

网络出版时间: 2016-10-19 13:54:51 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20161019.1354.017.html>

## Wnt3a 和 TCF4 在人卵巢癌中的表达及临床意义

戴 膜<sup>1,2</sup> 沈国栋<sup>1,2</sup> 程 民<sup>1,2</sup> 徐婷娟<sup>1,2</sup> 翁海燕<sup>3</sup> 胡世莲<sup>1,2</sup> 沈 干<sup>1,2</sup>

**摘要** 目的 探讨 Wnt 信号通路中关键蛋白 Wnt3a 和 TCF4 在卵巢癌中的表达水平以及临床意义。方法 ELISA 法检测 10 例卵巢癌患者手术前后和 10 例健康对照者血浆 Wnt3a 浓度, Western blot、qRT-PCR 法检测卵巢癌患者与卵巢良性病变者的卵巢组织 Wnt3a、TCF4 水平。采用 Western blot 法检测卵巢癌细胞株 SKOV3 与 HO8910 中 TCF4 的表达, 采用 dnTCF4 质粒转染技术获得 TCF4 表达下降的 SK-OV3/dnTCF4 细胞, 使用细胞划痕实验比较卵巢癌细胞转移能力。结果 卵巢癌患者血浆 Wnt3a 水平高于健康对照者 ( $P < 0.05$ ), 且术后血浆 Wnt3a 水平低于术前 ( $P < 0.05$ ); 卵巢癌组织中 Wnt3a、TCF4 水平高于卵巢良性病变者 ( $P < 0.05$ ); SKOV3 的 TCF4 表达量高于 HO8910 且转移潜能也明显高于后者 ( $P < 0.05$ ); 将 SKOV3 的 TCF4 敲低, 其转移能力明显减弱 ( $P < 0.05$ )。结论 Wnt 信号通路参与卵巢癌的发生发展, Wnt3a 和 TCF4 有可能成为监测卵巢癌进展的临床指标之一。

2016-07-28 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金面上项目(编号: 1408085MH167);

安徽省科技攻关项目(编号: 1301042094)

作者单位: 安徽医科大学附属省立医院<sup>1</sup> 老年病科,<sup>2</sup> 肿瘤免疫与营养治疗安徽省重点实验室,<sup>3</sup> 病理科, 合肥 230001

作者简介: 戴 膜, 女, 硕士研究生;

沈 干, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: shenganustc@163.com

**关键词** 卵巢癌; Wnt3a; TCF4; 转移

**中图分类号** R 737.31

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2016)12-1794-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2016.12.017

卵巢恶性肿瘤是当前病死率最高的妇科肿瘤之一<sup>[1]</sup>, 约 90% 为上皮性, 即卵巢癌。近年来卵巢恶性肿瘤发病率呈上升趋势, 2015 年全球统计结果表明每年约有 24 万新发病例, 15 万死亡病例, 病死率可高达 63%<sup>[2]</sup>。卵巢深居盆腔, 起病比较隐匿, 超过 70% 的卵巢恶性肿瘤患者早期缺乏明显的临床表现和有效的诊断技术, 确诊时已是晚期<sup>[3]</sup>, 这是导致高死亡率的一个主要原因。Wnt 信号通路在卵巢组织的胚胎发育和卵巢细胞增殖、分化及恶性转化过程中起着重要作用<sup>[4-5]</sup>, 已成为当前研究的热点。经典 Wnt 信号通路的主要组成为 Wnt 分泌蛋白、跨膜受体卷曲蛋白( Frizzled)、松散蛋白( disheveled)、 $\beta$ -catenin(  $\beta$ -连环蛋白)、糖元合成激酶 3 $\beta$ ( CSK3 $\beta$ )、结肠腺瘤性息肉蛋白( APC)、轴蛋白( axin scaffolding protein)、T-细胞因子( TCF)、酪蛋白激酶 1( CK1) 等<sup>[6]</sup>。当 Wnt 信号分子与细胞膜上特异性受体 Frizzled 蛋白结合后, Wnt 信号通路被激活, 使  $\beta$ -catenin 不能被降解复合物磷酸化, 以便在胞质

apy in osteoporosis treatment. **Methods** Primary osteoblasts were cultured and randomly separated into four groups: control group, group ICA II, mixed group( ICA II + SB203580) and group SB203580 ( p38 signaling pathway inhibitor). ALP activity levels were detected by pNPP method. The protein levels of p38MAPK, p-p38MAPK and OPG were measured by Western blot. The expression of OPG mRNAs was detected by RT-PCR. **Results** Group ICA II showed a significant increase in the level of ALP activity ( $P < 0.01$ ), compared to the control group. ALP activity showed a decrease in the mixed group, compared to group ICA II ( $P < 0.05$ ). p-p38MAPK level in group ICA II was remarkably higher than that of the control group ( $P < 0.01$ ). The p-p38MAPK level was significantly decreased in the mixed group ( $P < 0.01$ ). Among all of the groups, the total p38MAPK protein level kept unchanged. The level of OPG in group ICA II was remarkably higher than that of the control group ( $P < 0.01$ ). The mixed group showed a decrease in the expression of OPG, compared to group ICA II ( $P < 0.01$ ). The gene expression level of OPG was significantly upregulated in group ICA II compared to the control group ( $P < 0.01$ ). In the mixed group, the expression of OPG mRNA showed a decrease ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** ICA II can stimulate the differentiation of osteoblasts, and promote the expression of OPG in osteoblasts. The process may be related to p38MAPK signaling pathway.

**Key words** Icariside II; osteoblasts; osteoprotegerin; p38MAPK; osteoporosis

内得以稳定存在。而后积累并转入核内,与核转录因子 TCF/LEF 结合并促进特定靶基因的激活并表达,导致细胞异常增殖和迁移,从而参与肿瘤的发生<sup>[7-8]</sup>。该实验主要检测 Wnt 信号通路中两个关键蛋白 Wnt3a 和 TCF4 的表达,为了解卵巢癌的发病机制和临床治疗提供实验证据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料和试剂** 收集 2015 年 4 月~2015 年 10 月经安徽医科大学附属省立医院病理科确诊的 10 例卵巢癌患者手术前后(术前未接受放化疗)及 10 名健康对照者的血常规标本,离心后取上清液于 -80 °C 保存。人卵巢癌细胞株 SKOV3 由中国医学科学院肿瘤研究所赠予,人卵巢癌细胞株 HO8910 购自中国科学院上海细胞库。人 Wnt3a ELISA 检测试剂盒购自美国 Cloud-Clone Corp 公司; 兔抗人 TCF4 单克隆抗体、小鼠抗人  $\beta$ -actin 单克隆抗体、HRP 标记的山羊抗小鼠/兔 IgG 购自美国 Cell Signalling Technology 公司; 逆转录试剂盒与转染试剂 Lipofectamine 2000 购自美国 Life Technologies 公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 ELISA 法检测血浆 Wnt3a 含量** 操作按照检测试剂盒说明书,设 3 个复孔,每孔加入 100  $\mu$ l 标准品及待测样本,37 °C 温育 2 h; 弃去孔内液体,每孔加入 100  $\mu$ l 检测试剂 A,37 °C 温育 1 h; 弃去孔内液体并洗板 3 次,每孔加入 100  $\mu$ l 检测试剂 B,37 °C 温育 30 min; 弃去孔内液体并洗板 5 次,每孔加入 90  $\mu$ l 底物溶液,37 °C 显色 15~25 min; 每孔加入 50  $\mu$ l 终止溶液,立即用酶标仪在 450 nm 波长测量各孔光密度(optical density,OD)值,最后做标准曲线并计算样本中 Wnt3a 含量。

**1.2.2 细胞培养** 人卵巢癌细胞株 SKOV3、HO8910 用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基于 37 °C、5%  $\text{CO}_2$ 、饱和湿度条件下常规培养,取对数生长期细胞进行实验。

### 1.2.3 Western blot 法检测细胞和组织 TCF4 含量

裂解细胞和研磨过的组织并提取总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,并将同一批样本稀释成相同浓度和体积。加入上样缓冲液,100 °C 煮沸 10 min 后在 SDS-PAGE 凝胶中进行电泳分离,利用 Marker 进行位置标记。湿转法将蛋白从凝胶中转至 PVDF 膜上,5% BSA 室温封闭 1 h,加入小鼠抗人  $\beta$ -actin 抗体工作液(1:1 000)或兔抗人 TCF4 抗体工作液(1:1 000),4 °C 过夜。次日,充分洗膜后加入 HRP

标记的山羊抗小鼠/兔 IgG 工作液(1:1 000)室温孵育 1 h。滴加显影液,使用化学发光成像仪成像并用 Chemi Analysis 分析软件对蛋白电泳条带灰度值进行定量分析。蛋白相对定量=目的蛋白灰度值/同标本  $\beta$ -actin 内参灰度值。每项实验重复 3 次。

### 1.2.4 qRT-PCR 法检测组织 Wnt3a 和 TCF4 含量

① 提取 mRNA: 称取适量组织,放入盛有液氮的研磨器中研磨至粉末,加入 1 ml TRIzol 试剂继续研磨至粉红色,转移至无 RNA 酶的 EP 管中,室温放置 5 min。加入 0.2 ml 的氯仿剧烈摇晃 15 s,室温放置 2 min 后 4 °C、12 000 r/min 离心 15 min。将最上层的 mRNA 转移至新 EP 管中,加入 0.5 ml 异丙醇后室温静置 10 min,再 4 °C、12 000 r/min 离心 10 min。去上清液,加入 1 ml 75% 乙醇洗涤 RNA 沉淀。4 °C、7 500 r/min 离心 5 min 后去上清液,置空气中 5~10 min。用分光光度计测定 mRNA 的浓度。② 逆转录: 使用 High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit,具体步骤见说明书。③ qRT-PCR: 将上下游引物、MasterMix、样品和 Nuclease-free 水加入到相应的八联管中混匀后放入 PCR 仪中按设定程序进行: 95 °C 变性 10 min,之后 95 °C 变性 15 s,60 °C 退火/延伸 60 s,共 35 个循环。引物序列:  $\beta$ -actin F: 5'-TTGCCGACAGGATGCAGAA-3', R: 5'-GC-CGATCCACACGGAGTACTT-3'; TCF4 F: 5'-AAA-CAGGAATCGTCCCAGAGTG-3', R: 5'-CTCAGC-TACGACCTTGCTCTCA-3'。

**1.2.5 质粒稳定转染** 提前 1 d 在 6 孔板中接种适量密度的 SKOV3 细胞(约  $2 \times 10^5$ /ml),待细胞生长面积达 50%~80% 时即可用于转染。配制溶液 1: 240  $\mu$ l 无血清培养基 + 10  $\mu$ l Lipofectamine 2000,室温孵育 5 min; 溶液 2: 250  $\mu$ l 无血清培养基 + 2  $\mu$ g 表达 dominant negative TCF4(dnTCF4) 质粒,室温孵育 5 min; 将溶液 1 与溶液 2 混合,室温下放置 20 min; 将 6 孔板中的细胞用无血清培养基冲洗细胞 2 遍后,加入 2 ml 无血清培养基; 将溶液 1 与溶液 2 的混合液逐滴加入孔中,摇动培养板,轻轻混匀; 置于 37 °C、5%  $\text{CO}_2$  细胞培养箱中保温 4~6 h; 更换含有血清的全培养基,置于 37 °C、5%  $\text{CO}_2$  细胞培养箱中培养 24 h。将 6 孔板中转染的细胞用 0.25% 的胰酶消化成单细胞悬液,按照每孔 1 个细胞比例稀释后加入 96 孔板,并加入适量嘌呤霉素进行筛选,最终获得低表达 TCF4 的 SKOV3/dnTCF4 细胞。

### 1.2.6 细胞划痕实验

将卵巢癌细胞 SKOV3 和 HO8910 分别接种到培养皿中,待细胞贴壁并长至

培养皿的 80% 满度, 用 200  $\mu$ l 枪头尖端划出痕迹, 同时保证轨道宽度直且保持一致, 用无菌 PBS 清洗 2 遍, 以清除划痕所致脱落细胞, 重新加入新鲜无血清培养基, 分别于 0、10 h 在显微镜下拍照, 观察划痕愈合情况并测量宽度。每项实验重复 3 次。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 22.0 软件进行分析。卵巢癌患者手术前后血浆 Wnt3a 水平比较采用配对样本 *t* 检验, 卵巢癌患者和健康对照者血浆 Wnt3a 水平、蛋白相对定量值和细胞划痕实验迁移长度比较采用独立样本 *t* 检验。

## 2 结果

**2.1 卵巢癌患者手术前后和健康对照者血浆 Wnt3a 水平** 实验显示卵巢癌患者血浆 Wnt3a 水平比健康对照者高( $t = -5.899, P < 0.05$ ), 提示卵巢癌患者中可能存在 Wnt 信号通路的激活; 且卵巢癌患者术后 Wnt3a 水平比术前降低( $t = 5.354, P < 0.05$ ), 说明手术可以明显降低患者血浆 Wnt3a 的水平。见图 1。

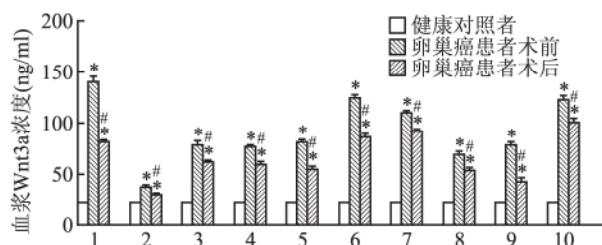


图 1 ELISA 法检测卵巢癌患者手术前后

和健康对照者血浆 Wnt3a 水平

与健康对照者比较: \* $P < 0.05$ ; 与卵巢癌患者术前比较: # $P < 0.05$

**2.2 卵巢癌组织 Wnt3a 和 TCF4 表达** 卵巢癌组织 Wnt3a 的 mRNA 量高于非卵巢癌患者( $t = 5.434, P < 0.05$ ), 卵巢癌组织 TCF4 的 mRNA 量及蛋白量高于非卵巢癌患者( $t = 6.263, 10.989, P < 0.05$ )。提示卵巢癌中存在 Wnt 信号通路的慢性活化。见图 2。

**2.3 卵巢癌细胞株 SKOV3 与 HO8910 的 TCF4 水平和转移能力的比较** 为了探讨 TCF4 对细胞运动性的影响, 通过细胞划痕实验检测这两种细胞的转移能力, 结果显示 SKOV3 的 TCF4 水平高于 HO8910( $t = 48.362, P < 0.05$ ), 且转移能力也更强( $t = 6.935, P < 0.05$ ), 差异均有统计学意义。见图 3。

**2.4 敲低卵巢癌细胞株 SKOV3 的 TCF4 检测转移能力变化** 采用基因敲低技术获得低表达 TCF4

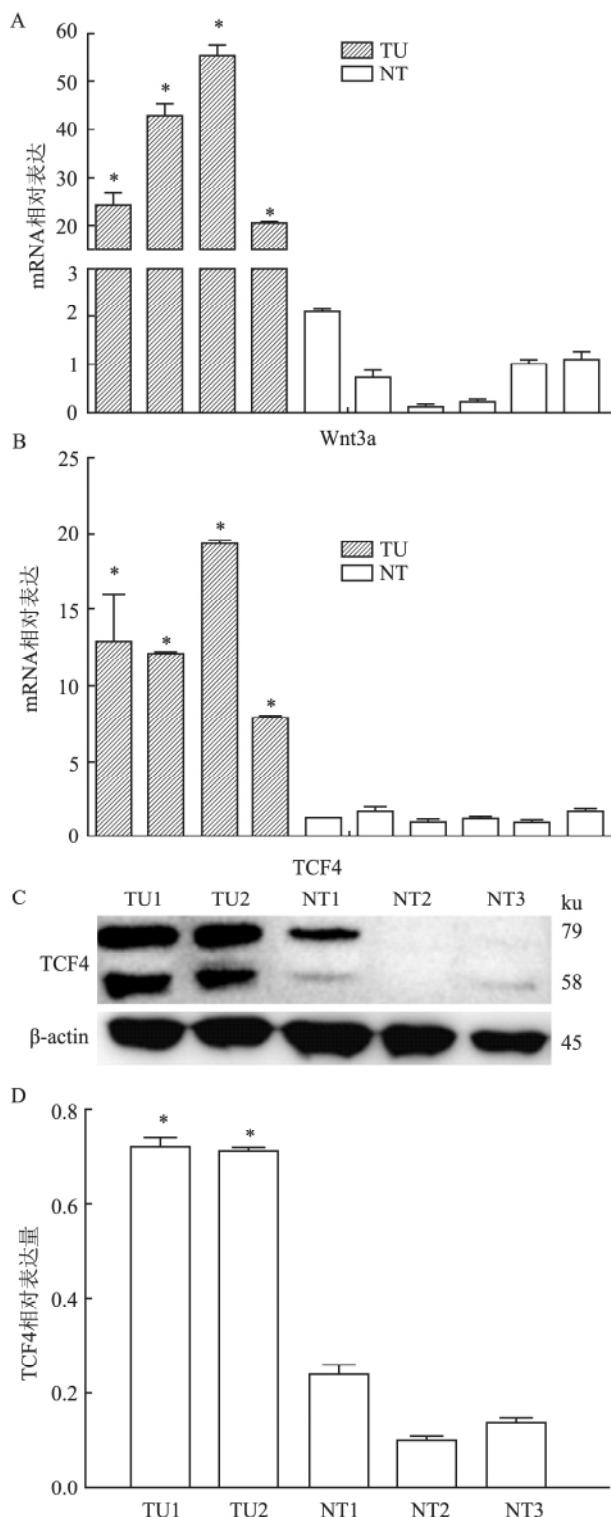


图 2 RT-PCR、Western blot 法检测卵巢与  
卵巢良性病变组织 Wnt3a、TCF4 的表达

TU: 卵巢癌组织; NT: 卵巢良性病变组织; TU1: 1 号肿瘤组织; TU2: 2 号肿瘤组织; NT1、NT2、NT3 分别代表 1 号、2 号、3 号卵巢良性病变组织; A: 卵巢癌组织与卵巢良性病变组织的 Wnt3a mRNA 均值比较: \* $P < 0.05$ ; B: 卵巢癌组织与卵巢良性病变组织的 TCF4 mRNA 均值比较: \* $P < 0.05$ ; C、D: 卵巢癌组织与卵巢良性病变组织 TCF4 蛋白量的均值比较: \* $P < 0.05$

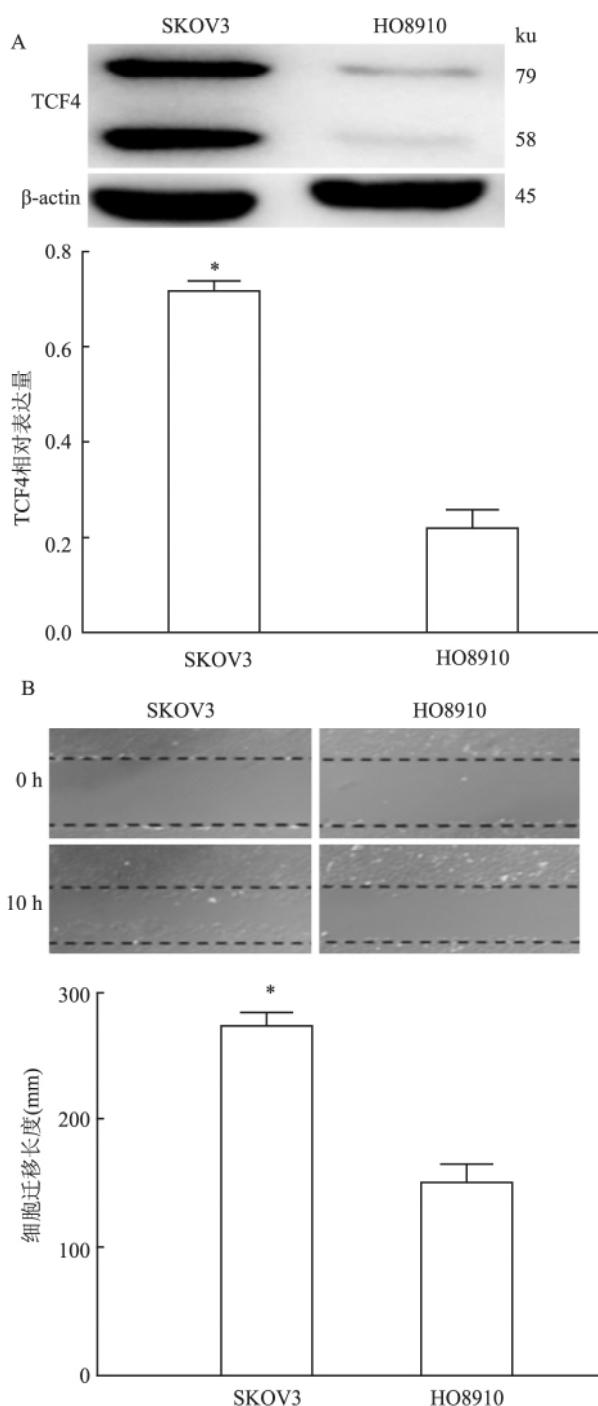


图3 Western blot法、划痕实验( $\times 100$ )检测卵巢癌细胞株SKOV3、HO8910中TCF4的表达及其转移性

A: Western blot法检测SKOV3与HO8910的TCF4蛋白表达; B: 划痕实验检测SKOV3与HO8910的转移性; 与HO8910比较: \*  $P < 0.05$

的SKOV3/dnTCF4细胞, Western blot验证敲低成功( $t = 82.114, P < 0.05$ )后进行细胞划痕实验, 实验显示将TCF4敲低后其转移能力明显减弱, 差异有统计学意义( $t = 10.336, P < 0.05$ )。见图4。

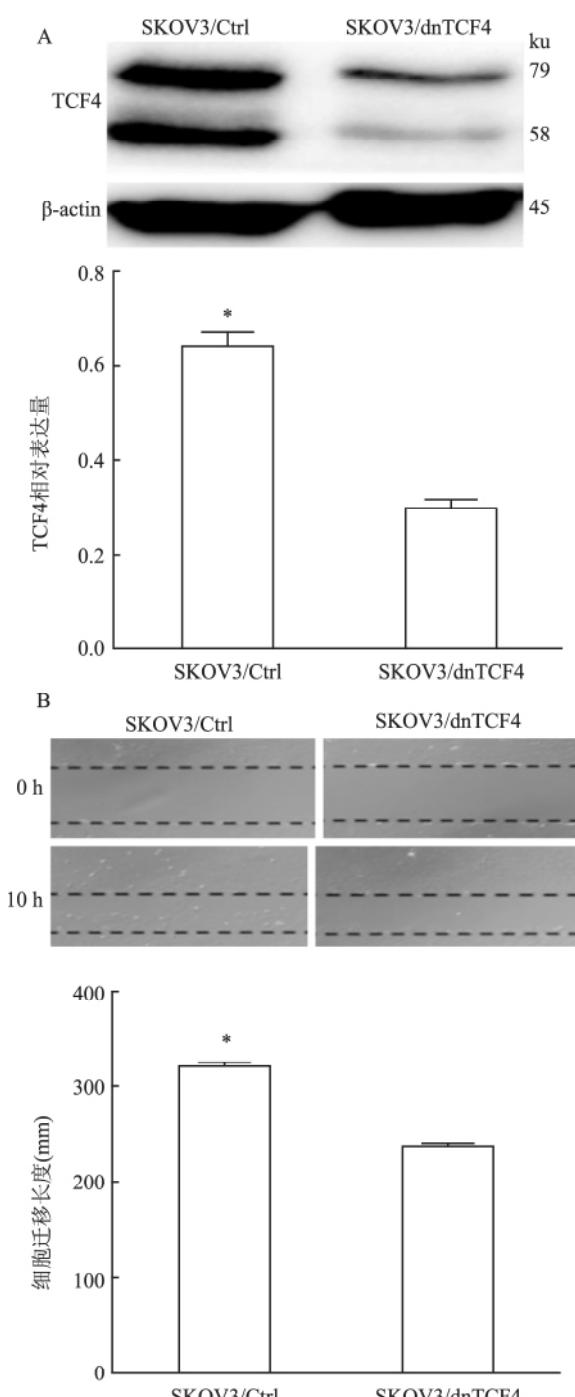


图4 Western blot法、划痕实验( $\times 100$ )检测SKOV3/dnTCF4细胞敲低成功后转移能力变化

A: Western blot法验证SKOV3/dnTCF4细胞的TCF4是否被成功敲低; B: 划痕实验检测成功敲低TCF4的SKOV3/dnTCF4细胞转移能力; 与SKOV3/dnTCF4比较: \*  $P < 0.05$

### 3 讨论

卵巢癌的死亡率居妇科肿瘤之首, 目前临上一般采用手术切除联合化疗作为卵巢癌的一般治疗方法<sup>[9]</sup>。然而卵巢癌对放化疗的敏感性比较差, 易

发生化疗耐药及复发,而且能够进行根治性手术治疗的患者比例较低,因此卵巢癌患者总体预后较差,成为危害广大妇女生命健康的隐形杀手<sup>[10-11]</sup>。卵巢癌的发病机制研究进展缓慢,使得卵巢癌预防和诊疗水平的提高受到了限制。

研究<sup>[12]</sup>表明Wnt3a相对Wnt家族其他成员,可能在启动Wnt信号通路的活化过程中起到了更为主要的作用,并且其表达与肿瘤转移及较差的预后相关。TCF4是Wnt通路中关键的下游因子之一,发挥重要的转录调节作用<sup>[13]</sup>。TCF4的转录活性是维持细胞恶性表型所必需的,其是下游靶基因开启转录的先决条件,成为Wnt信号通路的分子开关<sup>[14]</sup>。其活化可能是Wnt经典途径在卵巢癌发生发展过程中的中心环节。为了探索Wnt信号通路中Wnt3a和TCF4在卵巢癌发生发展中的作用,本实验首先采用ELISA法检测了卵巢癌患者和健康对照者血浆Wnt3a水平,结果表明卵巢癌患者血浆Wnt3a水平高于健康对照者,且手术可明显降低患者血浆Wnt3a水平。然后采用Western blot、RT-PCR法检测卵巢癌患者和卵巢良性病变者TCF4表达水平,结果提示卵巢癌组织TCF4水平高于良性病变者。上述结果均有统计学意义,提示卵巢癌患者中可能存在Wnt信号通路的慢性活化。研究表明:TCF4在卵巢交界性囊腺瘤和卵巢癌中表达高于良性囊腺瘤,在低分化及Ⅲ+Ⅳ期卵巢癌中改变更明显。本研究结果与之一致。本研究采用Western blot法检测卵巢癌细胞株SKOV3和HO8910的TCF4表达,并用细胞划痕实验比较两者的转移能力,结果提示TCF4表达高的SKOV3细胞转移的快。采用基因敲低技术获得低表达TCF4的SK-OV3/dnTCF4细胞,并用Western blot法验证是否敲低成功。最后用细胞划痕实验比较TCF4敲低前后转移能力的变化,结果表明将TCF4敲低其转移能力也下降,结果进一步提示TCF4可能促进卵巢癌的转移。汪彩霞等<sup>[16]</sup>的研究间接地提示TCF4可能与卵巢癌转移有关,该研究采用Wnt/β-catenin信号通路的特异性抑制剂XAV939来处理卵巢癌细胞,应用XAV939处理卵巢癌细胞后,Wnt1、β-catenin和TCF4表达下降,且发现XAV939能够抑制卵巢癌细胞的侵袭和迁移能力。

综上所述,Wnt信号通路参与卵巢癌的发生发展,且TCF4可能促进卵巢癌的转移,提示TCF4可能成为卵巢癌恶性程度与预后评估的分子标志物。Wnt3a、TCF4可能成为临床抑制卵巢癌发生发展以

及转移新的靶点,可以深入研究Wnt信号通路,针对性地设计药物以抑制肿瘤的恶化与转移,以期成为治疗卵巢癌和提高生存率很有希望的手段。

## 参考文献

- [1] Sarafraz-Yazdi E, Gorelick C, Wagreich A R, et al. *Ex vivo* efficacy of anti-cancer drug PNC-27 in the treatment of patient-derived epithelial ovarian cancer[J]. *Ann Clin Lab Sci* 2015, 45(6): 650-8.
- [2] Torre L A, Bray F, Siegel R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin* 2015, 65(2): 87-108.
- [3] Dong X, Men X, Zhang W, et al. Advances in tumor markers of ovarian cancer for early diagnosis[J]. *Indian J Cancer*, 2014, 51 Suppl 3: e72-6.
- [4] Gatcliffe T A, Monk B J, Planutis K, et al. Wnt signaling in ovarian tumorigenesis[J]. *Int J Cancer* 2008, 18(5): 954-62.
- [5] Henry C, Llamosas E, Knipprath-Meszaros A, et al. Targeting the ROR1 and ROR2 receptors in epithelial ovarian cancer inhibits cell migration and invasion[J]. *Oncotarget* 2015, 6(37): 40310-26.
- [6] Polak P. The many ways of Wnt in cancer[J]. *Curr Opin Genet Dev* 2007, 17(1): 45-51.
- [7] Knöfler M, Pollheimer J. Human placental trophoblast invasion and differentiation: a particular focus on Wnt signaling[J]. *Front Genet* 2013, 4: 190.
- [8] Vidya Priyadarshini R, Senthil Murugan R, Nagini S. Aberrant activation of Wnt/β-catenin signaling pathway contributes to the sequential progression of DMBA-induced HBP carcinomas[J]. *Oral Oncol* 2011, 48(1): 33-9.
- [9] Spiliotis J, Halkia E, Lianos E, et al. Cytoreductive surgery and HIPEC in recurrent epithelial ovarian cancer: a prospective randomized phase III study[J]. *Ann Surg Oncol* 2015, 22(5): 1570-5.
- [10] 沈国栋,王弦,吴强,等.染料木素抑制HER2阳性人乳腺癌与卵巢癌细胞增殖作用的研究[J].中国临床保健杂志,2012,15(5):517-20.
- [11] Bacalbasa N, Balescu I, Dima S, et al. Ovarian sarcoma carries a poorer prognosis than ovarian epithelial cancer throughout all FIGO stages: a single-center case-control matched study[J]. *Anticancer Res* 2014, 34(12): 7303-8.
- [12] 宫文华,杨堃,赵文君,等. Wnt3、Wnt3a在胃癌组织中的表达及意义[J].世界华人消化杂志,2013,21(7):624-8.
- [13] Fang L, Zhu Q, Neuenschwander M, et al. A small-molecule antagonist of the β-catenin/TCF4 interaction blocks the self-renewal of cancer stem cells and suppresses tumorigenesis[J]. *Cancer Res* 2015, 76(4): 891-901.
- [14] Ou Y, Jing G, Liu J, et al. T cell factor 4, beta-catenin and SFRP1 expression of Wnt signaling pathway in colorectal carcinoma and the prognosis[J]. *J Biom Eng* 2015, 32(4): 854-61.
- [15] 赵婷婷,沈国栋,胡卫平.卵巢良恶性肿瘤中TCF4和E-cad-

(下转第1803页)

ter sacrifice of the rats, and HOMA-IR was calculated. Oil red O staining was used to observe pathological changes in livers. **Results** The diameters: FPG, TG, FINS, HOMA-IR, serum MDA, the SOD and GSH-Px in both serum and liver homogenates of ND group and ST group were of no statistical significance, and the levels of TG and MDA in the liver homogenates of ST group were higher than ND group ( $P < 0.05$ ). The rats liver fatty degeneration in the ST group were more severe than those in the ND group. Compared with the OB group, the levels of FPG, TG, FINS, HOMA-IR and serum levels of MDA and TG in ST group decreased while the levels of SOD and GSH-Px in the serum and liver increased with a statistical significance ( $P < 0.05$ ). Meanwhile, the rats liver fatty degeneration in the ST group was less severe than those in the OB group. **Conclusion** Sitagliptin intervention can improve glucose and lipid metabolism, meantime, weaken oxidative stress and lower liver steatosis, suggesting that sitagliptin may act as potential therapeutic agent for non-alcoholic fatty liver.

**Key words** insulin resistance; oxidative stress; fatty liver; sitagliptin; obesity

(上接第 1798 页)

herin 的表达及临床意义 [J]. 现代肿瘤医学, 2016(1): 123-6.

[16] 汪彩霞, 陈说, 赵杨. XAV939 对卵巢癌细胞侵袭迁移的影响及 Wnt/β-catenin 信号的抑制作用 [J]. 武警医学, 2016, 27(2): 170-4.

## Expression and clinical significance of Wnt3a and TCF4 in human ovarian cancer

Dai Meng<sup>1,2</sup>, Shen Guodong<sup>1,2</sup>, Cheng Min<sup>1,2</sup>, et al

(<sup>1</sup>Dept of Geriatrics, <sup>2</sup>Anhui Provincial Key Laboratory of Tumor Immunotherapy and Nutrition Therapy, Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001)

**Abstract** **Objective** To investigate the expression levels and clinical significance of Wnt3a and TCF4 belonging to Wnt signaling pathway in ovarian cancer. **Methods** ELISA was used to detect plasma Wnt3a concentration in 10 ovarian cancer patients before and after surgery and 10 healthy controls. Western blot and qRT-PCR were used to detect Wnt3a and TCF4 levels in ovarian cancers and benign ovarian lesions. The expression of TCF4 in ovarian cancer cell lines SKOV3 and HO8910 was detected by Western blot method. Dominant negative TCF4 (dnTCF4) plasmid was stably transfected to obtain TCF4 knockdown cell line SKOV3/dnTCF4. Wound healing assay method was used to compare the metastasis of ovarian cancer cell lines. **Results** Plasma Wnt3a levels in ovarian cancer patients were averagely higher than those in healthy controls ( $P < 0.05$ ). The Wnt3a levels after surgery were lower than those before surgery for the ovarian cancer patients ( $P < 0.05$ ). The Wnt3a and TCF4 expressions in ovarian cancer tissues were higher than those in benign ovarian lesions ( $P < 0.05$ ). TCF4 expression in SKOV3 with high metastatic potential was higher than that in HO8910 with low metastatic potential ( $P < 0.05$ ). TCF4 knockdown in SKOV3/dnTCF4 resulted in a significantly reduced metastasis ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Wnt signaling pathway is involved in the development of ovarian cancer, and Wnt3a and TCF4 may become useful clinical indicators for monitoring the progress of ovarian cancer.

**Key words** ovarian cancer; Wnt3a; TCF4; tumor metastasis