

Raptor 和 Rictor 在慢性前列腺炎和前列腺癌的表达及意义

陈先国 潘腾飞 刘 祎 苏 阳 梁朝朝

摘要 免疫组化检测 Raptor 和 Rictor 在慢性前列腺炎 (CP) 及前列腺癌 (PCa) 中的表达。Raptor 和 Rictor 在 CP 和 PCa 组织中均有不同程度的表达; 与 CP 组织比较, PCa 中 Raptor 和 Rictor 的表达均明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。Raptor 和 Rictor 在 CP 恶变为 PCa 过程中具有重要的作用, 为 PCa 的预防和分子靶向治疗提供理论依据。

关键词 慢性前列腺炎; 前列腺癌; Raptor; Rictor

中图分类号 R 697 + .33

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2014)04-0545-03

慢性前列腺炎 (chronic prostatitis, CP) 是男性

常见病和多发病, CP 由于发病机制尚不明确, 在某些不确定因素的存在下, 前列腺处于长期或过度反应时, 炎症反应无法转变成内环境稳定状态^[1], 会引起机体的严重后果。前列腺癌 (prostate cancer, PCa) 是西方国家男性最常见的恶性肿瘤, 在美国其发病率居男性肿瘤的第一位^[2]。目前, PCa 的病因仍然不清, 可能与遗传、年龄、生活方式、环境因素等有关。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 有 2 种不同的复合体 mTORC1 和 mTORC2, mTORC1 主要由 mTOR 和 mTOR 调节相关蛋白 (Raptor) 组成^[3], mTORC2 主要由 mTOR 和雷帕霉素不敏感性 mTOR (Rictor)^[4] 组成。mTOR 在调节机体的代谢、生长、增殖和细胞周期等过程中起关键作用。目前发现约 20% 的癌症由慢性感染或炎症所引发, 其中包括肝癌、结肠癌、胃癌以及膀胱癌等^[1]。最近研究^[5] 显示 CP 在 PCa 发生发展中起重要作用。该文就 mTOR 复合体在 CP 和 PCa 的表达做一研究, 为 PCa 的预防和治疗提供理论依据。

2013-12-20 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 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, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: liang_chaozhao@163.com

[5] Singal P, Gupta R, Pandit N. 2% sodium fluoride-iontophoresis compared to a commercially available desensitizing agent [J]. *J Periodontol* 2005; 76(3): 351-7.

[6] 马 琰, 陈 滔, 吴佩玲. 牙本质保护膜对牙本质小管的封闭作

用 [J]. *中国组织工程研究* 2012; 16(8): 1447-50.

[7] 吴悦梅, 谭建国. 不同性质的牙本质对牙本质粘接强度的影响 [J]. *国外医学口腔医学分册* 2004; 31: 16-7.

Therapeutic effects of two desensitizers on postoperative hypersensitivity of vital pulp abutment teeth

Zhang Lixin, Tang Xuyan

(Dept of Prosthodontic, The Dental Hospital Affiliated of Anhui Medical University, Key Lab. of Oral Diseases Research of Anhui Province, Hefei 230032)

Abstract 110 prepared vital pulp abutment teeth of 50 cases were randomly assigned to two groups after fixed bridge prosthesis: a group was treated with Hybrid coat dental adhesive resin cement, and the other was treated with Gluma desensitize. Using stimulation probing method and air conditioning stimulation experiments to evaluate the degree of dentine hypersensitivity after the tooth preparation on alternate days and 7 days later, and compared and recorded the effect of hypersensitivity. Finally the results were analyzed using statistics software. After 7 days, both drugs showed good effect of desensitization, but the symptom of dentin hypersensitivity by using Hybrid coat dental adhesive in experiment group was obviously relieved. Hybrid coat has good therapeutic effects on the dentin hypersensitivity of the teeth prepared for crowns.

Key words Hybrid coat; Gluma desensitize; dentin hypersensitivity; tooth preparation

1 材料与方法

1.1 材料及主要试剂 CP 42 例和 PCa 38 例标本均来自安徽医科大学第一附属医院病理科存档蜡块,所有病理结果均由我院病理科 2 位资深医师进行诊断。Raptor 及 Rictor 兔抗人抗体购自美国 Cell Signaling 公司。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化 采用 SP 法,染色步骤按说明书进行:组织切片脱蜡、水化;PBS 洗 3 次,每次 5 min;微波炉抗原修复;H₂O₂ 去除内源性过氧化物酶活性,PBS 洗 3 次,每次 5 min;滴加兔抗人 Raptor 及 Rictor 抗体(1:500),37℃ 恒温孵育 1 h;PBS 冲洗 3 次,每次 5 min;加生物素标记二抗,37℃ 恒温孵育 1 h;PBS 冲洗 3 次,每次 5 min;DAB 显色,苏木精复染,中性树胶封片、镜检。

1.2.2 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。综合上述结果,将染色强度定为 4 级:0 分为阴性;2 分为弱阳性;3~4 分为阳性;5~6 分为强阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 11.0 统计软件进行分析,等级资料采用秩和检验。

2 结果

2.1 Raptor 在 CP 和 PCa 组织中的表达 免疫组化显示 Raptor 在 CP 或 PCa 中的细胞质/细胞膜表达为棕黄色颗粒。Raptor 在 CP 组织中阴性表达 9 例、弱阳性表达 24 例、阳性表达 7 例、强阳性表达 2 例;在 PCa 组织中阴性表达 0 例、弱阳性表达 6 例、阳性表达 11 例、强阳性表达 21 例,Raptor 在 CP 和 PCa 组织中表达的阳性率分别为 78.6% 和 100.0%;与 CP 组织比较,Raptor 在 PCa 中的表达明显升高($P < 0.05$)。见图 1。

2.2 Rictor 在 CP 和 PCa 组织中的表达 免疫组化显示 Raptor 在 CP 或 PCa 中的细胞质/细胞膜表达为棕黄色颗粒。Rictor 在 CP 组织中阴性表达 13 例、弱阳性表达 22 例、阳性表达 6 例、强阳性表达 1

例;Rictor 在 PCa 组织中阴性表达 5 例、弱阳性表达 7 例、阳性表达 12 例、强阳性表达 14 例,Rictor 在 CP 和 PCa 组织中表达的阳性率分别为 69.0% 和 86.8%;与 CP 组织比较,Rictor 在 PCa 中的表达明显升高($P < 0.05$)。见图 1。

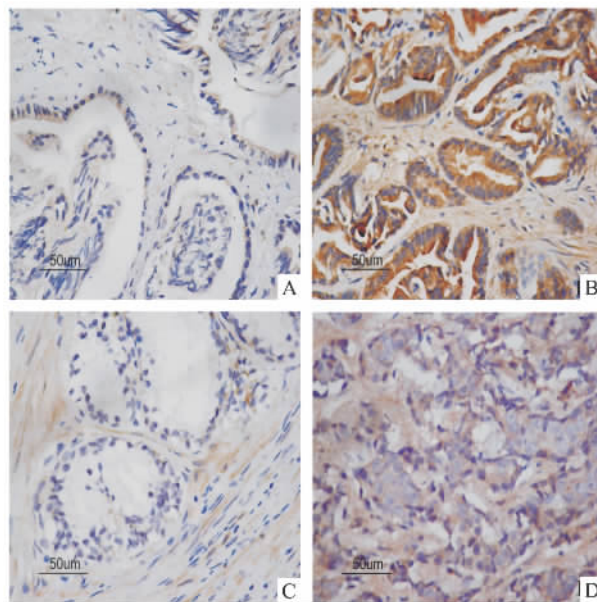


图 1 Raptor、Rictor 在 CP、PCa 组织中的表达 ×400

A: Raptor 在 CP 中的表达; B: Raptor 在 PCa 中的表达; C: Rictor 在 CP 中的表达; D: Rictor 在 PCa 中的表达

3 讨论

流行病学、组织病理学以及分子生物学研究^[6]显示,CP 患者在各种损伤性因素刺激下,可能转变为前列腺上皮内瘤变(prostatic intraepithelial neoplasia, PIN),并最终恶变为 PCa。Daniels et al^[7]发现 CP 和 PCa 的发生发展明显呈正相关。CP 患者患有 PCa 的风险明显提高,慢性炎症刺激时间越长,患 PCa 的风险可能性越高。MacLennan et al^[8]发现约 20% 的 CP 患者 5 年内被确诊为 PCa,而非 CP 患者 5 年内患 PCa 的仅占 6%。这些研究从流行病学上均提示 CP 促进 PCa 的发生发展。在组织学上,慢性炎症刺激常常在外周带前列腺上皮发生增生性萎缩(proliferative inflammatory atrophy, PIA)^[9],而外周带也是 PCa 好发部位,这些 PIA 区域进而进展为 PIN 和 PCa^[6]。分子生物学上,有研究^[5]表明,炎症细胞刺激后释放一些细胞因子,与前列腺上皮细胞 DNA 相互作用,引起基因变化,如基因重排、点突变和删除等,最终导致 PCa。PCa 的发生可能与微生物感染及其形成的炎症反应有关,有学者对小鼠进行多

次盆底乳酸注射诱发前列腺炎,取组织标本进行 HE 染色 结果显示 标本中除炎症组织外,还观察到了较为明显的腺泡上皮增生 类似于人类的 PIN。

mTOR 是机体炎症、营养、能量、生长因子等感受器 感受外界的刺激,促进 mTOR 活化,导致癌症的发生。最近研究^[10-12]显示,mTOR 复合体调控机体炎症反应,当炎症信号刺激机体后,通过 mTORC1 和 mTORC2 信号途径调控下游靶蛋白从而对炎症产生影响 此外使用 mTORC1 和 mTORC2 双重抑制剂也能明显减轻炎症反应,这进一步证实了 mTOR 调控机体炎症反应^[13]。2013 年 JCI 在线发表研究^[14]成果:IL-6 在炎症转变为肿瘤过程中起关键作用,其机制是 IL-6 结合其亚基 GPI30 而激活 mTORC1 信号途径的,使用 mTORC1 抑制剂后发现减少了肿瘤的血管生成和细胞增殖。

本研究显示 Raptor 和 Rictor 在 CP 和 PCa 组织中均有不同程度的表达。与 CP 相比,PCa 中 Raptor 和 Rictor 的表达明显升高,表明 mTOR 复合体在 CP 恶变为 PCa 过程中发挥重要作用,mTOR 复合体的异常活化可能是 PCa 发生发展过程中一个早期的分子事件。或许可以解释 Majumder et al^[15]的发现:对 mTOR 高度活化的转基因小鼠使用 mTOR 抑制剂,小鼠的 PIN 变完全消失。

参考文献

- [1] Mantovani A, Allavena P, Sica A, et al. Cancer-related inflammation [J]. *Nature*, 2008, 454(7203): 436-44.
- [2] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics 2012 [J]. *C A Cancer J Clin* 2012, 62(1): 10-29.
- [3] Sancak Y, Thoreen C C, Peterson T R, et al. PRAS40 is an insulin-regulated inhibitor of the mTORC1 protein kinase [J]. *Mol Cell*, 2007, 25(6): 903-15.
- [4] Sarbassov D D, Ali S M, Kim D H, et al. Rictor, a novel binding partner of mTOR, defines a rapamycin-insensitive and raptor-independent pathway that regulates the cytoskeleton [J]. *Curr Biol*, 2004, 14(14): 1296-302.
- [5] Davidsson S, Fiorentino M, Andr n O, et al. Inflammation, focal atrophic lesions, and prostatic intraepithelial neoplasia with respect to risk of lethal prostate cancer [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Pre* 2011, 20(10): 2280-7.
- [6] De Marzo A M, Platz E A, Sutcliffe S, et al. Inflammation in prostate carcinogenesis [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2007, 7(4): 256-69.
- [7] 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.
- [8] MacLennan G T, Eisenberg R, Fleshman R L, et al. The influence of chronic inflammation in prostatic carcinogenesis: a 5-year followup study [J]. *J Urol*, 2006, 176(3): 1012-6.
- [9] Shen M M, Abate-Shen C. Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges [J]. *Genes Dev*, 2010, 24(18): 1967-2000.
- [10] Brown J, Wang H, Suttles J, et al. Mammalian target of rapamycin complex 2 (mTORC2) negatively regulates Toll-like receptor 4-mediated inflammatory response via FoxO1 [J]. *J Bio Chem*, 2011, 286(52): 44295-305.
- [11] Laplante M, Sabatini D M. mTOR signaling in growth control and disease [J]. *Cell*, 2012, 149(2): 274-93.
- [12] Turnquist H R, Cardinal J, Macedo C, et al. mTOR and GSK-3 shape the CD4⁺ T-cell stimulatory and differentiation capacity of myeloid DCs after exposure to LPS [J]. *Blood*, 2010, 115(23): 4758-69.
- [13] Fan W, Cheng K, Qin X, et al. mTORC1 and mTORC2 play different roles in the functional survival of transplanted adipose-derived stromal cells in hind limb ischemic mice via regulating inflammation *in vivo* [J]. *Stem Cells*, 2013, 31(1): 203-14.
- [14] Thiem S, Pierce T P, Palmieri M, et al. mTORC1 inhibition restricts inflammation-associated gastrointestinal tumorigenesis in mice [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(2): 767-81.
- [15] Majumder P K, Febbo P G, Bikoff R, et al. mTOR inhibition reverses Akt-dependent prostate intraepithelial neoplasia through regulation of apoptotic and HIF-1-dependent pathways [J]. *Nature Medicine*, 2004, 10(6): 594-601.

The expression and significance of mTOR complex in the chronic prostatitis and prostate cancer

Chen Xianguo, Pan Tengfei, Liu Yi, et al

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

Abstract The expression of Raptor and Rictor in chronic prostatitis and prostate cancer was examined by immunohistochemical. Raptor and Rictor were differently expressed in chronic prostatitis and prostate cancer; the expression of Raptor and Rictor in prostate cancer was markedly higher than chronic prostatitis ($P < 0.05$). Raptor and Rictor play important roles chronic prostatitis malignant to prostate cancer, and provide the theory base for the prevention and molecular targeted therapy of prostate cancer.

Key words chronic prostatitis; prostate cancer; Raptor; Rictor