

膀胱癌中雄激素受体与 Pax2 的表达研究

刘娟¹, 滕晓东², 吴翔燕¹, 杨文君¹

(1. 杭州师范大学附属医院, 浙江 杭州 310015; 2. 浙江大学附属第一医院, 浙江 杭州 310003)

摘要: [目的] 探讨雄激素受体(AR)和 Pax2 在膀胱癌中的表达及与膀胱癌的侵袭、转移及预后的关系。[方法] 用免疫组织化学 SP 法检测 103 例膀胱癌组织中 AR 和 Pax2 的表达。[结果] AR 在 103 例膀胱癌肿瘤组织中有 48 例表达, 阳性率为 46.6%。AR 的表达在膀胱癌不同的病理分级、T 分期、远处转移及复发情况时差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。Pax2 在 103 例肿瘤组织中有 49 例阳性表达, 阳性率为 47.6%。Pax2 在不同 T 分期、有无远处转移时差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。Spearman 等级相关分析表明 Pax2 和 AR 表达明显相关。[结论] AR 及 Pax2 可能参与了膀胱癌的侵袭与转移, 可作为预后判断因子, 结合病理分级和 T 分期分析能提高对膀胱癌患者预后判断的准确性。

关键词: 雄激素受体; Pax2; 膀胱肿瘤; 诊断

中图分类号: R737.14 文献标识码: A 文章编号: 1671-171X(2014)05-0398-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2014.05.B010

Expression of Androgen Receptor and Pax2 in Bladder Cancer

LIU Juan¹, TENG Xiao-dong², WU Xiang-yan¹, et al.

(1. Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310015, China; 2. the First Hospital of Zhejiang University, Hangzhou 310003, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the expression of androgen receptor (AR) and Pax2 in bladder cancer, and its correlation to metastasis, invasion, and prognosis. [Methods] The expression of AR and Pax2 in 103 specimens of bladder cancer was detected by SP immunohistochemical method. [Results] AR was positive in 48 of 103 cases, with positive rate of 46.6%. There was significant difference of AR expression in bladder cancer with various grades, T stages, distant metastasis or recurrence ($P < 0.05$). Pax2 was positive in 49 of 103 cases, with positive rate of 47.6%. There was significant difference of Pax2 expression in bladder cancer with various T stages, with or without distant metastasis ($P < 0.05$). Spearman's rank correlation analysis showed that AR and Pax2 were significantly correlated ($P < 0.05$). [Conclusion] AR and Pax2 might participate in invasion and metastasis of bladder cancer. AR and Pax2 can be used as prognostic factors and may increase accuracy of predicting prognosis for bladder cancer when combination with pathologic grading and T staging.

Subject words: androgen receptor(AR); Pax-2; bladder neoplasms; diagnosis

膀胱癌是泌尿系统最常见的恶性肿瘤。尽管临床治疗手段不断改进, 但膀胱癌的复发率高。膀胱癌的早期诊断、早期治疗尤为关键^[1]。因此, 寻找与膀胱癌恶性生物学行为密切相关的生物学标志物具有重要的临床意义^[2]。性激素及其受体在膀胱癌的生物学作用受到人们的关注, 近期多项实验研究显示雄激素受体(AR)信号可能会促进膀胱癌的发生发展^[3]。Pax 基因为重要的发育调控基因家族成员之一,

其编码的核转录因子作为信号分子参与胚胎发育的调控, 其异常表达导致肿瘤的发生。Hueber 等^[4]研究表明, Pax2 可能作为肿瘤一个潜在的治疗的目标基因, 并且辅助的 Pax2 基因敲除可能提高化学药物治疗的疗效。目前, 对 Pax2 基因的结构、功能有了一定的了解, 但有关 Pax2 确切功能和具体分子机制及信号通路研究尚少, 有待进一步研究。我们应用 AR 及 Pax2 抗体检测它们在膀胱癌的表达, 旨在阐明 AR 与 Pax2 在膀胱癌病理分级中的应用, 探讨膀胱癌细胞的侵袭力与 AR 及 Pax2 表达之间的关系, 为膀胱肿瘤早期诊断、预后判断及化学治疗提供依据。

通讯作者: 刘娟, 主治医师, 硕士; 杭州师范大学附属医院病理科, 浙江省杭州市拱墅区温州路 126 号 (310015); E-mail: liujuan-tj@163.com

收稿日期: 2013-09-10; 修回日期: 2013-10-25

1 资料与方法

1.1 材料

收集 2005 年 1 月至 2012 年 12 月手术或 TURPT 切除的 103 例膀胱癌患者标本,其中男性 76 例,女性 27 例,年龄 30~89 岁,中位年龄 65 岁。根据手术和影像学(CT、MRI)等所得的临床参数,包括肿瘤大小、盆腔及淋巴结转移、远处器官转移和 TNM 分期对膀胱癌患者进行分组,其中 T_a 期 26 例, T_{is} 期 6 例, T₁ 期 30 例, T₂ 期 36 例, T₃₋₄ 期 5 例。术后经病理切片诊断为低级别 49 例,高级别 54 例。

1.2 染色方法

用免疫组织化学 SP 法,具体方法参照试剂盒操作步骤。用已知阳性片作阳性对照,用 PBS 代替一抗作阴性对照。鼠抗人 Pax2 抗体、鼠抗人 AR 抗体及超敏 SP 试剂盒,均购自北京中山金桥生物技术公司。

1.3 阳性结果判定标准

免疫组织化学半定量标准:有棕褐色或棕黄色着色为阳性,AR 及 Pax2 抗体阳性反应为胞核呈棕黄色,细胞核无着色为阴性。

1.4 统计学处理

用 SPSS 13.0 统计软件分析数据,AR 和 Pax2 的表达与病理分级及其他临床指标的关系采用 χ^2 或 Fisher 确切概率法检验,Spearman 等级相关分析来分析两者的相关性。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组织化学染色结果

103 例膀胱癌组织中有 48 例 AR 表达(Figure 1),阳性率为 46.6%。103 例肿瘤组织中有 49 例 Pax2 阳性表达(Figure 2),阳性率为 47.6%。

2.2 AR 与 Pax2 在膀胱癌中的表达与患者临床病理特征之间的关系

AR 的表达在膀胱癌不同病理分级、T 分期、淋巴结转移及 1 年复发与否时差异有统计学意义 ($P<0.05$)(Table 1),而在不同性别、年龄患者间差异无统计学意义。Pax2 在膀胱癌组织的表达在不同 T 分期、淋巴结转移时差异有统计学意义($P<0.05$)(Table 1),而在不同性别、年龄、病理分级及复发情况时差异无统计学意义。

2.3 AR 与 Pax2 表达的相关性

在 Pax2 阳性表达组中 AR 的阳性表达率为 83.3%(40/48)。在 Pax2 阴性表达组中 AR 的阳性表达率为 16.4%(9/55)。Spearman 等级相关分析表明两者明显相关 ($r=0.669, P<0.05$)(Table 2)。

3 讨论

膀胱肿瘤是严重威胁人类健康的重要疾病之一。临床上大多数膀胱肿瘤患者不是死于肿瘤的原发灶,而是死于不同程度的膀胱肿瘤转移与复发。要从总体上提高肿瘤的疗效,必须要做到早期诊断,早

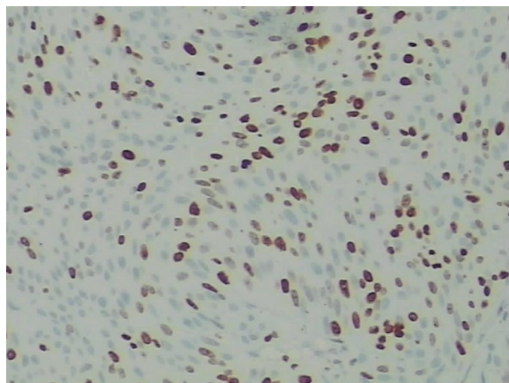


Figure 1 AR was yellow brown in tumor cell nucleus (IHC $\times 200$)

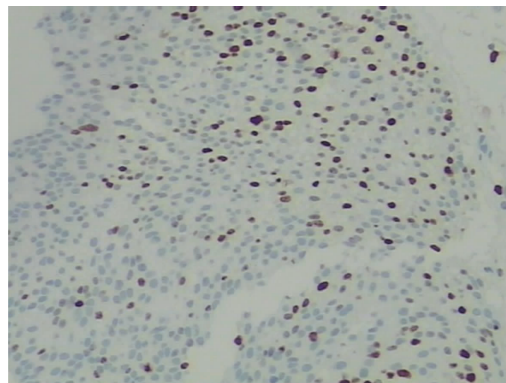


Figure 2 Pax2 was yellow brown in tumor cell nucleus (IHC $\times 200$)

Table 1 Expression of AR and Pax2 in bladder cancer and the relationship with clinicopathological characteristics

Parameters	N	AR			Pax2		
		+	-	P	+	-	P
Cases	103						
Gender							
Male	76	40	36	0.794	40	36	0.944
Female	27	15	12		14	13	
Age(years old)							
≤55	15	7	8	0.572	8	7	0.939
>55	88	48	40		46	42	
Grading							
Low	54	41	13	0.000	29	25	0.785
High	49	14	35		25	24	
T staging							
Superficial(T _{is} ~T ₁)	62	40	22	0.005	44	18	0.000
Invasive(T ₂ ~T ₄)	41	15	26		10	31	
Lymph node metastasis							
Yes	16	4	12	0.023	2	14	0.001
No	87	51	36		52	35	
Recurrence in 1 year							
Yes	41	35	6	0.000	22	19	0.839
No	62	20	42		32	30	

Table 2 Correlation of AR and Pax2 in bladder cancer

AR	Pax2		r	P
	+	-		
+	40	8	0.669	0.000
-	9	46		

期治疗。因此,进一步研究和寻找有关膀胱癌早期诊断,阻断转移及复发的生物学标志物是治疗膀胱癌的关键,但至今尚未发现令人满意的膀胱肿瘤标志物。肿瘤细胞的生物学特性是决定肿瘤转移与复发的关键因素之一。近年来,人们对很多肿瘤标志物进行了研究,其中包括 AR 和 Pax2,期望对肿瘤特性与临床分期、病理分级、肿瘤转移及复发的关系有更进一步了解。

AR 作为类固醇激素核受体超家族的成员之一,是一个配体活化转录调节因子,与配体结合后,进入细胞核调节下游基因的转录。AR 在正常小鼠、大鼠、人类膀胱上皮以及人类膀胱癌细胞株均发现有表达^[5-6]。这提示雄激素在膀胱癌的发生中发挥了一定的作用^[7-10]。我们在此项研究中,通过免疫组织化学方法可见 AR 在膀胱癌细胞核内呈阳性表达,表明 AR 在膀胱癌组织中的广泛表达可能与肿瘤的形成相关。AR 的表达水平与膀胱癌的病理分级、临床分期、淋巴结转移及复发关系密切。AR 的阳性表

达可能是膀胱恶性肿瘤发生过程中的重要事件,并随着疾病的进展而呈增高趋势,对肿瘤的恶性程度、分化程度、转移和复发的预测具有一定的临床意义。

Pax 基因家族是一组编码核转录因子的基因,是一类重要的发育调控基因家族。Pax2 是 Pax 基因家族中的一位重要成员。它是一种重要的发育调控基因,参与细胞凋亡的调控过程。研究发现,Pax2 基因不仅与胚胎发育有关,它的表达还能促使细胞增生和细胞转化,诱导肿瘤的形成^[11]。Pax2 在肾细胞癌、前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、Kaposi 肉瘤等多种肿瘤中表达水平升高,与人类肿瘤的发生发展关系密切,被认为是原癌基因^[12]。我们的实验表明 Pax2 在膀胱癌中阳性表达,提示 Pax2 可能在膀胱癌的发生过程中起了一定的作用。既往的研究已证实,Pax2 能作为凋亡相关基因 Bcl-2、caspase3、p53 等的调控子影响细胞死亡,具有抵抗细胞凋亡、促进细胞增殖并能影响细胞分化的功能。在膀胱癌中,Pax2 的高表达可能抑制了细胞凋亡,使细胞增殖加速,从而导致了膀胱上皮细胞的癌变。Pax2 在 AR 阳性组膀胱癌中表达率明显高于 AR 阴性组,两者比较差异有统计学意义(P<0.05),这可能与雄激素激活 Pax2 基因而引起其高表达有关。推测膀胱癌中 Pax2 的表达可能与 AR 密切相关。在膀胱癌中,随着肌层浸润的

加深及淋巴结的转移,Pax2 的表达阳性率显著增高,Pax2 可能增强了膀胱癌细胞的侵袭性,在膀胱癌临床进展和浸润转移过程中起着重要的作用,检测 Pax2 的表达水平可作为一个预测肌层浸润情况和淋巴结转移的重要指标。有可能成为判断膀胱癌预后的一种新的肿瘤标志物。在高表达 Pax2 的膀胱癌细胞中转染 Pax2 反义 DNA 有可能成为治疗膀胱癌的一条新的途径。但是由于本研究实验方法的局限性及样本量的限制,对于 Pax2 在膀胱癌发生发展中的确切意义仍有待于进一步的研究论证。深入研究 Pax2 在膀胱癌中的具体作用机制及 AR 与 Pax2 之间的确切调控机制,有可能为膀胱癌的发病机制研究提供重要的理论依据,并对膀胱癌的预防、诊断和治疗具有重要的临床意义。

参考文献:

- [1] Wijkstrom H, Norming U, Lagerkvist M, et al. Evaluation of clinical staging before cystectomy in transitional cell bladder carcinoma: a long term follow-up of 276 consecutive patients[J]. Br J Urol, 1998, 81(5):686-691.
- [2] Sarosdy MF, White RW, Soloway MS, et al. Results of a multi-center trial using the BTA test to monitor and diagnose for recurrent bladder cancer [J]. J Urol, 1995, 154(2 Pt1):379-384.
- [3] Miyamoto H, Yang Z, Chen YT, et al. Promotion of bladder cancer development and progression by androgen receptor signals[J]. J Natl Cancer Inst, 2007, 99(7):558-568.
- [4] Hueber PA, Waters P, et al. Pax2 inactivation enhances cisplatin-induced apoptosis in renal carcinoma cells [J]. Kidney Int, 2006, 69(7):1139-1145.
- [5] Johnson AM, O'Connell MJ, Miyamoto H, et al. Androgenic dependence of exophytic tumor growth in a transgenic mouse model of bladder cancer: a role for thrombospondin-1[J]. BMC Urol, 2008, 8:7-23.
- [6] Liu QQ, Wu JT, Feng YG, et al. Expression of androgen receptor in bladder urothelial carcinoma and its clinical significance [J]. Chinese Journal of Experimental Surgery, 2010, 27(8):1137-1138.[刘庆祚, 吴吉涛, 奉友刚, 等. 雄激素受体在膀胱尿路上皮癌中的表达及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2010, 27(8):1137-1138.]
- [7] Wu JT, Han BM, Yu SQ, et al. Androgen receptor is a potential therapeutic target for bladder cancer [J]. Urology, 2010, 75(4):820-827.
- [8] Li Y, Izumi K, Miyamoto H. The role of the androgen receptor in the development and progression of bladder cancer[J]. Jpn J Clin Oncol, 2012, 42(7):569-577.
- [9] Li Y, Zheng Y, Izumi K. Androgen activates β -catenin signaling in bladder cancer cells [J]. Endocr Relat Cancer, 2013, 20(3):293-304.
- [10] Cui YP, Wu JJ, Feng F, et al. Effects of androgen receptor gene on adhesion and invasion of human bladder cancer T24 cells [J]. Chinese Journal Experimental Surgery, 2013, 30(5):1107-1110.[崔玉朋, 吴吉涛, 冯帆, 等. 雄激素受体基因对人膀胱癌 T24 细胞黏附和侵袭力的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2013, 30(5):1107-1110.]
- [11] Tong GX, Chiriboga L, Hamele-Bena D, et al. Expression of Pax2 in papillary serous carcinoma of the ovary: immunohistochemical evidence of fallopian tube or secondary Mullerian system origin?[J]. Mod Pathol, 2007, 20(8):856-863.
- [12] Shen XX, Yu L, Bi R, et al. Clinicopathologic study and immunohistochemistry comparison of Pax2, p53 and ki67 protein expression in low- and high- grade ovarian serous carcinomas [J]. Chinese Journal of Pathology, 2011, 40(6):1-7. [沈旭霞, 喻林, 毕蕊, 等. 卵巢癌低、高级别浆液性癌的临床病理分析及 Pax2、p53、ki67 表达意义研究[J]. 中华病理学杂志, 2011, 40(6):1-7.]

2014 妇科恶性肿瘤规范化手术研讨班会议预告

2014 妇科恶性肿瘤规范化手术研讨班将于 2014 年 6 月 20 日~22 日在杭州第一世界大酒店举行。本次研讨班由浙江省肿瘤医院主办、肿瘤学杂志社承办。

“妇科恶性肿瘤规范化手术研讨班”为 2014 年国家继续教育培训项目,将不断地求新求发展,力争搭建在妇科肿瘤专业领域颇具影响力的品牌平台。本着规范与前沿并重的原则,在重点介绍和推广子宫颈癌、子宫内膜癌及卵巢癌等妇科常见恶性肿瘤规范化手术的同时,对妇科恶性肿瘤领域的最新进展及同道们关心关注的热点难点问题进行对话与探讨,届时将邀请国内知名专家进行专题讲座,以及省内专家分享手术实践经验,采用专题报告、手术录像、手术演示等丰富多样的形式。对全程参会者经考试合格后将授予国家级 I 类继续教育学分。

特邀专家有:高永良、谢辛、臧荣余、汪希鹏、朱笕青、张平等教授。

会议的相关信息请登录至 www.chinaoncology.cn 查询。

联系人:朱滔(13858065156)

E-mail: zjsgyn@163.com

地址:杭州市拱墅区半山桥广济路 38 号 浙江省肿瘤医院妇科(310022)