

PEDF 在前列腺癌患者血清中的表达及临床意义*

舒博¹ 陈鹏¹ 牛越¹ 张玲²

[摘要] 目的:探讨色素上皮衍生因子(pigmentary epithelium derived factor, PEDF)在前列腺癌患者血清中表达并探讨其临床意义。方法:应用免疫印迹(Western blotting)法检测前列腺癌转移(PCaM)患者、前列腺癌未转移(PCa)患者及良性前列腺增生(BPH)患者血清中 PEDF 表达情况,并通过统计学方法比较各组 PEDF 的表达差异。结果:PEDF 在 BPH 组血清样本中高于 PCa 组($P<0.05$),PEDF 在 PCa 组的血清样本中也高于 PCaM 组($P<0.05$)。结论:PEDF 与前列腺癌的发生和转移相关,并可能在前列腺癌的进展中起重要作用,借助测定 PEDF 的表达可以协助前列腺癌的诊断和预后评估。

[关键词] 色素上皮衍生因子;前列腺癌;免疫印迹法

[中图分类号] R737.25 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-1420(2013)02-0131-03

Evaluation of the expression of PEDF in blood serum of prostate cancer patients and its clinical significance

SHU Bo¹ CHEN Peng¹ NIU Yue¹ ZHANG Ling²

(¹Department of Urology, Affiliated Tumor Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi, 830011, China; ²Center for Disease Control and Prevention of Xinjiang Uygur Autonomous Region)

Corresponding author: ZHANG Ling, E-mail: zhangling2613884@163.com

Abstract Objective: To detect the expression of pigmentary epithelium derived factor (PEDF) in the blood serum of prostate cancer and evaluation its clinical significances. **Method:** Western blotting method was used to detect PEDF expression in prostate cancer patients with metastasis (PCaM), prostate cancer patients without metastasis (PCa) and benign prostatic hyperplasia patients (BPH). **Result:** PEDF was more highly expressed in the blood serum of BPH patients than PCa patients ($P<0.05$). PEDF was also more highly expressed in the blood serum of PCa patients than PCaM patients ($P<0.05$). **Conclusion:** PEDF are related to the malignant transformation and metastasis of prostate cancer. To detect the expression of PEDF may make for judging prostate cancer's diagnosis and prognosis.

Key words pigmentary epithelium derived factor; prostate cancer; Western blotting

前列腺癌发病率在世界上男性癌症中居第 3 位,是欧美发达国家中男性较为常见的恶性肿瘤之一^[1,2],在我国其发病率亦有明显上升趋势^[3],而用于临床的血清学肿瘤标志物为 PSA 有其局限性。寻找有效的前列腺癌血清肿瘤标志物的工作对于提高前列腺癌的诊断水平和治疗预后有重要的现实意义。色素上皮衍生因子(pigmentary epithelium derived factor, PEDF)是一种在多种器官发生肿瘤时表达异常的肿瘤相关因子,在肿瘤中的表达同肿瘤分期、分级和预后相关。本研究探讨 PEDF 在前列腺癌中的表达及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2010 年 1 月~2012 年 2 月新疆医科大学附属肿瘤医院泌尿外科住院患者血液样本,前列腺癌转移(PCaM)组 20 例,前列腺癌未转移(PCa)

组 19 例,良性前列腺增生(BPH)组 23 例,诊断均经病理证实。经静脉穿刺取血 5 ml,取血后放入抗凝采血管。静置 1 h,4℃,离心力 1 000 g(3 000 r/min),离心 20 min。离心后取上层血清 1 ml,分装至 EP 管,-80℃超低温冰箱备用。

1.2 主要仪器和试剂

1.2.1 抗体和试剂

PEDF 单克隆抗体(英国 Abcam 公司);二抗兔抗鼠 IgG(美国 Sigma 公司);底物化学发光 ECL 试剂盒(美国 Santa Cruz 公司);蛋白定量试剂盒(上海天根公司);硝酸纤维素膜(美国 Pierce 公司);其余化学试剂均购自上海生工生物工程公司。

1.2.2 主要实验仪器和设备

蛋白质电泳装置及转膜系统(美国 Bio-Rad 公司);HZ-C 型台式恒温振荡器(江苏太仓科教器材厂);凝胶成像分析系统(上海天能科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 血清蛋白定量

测定原理为 Bradford 法,按蛋白定量试剂盒说明书操作,测定各研究组患者血清浓度。

*基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(编号 2010211A29),中国博士后科学基金面上资助第 45 批项目(编号 20090451516)

¹新疆医科大学附属肿瘤医院泌尿科(乌鲁木齐,830011)

²新疆维吾尔自治区疾病预防控制中心

通信作者:张玲, E-mail: zhangling2613884@163.com

1.3.2 Western blotting

实验步骤按照说明书进行,经过了配制 SDS-PAGE、上样、电泳、转膜、封闭、加一抗、清洗、加二抗、清洗、发光底物反应、曝光显影等步骤。

1.3.3 目的条带半定量分析

利用图像分析系统对显色结果拍照,记录电泳条带净光密度和强度值,以目的条带与内参 β -actin 比值确定其含量计算其表达的相对丰度。相对丰度=(目的条带的强度 $\times$ 净光密度)/(β -actin 条带的强度 $\times$ 净光密度)。

1.4 统计学方法

本实验采用 SPSS 13.0 统计软件包进行数据分析处理^[4],进行组间 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

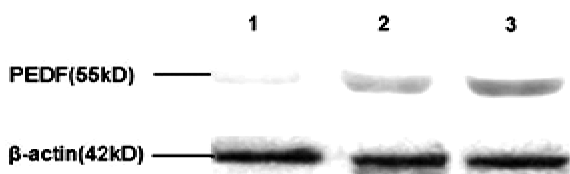
2 结果

2.1 患者的疾病类型与年龄构成

本实验研究对象分为前列腺癌转移组(PCaM)、前列腺癌未转移组(PCa)和良性前列腺疾病组(BPH)三组,三组患者的年龄分别为(63.52 ± 7.03)、(65.77 ± 9.25)和(67.42 ± 10.31),构成差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 Western blotting 结果

PEDF 在前列腺癌转移组(PCaM)、前列腺癌未转移组(PCa)、前列腺增生组(BPH)混合血清样本中均可以检测到,PEDF 在相对分子量 55 000 D 处出现特异性条带,内参 β -actin 在 42 000 D 处显影,见图 1。



1:PCaM 组;2:PCa 组;3:BPH 组

图 1 PEDF 的 Western blotting 结果

2.3 PEDF 蛋白表达量分析

通过分析电泳条带光密度值,计算目的基因表达的相对丰度。PEDF 在 BPH 组血清样本中为(0.65 ± 0.12)高于 PCa 组(0.40 ± 0.09)($P < 0.05$);同时,PEDF 在 PCa 组的血清样本为(0.40 ± 0.09)也高于 PCaM 组(0.17 ± 0.06)($P < 0.05$)。

3 讨论

色素上皮衍生因子(pigmentary epithelium derived factor, PEDF),也叫做 SERPINF1,是一种 55 kDa 的分泌糖蛋白,属于丝氨酸蛋白酶抑制剂家族。PEDF 最初是在人类胚胎视网膜色素上皮细

胞分泌的细胞因子发现的^[5]。尽管原来是作为神经营养因子,随后发现它具有多重蛋白功能,具有抗血管生成的作用^[6]。PEDF 的 N-末端序列在残基 1-19 包含一个负责分泌的蛋白质前导序列。34-Mer 的 PEDF 的残基 24-57 被证明具有抗血管生成特性,44-Mer 的残基 58-101 被证明具有神经营养特性。此外,PEDF 的表达上调与其纤溶酶原 1-4 结构域(也称为血管抑素)和第 5 结构域(K5)有关。缺氧或低氧条件下,会致 PEDF 的下调。

PEDF 参与多种信号通路的作用。 β 淀粉样蛋白已被证实可使 PEDF 的 mRNA 水平降低,分泌的 PEDF 结合在细胞表面的 PEDF-R 受体上,PEDF-R 有磷脂酶 A2 活性,可从甘油中水解出脂肪酸。PEDF 有增强 γ -分泌酶的活性,可导致血管内皮生长因子受体 1(VEGFR-1)跨膜域的裂解。这个作用可干扰血管内皮生长因子的信号传导,从而抑制血管生成。层粘连蛋白受体也是 PEDF 的靶点,并且在 PEDF 的残基 24-57 之间(一个已知的抗血管生成调节功能的区域)发生相互作用。PEDF 通过诱导激活 PPAR- γ 表达,进而诱导肿瘤抑制基因 p53 基因表达。血小板反应蛋白是一种抗血管生成的蛋白质,由 PEDF 促进表达的。PEDF 还刺激其他几个著名的信号,如 Raspathway 中 NF- κ B 通路和外源性细胞凋亡的级联。鉴于 PEDF 的有各种功能包括抗血管生成、抑癌和神经营养特性,临床上已经用于癌症的治疗。

有研究报道显示,前列腺癌内 PEDF 的低表达与较高的前列腺癌微血管密度和恶性转移表型具有相关性^[7]。Doll 等证实^[8],在组织缺氧和雌激素刺激条件下,PEDF 的表达下调,提示着 PEDF 的表达可能对前列腺的病理状态产生应答。同时免疫组化结果还显示,PEDF 在正常前列腺组织中高表达,而在低级别和高级别的癌组织中染色不明显。Byrne 等^[9]的研究也显示,在前列腺癌不同的恶性程度分组中,gleason 评分 5 分患者组的血清浓度显著高于 gleason 评分 7 分患者组,两组前列腺癌组织的免疫组化染色程度与 gleason 分值呈负相关,提示在 PEDF 可以作为预测前列腺癌发展进程的血清学指标。

我们的研究与一些文献报道一致,显示 PEDF 不仅在 BPH 组患者血清和 PCa 组患者血清中的表达具有差异,而且在 PCa 组患者血清和 PCaM 组患者血清中的表达具有差异,这提示着 PEDF 有望成为前列腺癌诊断和评估的潜在标志物,它的临床诊断价值有待于进一步验证。

【参考文献】

- 1 Gronberg H. Prostate cancer epidemiology [J]. Lancet, 2003, 361: 859-864.

细胞等,并可见小血管呈玻璃样变并穿过生发中心,生发中心周围环绕增宽的“葱皮”样套区,呈同心圆样排列,此型多属良性进程^[5],本组 4 例均属此型。MCD 中浆细胞通常有明显的严重症状,如发热、乏力、食纳不佳、消瘦、肝脾肿大、贫血、高免疫球蛋白血症,常伴有痛性、多灶性淋巴结病,本组未发现该类型 Castleman 病。有较多文献指出, Castleman 病与疱疹病毒 8(HHV-8)感染有关, HHV-8 的基因组中有 IL-6 基因类似物^[6],发生 Castleman 病的 HIV 感染者, HHV-8 的检测率可高达 100%,可见免疫缺陷或免疫调节异常是 Castleman 病发生的重要因素^[7]。另外,有文献报告,炎性介质 IL-6、表皮细胞生长因子、 α -干扰素等,在 Castleman 病的病理发生中也起着重要的作用^[8]。

一般来讲, LCD 经手术切除后,疗效十分满意,若因其他原因不能手术或仅仅只能行部分切除的减瘤手术,可采用放射治疗,其有效率也可达 72%^[9],国外学者报告 13 例 LCD,手术完整切除肿瘤 10 例,3 例行减瘤手术,术后辅以放疗,随访 9~76 个月,无一例死亡^[10]。本组 4 例均为 LCD,手术完整切除肿瘤,随访 7 个月~4 年 2 个月,均无瘤存活。关于 MCD,文献报告^[8],手术切除肿瘤只能暂时缓解症状,应采用综合治疗,化疗(如 CHOP 方案),辅以糖皮质激素,对大多数 MCD 有效;利妥昔单抗、托珠单抗也有明显的缓解症状,缩小受累淋巴结的作用^[11]。

参考文献

- 1 赵晨晖,周文龙,张志伟,等.腹膜后局限型 Castleman 病 2 例及文献复习[J].现代泌尿生殖肿瘤杂志,2011,3(2),77-79.
- 2 宋科,蓝儒竹. Castleman 病 1 例报告[J].现代泌尿生

殖肿瘤杂志,2011,3(6),360-360.

- 3 肖峻,陈凌武,郑伏甫.腹膜后局限性 Castleman 病误诊嗜铬细胞瘤 4 例并文献复习[J].现代泌尿生殖肿瘤杂志,2012,4(1):10-12.
- 4 Powles T, Stebbing J, Montoto S, et al. Rituximab as retreatment for rituximab pretreated HIV-associated multicentric Castleman disease[J]. Blood, 2007, 110: 4132-4133.
- 5 Chen C H, Liu H C, Tung K Y, et al. Surgical outcome of superficial and deep Castleman disease[J]. ANZ J Surg, 2007, 77: 339-343.
- 6 Kawabata H, Tomosugi N, Kanda J, et al. Anti-interleukin 6 receptor antibody tocilizumab reduces the level of serum hepcidin in patients with multicentric Castleman's disease[J]. Haematologica, 2007, 92: 857-858.
- 7 Beck J T, Hsu S M, Wijdenes J, et al. Brief report: alleviation of systemic manifestations of Castleman's disease by monoclonal anti-interleukin-6 antibody[J]. N Engl J Med, 1994, 330: 602-605.
- 8 Dham A, Peterson B A. Castleman disease[J]. Curr Opin Hematol, 2007, 14: 354-359.
- 9 Chronowski G M, Ha C S, Wilder R B, et al. Treatment of unicentric and multicentric Castleman disease and the role of radiotherapy[J]. Cancer, 2001, 92: 670-676.
- 10 Bestawros A, Michel R, Séguin C, et al. Multicentric Castleman's disease treated with combination chemotherapy and rituximab in four HIV-positive men: a case series[J]. Am J Hematol, 2008, 83: 508-511.
- 11 Matsuyama M, Suzuki T, Tsuboi H, et al. Anti-interleukin-6 receptor antibody (tocilizumab) treatment of multicentric Castleman's disease[J]. Intern Med, 2007, 146: 771-774.

(收稿日期:2012-06-19)

(上接第 132 页)

- 2 Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2008, 58: 71-96.
- 3 叶定伟.前列腺癌的流行病学和中国的发病趋势[J].中华外科杂志,2006,44(6):362-364.
- 4 马斌荣. SPSS for Windows Ver. 11.5 在医学统计中的应用[M].北京:北京科学出版社,2004:57-141.
- 5 Tombran-Tink J, Johnson L V. Neuronal differentiation of retinoblastoma cells induced by medium conditioned by human RPE cells [J]. Invest Ophthalmol Visual Sci, 1989, 30, 1700-1707.
- 6 Tombran-Tink J, Chader G G, Johnson L V. PEDF: a pigment epithelium-derived factor with potent neuronal differentiative activity [J]. Exp Eye Res, 1991, 53: 411-414.

- 7 Halin S, Wikstrom P, Rudolfsson S H, et al. Decreased pigment epithelium-derived factor is associated with metastatic phenotype in human and rat prostate tumors [J]. Cancer Res, 2004, 64: 5664-5671.
- 8 Doll J A, Stellmach V M, Bouck N P, et al. Pigment epithelium-derived factor regulates the vasculature and mass of the prostate and pancreas[J]. Nat Med, 2003, 9: 774-780.
- 9 Byrne J C, Downes M R, O'Donoghue N, et al. 2D-DIGE as a strategy to identify serum markers for the progression of prostate cancer [J]. J Proteome Res, 2009, 8: 942-957.

(收稿日期:2012-05-06)