

文章编号 1006-8147(2019)03-0260-04

论著

MTA1 和 XIAP 的表达与前列腺癌转移及预后的关系

赵朋¹, 卢炳新¹, 白铁男², 马成泉¹

(1.天津市南开医院泌尿外科,天津 300100;2.天津医科大学第二医院泌尿外科,天津 300211)

摘要 目的:探讨 MTA1 和 XIAP 蛋白表达与前列腺癌临床病理特征和预后的关系。方法:应用免疫组化技术检测 53 例前列腺癌(PCa)和 20 例前列腺增生(BPH)组织中 MTA1 和 XIAP 蛋白表达,并结合肿瘤的病理学行为和临床随访资料进行分析。结果:在 PCa 组织中 MTA1 和 XIAP 阳性表达率分别为 81.1%、75.5%,均显著高于 BPH 组织($P<0.05$)。MTA1 和 XIAP 表达与肿瘤分化程度、周围淋巴结转移、远处转移、预后密切相关($P<0.05$)。MTA1 和 XIAP 蛋白表达呈显著正相关($r=0.369, P=0.004$)。结论:MTA1 和 XIAP 蛋白表达与 PCa 发生、转移和患者生存期密切相关,联合检测可以对 PCa 的发生、发展、预后及药物治疗提供重要依据。

关键词 前列腺肿瘤;癌;基因;MTA1;XIAP;免疫组织化学

中图分类号 R737.25

文献标志码 A

Expressions of MTA1 and XIAP protein in prostate carcinoma and its relationship with metastasis and prognosis

ZHAO Peng¹, LU BING-Xin¹, BAI Tie-nan², MA Cheng-quan¹

(1. Department of Urology, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China; 2. Department of Urology, The Second Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China)

Abstract Objective: To investigate the expressions of MTA1 and XIAP protein in prostate carcinoma and its relationship with metastasis and prognosis. **Methods:** Immunohistochemical staining was used to detect the expressions of MTA1 and XIAP protein in 53 cases of prostate carcinoma and 20 cases of benign prostatic hyperplasia. The study also included analysis of the pathological behavior and clinical follow-up survey of prostate carcinoma. **Results:** The positive expression rates of MTA1 and XIAP were 81.1% and 75.5%, which were higher than those in BPH ($P<0.05$). The expressions of MTA1 and XIAP were closely related to the degree of histobiological grade, metastasis of lymph node, distant metastasis and prognosis of patients ($P<0.05$). Positive correlation was found between MTA1 and XIAP protein ($r=0.369, P=0.004$). **Conclusion:** These data suggest that the expression of MTA1 and XIAP may be closely related to carcinogenesis, metastasis and survival rate of prostate carcinoma patients. The combined detection of MTA1 and XIAP proteins can be used to evaluate the incidence, development, and prognosis of prostate carcinoma and provide an important basis for its treatment.

Key words Prostate carcinoma; cancer; gene; MTA1; XIAP; immunohistochemistry

前列腺癌(prostate carcinoma, PCa)在我国发病率逐年上升,已成为我国男性泌尿系常见恶性肿瘤^[1]。PSA 目前作为诊断前列腺癌主要的肿瘤标志物,对于诊疗前列腺癌的价值不言而喻。但是其并不能反映肿瘤恶性程度、侵袭力及患者的预后,从而 PSA 亦有局限性。因此,联合检测特异性高、敏感性强的前列腺癌标记物有助于更加有效的指导前列腺癌的临床诊疗。目前国内外有关 MTA1 和 XIAP 与前列腺癌关系的研究报道甚少。笔者采用免疫组化方法对 PCa 和前列腺增生(benign prostatic hyperplasia, BPH)组织进行 MTA1 和 XIAP 蛋白检测,并结合临床资料分析,以探讨二者表达与前列腺癌发生、发展和预后的关系。

作者简介 赵朋(1986-),男,主治医师,硕士,研究方向:前列腺癌分子生物学;通信作者:马成泉, E-mail:machqu163@163.com。

1 资料和方法

1.1 一般资料 收集 2007 年 5 月-2017 年 5 月间天津医科大学第二医院和天津市南开医院手术切除,经病理证实的 PCa 53 例,所有 PCa 病例均为初治者,术前未经内分泌治疗或放疗。患者年龄 52~84 岁,平均年龄(68.0±6.6)岁。Gleason 分级高分化癌(2~4 分)17 例,中分化癌(5~7 分)25 例,低分化癌(8~10 分)11 例;按国际 TNM 临床分期标准将 53 例前列腺癌分成 2 组:低分期组(T1~T2 期)22 例,高分期组(T3~T4 期)31 例。发生周围淋巴结转移者 34 例,无淋巴结转移者 19 例。有远处转移者 23 例,无远处转移者 30 例。BPH 标本 20 例作为对照,患者年龄为 65~81 岁,平均年龄(73.0±7.2)岁;两组年龄差异无统计学意义($t=1.782, P>0.05$)。所有前列腺标本经 4%多聚甲醛液固定,常规石蜡包埋备用,4 μm 厚切片。

1.2 试剂与方法 兔抗人 MTA1 和兔抗人 XIAP, 广谱 SABC 试剂盒均购自武汉博士德生物工程公司,采用 SABC 染色方法。用已知的乳腺癌阳性切片作为阳性对照,PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3 结果判定 DAB 显色后,光镜下每张切片选取 5 个有代表性的高倍视野(400×),每个视野随机计数 500 个前列腺肿瘤细胞或前列腺细胞。MTA1 阳性结果判定:按照肿瘤细胞的染色比例分级,以伴或不伴胞核染色的胞质内出现棕色或棕黄色颗粒者为 MTA1 阳性细胞;阴性(-),染色细胞数 ≤ 10%;弱阳性(+),染色细胞数 11%~25%;阳性(++),染色细胞数 26%~50%;强阳性(+++),染色细胞数 >50%。XIAP 阳性结果判定:细胞核内出现棕色或棕黄色颗粒为阳性计数标本;阴性(-),没有染色或 <1%的胞核染色;弱阳性(+),1%~10%的细胞核染色和(或)较弱的胞质染色;阳性(++),10.1%~49.9%的细胞核染色和(或)明显的胞质染色;强阳性(+++),≥50%的细胞核染色和(或)较强的胞质染色。

1.4 统计学方法 数据经 SPSS 17.0 统计软件处理,两组间均数比较采用 *t* 检验,计数资料间比较采用 χ^2 检验分析,使用 Spearman 等级相关分析 MTA1 和 XIAP 之间的关联程度,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MTA1、XIAP 在 PCa 及 BPH 组织中的表达比较 在 PCa 组中 MTA1 阳性主要在细胞核部位,阳性表达率为 81.1%(43/53),见图 1;XIAP 的阳性表达主要在细胞核,阳性表达率为 75.5%(40/53),见图 2。在 BPH 组中,MTA1 和 XIAP 的阳性表达率分别为 15%(3/20) 和 10%(2/20),见图 3、4。两组 MTA1 ($\chi^2 = 27.248, P = 0.000$) 和 XIAP ($\chi^2 = 25.476, P = 0.000$) 表达差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)(表 1)。

2.2 PCa 组中 MTA1 和 XIAP 蛋白表达与临床特征的关系 不同 Gleason 评分、TNM 临床分期及是否发生周围淋巴结转移、远处转移,前列腺癌患者的 MTA1 和 XIAP 阳性表达率差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)(表 2)。

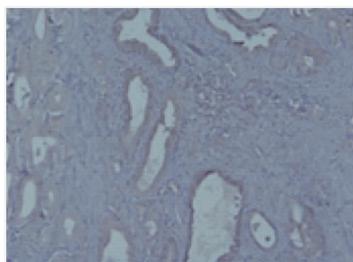


图 1 MTA1 在 PCa 组织中的表达(200×)
Fig 1 Expressions of MTA1 in PCa(200×)



图 2 XIAP 在 PCa 组织中的表达(200×)
Fig 2 Expressions of XIAP in PCa(200×)

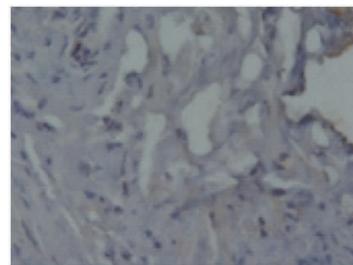


图 3 MTA1 在 BPH 组织中的表达(200×)
Fig 3 Expressions of MTA1 in BPH(200×)

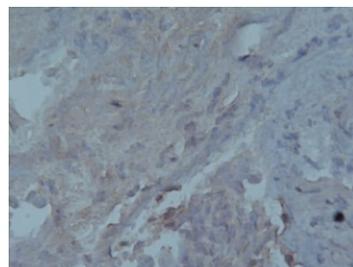


图 4 XIAP 在 BPH 组织中的表达(200×)
Fig 4 Expressions of XIAP in BPH(200×)

表 1 MTA1 及 XIAP 在 PCa、BPH 组织中的表达情况

Tab 1 Expressions of MTA1 and XIAP in PCa and BPH patients

项目	例数	MTA1		%	例数	XIAP		%
		-	+~+++			-	+~+++	
BPH	20	17	3	15.0	20	18	2	10.0
PCa	53	10	43	81.1	53	13	40	75.5

2.3 MTA1 和 XIAP 蛋白与前列腺癌患者预后的关系 53 例前列腺癌患者中,术后 5 年获得随访 32 例,生存患者中低分期组 10 人,高分期组 12 人;高分化癌(2~4 分)4 例,中分化癌(5~7 分)10 例,低分化癌(8~10 分)8 例,共 22 例;MTA1 和 XIAP 阳性表达率分别为 13.6%(3/22)、22.7%(5/22)。死亡患者中低分期组 4 人,高分期组 6 人;高分化癌(2~4 分)2 例,中分化癌(5~7 分)3 例,低分化癌(8~10 分)5 例共 10 例;MTA1 和 XIAP 阳性表达率分别为 50.0%(5/10)、80.0%(8/10)(表 3)。

表 2 MTA1 及 XIAP 在 PCa 组织中的表达与临床有关参数之间的相关性

Tab 2 Comparison of expression of MTA1 and XIAP in PCa patients with different clinical features

临床病理特征	MTA1				$P\chi^2$	XIAP				$P\chi^2$
	-	+	++	+++		-	+	++	+++	
Gleason 评分										
G1(2~4)	0	3	4	4		2	1	4	4	
G2(5~7)	3	2	7	13	0.016/	4	2	10	9	0.009/
G3(8~10)	7	5	3	2	15.664	7	4	6	0	16.947
淋巴转移										
有	1	7	10	16	0.001/	4	6	13	11	0.018/
无	9	3	4	3	16.546	9	1	7	2	10.088
远处转移										
有	1	7	9	6	0.012/	3	4	13	3	0.033/
无	9	3	5	13	10.989	10	3	7	10	8.709
临床分期										
I~II 期	7	3	8	4	0.036/	11	3	4	4	0.002/
III~IV 期	3	7	6	15	8.573	2	4	16	9	14.383

表 3 MTA1 及 XIAP 表达与前列腺癌预后的关系

Tab 3 The correlation of MTA1 and XIAP expression in PCa with prognosis

术后 5 年	MTA1				XIAP					
	随访结果	总例数	阳性	阴性	χ^2	P	阳性	阴性	χ^2	P
生存	22	3	19	4.848	0.042	5	17	6.409	0.015	
死亡	10	5	5			8	2			

2.4 MTA1 和 XIAP 在前列腺癌中表达的相关性 对前列腺癌中 MTA1 和 XIAP 蛋白表达的相关性分析发现,MTA1 和 XIAP 蛋白的表达呈正相关($r=0.369$, $P=0.004$)(表 4)。

表 4 MTA1 及 XIAP 在前列腺癌中表达的相关性

Tab 4 Relationship between expression of MTA1 and XIAP in PCa

MTA1	XIAP		r	P
	+	-		
+	367		0.369	0.004

3 讨论

近年来前列腺癌的发病率呈上升趋势且逐步年轻化,对中老年男性的危害也越来越受到关注。初次发现即发生转移是前列腺癌患者预后不良的主要原因。因此早期诊断及治疗对延长前列腺癌患者寿命显得尤为重要。MTA1 基因是由 Nawa 等^[2]利用 Southern 印迹法首次在高转移性乳腺癌细胞株中发现。MTA1 蛋白位于细胞核内,其通过影响细胞染色质的状态来调控基因转录,广泛影响其下游基因的表达,在恶性肿瘤细胞生长、侵袭及转移过程中的信号传导路径中发挥重要的调控作用^[3]。Kai 等^[4]发现 MTA1 蛋白与前列腺癌的血管生成密切相关。Hofer 等^[5]的试验研究发现如果细胞在分子水平上使细胞中角蛋白丝系统的组装和骨架蛋白的定

位发生改变,那么该细胞就会具有肿瘤的侵袭性和转移性特征,而 MTA1 基因就是通过该途径来实现的。Hofer 等^[5]采用免疫组化 SP 法在前列腺癌组织的微阵列检测 MTA1 蛋白的表达水平,结果显示:MTA1 蛋白表达水平在前列腺局限性癌和良性组织明显低于发生转移的前列腺癌组织。Sankaran 等^[6]发现 MTA1 还通过增加 VEGF-A 的表达以及增强 HIF-1 α 的转录活性从而促进肿瘤转移。本研究结果表明在 PCa 组织中 MTA1 高表达,显著高于 BPH 组织中的表达($P<0.05$),其表达在不同分化程度细胞间的差异有统计学意义,说明 MTA1 在前列腺癌发生、发展过程中可能发挥着重要作用。同时本研究表明,随着临床分期的升高,MTA1 表达阳性率也显著升高。说明 MTA1 蛋白的高表达与前列腺癌细胞的分化程度有一定相关性,可作为一个潜在的评价前列腺癌恶性程度的敏感指标。而在有周围淋巴结转移、远处转移的患者及随着患者生存年龄的缩短,MTA1 表达阳性率明显高于未发生转移和生存年龄较长的患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。可以推断,MTA1 是一种侵袭转移的促进蛋白,可使癌细胞具有更强的侵袭转移的表型,这与 Hofer 的研究结论相一致。

XIAP 是抑制细胞发生凋亡的蛋白家族中重要的成员之一,它通过多条途径介导抑制凋亡过程,其过度表达对某些抑癌蛋白的抑制是导致肿瘤细胞凋亡受到抑制的重要原因^[7]。Mohd 等^[8]研究发现通过反义基因技术下调 XIAP 基因表达,则可增加癌细胞对凋亡信号的敏感性。Berezovskaya 等^[9]在针对前列腺癌中 XIAP 表达情况所作的研究中发现,前列腺癌的癌旁组织中 XIAP 的表达强度与阳

性率均低于癌组织,研究还发现 XIAP 的表达与前列腺癌的转移相关,XIAP 表达高的前列腺癌更易发生转移。而通过小分子干扰技术下调 XIAP 蛋白的表达后,前列腺癌细胞凋亡增加。本研究结果显示 XIAP 蛋白在前列腺癌中有较高的表达,而在前列腺增生组织中极微量表达,说明 XIAP 在前列腺癌组织中选择性表达,而几乎不表达于前列腺增生组织。其表达与前列腺癌组织学分级有明显的相关性,提示其在正常黏膜发展到前列腺腺癌的演变过程中可能起着重要的作用。病理分化程度越低的前列腺癌细胞 XIAP 阳性表达越强,而在前列腺增生中几无表达,说明 XIAP 蛋白的表达与细胞的增殖呈正相关,也验证了 Berezovskaya 等^[9]的观点。随着临床分期的增加、淋巴结转移或远处转移,XIAP 蛋白的表达亦逐渐增加,XIAP 蛋白表达差异在统计学上有显著性意义,说明 XIAP 的表达与前列腺癌的分化及恶性程度有关。XIAP 的高表达可能使前列腺癌细胞避开凋亡、逃离生长监控而异常增殖。检测 XIAP 在前列腺癌组织中的表达,对前列腺癌的恶性程度和预后的判断具有一定参考价值。

本研究还显示 MTA1 和 XIAP 蛋白在前列腺癌组织中的表达呈正相关,这可能与前列腺癌组织中 MTA1 表达的升高减弱了机体对 XIAP 蛋白的抑制作用,使 XIAP 蛋白出现高表达,从而促进了肿瘤细胞的浸润和转移。通过实验可以得到 MTA1 和 XIAP 可作为检测前列腺癌的重要生物学标志,也可对肿瘤恶性程度进行评估。联合检测这两个指标可以对 PCa 的发生、发展、预后判断及药物治疗提

供参考依据。

参考文献:

- [1] Zhong W D, Liu L S, Liu W H, et al. A clinical study on prostate-cancer diagnosis with cDNA microarray[J]. Chinese J Cancer Res, 2015, 17(1):66
- [2] Nawa A, Nishimori K, Lin P, et al. Tumor metastasis-associated human MTA1 gene: its deduced protein sequence, localization, and association with breast cancer cell proliferation using antisense phosphorothioate oligonucleotides[J]. J Cell Biochem, 2010, 79(2): 202
- [3] Mazumdar A, Wang R A, Mishra S K, et al. Transcriptional repression of oestrogen receptor by metastasis-associated protein 1 corepressor[J]. Nat Cell Biol, 2012, 3(1):30
- [4] Kai L, Wang J, Ivanovic M, et al. Targeting prostate cancer angiogenesis through metastasis-associated protein 1 (MTA1) [J]. Prostate, 2011,71(3): 268
- [5] Hofer M D, Kuefer R, Varambally S, et al. The role of metastasis-associated protein 1 in prostate cancer progression [J]. Cancer Res, 2016, 64(3): 825
- [6] Sankaran D, Pakala S B, Nair V S, et al. Mechanism of MTA1 protein overexpression-linked invasion: MTA1 regulation of hyaluronan-mediated motility receptor (HMMR) expression and function[J]. J Biol Chem, 2012, 287(8): 5483
- [7] Morales-Cano D, Calvio E, Rubio V, et al. Apoptosis induced by paclitaxel via Bcl-2, Bax and caspases 3 and 9 activation in NB4 human leukaemia cells is not modulated by ERK inhibition[J]. Exp-Toxicol Pathol, 2013, 1(1): S0940
- [8] Mohd A B, Huang I. MLH1 expression sensitizes ovarian cancer cells to cell death mediated by XIAP inhibition[J]. Br J Cancer, 2009, 101(2):269
- [9] Berezovskaya O, Schimmer A D, Glinskii A B, et al. Increased expression of apoptosis inhibitor protein XIAP contributes to anoikis resistance of circulating human prostate cancer metastasis precursor cell[J]. Cancer Res, 2016, 65(6): 2378

(2018-08-27 收稿)

(上接第 228 页)

- [10] Bai L, Lennon D P, Caplan A I, et al. Hepatocyte growth factor mediates MSCs stimulated functional recovery in animal models of MS[J]. Nat Neurosci, 2012, 15(6): 862
- [11] Schubert S, Brehm W, Hillmann A, et al. Serum-free human MSC medium supports consistency in human but not in equine adipose-derived multipotent mesenchymal stromal cell culture[J]. Cytometry A, 2017, 56(3):93
- [12] Iman A, Nima P Z, Mohsen K M, et al. Adipose Tissue derived multipotent mesenchymal stromal cells can be isolated using serum-free media[J]. Iran Red Crescent Med J, 2013, 15(4):324
- [13] Genser-Nir M, Daniliuc S, Tevovsky M, et al. Toward a serum-free, xeno-free culture system for optimal growth and expansion of hMSC suited to therapeutic applications[J]. Bmc Proc, 2013, 7(S6):P6
- [14] 李洁,傅勇辉,吴琼,等.冻存前后脐带间充质干细胞生物学特性的比较[J].实验与检验医学,2014,42(1): 8
- [15] 付旭锋,刘平,陈冰冰,等.间充质干细胞冻存方法的研究进展[J].云南大学学报:自然科学版,2016,38(4): 652
- [16] Galipeau J. Concerns arising from MSC retrieval from cryostorage and effect on immune suppressive function and pharmaceutical usage in clinical trials[J]. Isbt Science, 2013, 8(1): 100
- [17] Barcia R N, Santos J M, Teixeira M, et al. Umbilical cord tissue-derived mesenchymal stromal cells maintain immunomodulatory and angiogenic potencies after cryopreservation and subsequent thawing[J]. Cytotherapy, 2017, 19(3): 360
- [18] Sidny L E, Hopkinson A. Corneal keratocyte transition to mesenchymal stem cell phenotype and reversal using serum-free medium supplemented with fibroblast growth factor-2, transforming growth factor- β 3 and retinoic acid[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2017, 8(2):120

(2018-08-14 收稿)