 采用免疫组化法分别检测 24 例非妊娠期 CA、16 例妊娠期 CA 组织中 Ob 及 Ob-R 表达。结果: Ob 及 Ob-R 表达于角质形成细胞胞质。Ob 及 Ob-R 在非妊娠期 CA 组患者组织中呈弱阳性、阳性表达, 表达于基底层、棘层和颗粒层; Ob 及 Ob-R 在妊娠期 CA 患者皮损组织中呈阳性、强阳性表达, 主要表达于基底层、棘层和颗粒层; 妊娠期 CA 组织中 Ob 及 Ob-R 表达量高于非妊娠期 CA 组, 差异有统计学意义(  $P < 0.01$ ); 妊娠期 CA 组皮损中 Ob 和 Ob-R 的表达呈正相关关系(  $r = 0.714, P < 0.01$  )。结论: ①非妊娠期 CA 与妊娠期 CA 组织的基底层、棘层和颗粒层均有不同程度的 Ob 及 Ob-R 表达, 可能与 CA 组织表皮细胞异常增殖过程有关; ② Ob 及 Ob-R 在妊娠期 CA 组织中过度表达, 可能促进了妊娠期 CA 组织表皮细胞的过度增殖。

**【关键词】**瘦素; 瘦素受体; 尖锐湿疣; 妊娠

**【中图分类号】**R 714.25; R 752.53 **【文献标识码】**A

**【DOI】**10.3969/j.issn.1002-0217.2016.05.019

## Expression and implications of leptin and leptin receptor in the epidermis of pregnant women with condyloma acuminatum

JIA Yueqin, JIANG Xin, SHI Changzhu, ZHU Yingyu, XIE Zhenlan, LIU Ying

Department of Dermatology & STD, Tongling People's Hospital, Tongling 244000, China

**【Abstract】Objective:** To investigate the expression and implications of leptin ( Ob) and leptin receptor ( Ob-R) in the epidermis of pregnant women with condyloma acuminatum ( CA). **Methods:** Immunohistochemical technique was used to detect the Ob and Ob-R in the genital condylomata in 24 non-pregnant women and 16 pregnant women, respectively. **Results:** Ob and Ob-R were primarily expressed in the cytoplasm of keratinocytes, and present in positive expression or weak expression in the basal cell layer, prickle cell layer and stratum granulosum of warts in the non-pregnant women, whereas positive or strong expression in the epidermic warts in pregnant women. Pregnant women had higher expression of Ob and Ob-R than their counterparts(  $P < 0.01$ ), and Ob expression was positively correlated with that of Ob-R in CA tissues in pregnant women(  $r = 0.714, P < 0.01$ ). **Conclusion:** Ob and Ob-R expressed to a certain extent in basal cell layer, prickle cell layer and stratum granulosum of warts in both pregnant and non-pregnant women suggests that the two proteins are associated with the abnormal proliferation in the epidermic cells of CA, and over-expression of Ob and Ob-R in pregnant women may be attributable to the excessive proliferation of the epidermic cells in CA during pregnancy.

**【Key words】** leptin; leptin receptor; condyloma Acuminatum; pregnancy

尖锐湿疣( condyloma acuminatum, CA) 是由人类乳头瘤病毒( HPV) 感染引起的一种良性增生性疾病, 主要发生在肛周及外生殖器皮肤与黏膜处, 其组织病理学的主要特征为表皮角质形成细胞过度增殖。临床上, 妊娠期 CA 与非妊娠期 CA 相比, 疣体生长迅速, 多点并发、治疗后极易复发。其发生机制尚未完全阐明。有研究表明, Ob 与其受体特异性结合, 可以作为促有丝分裂剂及非特异性促肿瘤生

长因子, 促进肿瘤细胞生长和增殖<sup>[1-3]</sup>。妊娠期 CA 虽属于良性增生, 但其皮损处表皮细胞过度、过快地增殖, 具有与实体恶性肿瘤极其相似的生物学特征。研究证实, 妊娠期体内多种生理、病理过程与孕妇体内 Ob 水平升高有关<sup>[4-5]</sup>。笔者通过检测、分析 Ob 和 Ob-R 在非妊娠期 CA 及妊娠期 CA 组织中的表达, 探讨其在妊娠期 CA 组织发展过程中的可能作用。

基金项目: 铜陵市临床医学实验室科技计划资助项目( 铜科[2015]40 号); 铜陵市卫计委科研立项项目( 铜卫科[2015]2 号)

收稿日期: 2016-03-01

作者简介: 贾月琴( 1975-), 女, 副主任医师, ( 电话) 13655623108, ( 电子信箱) jyq1976@163.com.

1 资料与方法

1.1 组织标本 收集我院皮肤性病科 2015 年 1 月~2016 年 1 月女性 CA 患者外阴及肛周皮损组织,均经组织病理学确诊。其中,非妊娠期 CA 组 24 例(年龄 18~42 岁;病程 2 周~3 月);妊娠期 CA 组 16 例(年龄 21~36 岁,病程 2 周~2 月,孕 8~20 周)。所有患者就诊前 4 周内未接受过任何治疗,入选患者均无肥胖症、高血压、糖尿病、乳腺癌等系统性疾病和肿瘤性疾病。每个标本经 10% 中性福尔马林固定液固定后常规制成蜡块,制成 5 μm 厚度 4 张,其中 1 张进行常规苏木素-伊红(HE)染色,2 张行免疫组化染色检测 Ob 和 Ob-R 表达,1 张 PBS 液代替一抗作阴性对照。

1.2 主要试剂 鼠抗人 Ob 单克隆抗体(sc-28344)、鼠抗人 Ob-R 单克隆抗体(sc-8391)购自美国 Santa Cruz Biotechnology 公司,PV-6000 免疫组化检测试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 免疫组化二步法检测各组组织中 Ob 和 Ob-R 表达 石蜡切片常规脱蜡至水化,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 去离子水室温孵育 5 min,以阻断内源性过氧化物酶,PBS 冲洗;滴加一抗 4℃ 过夜,PBS 洗涤 2 min×3 次;滴加酶标记的二抗 37℃ 孵育 20 min,PBS 洗涤 2 min×3 次;DAB 溶液显色,蒸馏水冲洗、复染、脱水、透明封片。用 PBS 液代替一抗作阴性对照,用已知阳性片作阳性对照。

1.4 结果判定 参照文献[6]的方法,免疫组化染色以包膜或胞质棕黄色着色为阳性细胞,根据阳性细胞染色强度和百分比确定 Ob、Ob-R 在各组组织中的半定量分级:①按细胞着色强度,无染色为 0 分(阴性),浅黄色为 1 分(弱阳性),黄色为 2 分(阳性),棕黄色为 3 分(强阳性);②按阳性细胞百分比,0 分为无阳性细胞,1 分为阳性细胞数<25%,2 分为阳性细胞数 25%~50%,3 分为阳性细胞数 51%~75%,4 分为阳性细胞数>75%。根据上述两项分值的乘积判定结果,0 分为阴性,1~4 分为弱阳性(+),6~8 分为阳性(++),9~12 分为强阳性(+++)。采用 Image J 图像分析软件,对染色阳性的切片进行半定量分析。在相同条件下对同一批染色切片进行图像采集,每张切片随机取 5 个高倍(×400)镜视野,测定每张图像的平均光密度值(average optical density, AOD),以每张切片 5 个视野平均光密度值的平均值作为该张切片测量值。

1.5 统计学处理 定量资料用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示;两组间比较采用两样本 t 检验;相关性采用直

线相关分析。P<0.05 认为差异有统计学意义。

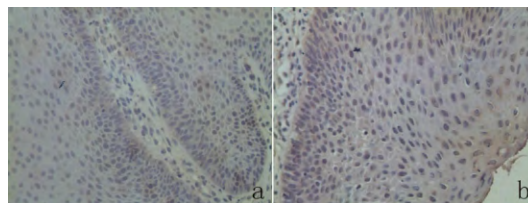
2 结果

2.1 一般临床资料的可比性分析 非妊娠期 CA 组与妊娠期 CA 组患者年龄、病程差异无统计学意义(P>0.05),具有可比性(表 1)。

表 1 两组间年龄、病程的比较

组别	例数	年龄/岁	病程/周
非妊娠期 CA 组	24	28.58±5.85	28.67±17.08
妊娠期 CA 组	16	26.88±3.88	27.50±12.48
t 值		1.025	0.234
P 值		>0.05	>0.05

2.2 Ob 的表达 Ob 表达于角质形成细胞的胞质,呈棕黄色颗粒。Ob 在非妊娠期 CA 组织中呈弱阳性表达,表达于基底层、棘层和颗粒层(图 1a)。在妊娠期 CA 组织中呈阳性、强阳性表达,主要表达于基底层、棘层和颗粒层(图 1b)。图像分析显示 AOD 值在非妊娠期 CA 组、妊娠期 CA 组分别为 0.211±0.019 和 0.272±0.014。统计学分析显示:非妊娠期 CA 组与妊娠期 CA 组患者 Ob 表达量差异具有统计学意义(t=<10.795, P<0.01)。

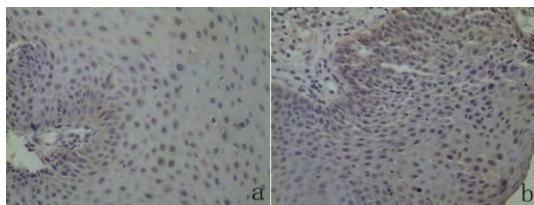


a: Ob 在非妊娠期 CA 组织中的弱阳性表达; b: Ob 在妊娠期 CA 组织中的阳性表达。

图 1 不同时期 CA 组织中 Ob 的表达(PV-6000×400)

2.3 Ob-R 的表达 Ob-R 表达于角质形成细胞的胞浆,呈棕黄色颗粒。Ob-R 在非妊娠期 CA 组织中呈弱阳性表达,表达于基底层、棘层和颗粒层(图 2a)。在妊娠期 CA 组织中呈阳性表达,主要表达于基底层、棘层和颗粒层(图 2b)。图像分析显示 AOD 值在非妊娠期 CA 组、妊娠期 CA 组分别为 0.220±0.018 和 0.301±0.021。统计学分析显示:非妊娠期 CA 组与妊娠期 CA 组之间 Ob-R 表达量差异有统计学意义(t=<13.086, P<0.01)。

2.4 妊娠期 CA 组患者皮损中 Ob 和 Ob-R 表达的相关性分析 直线相关分析显示妊娠期 CA 组患者皮损中 Ob 和 Ob-R 的表达呈正相关(r=0.714, P<0.01)。



a: Ob-R 在非妊娠期 CA 组织中的弱阳性表达; b: Ob-R 在妊娠期 CA 组织中的强阳性表达。

图 2 不同时期 CA 组织中 Ob-R 的表达( PV-6000×400)

### 3 讨论

妊娠并发 CA 是皮肤科医生面临的较为棘手的问题,疣体生长迅速,采用冷冻、微波或二氧化碳激光等物理治疗后,疣体极易复发。研究认为可能与以下因素有关:①妊娠期机体细胞免疫功能下调,削弱了机体的抗病毒能力,可能促进了 HPV 病毒的复制;②妊娠期体内内分泌状态及激素水平的变化,可能是妊娠期 CA 组织过快增殖的重要原因之一。但其确切的机制尚未完全阐明。

Ob 是一种由肥胖基因编码、由脂肪细胞分泌的多肽类激素,含 167 个氨基酸,通过与 Ob-R 特异性结合发挥多种生物学功能,如调节摄食、能量代谢,生长,促进细胞增殖、血管生成,参与肿瘤形成等<sup>[7]</sup>。研究证实,Ob 及 Ob-R 参与了口腔鳞状细胞癌、乳腺癌、食管癌、子宫内膜癌等多种恶性肿瘤的发生与发展<sup>[8-11]</sup>。

本研究结果显示,①Ob 及 Ob-R 在非妊娠期 CA 组患者皮损组织中呈弱阳性表达,表达于基底层、棘层和颗粒层;②Ob 及 Ob-R 在妊娠期 CA 患者皮损组织中呈阳性、强阳性表达,表达于基底层、棘层和颗粒层;③两组 Ob 及 Ob-R 表达量差异有统计学意义(妊娠期 CA 组 Ob 及 Ob-R 表达量高于非妊娠期 CA 组);④Ob 与 Ob-R 在两组组织中的表达位置、表达量及表达趋势相一致。据此,笔者推测,①非妊娠期 CA 与妊娠期 CA 组织基底层、棘层和颗粒层内存在的 Ob 及 Ob-R,可能与 CA 组织表皮细胞异常增殖有关;②Ob 及 Ob-R 在妊娠期 CA 组织表皮细胞中过度表达,可能促进了妊娠期 CA 疣体处表皮细胞过快、过度增殖。究其原因,应与孕妇增加的脂肪组织及胎盘的旁分泌或内分泌产生大量 Ob 有关<sup>[4]</sup>。

目前研究认为,Ob 与 Ob-R 特异性结合后主要通过 Janus 激酶/信号传导及转录活化子( janus kinase/signal transducers and activators of transcription, JAK/STAT) 途径发挥促细胞增殖作用<sup>[12]</sup>。Ob-R 本身无酪氨酸激酶活性,当 Ob 与其结合后,可活化

JAK 激酶,使受体胞内域的酪氨酸残基磷酸化,Ob-R 与蛋白酪氨酸磷酸酶相互作用后,使 STAT 分子的酪氨酸被磷酸化,磷酸化的 STAT 分子可形成同源或者异源二聚体,后者被易位释放到细胞后,与相应靶基因启动子结合而激活相应基因转录与表达,并最终启动细胞增殖过程<sup>[12]</sup>。

综上所述,笔者认为妊娠期 CA 疣体的过快、过度增殖可能与 Ob 及 Ob-R 在表皮细胞内的过度表达有关,但其具体作用机制尚有待于进一步研究。

### 【参考文献】

- [1] HUSSAIN SR, NAQVI H, GUPTA S, *et al.* A study on oncogenic role of leptin and leptin receptor in oral squamous cell [J]. *Tumour Biol* 2015, 36( 8) : 6515-6523.
- [2] GIORDANO C, CHEMI F, PANZA S, *et al.* Leptin as a mediator of tumor-stromal interactions promotes breast cancer stem cell activity [J]. *Oncotarget* 2015, 7( 2) : 1262-1275.
- [3] HABIB CN, AL-ABD AM, TOLBA MF, *et al.* Leptin influences estrogen metabolism and accelerates prostate cell proliferation [J]. *Life Sci* 2015, 121( 1) : 10-15.
- [4] 蒋荣珍, 陈汉平. 瘦素与妊娠的研究进展 [J]. *中国优生与遗传杂志* 2003, 11( 1) : 5-7.
- [5] ICIEK R, WENDER-OZEGOWSKA E, ZAWIEJSKA A, *et al.* Placental leptin and its receptor genes expression in pregnancies complicated by type 1 diabetes [J]. *J Physiol Pharmacol* 2013, 64( 5) : 579-585.
- [6] 王建琴, 莫友, 吴伟棋, 等. 尖锐湿疣患者皮损 Toll 样受体 4、9 和 C 型凝集素受体的表达 [J]. *中华皮肤科杂志* 2011, 44( 5) : 318-321.
- [7] YANG WH, CHEN JC, HSU KH, *et al.* Leptin increases VEGF expression and enhances angiogenesis in human chondrosarcoma cells [J]. *Biochim Biophys Acta* 2014, 1840( 12) : 3483-3493.
- [8] RODRIGUES PR, MAIA LL, SANTOS M, *et al.* Leptin receptor expression and Gln223Arg polymorphism as prognostic markers in oral and oropharyngeal cancer [J]. *Genet Mol Res* 2015, 14( 4) : 14979-14988.
- [9] BLANQUER-ROSSELLÓ MDEL M, OLIVER J, SASTRE-SERRA J, *et al.* Leptin regulates energy metabolism in MCF-7 breast cancer cells [J]. *Int J Biochem Cell Biol* 2016, 72: 18-26.
- [10] HOWARD JM, CATHCART MC, HEALY L, *et al.* Leptin and adiponectin receptor expression in oesophageal cancer [J]. *Br J Surg* 2014, 101( 6) : 643-652.
- [11] ZHOU X, LI H, CHAI Y, *et al.* Leptin Inhibits the Apoptosis of Endometrial Carcinoma Cells Through Activation of the Nuclear Factor  $\kappa$ B-inducing Kinase/I $\kappa$ B Kinase Pathway [J]. *Int J Gynecol Cancer* 2015, 25( 5) : 770-778.
- [12] GAO J, TIAN J, LV Y, *et al.* Leptin induces functional activation of cyclooxygenase-2 through JAK2/STAT3, MAPK/ERK, and PI3K/AKT pathways in human endometrial cancer cells [J]. *Cancer Sci* 2009, 100( 3) : 389-395.