

膀胱移行细胞癌组织中前胸腺素 α 的表达及其临床意义*

林哲¹ 邓玮明² 何娅娣³ 李辽源²

[摘要] 研究前胸腺素 α (PTMA)在膀胱移行细胞癌组织中的表达情况,并分析其与膀胱癌临床病理特征的关系。**方法:**选择 96 例膀胱移行细胞癌标本,10 例癌旁正常膀胱组织标本。采用免疫组化检测膀胱癌和癌旁正常组织中 PTMA 蛋白的表达。癌标本中非肌层浸润性癌 51 例,肌层浸润性癌 45 例;单发肿瘤 57 例,多发肿瘤 39 例; G_1 22 例、 G_2 31 例、 G_3 43 例;非肌层浸润性癌中未复发 29 例,复发 22 例。**结果:**随病理分级和临床分期增加,PTMA 相对表达量逐渐增高。 G_1 、 G_2 、 G_3 膀胱癌 PTMA 蛋白表达阳性率分别为 13.6%、32.3%、62.8%,均差异有统计学意义($P<0.05$)。正常膀胱组织中无 PTMA 蛋白表达。非肌层浸润性肿瘤和肌层浸润性肿瘤中 PTMA 蛋白表达阳性率为 37.3%和 77.8%,差异有统计学意义($P=0.0002$)。随访 12~60 个月,非肌层浸润性膀胱癌中,复发组与未复发组中 PTMA 蛋白高表达阳性率为 68.2%和 31.0%,差异有统计学意义($P<0.001$)。**结论:**检测膀胱移行细胞癌组织中 PTMA 有助于膀胱癌的诊断及评估判断,PTMA 蛋白高表达与膀胱尿路上皮癌的恶性程度及预后相关。

[关键词] 膀胱移行细胞癌;前胸腺素 α ;复发

[中图分类号] R737.14 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-1420(2012)08-0598-03

The clinical significance of Prothymosin- α protein expression in human bladder transitional cancer

LIN Zhe¹ DENG Weiming² HE Yadi³ LI Liaoyuan²

(¹Department of Urology, the First People's Hospital of Foshan City, Foshan, 528000, China; ²Department of Urology, ³Department of Health Care Center, The Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University)

Corresponding author: LI Liaoyuan, E-mail: liliaoyuan10318023@126.com

Abstract Objective: To explore the expression of Prothymosin- α (PTMA) in bladder transitional cell carcinoma and analyze its clinical significance and relationship with tumor recurrence. **Methods:** The expressions of PTMA protein in 96 specimens of bladder cancer and 10 specimens of normal bladder tissues were detected by immunohistochemical staining and its clinical significance was analyzed. **Results:** PTMA protein expression rates were 13.6%, 32.3%, and 62.8% in G_1 , G_2 , and G_3 tumors, respectively ($P<0.05$). PTMA protein expression was higher in muscle invasive bladder cancers than in non-muscle invasive bladder cancer (77.8% versus 37.3%, $P=0.0002$). The expression of PTMA protein was higher in bladder cancer than that in the adjacent normal tissues. In patients with non-muscle invasive bladder cancer, PTMA protein expression was significantly higher in patients with recurrence than in those without recurrence (68.2% versus 31.0%, $P<0.001$). **Conclusions:** The determination of PTMA protein expression is potentially valuable in diagnosis and prognostic evaluation for bladder transitional cell carcinoma.

Key words bladder transitional cell carcinoma, Prothymosin- α , recurrence

在我国泌尿外科临床上,膀胱癌是最常见的恶性肿瘤,其中膀胱移行细胞癌占膀胱恶性肿瘤的90%以上,严重危害人类健康。70%以上膀胱移行

细胞癌为浅表癌,无固有层及肌层侵犯,经尿道膀胱肿瘤电切除术或膀胱部分切除术是最主要治疗方法,但术后5年复发率高达70%,而且复发者中1/3病例向更高级别和期别进展。如何准确预测膀胱癌预后以及采取相应的治疗方法,是目前泌尿外科临床的研究热点问题之一。

前胸腺素 α (Prothymosin- α , PTMA) 是一个由113个氨基酸组成的细胞蛋白,其功能与细胞免疫调节、细胞增殖和细胞凋亡等有关。最近有研究发现,膀胱癌患者尿液中 PTMA 增高,可作为膀胱肿瘤术后复发标记物^[1],但膀胱肿瘤组织中 PT-

*基金项目:2008年广东省医学科研基金项目(编号B2008164);第42批中国博士后科学基金项目(编号20070420795);第一批中国博士后科学基金特别资助项目(编号200801264)

¹中山大学附属佛山医院 佛山市第一人民医院泌尿外科(广东佛山,528000)

²中山大学附属第三医院泌尿外科

³中山大学附属第三医院体检中心

通信作者:李辽源, E-mail: liliaoyuan10318023@126.com

MA 表达情况及与膀胱癌临床病理特征及复发的关系鲜见报道。我们采用免疫组织化学染色方法检测了膀胱移行细胞癌组织标本中 PTMA 蛋白的表达,探讨 PTMA 与膀胱癌生物学行为的关系。

1 材料与方法

1.1 一般资料

选取 2007 年 1 月~2010 年 12 月佛山市第一人民医院泌尿外科及中山大学附属第三医院泌尿外科住院手术治疗患者中,经病理证实的 96 例膀胱移行细胞癌组织和 10 例同期手术病例的癌旁正常组织。肿瘤标本中男 57 例,女 39 例,年龄 33~87 岁,平均 62 岁。 G_1 22 例、 G_2 31 例、 G_3 43 例;单发肿瘤 57 例,多发肿瘤 39 例;非肌层浸润性癌 51 例,肌层浸润性癌 45 例;肿瘤直径 >3 cm 者 29 例, ≤ 3 cm 者 67 例。非肌层浸润性癌中未复发 29 例,复发 22 例。

1.2 免疫组化

采用免疫组化链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶染色法,鼠抗人 PTMA 单克隆抗体购自美国 Epitomics 生物技术公司,免疫组化染色采用福建迈新公司试剂盒。5 μ m 石蜡切片常规脱蜡,逐级酒精入水,3%过氧化氢孵育,磷酸盐缓冲液(PBS 0.01 mol/L, pH 7.2)冲洗,热抗原修复;3%山羊血清封闭,加 PTMA 单抗(一抗的稀释度为 1:100),37℃孵育 1 h,加二抗室温孵育 20 min,链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶溶液室温孵育 10 min。PBS 代替一抗作阴性对照。

1.3 阳性结果判断

PTMA 以细胞膜内出现淡黄色至棕黄色染色为阳性表达,随机选择 5 个高倍镜视野进行判断。染色强度:阴性为 0 分,淡黄色染色计 1 分,中度黄色染色计 2 分,棕黄色强染色计为 3 分。同时对阳性细胞百分比进行评分(0~100%),上述 2 项相乘,弱阳性 $<50\%$,中等阳性 50%~100%,强阳性 100%~300%。将弱阳性定义为低表达,中等阳性和强阳性定义为高表达。

采用 SPSS 15.0 统计软件分析数据。不同分组间比较行 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

PTMA 蛋白表达主要在细胞膜和细胞质内,在细胞核中仅见少量表达。膀胱癌组织中的 PTMA 蛋白表达明显高于癌旁正常组织($P<0.001$),10 例正常组织中未见 PTMA 蛋白表达(图 1,2)。

PTMA 蛋白表达与膀胱癌的分级、分期及复发有关($P<0.001$)。非肌层浸润性肿瘤和肌层浸润性肿瘤中 PTMA 蛋白表达阳性率为 37.3%和 77.8%,差异有统计学意义($P=0.0002$)。 G_1 、 G_2 、

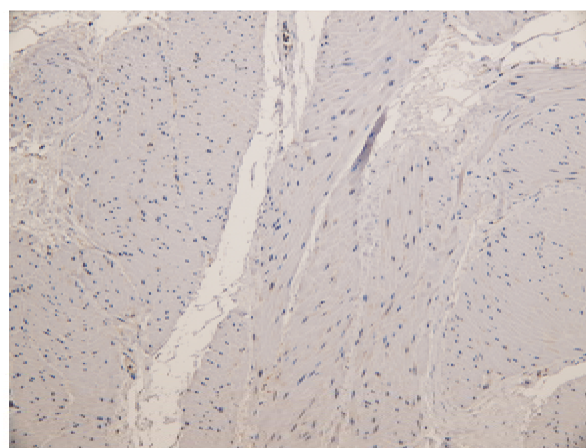


图 1 癌旁正常膀胱组织中未见 PTMA 表达(SP 法, $\times 200$)

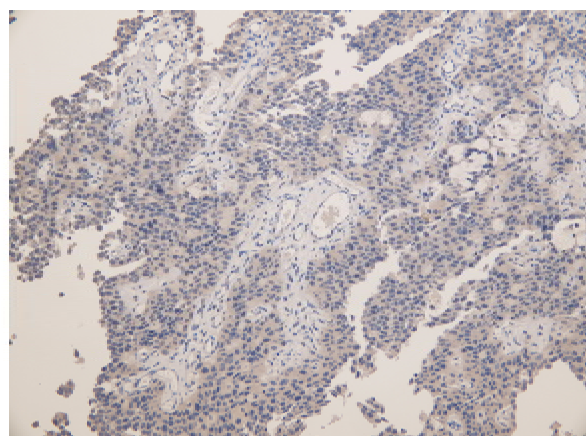


图 2 膀胱移行细胞癌组织中 PTMA 高表达(SP 法, $\times 200$)

G_3 膀胱癌 PTMA 蛋白表达阳性率分别为 13.6%、32.3%、62.8%,均差异有统计学意义($P<0.05$)。PTMA 蛋白表达的高低与膀胱癌患者年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤数目等无明显相关性($P>0.05$)。所有病例随访 12~60 个月,51 例非肌层浸润性膀胱癌中,复发 22 例,复发组与未复发组中 PTMA 蛋白高表达阳性率为 68.2%和 31.0%,差异有统计学意义($P<0.001$)(表 1)。

3 讨论

目前临床上常用来预测膀胱癌进展和复发的危险因素包括肿瘤分级及分期,但这并不能完全反映肿瘤的复发倾向。如在非肌层浸润性移行细胞癌中占很大比例的 G_2 患者,其中大部分在肿瘤分级及分期上并无区别,但却具有不同的复发倾向。因此,寻找并确定与膀胱癌复发相关的其他指标,对于指导临床治疗和判断预后有重要意义。当前,有关膀胱癌复发的分子指标研究主要集中于一些细胞周期相关性蛋白,如 p53、视网膜母细胞瘤基因蛋白(Rb)及增殖细胞核抗原(PCNA)、Ki-67 等,但研究结果不统一,而且各分子指标本身也不是预测肿瘤进展和复发的独立因素^[2]。越来越多

的证据显示,肿瘤的侵袭和进展与多种癌基因过度表达,以及肿瘤抑制基因失活密切相关。因此,进一步探索新的基因功能改变与膀胱癌生物学行为的关系,对于早期发现膀胱癌术后复发,进而延长患者生存期有着重大意义。

表 1 膀胱移行细胞癌组织 PTMA 蛋白表达与病理、临床的关系

临床特征	例数	PTMA 表达/例(%)		P 值
		低表达	高表达	
性别				0.29
男	57	25 (43.9)	32 (56.1)	
女	39	18 (46.2)	21 (53.8)	
年龄/岁				0.13
≤62	49	27 (55.1)	22 (44.9)	
>62	47	24 (51.1)	23 (48.9)	
肿瘤数目				0.64
单发	57	28 (49.1)	29 (50.9)	
多发	39	19 (48.7)	20 (51.3)	
肿瘤大小/cm				0.25
≤3	67	34 (50.7)	33 (49.3)	
>3	29	16 (55.2)	13 (44.8)	
分期				0.0002
T ₀ ~T ₁	51	32 (62.7)	19 (37.3)	
T ₂ ~T ₄	45	10 (22.2)	35 (77.8)	
分级				<0.05
G ₁	22	19 (86.4)	3 (13.6)	
G ₂	31	21 (67.7)	10 (32.3)	
G ₃	43	16 (37.2)	27 (62.8)	
是否复发				<0.001
是	22	7 (31.8)	15 (68.2)	
否	29	20 (69.0)	9 (31.0)	

PTMA 基因位于染色体 7q31,由 13 个外显子和 8 个内含子组成,长约 2 250 bp,该基因编码精液中蛋白多糖的未经加工的核心蛋白,可能与细胞的粘附和迁移、细胞免疫调节、细胞增殖和细胞凋亡等有关^[3]。PTMA 缺少其他 PTM 基因同源物所具有的典型的 N-端疏水性结构域,出现于人成熟红细胞中,并且与血影蛋白-肌动蛋白细胞骨架或别的膜整合蛋白相互作用,但它自身并不整合到细胞膜的脂质双层中。PTMA 基因在脑、胎盘和胰腺中存在着明显的高表达,其在骨骼肌等组织中也有表达^[4,5]。新近研究发现,膀胱癌患者尿液中 PTMA 增高,可作为膀胱肿瘤术后复发标记物^[1],但膀胱肿瘤组织中 PTMA 表达情况及与膀胱癌临床病理特征及复发的关系较少见报道。

本实验应用免疫组化方法观察到 PTMA 蛋白

在膀胱移行细胞癌组织中的表达量明显高于正常膀胱组织,提示 PTMA 蛋白可能与膀胱癌的发生有关。PTMA 表达高低与肿瘤临床分期、病理分级有显著相关性;PTMA 蛋白表达量随病理分期及 Gleason 评分增高而增高,提示 PTMA 在膀胱癌的发展过程中起到重要作用,也为判断膀胱癌病理分级、临床分期、相关预后以及治疗方法提供了一定的依据。有研究也发现 PTMA 在多种人类肿瘤细胞表面表达,包括前列腺癌、肾癌、胃癌、食管癌等,但在正常细胞中基本不表达或仅有微弱表达,推测其功能与信号传导和细胞与细胞增殖和细胞凋亡有关,也可能参与干细胞的一些功能,如细胞自我更新^[6]。

此外,我们还发现 PTMA 蛋白高表达与患者的术后复发有关,PTMA 蛋白高表达组患者术后无复发生存期更短。因此,可以推测,PTMA 在膀胱癌发生发展的过程中起到重要的调控作用,PTMA 蛋白检测可为临床膀胱癌患者术后复发提供预测的生物学指标。至于 PTMA 基因在膀胱癌进展中发挥作用的信号通路及其调控机制值得进一步研究。

参考文献

- [1] TZAI T S, TSAI Y S, SHIAU A L, et al. Urine prothymosin-alpha as novel tumor marker for detection and follow-up of bladder cancer[J]. *Urology*, 2006, 67:294-299.
- [2] BURGER M, DENZINGER S, HARTMANN A, et al. Mcm2 predicts recurrence hazard in stage Ta/T1 bladder cancer more accurately than CK20, Ki67 and histological grade[J]. *Br J Cancer*, 2007, 96:1711-1715.
- [3] JIANG X, KIM H E, SHU H, et al. Distinctive roles of PHAP proteins and prothymosin-alpha in a death regulatory pathway[J]. *Science*, 2003, 299:223-226.
- [4] LAL A, KAWAI T, YANG X, et al. Antiapoptotic function of RNA binding protein HuR effected through prothymosin alpha[J]. *EMBO J*, 2005, 24:1852-1862.
- [5] EVSTAFIEVA A G, BELOV G A, RUBTSOV Y P, et al. Apoptosis-related fragmentation, translocation, and properties of human prothymosin alpha[J]. *Exp Cell Res*, 2003, 284:211-223.
- [6] KOBAYASHI T, WANG T, MAEZAWA M, et al. Overexpression of the oncoprotein prothymosin alpha triggers a p53 response that involves p53 acetylation[J]. *Cancer Res*, 2006, 66:3137-3144.

(收稿日期:2012-03-19)