

# 前列腺上皮源性 Ets 转录因子在前列腺癌中的表达及意义

## Expression of prostate epithelium-specific Ets transcription factor in prostate cancer and its significance

黄建华, 黄国华, 郑军华\*, 许云飞, 彭波, 张海民, 鄢阳, 高其若  
(同济大学附属第十人民医院泌尿外科, 上海 200072)

**[摘要]** **目的:**探讨前列腺癌(PCa)中前列腺上皮源性 Ets 转录因子(prostate epithelium-specific Ets transcription factor, PDEF)mRNA 的表达及临床意义。**方法:**应用核酸原位分子杂交技术(ISH)半定量法观察 23 例前列腺增生(BPH)、41 例前列腺癌组织中 PDEF mRNA 的表达,并对检测结果进行分析。**结果:**BPH 组织 PDEF mRNA 中等阳性及强阳性表达率为 34.8%(8/23),明显低于 PCa 组织(73.2%,30/41, $P<0.01$ )。A+B 期 PCa 组织中 PDEF mRNA 中等阳性及强阳性表达率为 57.1%(12/21),明显低于 C+D 期(90%,18/20, $P<0.05$ );高分化 PCa 组织 PDEF mRNA 强阳性表达率(8.3%,1/12),明显低于中等分化(64.3%,9/14)及低分化组织(73.3%,11/15, $P<0.05$ ),中等分化与低分化组织无显著差异。PDEF mRNA 的表达与 PSA 表达存在相关性( $P<0.05$ )。**结论:**PDEF 基因可能参与了 PCa 的发生、发展和演变过程。

**[关键词]** 前列腺肿瘤;PDEF;核酸原位分子杂交

**[中图分类号]** R 737.25 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2007)10-1144-03

前列腺上皮源性 Ets(E-twenty-six)转录因子(prostate epithelium-specific Ets transcription factor, PDEF)是 Ets 家族成员之一,最先是由 Oettgen 等<sup>[1]</sup>在人的前列腺中分离出全长的 cDNA 克隆序列,是一个新的 Ets 转录因子。它在前列腺上皮细胞的增殖分化中起着重要作用,可能参与了前列腺癌的发生及发展过程。但大量的研究均集中于国外,研究对象也以欧美人群为主,鲜有中国人群的研究结果。本研究应用核酸原位分子杂交技术(ISH)检测了 41 例前列腺癌(PCa)和 23 例前列腺增生(BPH)组织中 PDEF 的表达情况,初步探讨了 PDEF 在中国人前列腺癌组织中的表达及作用。

### 1 材料和方法

**1.1 标本来源** 所用标本系同济大学附属第十人民医院自 2003 年 1 月至 2006 年 1 月间的存档标本。41 例前列腺癌组织由前列腺穿刺、前列腺电切或根治性前列腺摘除获得,年龄 56~88 岁,平均年龄(70±2.8)岁,根据 Jewett-Whitmore-prout 分期,A 期 12 例,B 期 9 例,C 期 11 例,D 期 9 例;根据病理诊断,低分化腺癌(Gleason 8~10 分)15 例,中分化腺癌(Gleason 5~7 分)14 例,高分化腺癌(Gleason 2~4 分)12 例。前列腺增生 23 例(前列腺摘除或前列腺电切获得),年龄 62~86 岁,平均年龄(71±3.9)岁。每例切片 3 张,分别作 H-E 染色、原位杂交和阴性对照。两组病例年龄、性别等具有可比性。

**1.2 试剂** PDEF 原位杂交试剂盒(产品编号:MK2644-h)及 DAB 显色试剂盒由武汉博士德公司提供。其他相关试剂包括:4%多聚甲醛/0.1 mol/L PBS(pH 7.2~7.6);1%多聚甲醛/0.1 mol/L PBS(pH 7.2~7.6);3%柠檬酸;SSC;20%甘油;原位杂交用 PBS(武汉博士德公司提供)。

**1.3 ISH 检测两种组织中 PDEF mRNA 的表达** 按照原位杂交试剂盒说明书(武汉博士德公司提供)要求进行,每例标本常规切片 3 张,分别行 ISH、H-E 染色及阴性对照。每张切片随机选择 5 个高倍视野( $\times 400$ ),把每张切片的染色强

度分为 3 个等级,用 1(弱)、2(中)、3(强)表示。染色密度分为 0~3 级,0 表示阴性表达;1 表示阳性细胞数小于 25%;2 表示阳性细胞数大于 25%而小于 50%;3 表示阳性细胞数大于 50%,以半定量的方法对染色结果进行统计学处理。表达结果=染色密度×染色强度,其表达结果可能值分别为 0、1、2、3、4、6、9,其中 0 为阴性,1~2 表示弱阳性,3~6 表示中等阳性,9 表示强阳性。

**1.4 统计学处理** 应用 SPSS 11.0 统计软件进行分析。PDEF mRNA 在前列腺癌和前列腺增生中的表达差异以及在前列腺癌各临床分期中的表达差异采用  $\chi^2$  检验完成;PDEF mRNA 在前列腺癌各病理分级中的表达差异以及与血清 PSA 水平之间的关系主要通过 Fisher 精确概率法完成。

### 2 结果

#### 2.1 PDEF mRNA 在 B 两种组织中的表达

**2.1.1 H-E 及 ISH 染色情况** H-E 染色见增生腺体大小不等,多数病例为小腺体,腺体不规整,可见明显的间质浸润,细胞核增大,部分细胞可见异型性及分裂象,常可见明显的核仁。ISH 染色见基底细胞胞质中阳性表达。见图 1。

**2.1.2 半定量分析结果** 23 例前列腺增生组织 PDEF mRNA 表达结果中等阳性及强阳性的例数为 8 例,占 34.8%;41 例前列腺癌组织 PDEF mRNA 表达结果为中等阳性及强阳性的例数为 30 例,占 73.2%,具有显著差别( $\chi^2=9.002$ , $P<0.01$ )。具体结果见表 1。

**[基金项目]** 上海市科委基金(054119604)。Supported by Fund of Science Committee of Health Department of Shanghai Municipal Government(054119604)。

**[作者简介]** 黄建华,硕士,助教。E-mail:jianhua82@sina.com

\* Corresponding author. E-mail:zhengjh0471@sina.com

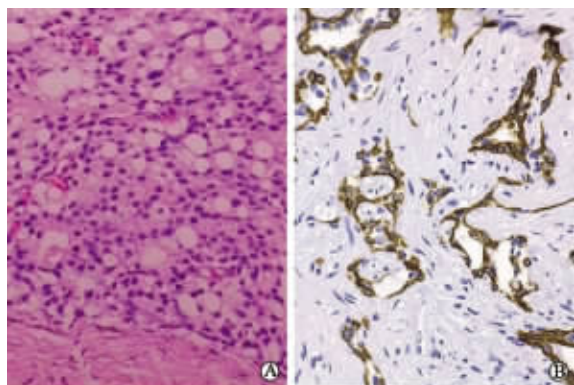


图 1 前列腺癌组织 H-E 染色(A, ×100)及 ISH 染色(B, ×400)结果

表 1 PDEF mRNA 在前列腺增生和前列腺癌中的表达

(n)					
类型	N	阴性	弱阳性	中等阳性	强阳性
前列腺增生	23	4	11	6	2
前列腺癌	41	1	10	9	21
合计	64	5	21	15	23

2.2 PDEF mRNA 在前列腺癌各临床分期中的表达 PDEF mRNA在前列腺癌组织中呈高表达,对于偶发和局限于前列腺包膜内的前列腺癌(即 A 期和 B 期),PDEF mRNA 中等阳性及强阳性的表达例数为 12 例,占 57.1%。对于前列腺癌已突破包膜侵犯到周围组织或伴远处转移的患者(即 C 期和 D 期),PDEF mRNA 的中等阳性及强阳性的表达例数为 18 例,占 90.0%,两者表达结果差别具有统计学意义( $\chi^2=5.634, P<0.05$ )。具体表达结果见表 2。

表 2 PDEF mRNA 在前列腺癌各临床分期中的表达

(n)					
分期	N	阴性	弱阳性	中等阳性	强阳性
A 期	12	1	4	4	3
B 期	9	0	4	1	4
C 期	11	0	1	3	7
D 期	9	0	1	1	7
合计	41	1	10	9	21

2.3 PDEF mRNA 在前列腺癌各病理学分级中表达结果 PDEF mRNA 在高分化前列腺癌组织中强阳性表达 1 例,占 8.3%;在中等分化前列腺癌组织中强阳性表达 9 例,占 64.3%;在低分化前列腺癌组织中强阳性表达 11 例,占 73.3%。高分化前列腺癌组织中 PDEF mRNA 的表达强阳性明显低于中等分化和低分化前列腺癌组织,差别具有统计学意义( $P<0.05$ ),中等分化与低分化前列腺癌组织中 PDEF mRNA 的强阳性表达率无明显差异。具体见表 3。

表 3 PDEF mRNA 在前列腺癌各病理学分级中的表达

(n)					
分级	N	阴性	弱阳性	中等阳性	强阳性
高分化	12	1	6	4	1
中分化	14	0	3	2	9
低分化	15	0	1	3	11
合计	41	1	10	9	21

2.4 PDEF mRNA 的表达与血清前列腺特异性抗原(PSA)值之间的关系 PDEF mRNA 在前列腺癌中表达的强阳性率随着 PSA 升高而不断增强,差别有统计学意义( $P<0.05$ ),即随着血清中 PSA 水平的上升,PDEF mRNA 的表达也显著增强。具体见表 4。

表 4 PDEF mRNA 的表达与血清 PSA 值之间的关系

(n)					
PSA 值 ( $\rho_B/\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ )	N	阴性	弱阳性	中等阳性	强阳性
~10	12	1	7	4	0
10~20	15	0	3	4	8
20~	14	0	0	1	13
合计	41	1	10	9	21

### 3 讨论

PDEF 是一个新的 Ets 转录因子,位于 6 号染色体短臂上(6p21.3),序列分析表明,其含有一个开放阅读框,编码一个包含 335 个氨基酸的蛋白多肽链,相对分子质量为 37 500。前列腺是 PDEF 的主要表达部位,在发生癌变的乳腺组织也有 PDEF 的高表达<sup>[2]</sup>。体外研究<sup>[3]</sup>表明,在激素存在和去除的条件下,PDEF 均能与 PSA 启动子或增强子的特定区域结合,发挥对 PSA 表达的正向调控作用,与雄激素受体间存在相互协同的作用。

本研究通过核酸原位分子杂交技术检测前列腺癌中 PDEF mRNA 表达情况,希望能通过此实验揭示中国人前列腺癌组织中 PDEF 的表达情况,并探讨其表达结果与其他临床相关项目或指标之间的关系,以期将来能为临床诊断、治疗及预后提供一个参考指标。结果表明,PDEF mRNA 在前列腺癌中的表达显著高于在前列腺增生组织。提示 PDEF 基因可能参与了前列腺癌细胞的增殖、分化与恶变。对其进一步的深入研究,有可能在基因水平上了解前列腺癌发生过程的调控机制<sup>[4]</sup>。

通过半定量研究的显示,随着前列腺癌临床分期进展,PDEF mRNA 的表达强度也显著增强,提示 PDEF 基因的表达存在明显的临床分期的表达差异。对伴有盆腔转移或骨转移的患者,其 PDEF 的表达水平显著增强,表明 PDEF 基因可能通过某种机制参与了前列腺癌远处转移<sup>[5]</sup>。

Wang 等<sup>[6]</sup>研究发现随前列腺癌恶性程度的上升,PDEF 的表达水平显著增强,与乳腺癌组织的现象类似<sup>[7-8]</sup>。本实验证实 PDEF 在中等分化及低分化前列腺癌中的表达水平明显高于高分化前列腺癌,中等分化和低分化前列腺癌中 PDEF 的表达水平差异无统计学意义。这表明 PDEF 基因可能参与了前列腺癌细胞分化与增殖,但由于纳入研究的病例数目有限,中等分化与低分化组织中 PDEF 表达无明显差异。因此,PDEF 基因与前列腺癌细胞分化程度的相关性及其所起到的作用有待进一步研究。

本实验通过原位杂交的方法进一步验证了在临床病例中 PDEF 表达与 PSA 的表达存在相关性。目前研究证实 PDEF 对 PSA 有调控作用,是否存在两者之间相互作用,有待进一步研究,希望能通过进一步的研究来证实 PDEF 能否作为前列腺癌预后的一个参考指标。

PDEF 基因作为 Ets 家族中的一员,在前列腺癌的发生、发展及演变过程中发挥着一定的作用,特别是在前列腺癌由激素依赖性向激素非依赖性的转变过程中。PDEF 可以在雄激素存在的条件下发挥其相应作用,也可以在雄激素去除的条件下发挥其对相应生物学指标的调控作用。这就为我们研究激素非依赖性前列腺癌提供了一个研究方向和突破点<sup>[9]</sup>,希望能通过进一步的研究,寻找其发生及调控规律,为临床激素非依赖性前列腺癌的治疗提供新的思路<sup>[10]</sup>。

#### [参考文献]

- [1] Oettgen P, Finger E, Sun Z, et al. PDEF, a novel prostate epithelium-specific ets transcription factor, interacts with the androgen receptor and activates prostate-specific antigen gene expression[J]. *J Biol Chem*,2000,275: 1216-1225.
- [2] Turner D P, Moussa O, Sauane M, et al. Prostate-derived ETS factor is a mediator of metastatic potential through the inhibition of migration and invasion in breast cancer[J]. *Cancer Res*,2007,67:1618-1625.
- [3] Schmidt U, Fuessel S, Koch R, et al. Quantitative multi-gene expression profiling of primary prostate cancer[J]. *Prostate*, 2006,66: 1521-1534.
- [4] Ghadersohi A, Odunsi K, Lele S, et al. Prostate derived Ets transcription factor shows better tumor-association than other cancer-associated molecules[J]. *Oncol Rep*,2004,11: 453-458.
- [5] Chen H, Bieberich C J. Structural and functional analysis of domains mediating interaction between NKX-3.1 and PDEF [J]. *J Cell Biochem*,2005,94: 168-177.
- [6] Wang Y, Feng L, Said M, et al. Analysis of the 2.0 A crystal structure of the protein-DNA complex of the human PDEF Ets domain bound to the prostate specific antigen regulatory site [J]. *Biochemistry*,2005,44: 7095-7106.
- [7] Feldman R J, Sementchenko V I, Gayed M, et al. Pdef expression in human breast cancer is correlated with invasive potential and altered gene expression[J]. *Cancer Res*,2003,63: 4626-4631.
- [8] 王健,周健光,黄翠芬. SPA 启动子结构和表达调控研究进展 [J]. *遗传*,2004,26: 739-744.
- [9] Thelen P, Jarry H, Ringert R H, et al. Silibinin down-regulates prostate epithelium-derived Ets transcription factor in LNCaP prostate cancer cells[J]. *Planta Med*,2004,70: 397-400.
- [10] Grossmann M E, Huang H, Tindall D J. Androgen receptor signaling in androgen-refractory prostate cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*,2001,93: 1687-1697.

[收稿日期] 2007-06-12

[修回日期] 2007-09-30

[本文编辑] 贾泽军