

Atg5 与 P504S 在 82 例前列腺癌中的表达研究

杜 雄, 李延新

(延安大学附属医院, 陕西 延安 716000)

摘要: [目的] 探讨 Atg5 与 P504S 在前列腺癌中的表达情况。[方法] 收集前列腺癌 (PCa)、良性前列腺增生症 (BPH) 及前列腺上皮内瘤 (PIN) 的组织标本共 127 例, 其中 PCa 组织标本 82 例, BPH 组织标本 25 例, PIN 组织标本 20 例。采用免疫组化法检测 Atg5 与 P504S 在不同病变组织中的表达情况。[结果] Atg5 与 P504S 在 PCa 组织中的阳性率均显著高于 BPH 及 PIN 组织, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。P504S 的阳性表达程度与病理分级、临床分期以及肿瘤转移有关, 而与患者年龄无关。Atg5 的表达与年龄、病理分级、临床分期以及肿瘤转移均无显著相关性 ($P > 0.05$)。Atg5 与 P504S 在 PCa 组织中的表达呈正相关 ($P < 0.05$)。[结论] Atg5 与 P504S 的异常表达与前列腺癌密切相关, 且 P504S 与前列腺癌进展呈正相关, 在前列腺癌诊断中具有较高的临床价值。

关键词: Atg5; P504S; 前列腺肿瘤; 良性前列腺增生症; 前列腺上皮内瘤

中图分类号: R737.25 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2016)09-0738-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2016.09.B010

Expressions of Atg5 and P504S in 82 Cases with Prostatic Cancer

DU Xiong, LI Yan-xin

(Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an 716000, China)

Abstract: [Objective] To investigate the expressions of Atg5 and P504S in prostatic cancer (PCa) tissues. [Methods] The expressions of Atg5 and P504S were detected immunohistochemically in 82 specimens of PCa tissue, 25 specimens of benign prostatic hyperplasia (BPH) and 20 specimens of prostatic intraepithelial neoplasia (PIN). [Results] Positive rates of Atg5 and P504S in PCa tissues were significantly higher than those in BPH and PIN tissues ($P < 0.05$). Positive expression of P504S was correlated with pathologic grade, clinical stage and tumor metastasis; but not correlated with age of patients. No correlation of Atg5 expression with age, pathologic grade, clinical stage and tumor metastasis were observed ($P > 0.05$). There was positive correlation between Atg5 and P504S in PCa ($P < 0.05$). [Conclusion] Abnormal expressions of Atg5 and P504S are closely related to PCa. P504S has positive correlation with progress of PCa, which may have clinical value in diagnosis of PCa.

Subject words: Atg5; P504S; prostatic neoplasms; benign prostatic hyperplasia; prostatic intraepithelial neoplasia

前列腺癌是男性常见恶性肿瘤, 发病率占男性所有恶性肿瘤第 2 位, 且呈逐年上升趋势^[1]。晚期前列腺癌患者预后较差, 如何进行早期诊断与治疗对于患者预后具有重要意义^[2]。免疫组织化学法一直是诊断恶性肿瘤的重要病理学手段, 具有操作简便、

敏感性高的特点。Atg5 是参与细胞自噬性死亡的重要蛋白, 调控自噬过程可靶向性诱导癌细胞凋亡, 是治疗前列腺癌的新的发展方向。P504S 是一种存在于线粒体和过氧化物酶体中的跨膜蛋白, 该基因部分序列变异与前列腺癌发生具有一定相关性^[3]。本研究通过采用免疫组织化学法检测 Atg5 与 P504S 在前列腺癌、良性前列腺增生及前列腺上皮内瘤组织中的表达, 探讨 Atg5 和 P504S 与前列腺癌发生发

通讯作者: 杜雄, 主治医师, 硕士; 延安大学附属医院病理科, 陕西省延安市宝塔区北大街 43 号 (716000); E-mail: duxiong_2272@sina.com

收稿日期: 2016-04-12; **修回日期:** 2016-05-10

展的关系,以期为前列腺疾病的鉴别诊断提供指导。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收取 2012 年 2 月至 2015 年 6 月延安大学附属医院病理科收集的前列腺癌(PCa)、良性前列腺增生症(BPH)及前列腺上皮内瘤(PIN)的组织标本共 127 例,其中 PCa 组织标本 82 例,BPH 组织标本 25 例,PIN 组织标本 20 例。纳入标准如下:①患者术前均未接受过放疗或化疗等任何形式的抗肿瘤治疗;②具有完整的临床资料;③可获得完整的石蜡病理组织。PCa 患者年龄分布 32~79 岁,平均年龄(67.6±10.2)岁;BPH 患者年龄分布 28~75 岁,平均年龄(65.6±8.9)岁;PIN 患者年龄分布 30~77 岁,平均年龄(66.3±9.3)岁。3 组患者一般资料比较无显著差异($P>0.05$),具有可比性。

1.2 实验方法

本研究使用免疫组化 EnVision 两步法进行实验,相关抗体如下:兔抗人 Atg5 单克隆抗体 Anti-ATG5 antibody(货号:ab108327,Abcam 公司提供),鼠抗人 P504S 单克隆抗体 P504S antibody(2A10F3)(货号 sc-81710,Santa Cruz 公司提供),两种抗体均稀释至 1:200 工作浓度。二抗选择 EnVison Systems(Dako 公司提供)。实验操作严格按照抗体使用说明书进行,并设定阳性对照及阴性对照。阳性对照为已知阳性病理组织切片,阴性对照为不使用一抗,而使用 PBS 液进行孵育。

1.3 结果判断

每张切片取 5 个高倍镜视野进行观察,各计数 200 个细胞,按照染色程度及阳性细胞比例进行结果判断。Atg5 与 P504S 染色均定位于细胞质中,染色程度判断标准为:0 分(无着色)、1 分(浅黄色)、2 分(棕黄色)、3 分(棕褐色);阳性细胞比例判断标

准:1 分(阳性细胞数量超过 10%)、2 分(阳性细胞数量在 10%到 50%之间)、3 分(阳性细胞数量超过 50%)。将染色程度得分与阳性细胞比例得分相乘即为免疫组化结果:0 分(阴性,-),1~3 分(弱阳性,+),4~6 分(阳性,++),7~9 分(强阳性,+++)。

1.4 统计学处理

本研究采用 SPSS18.0 统计学软件进行分析处理,研究结果中计数资料以率的形式进行表示,检验方法选择卡方检验。Atg5 与 P504S 的相关性采用 Spearman 相关分析。假设检验标准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 Atg5 与 P504S 在 PCa、BPH 及 PIN 组织中的表达情况

Atg5 及 P504S 在 PCa 组织中的阳性率分别为 89.02%和 92.68%,显著高于 BPH 及 PIN 中的阳性率,差异有统计学意义($P<0.05$)。将 PIN 进行细分,结果显示,Atg5 在高级别 PIN(HPIN)中阳性率明显高于 BPH 及低级别 PIN(LPIN),与 PCa 相比较无统计学差异($P>0.05$)(Table 1)。

2.2 Atg5、P504S 表达与 PCa 临床病理参数的关系

将 Atg5 及 P504S 的表达情况与 PCa 临床病理参数之间的关系进行了研究,结果显示,P504S 的阳性表达程度与病理分级、临床分期以及肿瘤转移有关,而与患者年龄无关。随着病理分级、临床分期的程度增加以及肿瘤转移,P504S 的阳性表达程度逐渐增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。Atg5 的表达与年龄、病理分级、临床分期以及肿瘤转移均无显著相关性($P>0.05$)(Table 2)。

2.3 PCa 组织中 Atg5 与 P504S 表达的相关性

76 例 P504S 阳性 Pca 患者中 Atg5 阳性 70 例,阴性 6 例;6 例 P504S 阴性 PCa 患者中 Atg5 阳性 3 例,阴性 3 例。Atg5 与 P504S 在 PCa 组织中的表达呈正相关($P<0.05$)(Table 3)。

Table 1 Expression of Atg5 and P504S in PCa,BPH and PIN tissues(%)

Groups	N	Atg5				P504S			
		+	-	χ^2 *	P	+	-	χ^2 *	P
PCa	82	73(89.02)	9(10.98)	-	-	76(92.68)	6(7.32)	-	-
BPH	25	1(4.00)	24(96.00)	64.935	0.000	0	25(100.00)	79.976	0.000
PIN	20	3(15.00)	17(85.00)	46.388	0.000	1(5.00)	20(95.00)	68.483	0.000
LPIN	16	0	16(100.00)	55.836	0.000	0	16(100.00)	66.058	0.000
HPIN	4	3(75.00)	1(25.00)	0.730	0.393	1(25.00)	3(75.00)	18.646	0.000

Note:*,Compared with PCa group.

Table 2 Relationship of Atg5, P504S expression with clinical pathological parameters(%)

Parameters	N	Atg5				χ^2	P	P504S				χ^2	P
		+++	++	+	-			+++	++	+	-		
Age(years old)													
<65	51	12(23.53)	19(37.25)	14(27.45)	6(11.76)	1.153	0.764	13(25.49)	21(41.18)	12(23.53)	5(9.80)	2.379	0.498
≥65	31	10(32.26)	12(38.71)	6(19.35)	3(9.68)			11(35.48)	14(45.16)	5(16.13)	1(3.23)		
Pathology grade													
G ₁	10	2(20.00)	3(30.00)	3(30.00)	2(20.00)	2.364	0.883	0	2(20.00)	5(50.00)	3(30.00)	41.045	0.000
G ₂	29	7(24.14)	11(37.93)	7(24.14)	4(17.24)			5(17.24)	9(31.03)	12(41.38)	3(10.34)		
G ₃	43	13(30.23)	17(39.53)	10(23.26)	3(6.98)			19(44.19)	24(55.81)	0(0.00)	0(0.00)		
Clinical stage													
T ₁ ~T ₂	26	7(26.92)	9(34.62)	7(26.92)	3(11.54)	0.214	0.975	2(7.69)	8(30.77)	13(50.00)	3(11.54)	23.980	0.000
T ₃ ~T ₄	56	15(26.79)	22(39.29)	13(23.21)	6(10.71)			22(39.29)	27(48.21)	4(7.14)	3(5.36)		
Metastasis													
Yes	20	5(25.00)	9(45.00)	4(20.00)	2(10.00)	0.627	0.890	12(60.00)	8(40.00)	0	0	15.999	0.001
No	62	17(27.42)	22(35.48)	16(25.81)	7(11.29)			12(19.35)	27(43.55)	17(27.42)	6(9.68)		

Table 3 Correlations of Atg5 and P504S in PCa tissues

P504S	Atg5		r	P
	+	-		
+	70	6	0.346	0.021
-	3	3		

3 讨论

前列腺癌是一种常见的男性生殖系统恶性肿瘤,在我国发病呈逐年递增趋势。该病病因尚未完全明确,大多数与雄激素有一定关系。目前对于前列腺癌的诊断仍然依赖于病理学诊断结果。前列腺癌病理形态以致密排列的腺泡、大核仁、缺失的腺泡基底细胞以及浸润神经、血管及周围淋巴管为典型表现^[4]。然而多数高分化前列腺癌组织缺乏上述典型表现,与良性前列腺增生组织鉴别较为困难,因此需选择合适的指标进行免疫组化染色,以对前列腺癌与前列腺增生进行鉴别诊断,并且对前列腺癌的发展情况进行辅助判断^[5]。

自噬是真核细胞生物普遍存在的生命现象,在损伤细胞器及老化蛋白质清除、内环境稳态维持、基因组稳定的维护以及防止细胞癌变方面均发挥一定作用^[6]。生理状态下正常的自噬对于抑制肿瘤发生具有重要的意义。然而,随着对自噬机制和功能的不断深入,越来越多的研究表明自噬调控失调与肿瘤发生密切相关。这可能是由于快速生长的肿瘤使机体进入高代谢水平,因此需要以自噬行为来降解自身蛋白来为肿瘤细胞生长提供能量及营养物质^[7]。

现已了解的自噬相关基因已有数十种之多,其中 Atg5 是参与自噬体形成的重要基因之一。其位于人类染色体 6q21 上,可通过与保守蛋白 Atg12 结合形成 Atg12-Atg5 蛋白结合系统,参与自噬体膜形成与延伸^[8]。P504S 是 α -甲酰基辅酶 A 消旋酶,又称为 AMACR,存在于线粒体和过氧化物酶体上,位于人类染色体 5p13 上,与脂肪酸和脂肪酸衍生物的 β 氧化具有一定的关系。在许多研究当中,P504S 被认为与前列腺癌的表达存在相关性,是前列腺癌分子标志物之一^[9]。

本研究结果显示,Atg5 在前列腺癌组织中的表达显著高于良性前列腺增生组织,这与肿瘤微环境中的自噬效应密切相关,提示 Atg5 是鉴别两种疾病的敏感指标。然而在高级别 PIN 时 Atg5 仍出现较高阳性率,这可能是由于此阶段前列腺上皮细胞出现癌性增生所致,也可能与本研究高级别 PIN 病例数量较少有关。Atg5 在不同病理分级或分期的前列腺癌组织中阳性率无显著差异,这可能是由于 Atg5 在前列腺癌早期病变中即可出现高表达,因此随疾病进展阳性表达变化程度并不明显^[10]。此外,本研究中 P504S 在前列腺癌组织中的表达显著高于良性前列腺组织,并且随着肿瘤分期、分级的进展以及转移而呈现高表达。提示 P504S 与前列腺癌疾病进展具有一定关系,推测 P504S 可能是前列腺癌的恶性表型之一,可能反应恶性肿瘤的生物学行为,其高表达可能与恶性程度和预后不良密切相关,该结果提示我们可将 P504S 作为前列腺癌进展的辅助判断指标。然而研究显示,P504S 在高级别 PIN 中也存在不同

程度的阳性表达,低级别 PIN 中则无,说明其升高可能与前列腺恶性肿瘤的发生发展有关,这就要求我们不能仅仅依靠某一类标志物进行检测。对 Atg5、P504S 两种蛋白的相关性分析显示,两种蛋白在前列腺癌组织中的表达呈正相关,提示二者可能在前列腺癌组织的进展中起到协同作用。然而作用机制尚未可知,仍需通过进一步研究及实验进行探讨。

综上所述,Atg5 与 P504S 的异常表达与前列腺癌密切相关,且 P504S 与前列腺癌进展呈正相关,在前列腺癌诊断中具有较高的临床价值。然而要对疾病进行准确诊断,仍然需要采用多种免疫组化标志物联合检测,以弥补单项检测的不足。

参考文献:

- [1] Qu M, Ren SC, Sun YH. New progress in prostate cancer biomarker research[J]. Chinese Journal of Surgery, 2015, 53(4):317-320. [瞿旻,任善成,孙颖浩.前列腺癌肿瘤标志物研究的新进展[J].中华外科杂志,2015,53(4):317-320.]
- [2] Jiang CY, Yu JJ. Progress of micro-environment targeted treatment of prostate cancer [J]. International Journal of Urology and Nephrology, 2015, 35(3):439-443. [姜辰一,俞俊杰.前列腺癌微环境靶向治疗研究进展[J].国际泌尿系统杂志,2015,35(3):439-443.]
- [3] Kuroda N. Application of combined immunohistochemical panel of AMACR (P504S)/p63 cocktail, cytokeratin 5 and D2-40 to atypical glands in prostatic needle biopsy [J]. Malays J Pathol, 2014, 36(3):169-173.
- [4] Vandsemb EN, Bertilsson H, Abdollahi P, et al. Phosphatase of regenerating liver 3(PRL-3) is overexpressed in human prostate cancer tissue and promotes growth and migration [J]. J Transl Med, 2016, 14(1):71.
- [5] Mazzucchelli R, Galosi AB, Santoni M, et al. Role of the pathologist in active surveillance for prostate cancer [J]. Anal Quant Cytopathol Histopathol, 2015, 37(1):65-68.
- [6] Weckman A, Rotondo F, Di Ieva A. Autophagy in endocrine tumors [J]. Endocr Relat Cancer, 2015, 22(4):R205-R218.
- [7] Liu JH, Chen K, Wang T. Recent developments of experimental studies in prostate cancer [J]. Chinese Journal of Experimental Surgery, 2015, 32(12):2923-2927. [刘继红, 谌科, 王涛.前列腺癌的基础研究进展[J].中华实验外科杂志, 2015, 32(12):2923-2927.]
- [8] Zhu FH, Liu YQ, Lou HX. Bisbibenzyl-induced autophagy delays cell death in PC-3 cells [J]. Journal of Shandong University (Health Science), 2013, 51(4):11-17. [祝芳华, 刘永青, 娄红祥.自噬在双联苕类化合物诱导肿瘤细胞凋亡中的作用机制[J].山东大学学报(医学版), 2013, 51(4):11-17.]
- [9] Li X, Li C, Zhu LH. Correlation of autophagy-associated gene Atg5 with tumorigenesis of prostate cancer [J]. National Journal of Andrology, 2015, 21(1):31-34. [李新, 李欣, 朱璐宏.自噬相关基因 Atg5 与前列腺癌发生的相关性分析[J].中华男科学杂志, 2015, 21(1):31-34.]
- [10] Zhang PX, Ai NW, Li M, et al. Role of P504S and Gleason scores in prostate cancer patients with bone metastasis [J]. International Journal of Urology and Nephrology, 2014, 34(4):505-508. [张培新, 艾尼娃, 李鸣, 等.前列腺癌组织中 P504S 表达和 Gleason 评分与骨转移的相关性研究[J].国际泌尿系统杂志, 2014, 34(4):505-508.]

致作者/通讯作者

本刊对所有来稿不收任何形式的审稿费,同行评议审稿所产生的费用由本刊承担。来稿刊登后即给作者/通讯作者通过邮局,以印刷品挂号形式寄赠当期杂志 2 册,如未能及时收到当期杂志,请登录 <http://www.chinaoncology.cn> 在所在杂志页面信息公告栏目中查询该期杂志作者邮寄名单,凭“挂刷号”可在当地邮局查询。因办刊经费困难,从 2016 年起稿酬改为给作者/通讯作者寄赠当期杂志以后的 12 期杂志,每期一册。在此期间,如您的邮寄地址有变化,请及时联系本刊:QQ:729586420,电话/传真:0571-88122280, E-mail:zlxzz04@126.com