基础研究 文章编号:0253-3626(2009)05-0582-04

雄激素受体、凝血酶敏感蛋白 -1 与前列腺良、恶性疾病血管生成的关系

谭 毅,王 明,王连渠
(重庆医科大学附属第一医院泌尿外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨雄激素受体(Androgen receptor,AR)、凝血酶敏感蛋白 -1(Thrombosopndin-1,TSP-1)在良性前列腺增生(Benign prostatic hyperplasia,BPH)、前列腺癌(Prostate cancer,Pca)中的表达及与血管生成的关系。方法:良性前列腺增生 20 例;前列腺癌 60 例,前列腺癌组中根据 Gleason 分级,Gleason 评分<7 为低评分组前列腺癌(35 例),Gleason 评分≥7 为高评分组前列腺癌(25 例);无骨转移者 47 例,有骨转移者 13 例。运用免疫组化二步法检测各组中 AR、TSP-1 的表达水平及微血管密度(Microvesel density,MVD)。结果:BPH 组中 AR、TSP-1 的表达高于 Pca 组($P<0.01$),MVD 值低于 Pca 组($P<0.01$);在 Pca 中低评分组 AR、TSP-1 的表达高于高评分组($P<0.01$),MVD 值低于高评分组($P<0.01$);无骨转移组 AR、TSP-1 的表达高于骨转移组($P<0.01$),MVD 值低于有远处转移组($P<0.01$)。AR、TSP-1 阳性组的 MVD 值分别小于阴性组的 MVD 值($P<0.01$)。TSP-1 与 AR 呈正相关($r=0.722$,$P<0.05$)。结论:AR、TSP-1 在前列腺癌中均为低表达,且与肿瘤的 Gleason 评分及有无骨转移密切相关。前列腺癌中 AR 突变使 TSP-1 减少,从而促进血管生成。

【关键词】前列腺肿瘤;良性前列腺增生;雄激素受体;凝血酶敏感蛋白 -1;微血管密度
【中国图书分类法分类号】R737.25 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-12-26

The relationship between androgen receptor, thrombospondin-1 and angiogenesis in nonmalignant and malignant prostate tissue

TAN Yi, et al
(*Department of Urology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the expression of androgen receptor(AR) and thrombospondin-1(TSP-1) in human benign prostatic hyperplasia(BPH)and prostate cancer(Pca), and to explore the relationship between them and angiogenesis. *Methods*: Eighty specimens from BPH(20)and Pca(60)were included in the study.The Pca was divided into low Gleason score group(Gleason score<7) and high Gleason score group(Gleason score≥7), and into non-bone metastasis group and bone metastasis group. The expression of AR, TSP-1 and microvesel density(MVD) were detected by immunohisto- chemistry(two-step method). *Results*: The positive rates of AR and TSP-1 in BPH group were significantly higher than those in Pca group; the MVD mounts in BPH group was significantly lower than that in Pca group.The positive rates of AR and TSP-1 in lower Gleason score group were significantly higher than those in higher Gleason score group, and the MVD mounts in lower Gleason score group was significantly lower than that in higher Gleason score group.The positive rates of AR and TSP-1 in non-bone metastasis group were significantly higher than those in bone metastasis group, and the MVD mounts in non-bone metastasis group was significantly lower than that in bone metastasis group.MVD mounts in AR positive and TSP-1

作者介绍:谭 毅(1977-),男,住院医师,硕士,
研究方向:前列腺癌。
通讯作者:王 明,男,副教授,E-mail:wangmxr@sohu.com。

morphism array analysis of chromosomal instability patterns discriminates rectal adenomas from carcinomas[J]. J Pathol, 2007, 212(3): 269-277.
[9] Harada T, Baril P, Gangeswaran R, et al. Identification of genetic alterations in pancreatic cancer by the combined use of tissue microdissection and array-based comparative genomic hybridisation[J]. Br J Cancer, 2007, 96(2): 373-382.
[10] Saito S, Ghosh M, Morita K, et al.The genetic differences between gallbladder and bile duct cancer cell lines[J]. Oncol Rep, 2006, 16(5): 949-956.
[11] Tarkkanen M, Larramendy M L, Böhling T, et al. Malignant fibrous histiocytoma of bone: analysis of genomic imbalances by comparative genomic hybridisation and C-MYC expression by immunohistochemistry[J]. Eur J Cancer, 2006, 42(8): 1172-1180.
[12] Su M, Chin S F, Li X Y, et al. Comparative genomic hybridization of esophageal adenocarcinoma and squamous cell carcinoma cell lines[J]. Dis Esophagus, 2006, 19(1): 10-14.

(责任编辑:关蕴良)

positive group were significantly lower than those in AR negative and TSP-1negative group(all $P<0.01$).There was positive correlation between the expression of AR and TSP-1 ($r=0.722$, $P<0.05$). *Conclusion*: Low expressions of AR and TSP-1in Pca have close relations with tumor Gleason score and condition of bone metastasis.Mutation of AR might repress TSP-1,which might promote angiogenesis in prostate cancer.

【Key words】Prostate tumor;Benign prostatic hyperplasia;Androgen receptor; Thrombospondin-1;Microvesel density

前列腺癌(Prostate cancer,Pca)是西方国家男性最常见的恶性肿瘤。在我国随着人口结构老龄化,前列腺癌发病率增高,严重危害男性健康。自1971 年 J Folk-man 提出"肿瘤的生长取决于血管形成"以来,人们越来越认识到血管形成在促进肿瘤生长、增殖、转移和预后方面的重要性。凝血酶敏感蛋白-1(Thrombosopndin-1,TSP-1)是重要的血管生成调节因子,雄激素受体(Androgen receptor,AR)与前列腺增生(Benign prostatic hyperplasia,BPH),前列腺癌的发生,发展有着密切的关系。我们运用免疫组织化学方法检测良性前列腺增生,前列腺癌组织中 AR、TSP-1 以及微血管密度(Microvesel density,MVD)的情况,探讨AR、TSP-1 对前列腺疾病中血管生成的调节作用。

1 材料与方法

1.1 材料

收集我院 2000～2006 年良性前列腺增生标本 20 例,前列腺癌标本 60 例,所有标本均有病理诊断。患者年龄 55～91 岁,平均年龄 74 岁。前列腺增生患者中经耻骨上前列腺切除术 8 例,经尿道前列腺切除术 12 例;前列腺癌患者中经前列腺癌根治术 11 例,经尿道前列腺切除术 49 例。前列腺癌根据 Gleason 分级,Gleason 评分<7 为低评分组(35 例);Gleason 评分≥7 为高评分组(25 例),根据有无骨转移分为无骨转移组(47 例)和有骨转移组(13 例)。所有标本经 10% 福尔马林液固定 12～24 h 后常规石蜡包埋,每例标本制 4 μm 切片 4 张分别检测 AR、TSP-1、CD34 及 HE 染色。

1.2 试剂来源与工作浓度

一抗均为鼠抗人单克隆抗体,其中 AR、CD34 抗体购自北京中杉生物技术公司,AR 为原液,工作浓度为 1/50,CD34 为工作液。TSP-1 原液购自 SANT CRUZ 生物技术公司,工作浓度为 1/50。PoverVision 二步法免疫组化检测试剂盒、DAB 染色剂购自北京中杉生物技术公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化 运用二步法免疫组化检测法,染色步骤按照试剂说明书进行,DAB 染色。阳性对照为公司提供的阳性对照片,阴性对照以 PBS 代替一抗。

1.3.2 统计方法 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,运用 JMTJEX 软件进行秩和检验、χ^2 检验、相关分析,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

1.4 结果判定

AR 标记结果判定:根据细胞核染色强度及阳性细胞数占前列腺上皮数的百分率分为:(-):无阳性细胞或阳性细胞数比例小于 10%;(+):细胞核染色呈综色或淡综色且阳性细胞数比例大于 10%。TSP-1 标记结果判定:根据胞浆染色强度及阳性细胞数占前列腺上皮数的百分率分为:(-):无阳性细胞或阳性细胞数比例小于 10%;(+):细胞浆染色呈综色或淡棕色且阳性细胞数比例大于 10%。微血管内皮细胞被 CD34 染色,记数微血管密度按照 Kaygusuz G 的方法进行,低倍镜下寻找血管生成密集区,该区域中高倍(×400)计数 3 个视野的微血管数量,取平均值为该例的 MVD 值。微血管的判断以单个或小簇 CD34 阳性且与邻近微血管不相连的内皮细胞群为 1 个微血管[1]。

2 结 果

2.1 各组中 TSP-1、AR、MVD 的阳性表达情况见表 1

AR 的阳性表达位于前列腺腺上皮、前列腺癌细胞的胞核中,呈棕褐色(图 1)。本研究中发现 BPH 组中 AR 的表达显著高于 Pca 组中 AR 的表达($P<0.01$),在 Pca 组中低评分组中 AR 的表达显著高于高评分组中 AR 的表达($P<0.01$),无骨转移组 AR的表达显著高于有骨转移组中 AR 的表达($P<0.01$)。

TSP-1 的阳性表达位于前列腺腺上皮、前列腺癌细胞的胞浆中,呈棕黄色(图 2)。本研究发现 BPH 组中 TSP-1 的表达显著高于 Pca 组中 TSP-1 的表达($P<0.01$),Pca 组中低评分组中 TSP-1 的表达显著高于高评分组中 TSP-1 的表达($P<0.01$),无骨转移组 TSP-1 的表达显著高于有骨转移组中 TSP-1 的表达($P<0.01$)。

血管内皮细胞标记物 CD34 在良性前列腺增生、前列腺癌组织的血管内皮中呈阳性表达,细胞染色均匀一致,呈棕黄色(图 3)。BPH 组 MVD 值 15.40±1.45 明显低于 Pca 组(39.45±12.75),差异有统计学意义($P<0.01$)。低评分组 MVD 值 29.38±2.92

明显低于高评分组(53.57±5.62),差异有统计学意义(P<0.01)。无骨转移组 MVD 值(34.47±9.46)明显低于有骨转移组(57.48±2.58),差异有统计学意义(P<0.01)。

AR 表达阳性、阴性组 MVD 值见表 2,两组MVD 值有显著差异(P<0.01)。TSP-1 达阳性、阴性组MVD 值见表 3,两组 MVD 值有显著差异(P<0.01)。AR 与 TSP-1 表达的关系见表 4,相关分析示 r=0.722,P<0.05,呈正相关。

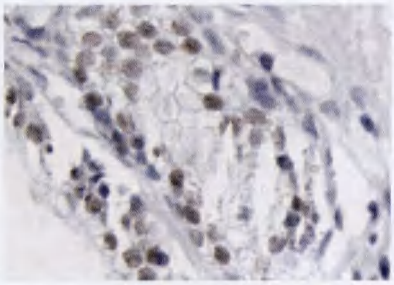


图 1 AR 在 Pca 胞核的表达(×400)

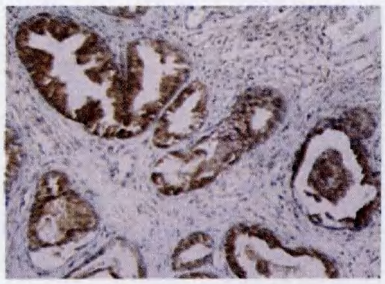


图 2 TSP-1 在 BPH 胞浆的表达(×100)

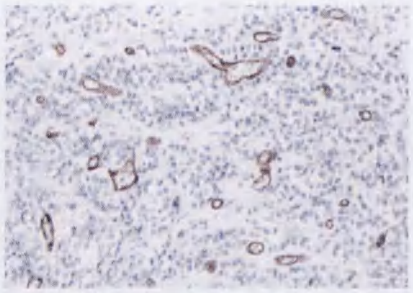


图 3 CD34 在 Pca 组织中的表达(×100)

表 1 BPH、Pca 各组中 AR、TSP-1 的阳性表达率及 MVD 值

	n	AR(%)	TSP-1(%)	MVD
BPH 组	20 例	18(90%)*	19(95%)*	15.40 ± 1.45*
Pca 组	60 例	36(60%)	33(55%)	39.45 ± 12.75
低评分组	35 例	26(74.29%)#	26(74.29%)#	29.38 ± 2.92#
高评分组	25 例	10(40%)	7(28%)	53.57 ± 5.62
无骨转移组	47 例	32(68.09%)△	31(65.96%)△	34.47 ± 9.46△
有骨转移组	13 例	4(30.77%)	2(15.38%)	57.48 ± 2.58

注:BPH 与 Pca 组比较,* P<0.01;高、低评分组比较,# P<0.01;有无骨转移组比较,△P<0.01

表 2 AR 表达与 MVD 的关系

AR	n	MVD
阳性	54	28.03 ± 12.64
阴性	26	44.12 ± 15.50

注:P<0.01

表 3 TSP-1 表达与 MVD 的关系

TSP-1	n	MVD
阳性	52	26.39 ± 10.79
阴性	28	46.55 ± 13.57

注:P<0.01

表 4 AR 与 TSP-1 表达的关系

	TSP-1		
AR	阳性	阴性	合计
阳性	48	6	54
阴性	4	22	26
合计	52	28	80

注:r=0.722,P<0.05

3 讨 论

3.1 AR、TSP-1 在前列腺疾病发展过程中的表达情况及与血管生成的关系

AR 在前列腺增生、前列腺癌的发生、发展中起着重要的作用[2]。前列腺癌由激素敏感型向非激素敏感型转化是患者死亡的主要原因。过去对前列腺疾病中 AR 的研究主要在 AR 与细胞凋亡关系,AR 在激素敏感型前列腺癌与非激素敏感型前列腺癌中变化等方面。目前国内外文献报道对良性前列腺增生、前列腺癌中 AR 与血管生成关系的研究很少。本研究发现 AR 表达阳性组 MVD 值 28.03±12.64 小于阴性组 MVD 值 44.12±15.50,两组 MVD 值差异有显著意义(P<0.01),提示在良性前列腺增生、前列腺癌中 AR 对血管生成起抑制作用。BPH 组中 AR 的表达显著高于 Pca 组中 AR 的表达(P<0.01)在 Pca 组中低评分组肿瘤中 AR 的表达显著高于高评分组中 AR 的表达(P<0.01),无骨转移组 AR 的表达显著高于有骨转移组中 AR 的表达(P<0.01)。Sweat 等[3]研究表明 BPH 上皮比 Pca 的 AR 免疫反

应高。Culig 等[4]研究示 Pca 与 BPH 及正常前列腺组织比较,AR 的免疫反应明显降低。与本研究结果一致。

新生血管在实体肿瘤的产生,发展中起重要作用。而新生血管的形成依赖血管生成促进因子与血管生成抑制因子共同作用的结果。TSP-1 是重要的血管生成调节因子,但 TSP-1 对血管生成的作用是抑制或促进一直存在分歧。本研究发现 TSP-1 对前列腺血管生成有抑制作用。BPH 中 TSP-1 的表达显著高于 Pca 中 TSP-1 的表达($P<0.01$),在 Pca 中低评分组中 TSP-1 的表达显著高于高评分组中 TSP-1 的表达($P<0.01$),无骨转移组 TSP-1 的表达显著高于有骨转移组中 TSP-1 的表达($P<0.01$),与国外文献报道结果一致[5-7]。而在张辉等研究中示前列腺癌中 TSP-1 对血管生成起促进作用,在 TSP-1 高表达的肿瘤组织中 MVD 的表达同时也升高,并呈明显正相关,与本研究结果相反[8]。

目前 TSP-1 对血管生成调节作用有如下解释,Taraboletti G 等报道 TSP-1 的两个片段 25 千道尔和 140 kD 在体内对血管生成有着促进与抑制相反的作用[9]。一些学者认为 TSP-1 浓度对血管生成有影响,高浓度(>20 nmol/L)的 TSP-1 可以促进血管内皮细胞迁移,这种作用可以被抗 CD47 抗体所阻断。但在浓度低于 20 nmol/L 时,TSP-1 抑制血管内皮细胞的迁移[10]。在体内的正常生理浓度范围内,TSP-1 是血管新生的强烈抑制物,并可限制血管内皮细胞的密度[11]。

3.2 TSP-1 与 AR 对血管生成的调节

本研究示 TSP-1 与 AR 的表达呈正相关($r=0.722$,$P<0.05$),TSP-1、AR 表达阳性组中 MVD 值明显低于 TSP-1、AR 表达阴性组 MVD 值($P<0.01$)。提示 AR、TSP-1 均参与血管生成的调节,抑制血管生成。在前列腺癌中 AR 突变减少抑制下游因子 TSP-1 的合成,从而促进血管生成。NeliuslT 在小鼠实验研究中指出 AR 的表达通过增加血管生成抑制因子 TSP-1 的分泌而抑制前列腺癌组织中血管的生成[12],结果与本研究一致。AR、TSP-1、MVD 与前列腺癌的分化、转移有密切关系,可作为预后判断的重要指标。前列腺癌中 AR 突变减少使血管生成抑制因子 TSP-1 的分泌减少而促进血管生成,为肿瘤的生成、发展、转移提供必要条件。针对 AR、TSP-1 的靶点治疗切断前列腺癌血供,可能为治疗前列腺癌提供新的途径。

参 考 文 献

[1] Kaygusuz G,Tulungy O,Baltaci S,et al.Micvovessel density and regulators of angiodenesis in malignant and nonmalignant prostate tissue [J]. Int Urol Nephrol,2007,39(3):841-850.

[2] 江 军,金锡御,靳凤烁,等.雄激素对大鼠前列腺不同分叶雄激素受体及共 mRNA 表达的影响[J]. 第三军医大学学报,2003,25(13):1153-1156.

[3] Sweat S D,Pacelli A,Bergstralh E J,et al. Androgen receptor expression in prostatic intraepithelial neoplasia and cancer[J]. Urol,1999,161(4):1229-1232.

[4] Culig Z,Hobisch A,Hittmair A,et al. Expression,structure and function of androgen receptor in advanced prostatic carcinoma[J]. Prostate,1998,35(1):63-70.

[5] Doll A,Reiher F K,Crawford S E,et al.Thrombospondin-1 vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factor-2 are key functional regulators of angiogenesis in prostate[J]. The Prostate,2001,49(4):293-305.

[6] Kwak C,Jin R J,Lee C,et al.Thrombospondin-1,vascular endothelial growth factor expression and their relationship with p53 status in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia[J]. BJU Int,2002,89(3):303-309.

[7] Vallbo C,Wang W,Damber E,et al.The expression of thrombos pondin-1 in benign prostatic hyperplasia and prostatic intrae pithelial neop lasia is decreased in prostate cancer[J]. BJU Int,2004,93(9):1339-1343.

[8] 张 辉,吕家驹,刘 莹,等.前列腺癌中 TSP-1 表达与血管生成之间关系的探讨[J]. 中国肿瘤临床,2006,33(3):138-144.

[9] *Taraboletti G,Morridelli L,Donnini S,et al.The heparin binding* 25kDa fragment of thrombospondin-1 and modulates gelatinase and TI MP-2 production in endothelial cells[J]. The FASEB J,2000,14(12):1674-1676.

[10] Davies C L,Melder,Munn L L,et al. Decorin inhibits endothelial migration and tube-like structure formation:role of thrombospondin-1[J]. Microvas Res,2001,62(1):26-42.

[11] Jimenez B,Volpert O V,Crawford S,et al. Signals leading to apoptosis -dependent inhibition of neovasoularization by thrombos pondin-1[J]. Nature Medicine,2000,6(1):41-48.

[12] Neliusl T,Filleurl S,Yemelyanov A,et al.Androgen receptor targets NFjB and TSP1 to suppress prostate tumor growth in vivo[J]. Int J Cancer,2007,121(5):999-1008.

(责任编辑:冉明会)