

前列腺癌组织中甲基转移样酶 7B 的表达及其临床价值

张 茂, 闻 斌, 周述银, 徐伟峰, 杨 洲, 倪贵生, 周 健

(武警重庆总队医院, 重庆 400060)

摘 要: [目的] 探讨前列腺癌组织中甲基转移样酶 7B (methyltransferase-like 7B, METTL7B) 的表达水平及临床意义。[方法] 选取武警重庆总队医院 89 例前列腺癌组织和 60 例良性前列腺增生组织, 采用免疫组织化学染色法检测 METTL7B 表达, 根据染色结果将前列腺癌患者分为高表达组和低表达组。生存分析采用 Kaplan-Meier 法, 组间生存率比较采用 Log-rank 检验; 采用 Cox 比例风险回归模型分析前列腺癌患者预后的影响因素。[结果] 良性前列腺增生组织低表达 50 例、高表达 10 例; 前列腺癌组织低表达 29 例, 高表达 60 例 ($P < 0.05$)。Ⅲ~Ⅳ期组前列腺癌的 METTL7B 高表达率明显高于 I~Ⅱ期组 ($P < 0.05$)。Gleason 评分 ≥ 8 分组的 METTL7B 高表达率明显高于 < 8 分组 ($P < 0.05$)。淋巴结转移组 METTL7B 高表达率明显高于未转移组 ($P < 0.05$)。METTL7B 低表达组 5 年总生存率为 51.05%, 5 年无生化复发发生率为 46.32%, 明显高于高表达组的 32.41% 和 18.24% (P 均 < 0.05)。TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期 (OR=2.661, 95% CI: 1.409~3.897)、Gleason 评分 ≥ 8 分 (OR=1.872, 95% CI: 1.314~3.008)、淋巴结转移 (OR=1.573, 95% CI: 1.283~2.103) 和 METTL7B 高表达 (OR=3.076, 95% CI: 2.564~4.266) 是前列腺癌患者生存时间较短的独立影响因素 (P 均 < 0.05)。TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期 (OR=1.874, 95% CI: 1.278~2.765)、Gleason 评分 ≥ 8 分 (OR=1.354, 95% CI: 1.004~1.870)、淋巴结转移 (OR=2.001, 95% CI: 1.497~2.775) 和 METTL7B 高表达 (OR=2.897, 95% CI: 2.004~4.555) 是前列腺癌患者无生化复发生存时间较短的独立影响因素 (P 均 < 0.05)。[结论] METTL7B 与前列腺癌的发生和发展有关, 对预后评价有一定价值。

关键词: 前列腺癌; 甲基转移样酶 7B; 预后; 免疫组织化学染色

中图分类号: R737.25 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2021)03-0217-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2021.03.B012

Expression of Methyltransferase-like 7B in Prostate Cancer Tissues and Its Clinical Value

ZHANG Mao, WEN Bin, ZHOU Shu-yin, XU Wei-feng, YANG Zhou, NI Gui-sheng, ZHOU Jian
(Armed Police Chongqing General Hospital, Chongqing 400060, China)

Abstract: [Objective] To explore the expression level and clinical significance of methyltransferase-like 7B (METTL7B) in prostate cancer. [Methods] Immunohistochemical staining was used to detect the expression of METTL7B in 89 samples prostate cancer tissue and 60 samples of benign prostatic hyperplasia tissue. The Kaplan-Meier method was used for survival analysis, and the Log-rank test was used to compare survival rates among groups. The Cox proportional hazards regression model was used to analyze the prognostic factors of prostate cancer patients. [Results] There were 50 cases of benign prostatic hyperplasia with low METTL7B expression and 10 cases with high METTL7B expression, while there were 29 cases with low METTL7B expression and 60 cases with high expression in prostate cancer patients ($P < 0.05$). The high expression rate of METTL7B in stage Ⅲ~Ⅳ prostate cancer was significantly higher than that in stage I~Ⅱ prostate cancer ($P < 0.05$). The high expression rate of METTL7B in patients with Gleason score ≥ 8 was significantly higher than that in patients with Gleason score < 8 ($P < 0.05$). The high expression rate of METTL7B in patients with lymph node metastasis was significantly higher than that in patients without metastasis ($P < 0.05$). The five-year overall survival rate and five-year biochemical relapse-free survival rate of patients with low METTL7B expression were significantly higher than those in patients with high METTL7B expression (51.05% vs. 32.41% and 46.32% vs. 18.24%, respectively; both $P < 0.05$). TNM staging Ⅲ~Ⅳ (OR=2.661, 95% CI: 1.409~3.897), Gleason score ≥ 8 points (OR=1.872, 95% CI: 1.314~3.008), lymph node metastasis (OR=1.573, 95% CI: 1.283~2.103) and high expression of METTL7B (OR=3.076, 95% CI: 2.564~4.266) were independent risk factors for shorter survival time of prostate cancer patients ($P < 0.05$). TNM staging Ⅲ~Ⅳ (OR=1.874, 95% CI: 1.278~2.765), Gleason score ≥ 8 points (OR=1.354, 95% CI: 1.004~1.870), lymph node metastasis (OR=2.001, 95% CI: 1.497~2.775) and the high expression of METTL7B (OR=2.897, 95% CI: 2.004~4.555) were independent factors influencing the shorter survival time of prostate cancer patients without biochemical recurrence (all $P < 0.05$). [Conclusion] METTL7B expression is up-regulated in prostate cancer, and it has certain value in evaluating the prognosis of patients.

Subject words: prostate cancer; methyltransferase 7B; prognosis; immunohistochemical staining

基金项目: 重庆市科委联合基金项目 (2018NA03876)

通信作者: 周健, 主治医师, 本科; 武警重庆总队医院泌尿外科, 重庆市南岸区弹子石卫国路 90 号 (400060);

E-mail: 18983838763 @163.com

收稿日期: 2020-09-16; **修回日期:** 2020-10-09

临床上,前列腺癌根治术可延长患者生存时间,但是术后约有 20%~50% 患者出现生化复发(biochemical recurrence, BCR),而补救性治疗(化疗、放疗或冷冻消融)的效果均不满意^[1]。寻找前列腺癌早期诊治及预后评价的分子生物学指标对改善患者预后具有重要意义。甲基转移样酶(methyltransferase like, METTL)与前列腺癌关系密切^[2-4],METTL 家族成员有多种生物学功能,例如 METTL3、METTL16、METTL2B 和 METTL8 是 RNA 甲基转移酶。METTL7B 也是 METTL 家族成员,位于人类 12 号染色体上,广泛表达在人体各组织。既往研究显示, METTL7B 在甲状腺癌、乳腺癌和肺癌等肿瘤组织中高表达,可促进肿瘤的发展^[5-7]。METTL7B 在前列腺癌中的表达及意义既往少有报道。本研究用免疫组织化学染色法检测前列腺组织中 METTL7B 的表达,对比前列腺癌组织和良性前列腺增生组织中 METTL7B 的表达差异,分析 METTL7B 与前列腺癌临床病理特征与预后的关系,旨在为 METTL7B 的临床应用提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料和样本来源

选取 2012 年 1 月至 2014 年 6 月在武警重庆总队医院手术切除的 89 例前列腺癌组织和 60 例良性前列腺增生组织,术前均未接受放疗或化疗。前列腺癌组年龄 56~81 岁,平均年龄(69.02±8.11)岁;前列腺特异抗原(prostate specific antigen, PSA)平均(31.23±9.09)μg/L;TNM 分期 I 期 18 例, II 期 21 例; III 期 36 例, IV 期 14 例; Gleason 评分平均(9.07±1.23)分;淋巴结转移 28 例。良性前列腺增生组年龄 62~84 岁,平均年龄(70.10±10.89)岁,两组年龄比较无统计学差异($P>0.05$)。术后通过电话和门诊方式对所有前列腺癌患者进行随访,随访时间至 2019 年 6 月。

1.2 免疫组织化学染色法检测 METTL7B 表达

组织石蜡标本均由病理科完成,厚度 4μm。所用试剂盒购于美国 Sigma 公司,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。将石蜡切片在 70℃ 下烤片 30min,随后进行脱蜡处理。用 Tris/EDTA 修复液(上海信帆生物科技股份有限公司)进行抗原修复,羊血

清封闭 30min,加入兔抗人 METTL7B 多克隆抗体(1:1000 稀释,上海科敏生物科技有限公司),4℃ 过夜,加入山羊抗小鼠 IgG,37℃ 孵育 30min。随后 DAB 显色,苏木紫复染。经过脱水、透明、封片处理后在 DSX500 型显微镜(日本 Olympus 公司)下观察。

由两位病理科医师进行独立阅片,两人结果一致则记录结果,如有争议则请第三位医师阅片,以两个相同结果为准。每张切片选择 10 个视野,根据细胞的染色强度及阳性细胞比例判断 METTL7B 表达情况。染色为阴性记 0 分、浅黄色 1 分、棕黄色 2 分、棕褐色 3 分;阳性细胞数为 0%~10% 记 1 分、11%~50% 记 2 分、51%~80% 记 3 分、81%~100% 记 4 分,将两者评分相乘得出最终结果:0 分为阴性;1~3 分为弱阳性;4~8 分为中等阳性;9~12 分为强阳性^[8]。0~3 分为 METTL7B 低表达;4~12 分为 METTL7B 高表达。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 进行统计学分析,两组间计数资料比较用 χ^2 检验;等级资料采用非参数检验;生存分析用 Kaplan-Meier 法,组间生存率比较用 Log-rank 检验;采用 Cox 比例风险回归模型分析影响生存预后的因素。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 METTL7B 在前列腺癌组织中的表达

METTL7B 主要表达于腺上皮细胞的细胞质中(棕色)(Figure 1),前列腺癌组织中 METTL7B 阴性表达率、弱阳性表达率、中等阳性表达率和强阳性表达率分别为 10.11%、22.47%、32.58% 和 34.83%,而良性前列腺增生组织中分别为 43.33%、40.00%、16.67% 和 0。非参数检验结果显示,两组组间表达率比较有统计学差异($Z=-6.655, P<0.001$)(Table 1)。

2.2 METTL7B 与前列腺癌临床病理特征的关系

III~IV 期组前列腺癌的 METTL7B 高表达率为 80.00%,明显高于 I~II 期组(51.28%, $P<0.05$), Gleason 评分 ≥ 8 分组的 METTL7B 高表达率为 76.47%,明显高于 <8 分组(55.26%, $P<0.05$),淋巴结转移组 METTL7B 高表达率为 85.71%,明显高于未转移组(59.02%, $P<0.05$)(Table 2)。

2.3 前列腺癌患者生存时间和无生化复发生存时间的影响因素

METTL7B 低表达组 5 年总生存率为 51.05%，无生化复发生存率为 46.32%，明显高于高表达组的 32.41% 和 18.24% (Log-rank 检验, P 均 <0.05) (Figure 2)。

单因素分析结果显示, 年龄 (OR=1.438, 95%CI: 0.824~1.771)、PSA (OR=1.214, 95%CI: 0.765~1.611) 与前列腺癌患者总体生存时间无关 (P 均 >0.05)。TNM 分期 (OR=3.031, 95%CI: 1.713~4.033)、Gleason 评分 (OR=2.103, 95%CI: 1.404~3.119)、淋巴结转移 (OR=1.642, 95%CI: 1.312~3.086) 和 METTL7B (OR=3.426, 95%CI: 1.640~4.311) 是影响前列腺癌患者总体生存时间的因素 (P 均 <0.05)。

以患者是否生存为因变量, 以 TNM 分期、Gleason 评分、淋巴结转移和 METTL7B 为自变量, 建立 Cox 回归模型, 结果显示 TNM 分期 III~IV 期 (OR=2.661, 95%CI: 1.409~3.897)、Gleason 评分 ≥ 8 分 (OR=1.872, 95%CI: 1.314~3.008)、淋巴结转移 (OR=1.573, 95%CI: 1.283~2.103) 和 METTL7B 高表达 (OR=3.076, 95%CI: 2.564~4.266) 是前列腺癌患者生存时间较短的独立影响因素 (P 均 <0.05) (Table 3)。

以患者是否生化复发为因变量, 以 TNM 分期、Gleason 评分、淋巴结转移和 METTL7B 为自变量, 建立 Cox 回归模型, 结果显示 TNM 分期 III~IV 期 (OR=1.874, 95%CI: 1.278~2.765)、Gleason 评分 ≥ 8 分 (OR=1.354, 95%CI: 1.004~1.870)、淋巴结转移 (OR=2.001, 95%CI: 1.497~2.775) 和 METTL7B 高表达 (OR=2.897, 95%CI: 2.004~4.555) 是前列腺癌患者无

生化复发生存时间较短的独立影响因素 (P 均 <0.05) (Table 4)。

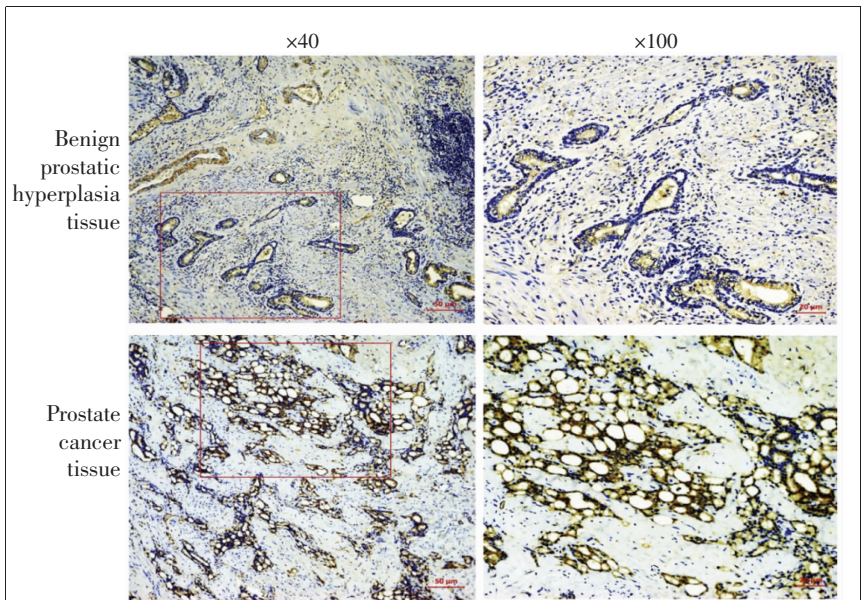


Figure 1 METTL7B expression in tissues (SP staining)

Table 1 METTL7B expression in tissues [n(%)]

Group	N	Low expression		High expression	
		Negative	Weak positive	Moderately positive	Strong positive
Benign prostatic hyperplasia tissue	60	26 (43.33)	24 (40.00)	10 (16.67)	0
Prostate cancer tissue	89	9 (10.11)	20 (22.47)	29 (32.58)	31 (34.83)

Table 2 Relationship between METTL7B and clinicopathological characteristics of prostate cancer [n(%)]

Clinicopathological characteristics	N	High expression (n=60)	Low expression (n=29)	χ^2	P
Age (years old)					
<70	37	22 (59.46)	15 (40.54)	1.825	0.177
≥ 70	52	38 (73.08)	14 (26.92)		
PSA ($\mu\text{g/L}$)					
<10	15	9 (60.00)	6 (40.00)	2.856	0.240
10~20	35	21 (60.00)	14 (40.00)		
>20	39	30 (76.92)	9 (23.08)		
TNM staging					
I~II	39	20 (51.28)	19 (48.72)	8.226	0.004
III~IV	50	40 (80.00)	10 (20.00)		
Gleason score					
<8	38	21 (55.26)	17 (44.74)	4.458	0.035
≥ 8	51	39 (76.47)	12 (23.53)		
Lymph node metastasis					
Yes	28	24 (85.71)	4 (14.29)	6.227	0.013
No	61	36 (59.02)	25 (40.98)		

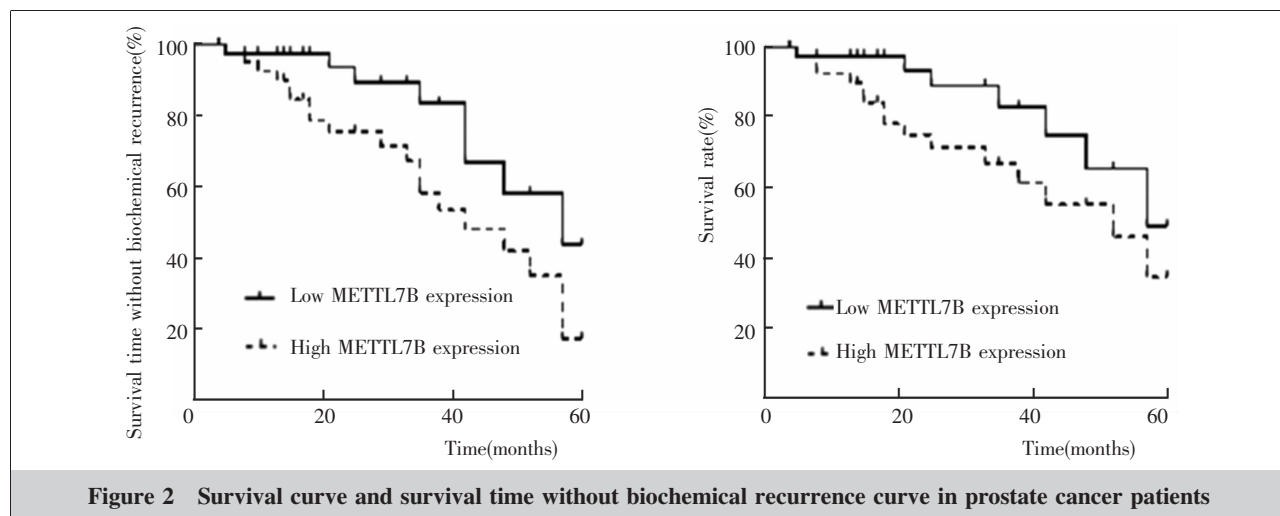


Figure 2 Survival curve and survival time without biochemical recurrence curve in prostate cancer patients

Table 3 Cox multivariate analysis of overall survival time of prostate cancer patients

Factor	B	SE	Wald χ^2	P	HR	95%CI
TNM staging(Ⅲ~Ⅳ/Ⅰ~Ⅱ)	0.572	0.230	9.089	0.003	2.661	1.409~3.897
Gleason score(≥ 8 / <8)	0.211	0.134	5.432	0.025	1.872	1.314~3.008
Lymph node metastasis(Yes/No)	0.301	0.198	3.897	0.032	1.573	1.283~2.103
METTL7B(high expression/low expression)	0.802	0.333	16.765	<0.001	3.076	2.564~4.266

Table 4 Cox multivariate analysis of survival time without biochemical recurrence in prostate cancer patients

Factor	B	SE	Wald χ^2	P	HR	95%CI
TNM staging(Ⅲ~Ⅳ/Ⅰ~Ⅱ)	0.683	0.134	9.034	0.001	1.874	1.278~2.765
Gleason score(≥ 8 / <8)	0.245	0.098	5.231	0.034	1.354	1.004~1.870
Lymph node metastasis(Yes/No)	0.267	0.125	7.999	0.009	2.001	1.497~2.775
METTL7B(high expression/low expression)	0.543	0.208	13.908	<0.001	2.897	2.004~4.555

3 讨论

手术、激素治疗和放疗等对局限性前列腺癌的治疗效果较好,患者5年生存率可达95%,然而一旦发生远处转移或激素非依赖性前列腺癌,患者治疗效果不佳。寻找利于前列腺癌诊治和预后评价的指标是临床及基础研究的重点。METTL7B是METTL家族成员之一,既往研究发现METTL家族成员有多种生物学功能,例如METTL3、METTL16、METTL2B和METTL8是RNA甲基转移酶,在肿瘤的发生发展中起到重要作用^[9-12]。METTL7B是高尔基体相关的甲基转移酶^[13],其在癌症中的作用及相关机制既往少有报道。既往研究发现,METTL7B在甲状腺癌中高表达,对早期诊治和预后判断有一定指导价值^[14]。Ye等^[5]发现,METTL7B可促进TGF- β 1诱导的上皮-间质转化,进而增强甲状腺癌细胞的

迁移和侵袭。在非小细胞肺炎的研究中,Liu等^[7]发现METTL7B可以调控细胞周期,沉默该基因导致G0/G1停滞。另外,METTL7B可作为RhoBTB1的靶分子,促进乳腺癌细胞的增殖和侵袭^[6]。

本研究采用免疫组织化学染色法检测了89例前列腺

癌组织中METTL7B的表达,与良性前列腺增生组织相比,前列腺癌组织中METTL7B阳性表达率明显较高,说明METTL7B可能作为促癌基因在前列腺癌发生发展中发挥作用。本研究发现,Ⅲ~Ⅳ期组前列腺癌的METTL7B高表达率明显高于Ⅰ~Ⅱ期组,Gleason评分 ≥ 8 分组的METTL7B高表达率明显高于 <8 分组,淋巴结转移组METTL7B高表达率明显高于未转移组,提示METTL7B与前列腺癌进展有关。

影响前列腺癌预后的因素有很多,本研究发现,TNM分期、Gleason评分和淋巴结转移是前列腺癌生存预后的独立影响因素,这与既往报道一致^[15-17]。METTL7B与多种肿瘤的预后有关,例如胶质瘤^[18]和甲状腺癌^[5]等。本研究发现,METTL7B低表达组总生存率为51.05%,无生化复发生存率为46.32%,明显高于METTL7B高表达组的32.41%和18.24%,说

明 METTL7B 与前列腺癌预后密切相关。

综上所述,与良性前列腺增生组织相比,前列腺癌组织中 METTL7B 阳性表达率明显较高,METTL7B 与前列腺癌 TNM 分期、Gleason 评分、淋巴结转移和患者生存预后有关,说明 METTL7B 与前列腺癌的发生和发展有关,提示 METTL7B 可能成为前列腺癌的分子生物学指标。

参考文献:

- [1] Grozescu T, Popa F. Prostate cancer between prognosis and adequate/proper therapy[J]. J Med Life, 2017, 10(1): 5-12.
- [2] 李显永, 官润云, 柯坤彬, 等. 甲基转移酶 3 在前列腺癌中的表达及其临床意义[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(1): 75-79.
Li XY, Guan RY, Ke KB, et al. Expression and clinical significance of METTL3 in prostate cancer[J]. The Journal of Practical Medicine, 2019, 35(1): 75-79.
- [3] Gorodetska I, Lukiyanchuk V, Peitzsch C. BRCA1 and EZH2 cooperate in regulation of prostate cancer stem cell phenotype[J]. Int J Cancer, 2019, 145(11): 2974-2985.
- [4] 张磊, 华立新, 成功. 甲基转移酶蛋白 16 对前列腺癌细胞株 22RV1 细胞迁移功能的影响 [J]. 中华实验外科杂志, 2020, 37(2): 290-292.
Zhang L, Hua LX, Chen G. Effect of methyltransferase like protein 16 on migration ability of prostate cancer cell line 22RV1 cells[J]. Chinese Journal of Experimental Surgery, 2020, 37(2): 290-292.
- [5] Ye D, Jiang Y, Sun Y, et al. METTL7B promotes migration and invasion in thyroid cancer through epithelial-mesenchymal transition[J]. J Mol Endocrinol, 2019, 63(1): 51-61.
- [6] McKinnon CM, Mellor H. The tumor suppressor RhoBTB1 controls Golgi integrity and breast cancer cell invasion through METTL7B[J]. BMC Cancer, 2017, 17(1): 145.
- [7] Liu D, Li W, Zhong F, et al. METTL7B is required for cancer cell proliferation and tumorigenesis in non-small cell Lung cancer[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 178.
- [8] Huang Y, Jiang G, Liang X, et al. Elevated expression of PTC3 correlates with tumor progression and predicts poor prognosis in patients with prostate cancer[J]. Mol Med Rep, 2018, 18(4): 3914-3922.
- [9] Deng X, Su R, Weng H, et al. RNA N(6)-methyladenosine modification in cancers: current status and perspectives[J]. Cell Res, 2018, 28(5): 507-517.
- [10] Li T, Hu PS, Zuo Z, et al. METTL3 facilitates tumor progression via an m(6)A-IGF2BP2-dependent mechanism in colorectal carcinoma[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 112.
- [11] Nance DJ, Satterwhite ER, Bhaskar B, et al. Characterization of METTL16 as a cytoplasmic RNA binding protein [J]. PLoS One, 2020, 15(1): e0227647.
- [12] Zhang LH, Zhang XY, Hu T, et al. The SUMOylated METTL8 induces R-loop and tumorigenesis via m3C[J]. iScience, 2020, 23(3): 100968.
- [13] Wu CC, MacCoss MJ, Mardones G, et al. Organellar proteomics reveals Golgi arginine dimethylation[J]. Mol Biol Cell, 2004, 15(6): 2907-2919.
- [14] Cai WY, Chen X, Chen LP, et al. Role of differentially expressed genes and long non-coding RNAs in papillary thyroid carcinoma diagnosis, progression, and prognosis[J]. J Cell Biochem, 2018, 119(10): 8249-8259.
- [15] 武有志. 前列腺癌组织 B7-H4 蛋白表达水平及其与患者不良预后的关系[J]. 东南大学学报(医学版), 2019, 38(1): 103-108.
Wu YZ. Expression of B7-H4 in prostate cancer tissue and its clinical significance [J]. Journal of Southeast University(Medical Science Edition), 2019, 38(1): 103-108.
- [16] Zhou J, Yang X, Song P, et al. HOXC6 in the prognosis of prostate cancer[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2019, 47(1): 2715-2720.
- [17] Weidemann SA, Sauer C, Luebke AM, et al. High-level expression of protein tyrosine phosphatase non-receptor 12 is a strong and independent predictor of poor prognosis in prostate cancer[J]. BMC Cancer, 2019, 19(1): 944.
- [18] 康鹏, 原林皓, 彭嘉宜, 等. 甲基转移酶样 7B 在中国人群胶质瘤中的表达及预后分析[J]. 中华神经外科杂志, 2020, 36(6): 587-592.
Kang P, Yuan LH, Peng JY, et al. Expression and prognostic characteristics of methyltransferase-like 7B in Chinese glioma patients[J]. Chinese Journal of Neurosurgery, 2020, 36(6): 587-592.