

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.11.006

Ebp1、雄激素受体在前列腺癌中表达及相关性研究

唐显力, 邓远忠, 刘朝东, 刘尊亮

(重庆医科大学第一附属医院泌尿外科, 重庆 400016)

【摘要】目的: 检测良性前列腺增生(Benign prostatic hyperplasia, BPH)和前列腺癌(Prostate cancer, PCa)中 Ebp1 (ErbB-3 binding protein, Ebp1)和雄激素受体(Androgen receptor, AR)的表达, 并分析其与 PCa 分级、前列腺特异性抗原(Prostate specific antigen, PSA)水平、分期的相互关系。方法: 21 例 BPH, 55 例 PCa, 采用免疫组织化学(SP 法)检测 Ebp1、AR 的表达情况, 并分析二者在 BPH、PCa 中的表达关系, 二者表达与 PCa 的病理分级、术前 PSA 水平、临床分期的关系。结果: PCa 组织中 Ebp1 的阳性表达明显低于 BPH 组织($P < 0.05$), BPH、PCa 组织中 AR 的阳性表达无明显差异($P > 0.05$), PCa 组织中 Ebp1、AR 的表达与病理分级、临床分期密切相关($P < 0.05$), 与 PSA 值无明显关系($P > 0.05$); PCa 组织中 Ebp1、AR 在的表达存在正相关关系($P < 0.05$)。结论: Ebp1 表达在 BPH、PCa 组织中有差异性, Ebp1 可以作为诊断前列腺癌的一个潜在指标; 随着 PCa 进展 AR、Ebp1 表达逐步减少, 二者的表达存在正相关关系, 两者结合可作为 PCa 预后评价的指标。

【关键词】前列腺癌; Ebp1; 雄激素受体; 免疫组织化学

【中国图书分类法分类号】R737.25

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-03-11

Expressions and correlations of Ebp1 and androgen receptor in prostate cancer

TANG Xianli, DENG Yuanzhong, LIU Chaodong, LIU Zunliang

(Department of Urology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To detect the expressions of Ebp1 and androgen receptor (AR) in benign prostatic hyperplasia (BPH) and prostate cancer (PCa) and to analyze their relationship with pathological grade of PCa, level of prostate specific antigen (PSA) and clinical stage. Methods: The expressions of Ebp1 and AR in 21 specimens of BPH and 55 specimens of PCa were detected by immunohistochemistry. The differences of Ebp1 and AR expressions in BPH and PCa at different clinical stages, preoperative PSA levels, pathological grades of PCa were analyzed and their correlations were studied. Results: The positive rate of Ebp1 was significantly higher in PCa than in BPH tissues ($P < 0.05$), and that of AR showed no significant differences between BPH and PCa groups ($P > 0.05$). Both the expressions of Ebp1 and AR were closely related with the pathological grade and clinical stage of PCa ($P < 0.05$), but not with PSA level ($P > 0.05$). There was a positive correlation between expressions of Ebp1 and AR in PCa tissues ($P < 0.05$). Conclusions: Ebp1 is expressed differently in BPH and PCa. Ebp1 might become an indicator for the differential diagnosis of PCa. With the

作者介绍: 唐显力 (1987-), 男, 硕士,
研究方向: 前列腺癌。

通信作者: 邓远忠, 男, 副教授, Email: dyzh4734@sina.com。

基金项目: 重庆市卫生局医学科学技术研究面上资助项目 (编号:
2009-2-347)。

progression of PCa, the expressions of AR and Ebp1 are gradually reduced, with positive correlation between them, which could be used jointly to evaluate the prognosis of PCa.

【Key words】prostate cancer; Ebp1; androgen receptor; immunohistochemistry

Su L, Xiu L L, Xiao H P. Inflammation—a common denominator in obesity and insulin resistance[J]. International Journal of Endocrinology and Metabolism, 2008, 28(6): 410–412.

[10] Kalra S P, Dube M G, Pu S, et al. Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight[J]. Endocr Rev, 1999, 20(1): 68–100.

[11] Hotamisligil G S. The role of TNF- α and TNF receptors in obesity and insulin resistance[J]. J Intern Med, 1999, 245(6): 621–625.

[12] Goldfine A B, Silver R, Aldhahi W, et al. Use of salsalate to target inflammation in the treatment of insulin resistance and type 2 diabetes[J]. Clin Transl Sci, 2008, 1(1): 36–43.

[13] Araújo E P, De Souza C T, Ueno M, et al. Infliximab restores glucose homeostasis in an animal model of diet induced obesity and diabetes[J]. Endocrinology, 2007, 148(12): 5991–5997.

(责任编辑: 冉明会)

前列腺癌(Prostate cancer, PCa)是欧美国家最常见的恶性肿瘤之一^[1],在我国 PCa 的发病率也呈逐渐上升趋势^[2],对 PCa 的研究是当前的热点之一。目前研究表明, Ebp1(ErbB-3 binding protein, Ebp1)是新发现的一种存在于细胞膜区的蛋白质,它是属于 PA2G4 家族的一种 Ebp1,可能通过作用于细胞增殖和基因表达调控而影响肿瘤的生长^[3]。雄激素受体(Androgen receptor, AR)位于前列腺腺上皮细胞的细胞核内,与 PCa 的发生、发展中关系密切,是雄激素代谢及产生作用的中心环节之一^[4]。本研究通过检测及比较人良性前列腺增生(Benign prostatic hyperplasia, BPH)及 PCa 组织中 Ebp1、AR 表达水平,探讨二者在 PCa 发生、发展中的意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象

对照组 BPH 选自 2006–2010 年重庆医科大学附属第一医院泌尿外科住院患者行前列腺切手术的石蜡包埋标本,共计 21 例,年龄 57~76 岁,平均年龄 68 岁。纳入标准:病例资料完整,经病理诊断确诊为 BPH。排除标准:有其他基础系统疾病。

实验组 PCa 选自 2006–2010 年重庆医科大学附属第一医院泌尿外科住院患者行前列腺手术石蜡包埋标本,共计 55 例,年龄 58~93 岁,平均年龄 72 岁。使用 Gleason 评分法进行分级,其中 Gleason 评分 ≥ 7 分 21 例,属于中低分化癌; Gleason 评分 < 7 分 34 例,属于高分化癌。使用 Jewett Whitmore Prout 分期系统方法对 55 例 PCa 进行分期,18 例为 A~C 期,26 例为 D 期,11 例具体分期不详。术前血清前列腺特异性抗原(Prostate specific antigen, PSA) < 10 ng/ml 10 例, ≥ 10 ng/ml 45 例。纳入标准:病理诊断为 PCa,病例资料完整。排除标准:标本取材前已行手术去势或 PCa 内分泌治疗,有其他基础系统疾病。

1.2 主要试剂

一抗均为浓缩型兔抗人多克隆抗体,其中 Ebp1 购自英国 Abcam 公司,AR 购自北京博奥森生物工程有限公司;SP 法试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 实验方法

免疫组织化学(SP 法)严格按照试剂盒操作说明进行,经过预实验确定, Ebp1 抗体稀释比例为 1:100, AR 抗体稀释比例为 1:50。每个病理标本切片 4 张,分别做常规苏木精-伊红染色,以 PBS 液代替一抗做免疫组化染色、Ebp1 免疫组化染色、AR 免疫组化染色。所有切片集中染色,以减少误差。

1.4 结果判定

染色结果标准参照 Sinicrope 等^[5,6]半定量积分法: Ebp1

阳性表达在胞浆、胞膜,于光学显微镜下见细胞胞浆、胞膜出现棕黄色或棕褐色为阳性细胞, AR 阳性表达在细胞核,于光学显微镜下见细胞核呈棕黄色或棕褐色为阳性细胞。判定标准:每张切片随机选取 5 个高倍视野($400\times$),每个视野计数 100 个细胞中的阳性细胞数取其平均值,根据阳性细胞百分比进行评分(a): $< 10\%$ 计 0 分, $10\% \sim 25\%$ 计 1 分, $25\% \sim 50\%$ 计 2 分, $> 50\%$ 计 3 分。染色程度评分(b):无着色计 0 分,浅黄色计 1 分,棕黄色计 2 分,棕褐色计 3 分。a+b 得分 0~2 分者为阴性表达, 3~6 分者为阳性表达。切片均经同一病理学医师实行盲法评判。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 16.0 统计软件包。各组计数资料采用 χ^2 检验; Ebp1、AR 蛋白表达的相关性用 Spearman 等级相关分析; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Ebp1、AR 在 BPH、PCa 组织中的表达

具体内容详见表 1 和图 1~4。

表 1 Ebp1、AR 在 BPH 和 PCa 组织中的表达

组别	例数(n)	Ebp1阳性[n(%)]	AR阳性[n(%)]
BPH	21	17(80.1)	10(47.6)
PCa	55	30(54.5)	28(50.9)
P 值		0.034	0.797

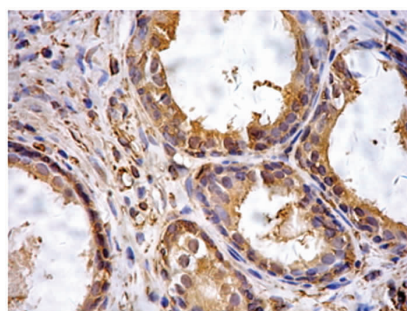


图 1 Ebp1 在 BPH 中的表达 (400 $\times$)

Fig.1 Expressions of Ebp1 in BPH (400 $\times$)

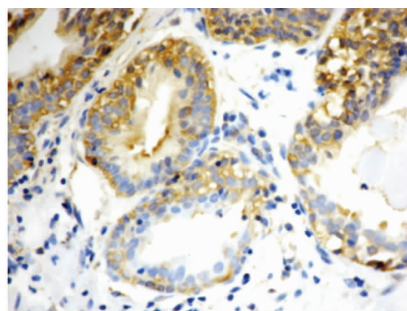


图 2 Ebp1 在 PCa 中的表达 (400 $\times$)

Fig.2 Expressions of Ebp1 in PCa (400 $\times$)

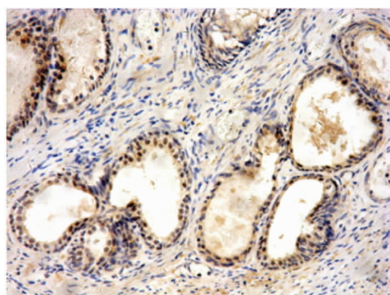


图3 AR在BPH中的表达(400×)

Fig.3 Expressions of AR in BPH (400×)

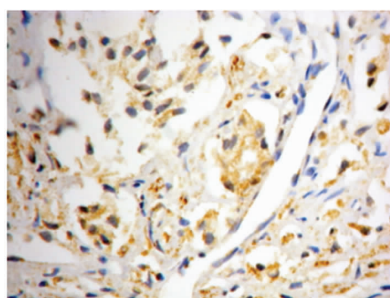


图4 AR在PCa中的表达(400×)

Fig.4 Expressions of AR in PCa (400×)

2.2 Ebp1、AR在不同临床分期的PCa组织中的表达
具体内容详见表2。

表2 Ebp1、AR在不同临床分期PCa组织中的表达

Tab.2 Expressions of Ebp1 and AR in PCa tissues at different clinical stages

临床分期	例数(n)	Ebp1阳性[n(%)]	AR阳性[n(%)]
PCa(A~C期)	18	13(72.2)	12(66.7)
PCa(D期)	26	10(38.5)	9(34.6)
P值		0.027	0.036

2.3 Ebp1、AR在不同病理分级的PCa组织中表达
具体内容详见表3。

表3 Ebp1、AR在不同病理分级PCa组织中的表达

Tab.3 Expressions of Ebp1 and AR in PCa tissues with different pathological grades

病理分级	例数(n)	Ebp1阳性[n(%)]	AR阳性[n(%)]
中低分化	21	7(33.3)	5(23.8)
高分化	34	23(67.6)	20(58.8)
P值		0.013	0.011

2.4 Ebp1、AR在不同PSA值的PCa组织中的表达
具体内容详见见表4。

表4 Ebp1、AR在不同PSA值的PCa组织中的表达

Tab.4 Ebp1 and AR expressions in PCa tissues with different PSA values

组别*	例数(n)	Ebp1阳性[n(%)]	AR阳性[n(%)]
低危组	10	6(60.1)	6(60.0)
中高危组	45	24(53.3)	22(48.9)
P值		0.702	0.525

注:*,术前血清PSA<10 ng/ml为低危组,≥10 ng/ml为中高危组

2.5 Ebp1、AR在PCa中表达的相关性分析

使用Spearman等级相关分析,Ebp1和AR在人PCa组织中的表达成正相关关系($r_s=0.451, P=0.023$)。

3 讨论

Ebp1是一种存在于细胞膜区的ErbB-3结合蛋白,Ebp1参与PCa的发生可能是通过作用于细胞增殖和基因表达调控^[7]。Ebp1与ErbB-3在受到某些因素刺激后分离,ErbB-3阳性表达的PCa、乳腺癌细胞会受到异位表达的Ebp1抑制其增殖并可诱导其细胞分化^[8]。Ebp1通过调控与细胞周期相关的基因而抑制细胞增殖^[9]。有研究发现通过转染Ebp1基因到在表达ErbB-2/ErbB-3的口腔鳞状细胞癌Tca 8113中,能明显抑制Tca 8113的生长、分裂、增殖水平,这表明Ebp1有抑制肿瘤细胞生长增殖的作用^[10]。本研究结果显示,在BPH组织阳性表达率为80.1%,Ebp1在PCa组织中阳性表达率为54.5%,Ebp1表达水平明显降低($P<0.05$),提示Ebp1可能有抑制PCa生长的作用,与上述在细胞中的研究结果相一致。本研究显示在PCa中,Gleason评分与Ebp1表达水平呈负相关($P<0.05$),提示Ebp1表达与肿瘤恶性程度有相关性。另外,本研究发现Ebp1在A~C期PCa组织中的阳性表达率为72.2%,在D期PCa组织中阳性表达率为38.5%;随PCa进展Ebp1表达降低($P<0.05$),提示Ebp1在PCa的发展和侵袭中起重要作用。在不同PSA值分组的PCa组织中,Ebp1表达无差异性($P>0.05$),目前PCa PSA水平与肿瘤分化、分期尚无统一意见。综上所述,Ebp1在PCa组织的表达降低,提示在PCa的发展中Ebp1可能发挥着重要作用,为临床诊断、治疗PCa提供了新的思路。

AR在BPH、PCa的发生、发展中起着重要的作用,与雄激素代谢密切相关。各种激素反应性和不同临床分期的PCa发展均需要AR发挥重要作用。雄激素必须通过AR介导才能对靶器官产生作用,雄激素促进PCa细胞的增殖必须通过AR介导发挥作用^[11]。本研究BPH组织中AR的阳性表达率为47.6%,PCa组织中AR的阳性表达率为50.9%,二者之间表达无明显差异($P>0.05$)。这与姜涛等^[12]的报道一致,良性BPH和PCa之间AR表达量的变化无明显差异,说明前列腺组织中AR作用的比较复

杂。在进行内分泌治疗 12~18 个月后,晚期 PCa 患者的肿瘤再次出现生长,表现出雄激素非依赖性,导致雄激素非依赖性的机制还不明确,但目前认为 AR 在此过程中发挥重要作用^[13]。本研究显示,中低分化 PCa 中 AR 阳性表达率为 23.8%;高分化 PCa 中 AR 阳性表达率为 58.8%,随着 PCa 肿瘤细胞恶性程度增高,AR 表达水平逐渐降低;A~C 期 PCa 中 AR 阳性表达率为 66.7%,D 期中 AR 阳性表达率为 34.6%,说明 AR 表达水平随着 PCa 进展逐渐降低 ($P<0.05$)。因此提示在 PCa 的发展和侵袭中 AR 起着重要作用。

肿瘤的发展是多种因素共同作用的结果,PCa 的发展难以用单一因素解释。本研究发现在 PCa 中 Ebp1 和 AR 的表达成正相关($r_s=0.451, P<0.05$)。有研究发现 Ebp1 可调节雄激素受体的活性,Ebp1 可与 AR 结合,而雄激素促进两者的结合,Ebp1 的 C 端 79 个氨基酸与 AR 的 N-端结合;在瞬时转染系统中,Ebp1 的异位表达可以抑制配体介导 AR 启动子的转录激活,Ebp1 的异位表达抑制 AR 阳性 LNCaP 细胞的生长^[14],Ebp1 能够抑制 AR 在去势抵抗性 PCa 中的翻译^[15]。因此可以推测,Ebp1 与 AR 有密切关系,并进一步影响 PCa 的发生及发展,这种关系有赖于后续研究来阐明。Ebp1、AR 与 PCa 的发展、侵袭有密切关系,可以作为判断 PCa 预后的重要生物学指标。

参 考 文 献

- [1] Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics, 2010[J]. CA Cancer J Clin, 2010, 60(5): 277-300.
- [2] 那彦群, 孙 光. 中国泌尿外科疾病诊断治疗指南[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 47-75.
- [3] Na Y Q, Sun G. Chinese urological diseases diagnosis and treatment guidelines[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2009: 47-75.
- [3] Lessor T J, Yoo J Y, Xia X, et al. Ectopic expression of the ErbB-3 binding protein Ebp1 inhibits growth and induces differentiation of human breast cancer cell lines[J]. J Cell Physiol, 2000, 183(3): 321-329.
- [4] Waltering K K, Helenius M A, Sahu B, et al. Increased expression of androgen receptor sensitizes prostate cancer cells to low levels of androgens[J]. Cancer Res, 2009, 69(20): 8141-8149.
- [5] Kawasaki H, Altieri D C, Lu C D, et al. Inhibition of apoptosis by survivin predicts shorter survival rates in colorectal cancer[J]. Cancer Res, 1998, 58(22): 5071-5074.
- [6] Robnett T J, Whittington R, Malkowicz S B, et al. Long-term use of combined radiation therapy and hormonal therapy in the management of stage D1 prostate cancer[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2002, 53(5): 1146-1151.
- [7] Xia X, Lessor T J, Zhang Y, et al. Analysis of the expression pattern of Ebp1, an ErbB-3-binding protein[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 289(1): 240-244.
- [8] Zhang Y, Hamburger A W. Specificity and heregulin regulation of Ebp1 (ErbB3 binding protein 1) mediated repression of androgen receptor signalling[J]. Br J Cancer, 2005, 92: 140-146.
- [9] Yu Y C, Chen W T, Zhang Y X, et al. Suppression of salivary adenoid cystic carcinoma growth and metastasis by ErbB3 binding protein Ebp1 gene transfer[J]. International Journal of Cancer, 2007, 120(9): 1909-1913.
- [10] 余优成, 张志愿, 陈万涛, 等. ErbB-3 结合蛋白 Ebp1 Tca 8113 细胞生长增殖的影响[J]. 上海第二医科大学学报, 2005, 12(2): 334-336.
- Yu Y C, Zhang Z Y, Chen W T, et al. ErbB-3 binding protein Ebp1 inhibits the growth of Tca8113 cells[J]. Academic Journal of Shanghai Second Medical University, 2005, 12(2): 334-336.
- [11] Lu M L, Schneider M C, Zheng Y, et al. Caveolin-1 interacts with androgen receptor. A positive modulator of androgen receptor mediated transactivation[J]. J Biol Chem, 2001, 276(16): 13442-13451.
- [12] 姜 涛, 李先承, 宋希双, 等. 雄激素受体在前列腺癌中表达和意义的探讨[J]. 中国男科学杂志, 2005, 19(6): 29-32.
- Jiang T, Li X C, Song X S, et al. The expressions and clinical significances of AR in prostate carcinoma[J]. Chinese Journal of Andrology, 2005, 19(6): 29-32.
- [13] Haag P, Bektic J, Bartsch G, et al. Androgen receptor down regulation by small interference RNA induces cell growth inhibition in androgen sensitive as well as in androgen independent prostate cancer cells[J]. Steroid Biochem Mol Biol, 2005, 96(3-4): 251-258.
- [14] Zhang Y, Akinmade D, Hamburger A W. The ErbB3 binding protein Ebp1 interacts with Sin3A to repress E2F1 and AR-mediated transcription[J]. Nucleic Acids Res, 2005, 33(18): 6024-6033.
- [15] Zhou H, Zhang Y X, Anne W H. Ebp1 inhibits translation of androgen receptor mRNA in castration resistant prostate cancer cells[J]. Anticancer Res, 2011, 31(10): 3129-3136.

(责任编辑: 关蕴良)