

# BCAR1 在前列腺癌根治标本中的表达及其临床病理意义

杜少静, 李沐寒, 贺慧颖

(北京大学医学部基础医学院, 北京大学第三医院, 北京 100083)

**摘要:** [目的] 探讨乳腺癌抗雌激素药物耐药蛋白 BCAR1 在前列腺癌根治标本中的表达及其临床意义。[方法] 应用免疫组化法检测 BCAR1 在 97 例前列腺癌根治标本中的表达情况, 并分析其在肿瘤组织中的表达与各临床病理因素及预后的相关性。[结果] BCAR1 在前列腺高级别上皮内瘤变(HGPIN)和前列腺癌组织中的表达显著高于癌旁前列腺组织( $P<0.01$ )。并且 BCAR1 在癌组织中高表达与高 Gleason 评分之间存在显著相关性( $\chi^2=6.987, P=0.008$ )。但 BCAR1 的表达与血清 PSA 水平、肿瘤体积、TNM 分期及生物学复发之间均无显著相关性( $P>0.05$ )。[结论] BCAR1 的表达与前列腺癌的分化程度呈负相关, BCAR1 可能在前列腺癌的发生过程中发挥作用。

**主题词:** BCAR1; 前列腺肿瘤; 免疫组织化学; 临床病理因素

**中图分类号:** R737.25 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2016)02-0121-04

**doi:** 10.11735/j.issn.1671-170X.2016.02.B009

## Expression of BCAR1 in Prostate Carcinoma and Its Clinicopathological Significance

DU Shao-jing, LI Mu-han, HE Hui-ying

(School of Basic Medical Science, Peking University Health Science Center, The Third Hospital of Peking University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** [Purpose] To investigate the expression of BCAR1 in prostate cancer and its clinicopathological significance. [Methods] The immunohistochemistry was used to detect the expression of BCAR1 in 97 cases of radical prostatectomy, and its relationship with clinicopathological features and biochemical recurrence were analyzed. [Results] BCAR1 expression was significantly higher in prostate carcinomas and HGPIN tissues than that in paracancerous tissues ( $P<0.05$ ). There was significant correlation between BCAR1 expressions and the Gleason score ( $\chi^2=6.987, P=0.008$ ). However, no significant correlations were found between BCAR1 expression and the other clinicopathological factors, including serum PSA, TNM stage, tumor volume and biochemical recurrence ( $P>0.05$ ). [Conclusions] The expression level of BCAR1 is negatively associated with the differentiation of prostate carcinoma. BCAR1 may be participate in the development of prostate carcinoma.

**Subject words:** BCAR1; prostate neoplasms; immunohistochemistry; clinicopathological parameters

乳腺癌抗雌激素药物耐药蛋白 (breast cancer anti-estrogen resistance 1, BCAR1), 又名 P130CAS, 现已证实其在多种恶性肿瘤, 包括乳腺癌、膀胱癌、卵巢癌及肝癌等组织中表达上调, 并且能够促进肿瘤的侵袭转移。Fromont 等<sup>[1]</sup>人报道对于高分化前列腺癌 (Gleason score=6) 患者, 根治术标本中 BCAR1 表达增高是术后生物学复发的独立预后因素。

Fromont 等<sup>[2]</sup>人使用组织芯片的方法对 86 例行根治切除术的器官局限性前列腺癌、15 例淋巴结转移性前列腺癌以及 15 例激素抵抗性前列腺癌组织切片进行 BCAR1 免疫组化染色, BCAR1 的表达阳性率分别是 25%、60% 和 80%。并且 BCAR1 在前列腺癌组织中的表达明显高于正常前列腺组织, 且与表皮生长因子受体 EGFR 的表达呈正相关, 与转移抑制因子 KAI1 呈负相关。但是, BCAR1 在国人前列腺癌中的表达及其与各临床病理特征及预后的关系尚不清楚。本研究使用免疫组织化学染色法, 检测国人前列腺癌组织中 BCAR1 的表达情况, 并分析其与肿

**基金项目:** 北京市重点学科基础医学学科建设项目 (BMU20110254)

**通讯作者:** 贺慧颖, 副教授, 副主任医师, 博士; 北京大学医学部基础医学院病理系, 北京市海淀区学院路 38 号 (100083);  
E-mail: huiyinghe@bjmu.edu.cn

**收稿日期:** 2015-11-21

瘤临床病理特征以及预后的关系,以探讨其在前列腺癌发生发展及预后方面的作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选取北京大学第三医院病理科 2006 年 12 月至 2013 年 1 月期间收集的前列腺癌根治标本 97 例,术前未接受放化疗或激素治疗,临床病理资料及随访资料完整。所有病例均经两位病理医师复核全部切片。患者年龄在 56~85 岁,平均年龄 72 岁。根据 WHO 2005 年修改后的 Gleason 评分标准:5 分 1 例,6 分 27 例,7 分 46 例,8~10 分 23 例。

### 1.2 实验试剂与方法

石蜡切片免疫组织化学法染色 (Envision 二步法) 具体步骤如下:①石蜡切片脱蜡水化;②自来水冲洗 2min,蒸馏水冲洗 2 次;③抗原修复(抗原修复液 pH 为 6.0),水浴锅煮沸 20min 之后自然冷却至室温;④3%  $H_2O_2$  封闭内源性过氧化物酶,室温下 30min;⑤PBS 缓冲液冲洗 3 次,每次 5min;⑥加入购于美国 Abcam 公司的 BCAR1 鼠单克隆抗体,稀释度为 1:100,4℃冰箱中过夜;⑦PBS 缓冲液冲洗 3 次,每次 3min;⑧滴加北京中杉金桥公司 PV9000 两步法试剂盒二抗,室温孵育 30min;⑨PBS 缓冲液冲洗 3 次,每次 5min;⑩美国 DAKO 公司 DAB 显色 3min, Mayer's 苏木精复染细胞核,逐级酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。

### 1.3 免疫组织化学结果判定

所有免疫组织化学结果均由两位资深病理医师双盲判读,保证实验结果的准确可靠。BCAR1 阳性表达定位于细胞质。染色强度分为 0~3 分:0 分不着色,1 分浅棕色,2 分棕色,3 分深棕色。同时记录不同染色强度的癌灶在整体肿瘤中所占百分比,两项乘积为标本的分值,即 High Score(以下简称 H-Score)。

### 1.4 统计学处理

实验数据采用 SAS 9.2 统计软件进行分析,计量资料采用  $t$  检验,计数资料采用  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

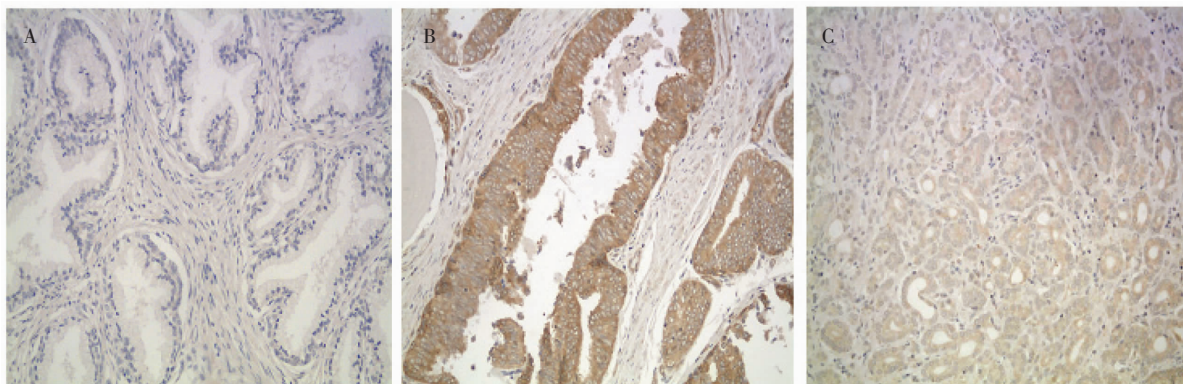
## 2 结果

### 2.1 BCAR1 在不同前列腺组织中的表达

在前列腺癌组织和 HGPIN 组织中 BCAR1 的表达量明显高于癌旁正常前列腺组织 ( $P < 0.05$ )。癌旁正常前列腺组织 BCAR1 呈阴性或弱阳性表达;HGPIN 组织中 BCAR1 均呈强而弥漫的阳性表达;而在前列腺癌组织中,同一个肿瘤中的表达程度并不完全一致(Figure 1)。

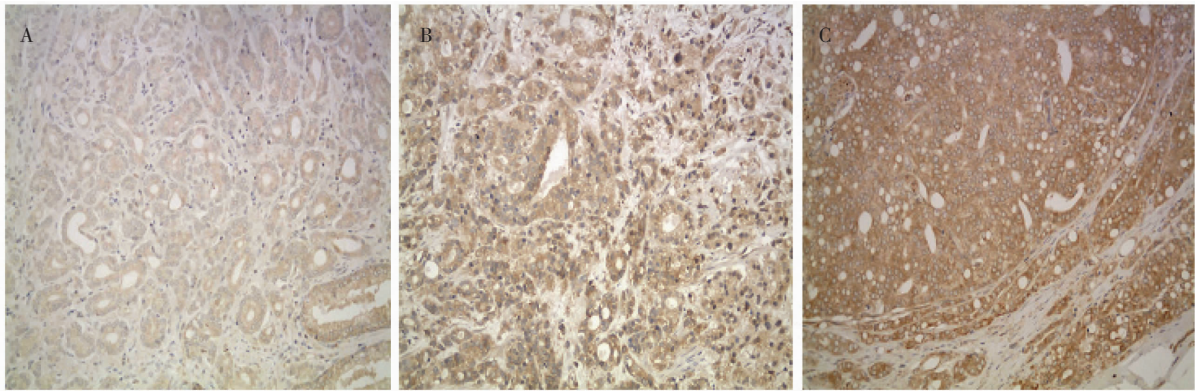
### 2.2 BCAR1 在不同级别前列腺癌组织中的表达

免疫组化结果显示,BCAR1 在高分化(Gleason 3 级)的前列腺癌中表达为弱阳性;在中分化(Gleason 4 级)的前列腺癌中表达为中度阳性;在低分化(Gleason 5 级)的前列腺癌中表达为强阳性。即随着前列腺癌 Gleason 级别的增加,BCAR1 的表达也逐渐增强(Figure 2)。



Note: A: Negative expression of BCAR1 protein in paracancerous normal prostate tissue; B: Strongly positive expression of BCAR1 protein in HGPIN; C: Positive expression of BCAR1 protein in prostate cancer.

Figure 1 Immunohistochemical expression of BCAR1 protein in different prostate tissues(IHC  $\times 200$ )



Note: A:BCAR1 expression in well-differentiated prostate carcinoma,Gleason grade=3;B:BCAR1 expression in moderately differentiated prostate carcinoma,Gleason grade=4;C:BCAR1 expression in poorly differentiated prostate carcinoma,Gleason grade=5.

**Figure 2 BCAR1 expression in different grades of prostate cancer tissues (IHC ×200)**

**Table 1 Correlation between the clinicopathological features and the expression of BCAR1 in prostate cancer tissues**

| Clinicopathological parameters | N  | BCAR1 H-Score |      | $\chi^2$ | P-value |
|--------------------------------|----|---------------|------|----------|---------|
|                                |    | ≤160          | >160 |          |         |
| PSA level                      |    |               |      |          |         |
| <4                             | 5  | 2             | 3    | 0.245    | 0.621   |
| 4~10                           | 35 | 29            | 6    |          |         |
| >10                            | 48 | 33            | 15   |          |         |
| Gleason score                  |    |               |      |          |         |
| 5~6                            | 28 | 24            | 4    | 6.987    | 0.008   |
| 7                              | 46 | 34            | 7    |          |         |
| 8~10                           | 23 | 12            | 11   |          |         |
| TNM stage                      |    |               |      |          |         |
| T <sub>2ab</sub>               | 11 | 7             | 4    | 0.094    | 0.759   |
| T <sub>2c</sub>                | 58 | 44            | 14   |          |         |
| T <sub>3</sub>                 | 26 | 19            | 7    |          |         |
| Tumor size(cm)                 |    |               |      |          |         |
| ≤2                             | 68 | 47            | 17   | 0.370    | 0.543   |
| >2                             | 29 | 23            | 6    |          |         |
| EPE                            |    |               |      |          |         |
| Positive                       | 25 | 17            | 7    | 0.135    | 0.714   |
| Negative                       | 72 | 53            | 18   |          |         |
| Margin                         |    |               |      |          |         |
| Positive                       | 40 | 26            | 12   | 1.227    | 0.268   |
| Negative                       | 57 | 44            | 12   |          |         |
| BN                             |    |               |      |          |         |
| Positive                       | 9  | 7             | 2    | 0.000    | 1.000   |
| Negative                       | 87 | 62            | 23   |          |         |
| Tumor volume                   |    |               |      |          |         |
| Low                            | 15 | 11            | 4    | 0.015    | 0.904   |
| Medium                         | 38 | 31            | 7    |          |         |
| Extensive                      | 37 | 28            | 9    |          |         |
| SV invasion                    |    |               |      |          |         |
| Positive                       | 7  | 6             | 1    | 0.093    | 0.760   |
| Negative                       | 90 | 64            | 24   |          |         |

### 2.3 BCAR1 的表达与前列腺癌患者临床病理因素的相关性

考虑到肿瘤的异质性,我们采用 H-Score 的评分方式,以癌旁正常组织为 0 分,HGPIN 组织为 300 分,肿瘤组织评分结果 (median,range) mean 为 (140,50~300)140.11。选取 Cut-off 值为 160,应用  $\chi^2$  检验分析肿瘤中 BCAR1 表达与肿瘤各临床病理因素之间的相关性。结果发现,BCAR1 表达量与 Gleason 评分之间存在显著相关性 ( $\chi^2=6.987,P=0.008$ ),即随着 Gleason 评分的增加,BCAR1 的表达量增加。但 BCAR1 与其他临床病理因素如术前 PSA 水平、TNM 分期、肿瘤大小、腺外浸润、切缘及预后等因素之间未达统计学意义 (Table 1)。

### 2.4 BCAR1 表达与术后生物学复发的关系

为了避免手术切缘对术后复发率的影响,我们对切缘阴性的 57 例根治术患者进行随访,其中有 41 例患者随访资料完整,统计到 PSA 生物学复发 15 例,未复发者 26 例。采用卡方检验分析 BCAR1 表达与生物学复发的相关性,结果两者之间无相关性 (Table 2)。

**Table 2 The relationship of BCAR1 expression with biochemical recurrence after radical prostatectomy**

| Recurrence | N  | BCAR1 H-Score |      | $\chi^2$ | P     |
|------------|----|---------------|------|----------|-------|
|            |    | ≤160          | >160 |          |       |
| Yes        | 15 | 11            | 4    | 0.000    | 1.000 |
| No         | 26 | 20            | 6    |          |       |

### 3 讨论

BCAR1 又名 P130CAS, 因 2000 年 Brinkman 等<sup>[3]</sup>通过将 P130CAS 转染到人乳腺癌雌激素依赖细胞 ZR-75-1 中, 使其对雌激素产生抵抗, 并对他莫西芬产生耐药而得名。最新研究报道<sup>[4]</sup>显示 BCAR1 与 BCAR3 协同作用使乳腺癌产生抗雌激素药物耐药作用。近年来研究发现, BCAR1 在乳腺癌<sup>[5]</sup>、膀胱癌<sup>[6]</sup>、肝癌<sup>[7]</sup>、卵巢癌<sup>[8]</sup>和非小细胞肺癌<sup>[9]</sup>等肿瘤组织中表达上调, 并且促进肿瘤的侵袭和转移。

我们的研究结果显示, BCAR1 在 HGPIN 组织中表达明显增强。HGPIN 是目前唯一被认可的前列腺癌癌前病变, BCAR1 在 HGPIN 组织中的强阳性表达提示其与前列腺癌的早期发生过程关系密切。Kim 等<sup>[10]</sup>研究发现, BCAR1 可以与转化生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 信号途径的 Smad3 结合, 减少 Smad3 磷酸化, 导致细胞周期依赖性激酶 (CDK) 抑制因子 P21 和 P15 的表达降低, 从而促进细胞增殖; 也有报道 BCAR1 可以诱导 Grb2 与 Shp-2 结合, 激活 Ras/Mek/Erk 信号途径促进细胞增殖<sup>[11]</sup>。此外, 在乳腺癌细胞系中 BCAR1 与 ER 的结合可以促进 ER 依赖性的 Src、ERK 和 Cyclin D1 的活化, 诱导细胞向 G<sub>1</sub> 期转化<sup>[12]</sup>。前列腺组织中也存在 ER- $\alpha$  和 ER- $\beta$ , ER- $\alpha$  主要位于间质, ER- $\beta$  主要位于上皮组织, 两者共同调节雌激素受体信号通路。BCAR1 在前列腺正常细胞和癌细胞中的作用机制尚不明确, 推测也可能与雌激素受体 ER 信号通路相关。

此外, 我们还发现在前列腺癌组织中 BCAR1 的表达水平与肿瘤的分化程度呈负相关, 即随着肿瘤 Gleason 评分的增加, BCAR1 的表达水平也增加, 提示 BCAR1 参与了前列腺癌的分化过程。本研究应用肿瘤组织的大切片进行免疫组化, 充分考虑了前列腺肿瘤的异质性, 而避免了组织芯片的局限性。在评判 BCAR1 表达时采用 H-Score 的评分方式, 更能准确反映 BCAR1 在肿瘤组织的表达情况。此外, Celhay 等<sup>[13]</sup>报道对于 Gleason 评分为 6 且 BCAR1 表达增高的患者, 单纯施行雄激素剥夺疗法之后易在短期内复发, 但是本研究未发现 BCAR1 的表达水平与前列腺癌生物学复发之间存在相关性。可能存在的原因: ①本次研究对象是施行根治术后的患者; ②随访病例数量较少; ③国人与欧美人群前列腺

癌之间存在差异。

综上所述, BCAR1 参与前列腺癌的分化过程, BCAR1 对于人前列腺癌细胞的作用可能通过雌激素受体信号通路, 或雌激素非依赖性的 Src 通路, 亦或两者都有。具体的作用机制还有待进一步的研究。

### 参考文献:

- [1] Fromont G, Rozet F, Cathelineau X, et al. BCAR1 expression improves prediction of biochemical recurrence after radical prostatectomy[J]. *The Prostate*, 2012, 72(12): 1359-1365.
- [2] Fromont G, Vallancien G, Validire P, et al. BCAR1 expression in prostate cancer: association with 16q23 LOH status, tumor progression and EGFR/KAI1 staining[J]. *The Prostate*, 2007, 67(3): 268-273.
- [3] Brinkman A, Silvia vdF, Kok EM, et al. BCAR1, a human homologue of the adapter protein p130Cas, and antiestrogen resistance in breast cancer cells[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92(2): 112-120.
- [4] Wallez Y, Riedl SJ, Pasquale EB. Association of the breast cancer antiestrogen resistance protein 1 (BCAR1) and BCAR3 scaffolding proteins in cell signaling and antiestrogen resistance[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(15): 10431-10444.
- [5] Dorssers LCJ, Grebenchtchikov N, Brinkman A, et al. The prognostic value of BCAR1 in patients with primary breast cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10: 6194-6202.
- [6] Hu X, Ruan Y, Cheng F, et al. P130cas, E-cadherin and b-catenin in human transitional cell carcinoma of the bladder: expression and clinicopathological significance[J]. *Int J Urol*, 2011, 18: 630-637.
- [7] Guo C, Liu QG, Yang W, et al. Relation among p130Cas, E-cadherin and  $\beta$ -catenin expression, clinicopathologic significance and prognosis in human hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2008, 7(5): 490-496.
- [8] Nick AM, Stone RL, Armaiz-Pena G, et al. Silencing of p130cas in ovarian carcinoma: a novel mechanism for tumor cell death[J]. *J Natl Cancer I*, 2011, 103(21): 1596-1612.
- [9] Deng B, Sun Z, Jason W, et al. Increased BCAR1 predicts poor outcomes of non-small cell lung cancer in multiple-center patients[J]. *Ann Surg Oncol*, 2013, 20 Suppl 3: S701-S708.
- [10] Kim W, Seok Kang Y, Soo Kim J, et al. The integrin-coupled signaling adaptor p130Cas suppresses Smad3 function in transforming growth factor-beta signaling[J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(5): 2135-2146.
- [11] Petti F, Thelemann A, Kahler J, et al. Temporal quantitation of mutant Kit tyrosine kinase signaling attenuated by a novel thiophene kinase inhibitor OSI-930[J]. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4(8): 1186-1197.
- [12] Cabodi S, Moro L, Baj G, et al. p130Cas interacts with estrogen receptor  $\alpha$  and modulates non-genomic estrogen signaling in breast cancer cells [J]. *J Cell Sci*, 2004, 117(8): 1603-1611.
- [13] Celhay O, Yacoub M, Irani J, et al. Expression of estrogen related proteins in hormone refractory prostate cancer: association with tumor progression [J]. *J Urol*, 2010, 184(5): 2172-2178.