

组织学炎症在前列腺癌上皮间质转化中的作用

陈先国 梁朝朝 郝宗耀 周 骏 樊 松 张开平 张阳阳 骆广跃 张礼刚

摘要 目的 探讨组织学慢性前列腺炎在前列腺癌上皮间质转化(EMT)中的作用。方法 回顾性分析 17 例前列腺癌及 25 例组织学慢性前列腺炎合并前列腺癌患者临床资料,比较两组患者前列腺特异抗原(PSA)、Gleason 评分和转移情况,免疫组化法分析上皮型钙黏附蛋白(E-cadherin)、神经型钙黏附蛋白(N-cadherin)、 β -链蛋白(β -catenin)、波形蛋白(Vimentin)在两组患者中的表达情况。结果 前列腺癌患者的前列腺特异抗原(PSA)、Gleason 评分和转移率均明显低于前列腺癌合并组织学炎症患者($P < 0.01$);免疫组化结果显示前列腺癌组患者 E-cadherin 和 β -catenin 的表达显著高于前列腺癌合并组织学炎症组患者($P < 0.01$);前列腺癌组患者 N-cadherin 和 Vimentin 的表达显著低于前列腺癌合并组织学炎症组患者($P < 0.01$)。结论 组织学慢性前列腺炎对前列腺癌的 PSA、Gleason 评分和转移率均有显著的影响,促进前列腺癌 EMT 的发展。

关键词 前列腺癌;上皮间质转化;慢性前列腺炎
中图分类号 R 697

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2015)11-1677-04

前列腺癌是西方男性常见的恶性肿瘤,据 2010 年美国癌症学会统计,前列腺癌目前在美国发病率居男性恶性肿瘤之首。在我国,随着人们生活习惯的改变、人口的老龄化和前列腺筛查的开展,前列腺癌的发病率也在逐年上升。由于西方国家开展前列腺特异抗原(prostate specific antigen,PSA)筛查,发现前列腺癌主要是在早期,而我们国家由于还没有普及前列腺癌筛查,在临床上主要是晚期前列腺癌。晚期前列腺癌主要是以侵袭转移为特征,因此如何阻止前列腺癌发生发展是临床上面临的主要问题。该研究主要探讨组织学炎症在前列腺癌上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)中的作用,为前列腺癌的治疗提供一定的理论依据。

2015-05-25 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号:81470986、81170698、81370856);教育部博士点基金(编号:20113420110003);安徽省自然科学基金(编号:1208085MH138)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院泌尿外科,合肥 230022

作者简介: 陈先国,男,博士,主治医师;

梁朝朝,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: liang_chaozhao@163.com

1 材料与方法

1.1 标本及主要试剂 选取安徽医科大学第一附属医院病理科 2008 年~2012 年 42 例前列腺癌组织蜡块,均诊断为前列腺癌。分为前列腺癌合并组织学慢性前列腺炎组(25 例)和前列腺癌组(17 例)。上皮型钙黏附蛋白(E-cadherin)、神经型钙黏附蛋白(N-cadherin)、 β -链蛋白(β -catenin)、波形蛋白(Vimentin)兔抗人抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法 采用 SP 免疫组化法,染色步骤按说明书进行:组织切片脱蜡、梯度酒精脱水;微波炉抗原修复; H_2O_2 去除内源性过氧化物酶活性;滴加兔抗人 E-cadherin、N-cadherin、 β -catenin 和 Vimentin 抗体(1:400), $37^\circ C$ 恒温孵育 1 h;PBS 冲洗 3 次,每次 5 min;滴加生物素标记二抗,DAB 显色,苏木精复染,中性树胶封固、镜检。

1.3 结果判断 在高倍镜下,对每张切片随机选择 10 个视野,凡细胞膜及细胞质出现棕黄色颗粒的细胞计为阳性细胞。将阳性细胞所占百分比进行评分:0 分:0%;1 分: < 10%;2 分: 10%~50%;3 分: > 50%。将细胞染色强弱进行评分:0 分:细胞质/细胞膜上无棕黄色颗粒;1 分:细胞质/细胞膜上有淡棕黄色颗粒;2 分:细胞质/细胞膜上有染色较清晰的棕黄色颗粒,染色介于强弱之间;3 分:细胞质/细胞膜上有大量深棕黄色颗粒。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 11.0 进行统计学分析,计数资料采用 t 检验,率的检验采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 两组患者 PSA、Gleason 评分和转移情况 前列腺癌组患者 PSA(23.6 ± 8.7) ng/ml,与前列腺癌合并组织学炎症组 PSA(41.2 ± 13.5) ng/ml 相比较,差异有统计学意义($P < 0.01$);前列腺癌组患者 Gleason 评分(6.76 ± 0.045) 分,与前列腺癌合并组织学炎症组 Gleason 评分(7.12 ± 0.038) 相比较,差异有统计学意义($P < 0.01$);前列腺癌组患者发生淋巴结或骨转移有 3 例,而前列腺癌合并组织学炎症组患者发生淋巴结或骨转移有 14 例,两组患者发生转移

率差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 两组患者 PSA、Gleason 评分和转移情况

| 组别 | n | PSA (ng/ml) | Gleason 评分 | 转移率 [n(%)] |
|----------|----|----------------|---------------|-----------------|
| 前列腺癌 | 17 | 23.6 ± 8.7 | 6.76 ± 0.045 | 3(17.64) |
| 前列腺癌合并炎症 | 25 | 41.2 ± 13.5* | 7.12 ± 0.038* | 14(56.00)* |

与前列腺癌组比较: * $P < 0.05$

2.2 两组患者 E-cadherin、 β -catenin、N-cadherin、Vimentin 的表达 免疫组化结果显示前列腺癌组患者 E-cadherin 和 β -catenin 的表达显著高于前列腺癌合并组织炎症组患者($P < 0.01$);前列腺癌组

患者 N-cadherin 和 Vimentin 的表达显著低于前列腺癌合并组织炎症组患者($P < 0.01$)。见图 1、图 2。

3 讨论

大量研究^[1-2]认为慢性炎症与肿瘤关系密切,如肝炎与肝癌、结肠炎与结肠癌、慢性胃炎与胃癌等。此外,在流行病学、病理学、病原学等方面也证明慢性前列腺炎促进前列腺癌的发生发展。Daniels et al^[3]对患有前列腺炎和前列腺癌的病史患者进行分析,发现慢性前列腺炎对前列腺癌的发生发展呈明显的正相关性,并且慢性前列腺炎病史是前列

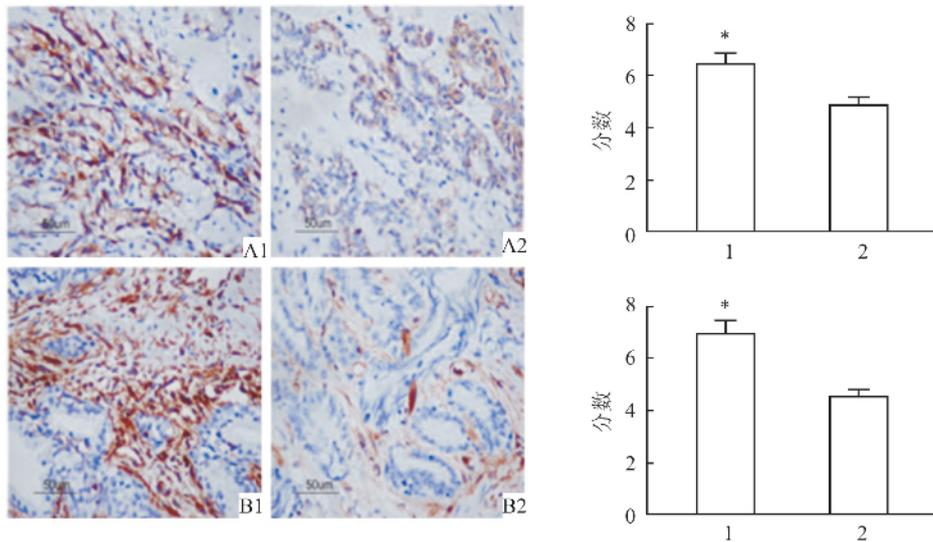


图 1 E-cadherin 和 β -catenin 在两组患者中的表达

A: E-cadherin; B: β -catenin; 1: 前列腺癌组; 2: 前列腺癌合并炎症组; 与前列腺癌合并炎症组比较: * $P < 0.05$

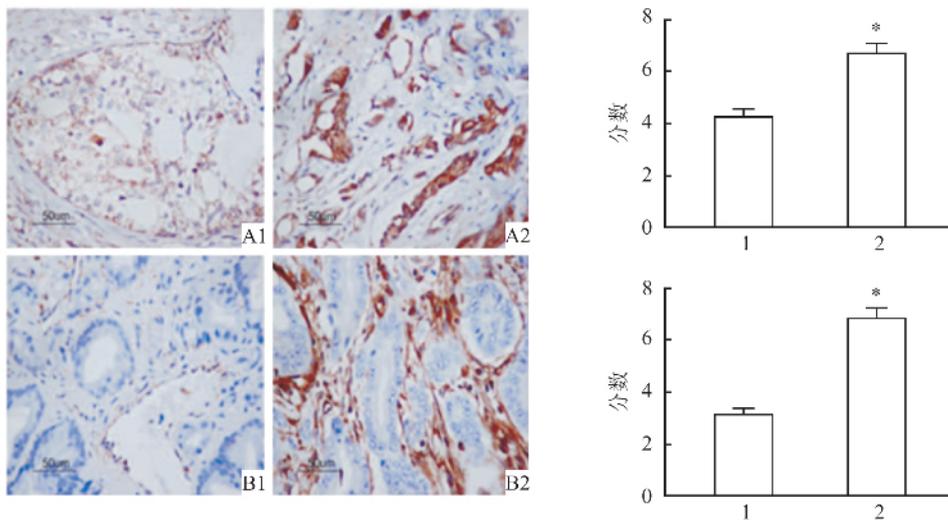


图 2 N-cadherin 和 Vimentin 在两组患者中的表达

A: E-cadherin; B: β -catenin; 1: 前列腺癌组; 2: 前列腺癌合并炎症组; 与前列腺癌组比较: * $P < 0.05$

腺癌的危险因素,炎症刺激时间越长,患癌症的风险可能越高^[4]。观察到伴有腺上皮细胞或基质的萎缩,即为增生性炎性萎缩。研究^[5]显示,在慢性前列腺组织中有大量炎性细胞,产生有毒性的活性氧导致组织损伤,长期受到损伤前列腺上皮细胞发生增生性萎缩,主要发生在外周带,这与前列腺癌好发于外周带是一致的,增生性萎缩可能会发展成上皮细胞瘤变,最后转变成前列腺癌。本研究显示前列腺癌合并组织炎症组 PSA、Gleason 评分及转移率明显高于前列腺癌组,说明炎症促进了前列腺癌的发展。

EMT 是上皮细胞在一定诱因下转化为间质细胞的过程中获得其相应的功能,通常伴随着上皮属性 E-cadherin 和 β -catenin 的下降,而间质属性如 Vimentin 和 N-cadherin 表达升高,以及细胞间紧密连接的丧失,细胞骨架形成,细胞迁移能力增强^[6]。随后越来越多的研究^[7-8]证实 E-cadherin 和 β -catenin 在高危、转移淋巴结及有远处转移的前列腺癌中表达降低,同时伴有间质特性的 Vimentin 和 N-cadherin 表达增高^[9],进一步证实了 EMT 过程的确存在于前列腺癌侵袭转移过程中。

在前列腺慢性炎症刺激下,很多炎症因子如白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白介素-1(IL-1)表达升高,激活肿瘤坏死因子- β (TNF- β)、核转录因子 kappa B(NF- κ B)和信号转导与转录活化因子(STATs) STAT3 等信号通路,进而调节 EMT 相关转录因子,下调上皮标志物 E-cadherin 和 β -catenin 的表达,上调间质标志物 Vimentin 和 N-cadherin 表达。IL-6 激活 AKT 调控细胞的生长、存活和细胞周期,促进肿瘤的发生,维持肿瘤持续的生长状态^[10]。主要途径包括 IL-6-JAK-STAT3 和 IL-6-PI3K-AKT 信号通路,STAT3 与雄激素受体的表达和作用密切相关,STAT3 可以促进 STAT3 和 AR 相互作用形成 AR-STAT3 复合物,增加表皮生长因子诱导的 AR 转录激活,从而促进前列腺癌 EMT^[11]。此外,IL-6 通过激活 AKT 调控细胞的生长、存活和细胞周期的进级,促进肿瘤 EMT。TNF- α 促进肿瘤生长,刺激血管生成,引起 DNA 损伤。本研究显示

前列腺癌组患者 E-cadherin 和 β -catenin 的表达显著高于前列腺癌合并组织炎症组患者,前列腺癌组患者 N-cadherin 和 Vimentin 的表达显著低于前列腺癌合并组织炎症组患者。这说明了炎症促进了前列腺癌 EMT,其原因可能是炎症导致了 IL-6、TNF- α 和 IL-1 表达升高,而这些因子通过不同的信号途径导致了 EMT。

参考文献

- [1] Mantovani A, Allavena P, Sica A, et al. Cancer-related inflammation[J]. *Nature* 2008, 454(7203): 436-44.
- [2] Coffelt S B, de Visser K E. Cancer. Inflammation lights the way to metastasis[J]. *Nature* 2014, 507(7490): 48-9.
- [3] Daniels N A, Ewing S K, Zmuda J M, et al. Correlates and prevalence of prostatitis in a large community-based cohort of older men[J]. *Urology* 2005, 66(5): 964-70.
- [4] Cheng I, Witte J S, Jacobsen S J, et al. Prostatitis, sexually transmitted diseases, and prostate cancer: the California Men's Health Study[J]. *PLoS One*, 2010, 5(1): e8736.
- [5] Mikuz G, Algaba F, Beltran A L, et al. Prostate carcinoma: atrophy or not atrophy that is the question[J]. *Eur Urol* 2007, 52(5): 1293-6.
- [6] Thiery J P, Acloque H, Huang R Y, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease[J]. *Cell* 2009, 139(5): 871-90.
- [7] Rubin M A, Mucci N R, Figurski J, et al. E-cadherin expression in prostate cancer: a broad survey using high-density tissue microarray technology[J]. *Hum Pathol* 2001, 32(7): 690-7.
- [8] Cheng L, Nagabhushan M, Pretlow T P, et al. Expression of E-cadherin in primary and metastatic prostate cancer[J]. *Am J Pathol* 1996, 148(5): 1375-80.
- [9] Tomita K, van Bokhoven A, van Leenders G J, et al. Cadherin switching in human prostate cancer progression[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(13): 3650-4.
- [10] Starsichova A, Lincova E, Pernicova Z, et al. TGF- β 1 suppresses IL-6-induced STAT3 activation through regulation of Jak2 expression in prostate epithelial cells[J]. *Cell Signal* 2010, 22(11): 1734-44.
- [11] Memarzadeh S, Cai H J, Janzen D M, et al. Role of autonomous androgen receptor signaling in prostate cancer initiation is dichotomous and depends on the oncogenic signal[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011, 108(19): 7962-7.

The role of histological inflammation in EMT of prostate cancer

Chen Xianguo, Liang Chaozhao, Hao Zongyao, et al

(Dept of Urinary Surgery, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the role of histologic chronic prostatitis in EMT of prostate cancer. **Methods**

脐血移植患者 T 淋巴细胞内细胞因子的特性研究

杨会志, 朱小玉, 汪 健, 孙自敏

摘要 目的 探讨异基因脐血移植后外周血 T 淋巴细胞免疫功能的特点及规律。方法 11 例异基因脐血移植患者分别在移植前、移植后 30、60 和 90 d 取外周血, 将其中 T 淋巴细胞在莫能霉素存在的情况下, 体外经十四烷酰拂波醇乙酯和离子霉素刺激后, 分别进行 CD4-FITC、CD8-FITC 荧光单抗染色和 γ -IFN-PE、IL-4-PE 荧光单抗胞内染色, 最后进行流式细胞仪分析。结果 脐血移植后 60 d 的 T 淋巴细胞分泌 γ -IFN 和 IL-4 的比率开始增加, 90 d 后 T 淋巴细胞分泌 γ -IFN 和 IL-4 的比率增加明显 ($P < 0.001$)。结论 脐血移植 60 d 后患者的免疫功能开始恢复, 90 d 后免疫功能达到顶峰, 脐血移植是治疗急性白血病的一种有效方法。

关键词 异基因脐血移植; T 淋巴细胞; 细胞因子

中图分类号 R 55

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)11-1680-04

自从法国 Gluckman 教授于 1988 年完成了世界首例异基因脐血移植后, 世界各地相继运用该技术成功治疗血液系统恶性病、恶性实体瘤及遗传性疾病等多种疾病。脐血移植的安全性和有效性在临床实践中不断得到验证, 与其他类型造血干细胞移植相比, 人体脐血移植的移植物抗宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD) 发生率较低且严重程度相对较弱^[1]。但脐血移植患者造血重建和免疫恢复相对

延迟, 存在一定程度的免疫缺陷状态, 这都使受者对各种微生物的易感性增加, 易患致命性细菌、霉菌及病毒感染^[2], 导致移植失败。因此研究脐血移植前后外周血 T 淋巴细胞免疫活性恢复情况非常重要。该研究利用流式细胞仪技术检测脐血移植患者移植前后 T 淋巴细胞胞内细胞因子的变化及其分布格局, 探讨脐血移植后的免疫重建特性, 了解可能的发生机制。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取安徽医科大学附属省立医院 2013 年 1 月~2014 年 7 月 11 例异基因脐血移植患者, 分别取患者移植前以及移植后 30、60 和 90 d 的外周血 T 淋巴细胞。采用环孢素 + 骁悉预防 GVHD; 如发生 GVHD, 加用甲强龙干预, 干预后可抑制过强的免疫功能。

1.2 实验方法 采用微量全血法采集标本, 细胞因子检测所需试剂和仪器主要为流式细胞仪检测外周血 T 淋巴细胞分泌的干扰素 (interferon, IFN) 和白介素 (interleukin, IL) 两种细胞因子。取 0.5 ml 经肝素抗凝的外周血加入 0.5 ml IMDM 完全培养基, 5% CO₂ 孵育 5 h 加红细胞裂解液 5 000 r/min 离心 1 min, 弃上清液备用。分别加抗 CD4-FITC、CD8-FITC 荧光单抗 4 °C 避光静置 30 min, 用染色缓冲液清洗, 加质量浓度为 1% PFA-PBG 每管 50 μ l 4 °C 过夜。再用穿孔缓冲液洗 1 次, 每管加 200 μ l 穿孔液, 室温静置 20 min, 5 000 r/min 离心 1 min 弃去上

2015-06-29 接收

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (编号: 31101006)

作者单位: 安徽医科大学附属省立医院血液科, 合肥 230001

作者简介: 杨会志, 男, 副主任医师, 责任作者, E-mail: yanghz69@sina.com

Clinical data of 17 cases of patients with prostate cancer and 25 cases of histologic chronic prostatitis and prostate cancer patients were retrospectively analyzed and compared with PSA, Gleason score and metastasis in two groups, the expressions of E-cadherin, N-cadherin, β -catenin and Vimentin in the two groups were analyzed by the immunohistochemistry. **Results** PSA, Gleason score and metastasis in patients with prostate cancer were significantly lower than patients with histologic chronic prostatitis with prostate cancer ($P < 0.01$); immunohistochemistry showed that the expressions of E-cadherin and N-cadherin in patients with prostate cancer were significantly higher than histologic chronic prostatitis with prostate cancer patients ($P < 0.01$); the expression of β -catenin and Vimentin in prostate cancer group was significantly lower than the histologic chronic prostatitis with prostate cancer patients ($P < 0.01$). **Conclusion** Histologic chronic prostatitis has a significant impact on the PSA, Gleason score and metastasis rates of prostate cancer and promotes the development of prostate cancer EMT.

Key words prostate cancer; EMT; chronic prostatitis