

自噬基因 Beclin-1 在前列腺癌组织中的表达及意义

徐凌凡 梁朝朝 邵 胜 周 骏 张 力

摘要 目的 探讨自噬基因 Beclin-1 在前列腺癌组织中的表达及其相关临床意义,并分析其与根治性前列腺切除术后生化复发的相关性。方法 采用免疫组化 Super Vision 两步法检测 132 例前列腺癌组织及癌旁组织中 Beclin-1 的表达,并分析其与相关临床因素的关系。结果 在前列腺癌组织及癌旁组织中 Beclin-1 的表达率分别为 38.6% 及 54.5%,差异有统计学意义($P=0.01$)。Beclin-1 在 Gleason 评分中表现为评分越高,阳性表达率越低($P=0.011$)。前列腺癌组织中 Beclin-1 的表达与不同年龄($P=0.138$)、家族史($P=0.686$)及是否患者前列腺炎病史($P=0.895$)等临床因素比较,差异无统计学意义。但在有无淋巴结转移($P=0.017$)、有无骨转移($P=0.002$)及行根治性前列腺切除术后有无生化复发($P=0.024$)间差异均有统计学意义。结论 自噬基因 Beclin-1 在前列腺癌组织中表达下调,并与淋巴结转移、骨转移及生化复发有关,其表达下调可能参与前列腺癌的发生、发展。

关键词 前列腺癌;自噬;免疫组化;Beclin-1

中图分类号 R 737.25

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2014)12-1799-04

自噬是一种广泛存在于真核细胞内的重要的生

理过程。通过分解细胞质等自身成分以维持在营养能量缺乏状态下的细胞代谢平衡以及在代谢应激下清除损伤的细胞器达到细胞存活的目的。Beclin-1 基因是参与自噬调控的重要因子,已证实多种肿瘤组织中呈低水平表达^[1]。近年来,研究^[2]显示细胞自噬在前列腺癌的发生、发展、转归中起着重要作用。该研究采用免疫组化的方法检测 Beclin-1 在前列腺癌组织中的表达并探讨其与前列腺癌临床病理因素的关系。

1 材料与方法

1.1 材料与分组 选择 2011 年 1 月~2012 年 12 月在安徽医科大学第一附属医院经直肠前列腺穿刺活检术后的病理标本 132 例,均经病理证实为前列腺癌。年龄 48~84(70.33 ± 7.19)岁。穿刺位点采用 Eskew et al^[3]提出的 5 区 13 针方法,即在 Hodge et al^[4]描述的“六点系统穿刺法”(尖部、中部、底部各 2 针)基础上,两外侧各增加 2 针(外侧中部、外侧底部)以及前列腺的中间部位增加 3 针(中间底部、中间中部、中间尖部各 1 针)。纳入研究的每例标本均至少有一针为良性前列腺增生组织(即癌旁组织)。穿刺前前列腺特异性抗原(prostate-specific antigen, PSA)水平平均为(67.68 ± 32.87)ng/ml。以癌组织作为实验组,以癌旁组织作为对照组。对 132 例病理的全部穿刺标本行免疫组化染

2014-08-11 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81370856)

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:徐凌凡,男,硕士研究生;

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

in this study. SAPA was assessed by echocardiography before, one month and six months after CRT. Patients were divided into normal group, mild pulmonary hypertension group, moderate pulmonary hypertension group and severe pulmonary hypertension group, according to the level of SPAP. The main endpoint events (heart failure hospitalization and all-cause death) were recorded within one-year follow-up. **Results** Compared with normal SPAP patients, left atria diameter increased with the elevated of SPAP. The effect of CRT differentiated by SPAP ($P<0.05$), decreased significantly in moderate or severe pulmonary hypertension group. Further analysis found that, SPAP had the trend of decrease at one month after CRT in response group, and significantly at six month after implantation, while SPAP increased significantly at six month in non-response group. With the elevation of SPAP, the prognosis worsed. **Conclusion** SPAP influences the effect of CRT significantly. With the elevation of SPAP, the effect of CRT and prognosis is worsed. CRT improves cardiac function, and reduces the SPAP indirectly meantime.

Key words cardiac resynchronization therapy; chronic heart failure; systolic pulmonary artery pressure; non-response

色,若其中有任何一针染色呈阳性表达,即可纳入相应的阳性组;若全部为阴性表达,则纳入相应的阴性组。标本用10%福尔马林固定,石蜡包埋,3 μm 连续切片。兔抗人 Beclin-1 单克隆抗体购自美国 Epitomics 公司;封闭液、二抗及 DAB 试剂盒均购自武汉博士德生物技术有限公司。

1.2 方法 应用免疫组化 Super Vision 两步法检测 Beclin-1 在不同组织中的表达。抗体滴度为1:100。以试剂公司提供的阳性对照片作为阳性对照,以 PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照。

1.3 结果判断 Beclin-1 蛋白主要表达于细胞质,呈棕黄色,背景不着色。以低倍镜和高倍镜观察全片。染色强度评分标准:不着色0分、黄色1分、棕黄色2分、黄褐色3分。阳性细胞所占比例评分标准:阳性细胞数<10%为0分、10%~39%为1分、40%~69%为2分、 $\geq 70\%$ 为3分。上述两者评分相加0~1分为(-)、2分为(+)、3~4分为(++)、5~6分为(+++)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,分类资料采用 χ^2 检验、等级资料采用秩和检验法以及检验值在临界状态时采用四格表精确概率法。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 自噬基因 Beclin-1 在前列腺癌及癌旁组织中的表达 Beclin-1 染色阳性物质呈棕黄色,表达位于细胞质。见图1。在132例前列腺穿刺活检的病理组织中,癌旁组织的 Beclin-1 阳性表达为72例,阳性表达率为54.5%,肿瘤组织的 Beclin-1 阳性表

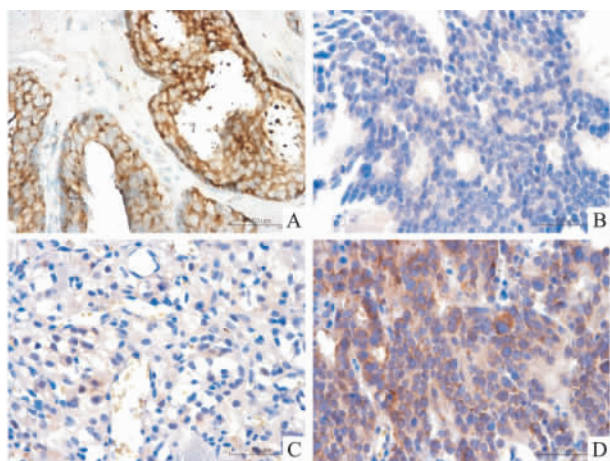


图1 Beclin-1 在前列腺癌组织及癌旁组织中的表达 SP $\times 400$

A: 前列腺癌组织中 Beclin-1 的强表达; B: 前列腺癌组织中 Beclin-1 的阴性表达; C: 前列腺癌组织中 Beclin-1 的低表达; D: 前列腺癌组织中 Beclin-1 的中表达

达为51例,阳性表达率为38.6%,明显低于其在癌旁组织中的表达($\chi^2 = 6.713$, $P < 0.05$)。

2.2 前列腺癌组织中自噬基因 Beclin-1 的表达与 Gleason 评分的关系 本研究将132例前列腺癌穿刺标本按技术后 Gleason 评分不同分为高分化组(2~4分)、中分化组(5~7分)以及低分化组(8分以上)。Beclin-1 在3组中的阳性表达率分别为66.7%、39.7%、27.3%,评分越高,表达率越低,组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 前列腺癌组织中自噬基因 Beclin-1 的表达与 Gleason 评分的关系(n)

Gleason 评分	阴性	Beclin-1 阳性			合计	P 值
		(+)	(++)	(+++)		
2~4分	5	3	4	3	15	0.011
5~7分	44	11	9	9	73	
≥ 8 分	32	7	4	1	44	

2.3 前列腺癌组织中自噬基因 Beclin-1 的表达与临床因素的关系 Beclin-1 的表达差异与淋巴结转移、骨转移有关($P < 0.05$, $P < 0.01$)。而与年龄、家族史及前列腺炎病史无关。见表2。

表2 前列腺癌组织中自噬基因 Beclin-1 的表达与临床因素的关系[n(%)]

临床特征	n	Beclin-1 表达		χ^2 值	P 值
		阳性	阴性		
年龄(岁)					
>59	91	39(42.9)	52(57.1)	2.201	0.138
≤ 59	41	12(29.3)	29(70.7)		
前列腺炎病史					
有	56	22(39.3)	34(60.7)	0.017	0.895
无	76	29(38.2)	47(61.8)		
家族史					
有	5	1(20.0)	4(80.0)	0.163	0.686
无	127	50(39.4)	77(60.6)		
淋巴转移					
有	42	10(23.8)	32(76.2)	5.712	0.017
无	90	41(45.6)	49(54.4)		
骨转移					
有	31	4(12.9)	27(87.1)	9.942	0.002
无	101	47(46.5)	54(53.5)		

2.4 前列腺癌组织中自噬基因 Beclin-1 的表达与根治性前列腺切除术后前列腺癌生化复发的关系 在全部132例前列腺癌患者中,有76例进行了根治性前列腺切除术,术后3个月进行随访,检测 PSA 水平,有10例 ≥ 0.2 ng/ml,66例 < 0.2 ng/ml。在 PSA < 0.2 ng/ml 的66例中有42例 Beclin-1 表达阳

性 阳性率为 63.6% ,而在 $PSA \geq 0.2$ ng/ml 的 10 例中 2 例 Beclin-1 表达为阳性 ,阳性率为 20% ,明显低于前者 ,差异有统计学意义($\chi^2 = 5.11$ $P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 Beclin-1 与肿瘤的关系 研究^[5]显示在多种人类肿瘤中均存在自噬活性的改变 ,并且在同一肿瘤不同阶段也存在着活性的差异 ,表明自噬与肿瘤之间存在一定的联系。目前 ,对于自噬究竟是阻碍肿瘤发生的屏障还是肿瘤的适应性应答仍存在争议^[6]。基于自噬在肿瘤组织中的双重性表达 ,故自噬基因 Beclin-1 并非在所有组织类型中均为保护性因子。

3.2 Beclin-1 的表达与前列腺癌的关系 Beclin-1 在前列腺癌中为一保护性因子 ,在前列腺癌组织中存在 Beclin-1 的缺失 ,肿瘤细胞通过下调自噬水平 ,逃避自噬性死亡。此外 ,前列腺癌 Beclin-1 的表达与反映其临床分期的淋巴结转移及骨转移均有关 ,而与年龄、家族史及前列腺炎病史间差异均无统计学意义 ,提示当 Beclin-1 表达下调时前列腺癌的恶性程度更高 ,更易发生侵袭及转移。

Gleason 分级由于其良好的生物学行为及其与前列腺癌预后的相关性 ,在临床上已得到广泛的应用。依据 2005 年国际泌尿病理学协会修订的前列腺癌 Gleason 分级系统^[7] ,将前列腺癌按评分高低分为高分化、中分化以及低分化。本研究中 ,各组间差异有统计学意义。由此可见 ,Beclin-1 与 Gleason 评分具有相同的效应 ,将两者共同作为前列腺癌诊断、制定前列腺癌治疗方案的参考指标 ,对前列腺癌的预后有更强的指向性。

前列腺癌的生化复发仍为根治性前列腺切除术后的一大治疗难题。根据美国泌尿外科及欧洲泌尿外科指南^[8] ,将前列腺癌根治术后连续两次血清 $PSA \geq 0.2$ ng/ml 定义为生化复发。在排除手术因素外 ,术前 PSA 水平及 Gleason 分级是导致生化复发的主要因素^[9]。然而 ,目前仍未发现某一特异性指标可判断术后前列腺肿瘤的生化复发情况^[10]。本研究显示 ,在 10 例术后发生生化复发的患者中仅有 2 例 Beclin-1 呈阳性表达 ,提示 Beclin-1 可以作为前列腺穿刺活检术后的一项指标 ,指示根治性前列腺切除术的预后状况。尽管多项研究^[11-12]表明前列腺癌的发生、发展可能与年龄、家族史及前列腺炎病史有关 ,但在本研究中并未发现 Beclin-1 在上述因素中的差异性表达。

综上所述 ,本研究设计采取同一个体的不同组织进行对比分析 ,最大程度的消除了个体差异带来的偏倚。结果显示 :自噬基因 Beclin-1 在前列腺癌组织中的表达下调 ,并与前列腺癌的 Gleason 分级及淋巴转移、骨转移有关 ,在指示根治性前列腺切除术后的生化复发方面有一定的临床意义 ,可作为前列腺癌早期发现 ,治疗并指示预后的新指标。

参考文献

- [1] Li X, Yan J, Wang L, et al. Beclin1 inhibition promotes autophagy and decreases gemcitabine-induced apoptosis in Miapaca2 pancreatic cancer cells[J]. *Cancer Cell Int*, 2013, 13(1): 26.
- [2] Liu C, Xu P, Chen D, et al. Roles of autophagy-related genes Beclin-1 and LC3 in the development and progression of prostate cancer and benign prostatic hyperplasia[J]. *Biomed Rep*, 2013, 1(6): 855-60.
- [3] Eskew LA, Bare RL, McCullough DL. Systematic 5 region prostate biopsy is superior to sextant method for diagnosing carcinoma of the prostate[J]. *J Urol*, 1997, 157(1): 199-202.
- [4] Hodge KK, McNeal JE, Terris MK, et al. Random systematic versus directed ultrasound guided transrectal core biopsies of the prostate[J]. *J Urol*, 1989, 142(1): 71-5.
- [5] Gewirtz DA. The four faces of autophagy: implications for cancer therapy[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(3): 647-51.
- [6] Wojcik S. Crosstalk between autophagy and proteasome protein degradation systems: possible implications for cancer therapy[J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2013, 51(4): 249-64.
- [7] Epstein JI, Allsbrook WC Jr, Amin MB, et al. The 2005 international society of urological pathology (ISUP) consensus conference on gleason grading of prostatic carcinoma[J]. *Am J Surg Pathol*, 2005, 29(9): 1228-42.
- [8] Ullrich PM, Carson MR, Lutgendorf SK, et al. Cancer fear and mood disturbance after radical prostatectomy: consequences of biochemical evidence of recurrence[J]. *J Urol*, 2003, 169(4): 1449-52.
- [9] Morgan TM, Meng MV, Cooperberg MR, et al. A risk-adjusted definition of biochemical recurrence after radical prostatectomy[J]. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2014, 17(2): 174-9.
- [10] Inoue H, Nishimura K, Yamaguchi S, et al. Prostate-specific antigen measured 3 months after radical prostatectomy as a new predictor of biochemical recurrence[J]. *Int J Clin Oncol*, 2014: [Epub ahead of print].
- [11] Wittschieber D, Schenkenberg S, Dietel M, et al. The significance of chronic prostatitis for the etiopathology of prostate cancer[J]. *Urologe A*, 2010, 49(8): 947-51.
- [12] Vickers AJ, Ulmert D, Sjoberg DD, et al. Strategy for detection of prostate cancer based on relation between prostate specific antigen at age 40-55 and long term risk of metastasis: case-control study[J]. *BMJ*, 2013, 346: f2023.

克罗恩病患者中胰岛素样生长因子-1 水平检测的临床观察

丁晓春^{1,2} 梅 俏¹ 胡 静¹ 丁 浩¹ 刘晓昌¹ 许建明¹

摘要 目的 通过检测克罗恩病(CD)患者中血浆胰岛素样生长因子-1(IGF-1)水平,探讨 IGF-1 与 CD 的临床关联。方法 选取 30 例 CD 患者和 10 例正常对照者,采用 ELISA 方法检测血浆 IGF-1 和基质金属蛋白酶-2(MMP-2)和 MMP-9 水平。结果 CD 组患者中血浆 IGF-1 水平低于正常对照组, MMP-2、MMP-9 水平高于正常对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。在 CD 生物学行为中,狭窄型 CD 患者中血浆 IGF-1 水平低于非狭窄非穿透型 CD 患者,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 CD 患者中血浆 IGF-1 水平降低,可能与狭窄型 CD 患者生物学行为相关。

关键词 克罗恩病;胰岛素样生长因子;生物学行为;肠纤维化

中图分类号 R 574.62; R 34

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)12-1802-03

2014-06-27 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:1308085MH146)

作者单位:¹安徽医科大学第一附属医院消化内科,安徽省消化重点实验室,合肥 230022

²安徽医科大学附属六安医院消化内科,六安 237005

作者简介:丁晓春,男,硕士研究生;

梅 俏,男,副教授,副主任医师,硕士生导师,责任作者,

E-mail: meiqiao@hotmail.com

克罗恩病(Crohn's disease, CD)是消化道慢性非特异性炎症性疾病,目前病因尚不明确。在 CD 的临床过程中,近 1/3 的 CD 患者在 10 年内发生肠管狭窄,80% 的 CD 患者因肠腔狭窄、腹腔脓肿、肠穿孔或瘘管形成需外科手术治疗^[1]。因此,在 CD 的临床过程中逐渐形成的肠壁纤维化,是 CD 发生肠管狭窄的主要原因,但目前 CD 中的肠纤维化机制尚不清楚。胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)是器官纤维化过程中重要因素之一,研究^[2]显示 IGF-1 可刺激肠壁成纤维细胞、肌成纤维细胞、平滑肌细胞增殖,产生大量细胞外基质,引起肠管管壁增厚、狭窄形成。因此,该研究通过检测 CD 患者中 IGF-1 水平,探讨 CD 患者 IGF-1 水平与临床关联。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取安徽医科大学第一附属医院消化内科 2012 年 1 月~2013 年 8 月临床确诊 CD 患者共 30 例,男 17 例,女 13 例,年龄 16~51(31.00 ± 10.33)岁。同时选取 10 名健康体检者作为正常

Expression and clinical significance of autophagy gene Beclin-1 in prostate cancer

Xu Lingfan, Liang Chaozhao, Tai Sheng, et al

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

Abstract Objective To investigate the expression of the autophagy gene Beclin-1 in prostate cancer, explore its clinical significance and analyze the relationship between Beclin-1 and prognosis after radical prostatectomy. **Methods** Super Vision immunohistochemistry technique was used to detect the expression of Beclin-1 among 132 prostate cancer cases and paracancerous cases. The correlations between the expression of Beclin-1 and the clinical significance were analyzed. **Results** The positive incidence of Beclin-1 expression in prostate cancer tissues and paracancerous tissues was 38.6% and 54.5%, respectively ($P = 0.01$). The expression rates of Beclin-1 were lower in the groups with high Gleason grade ($P = 0.011$). The Beclin-1 expression was associated with lymph node metastases ($P = 0.017$), bone metastases ($P = 0.002$) and biochemical recurrence after radical prostatectomy ($P = 0.024$) while showed no statistic significance in age, family history and prostatitis history. **Conclusion** The expression of autophagy gene Beclin-1 decreases in prostate cancer and is related to lymph node metastases and bone metastases, which indicates tumorigenesis and development.

Key words prostate cancer; autophagy; immunohistochemistry; Beclin-1