

· 临床研究 ·

# AR、ki-67、P53、COX-2 和 EGFR 在前列腺癌的表达及其临床意义

杨元强<sup>1</sup>, 许斌<sup>2</sup>, 陈明<sup>2</sup>

1. 东南大学附属南京江北人民医院泌尿外科, 江苏 南京 210048;

2. 东南大学附属中大医院泌尿外科, 江苏 南京 210009

**摘要:** **目的** 检测雄激素受体(AR)、ki-67、P53、环氧化酶-2(COX-2)和表皮生长因子受体(EGFR)在前列腺癌的表达,探讨其表达对前列腺癌患者术后预后的影响及其临床意义。**方法** 收集2008年1月至2014年10月的前列腺癌患者40例,年龄51~83岁,平均70岁,免疫组化法检测前列腺肿瘤组织中AR、ki-67、P53、COX-2和EGFR的表达,对患者进行随访,应用SPSS 16.0统计学软件进行统计学分析,用Cox比例风险回归模型进行预后分析。**结果** 免疫组织化学结果显示,40例前列腺癌标本中,AR(+)36例(90.0%),ki-67(+)20例(50.0%),P53(+)17例(42.5%),COX-2(+)21例(52.5%),EGFR(+)26例(65.0%)。随访结束时,12例出现生化复发。COX-2阴性组较阳性组生化复发率低,差异有统计学意义( $P=0.032$ )。**结论** COX-2为前列腺癌患者预后的危险因素。

**关键词:** 前列腺癌; 雄激素受体; ki-67; P53; 环氧化酶-2; 表皮生长因子受体; 预后

**中图分类号:** R 737.25 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2015)06-0761-03

前列腺癌是威胁老年男性健康的主要恶性肿瘤之一,占男性肿瘤发病率的28%。2014年美国有233 000例新发病例,有29 480例死于前列腺癌<sup>[1]</sup>。在我国,2013年前列腺癌已成为老年男性泌尿生殖系统肿瘤中仅次于膀胱肿瘤的恶性肿瘤。对于局限前列腺癌患者其5年生存率接近100%,然而患者一旦发生转移则预后很差。研究表明,90%的实体肿瘤患者死于肿瘤转移<sup>[2]</sup>。因此,从分子机制深入了解前列腺癌的发生发展,对于前列腺癌早期诊断和预后评估有重要意义。本文探讨雄激素受体(AR)、ki-67、P53、环氧化酶-2(COX-2)和表皮生长因子受体(EGFR)联合检测在前列腺癌根治性手术以后生化复发中的临床意义。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集东南大学附属中大医院2008年1月至2014年10月前列腺癌手术切除标本40例,患者年龄51~83岁,平均70岁;前列腺特异性抗原(PSA)≤10 ng/ml者10例,PSA>10 ng/ml者30例。所选患者术前未行放疗、化疗,均未长期应用过非甾体类抗炎药。切片后进行HE染色,并经病理科医师重新阅片确诊。Gleason分级:高分化(2~4分)7例,中分化(5~6分)21例,低分化(7~

10分)12例;TNM分期:I期4例,II期28例,III期8例,IV期0例。术后病理示淋巴转移者7例。

**1.2 方法** 采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连结(SP)法检测AR、ki-67、P53、COX-2和EGFR的表达。具体步骤:石蜡切片经脱蜡、梯度水化后,置10 mmol/L枸橼酸缓冲液(pH 6.0)中,微波修复抗原3 min,凉至室温。3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 封闭,正常兔血清封闭非特异性抗原15 min后,倾去血清,滴加相应稀释的一抗(1:100稀释),于4℃中过夜。PBS洗后滴加二抗,于37℃中放置。PBS洗,滴加SP,37℃放置,DAB显色,用苏木精复染,中性树脂封片。由两位高年资病理科医生采用双盲法阅片。根据免疫组化染色的深度及阳性细胞的数量分别记0~3分,其中染色深度以多数细胞呈色反应为准。不着色为0分,浅棕黄色为1分,棕黄色为2分,深褐色为3分。阳性细胞数<10%为0分,10%~45%为1分,46%~65%为2分,>65%为3分。染色的深度及阳性细胞数两者得分相乘,0~1分为阴性(-),2分以上为阳性(+).

**1.3 单因素Cox回归模型的建立** 前列腺癌预后影响因素量化赋值:X1:年龄,即实际年龄;X2:TNM分期,即I期=1,II期=2,III期=3,IV期=4;X3:淋巴转移,即N1=1,N0=0;X4:切缘,即有侵犯=1,未见侵犯=2;X5:神经,即有侵犯=1,未见侵犯=2;X6:CD34,即阳性=1,阴性=0;X7:AR,即阳性=1,阴性=0;X8:ki67,即阳性=1,阴性=0;X9:P53,即阳性

= 1, 阴性 = 0; X10: COX-2, 即阳性 = 1, 阴性 = 0; X11: EGFR, 即阳性 = 1, 阴性 = 0; X12: PSA, 即以实际 PSA 为准; X13: gleason 分级, 即小于 8 分为 0, 8 ~ 10 分为 1; X14: 生化复发, 即观察时间截止, 无复发 = 0, 生化复发 = 1; X15: 生存时间, 单位为月。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析。计数资料采用描述性统计; 用 Cox 比例风险回归模型进行预后分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 免疫组织化学结果 40 例前列腺癌标本 AR (+) 36 例 (90.0%), ki-67 (+) 20 例 (50.0%), P53 (+) 17 例 (42.5%), COX-2 (+) 21 例 (52.5%), EGFR (+) 26 例 (65.0%)。至 2015 年 1 月随访结束时, 12 例出现生化复发。

2.2 前列腺癌预后因素单因素回归分析 将列出的 13 项可能影响前列腺癌预后的因素逐个引入 Cox 回归模型进行单因素分析。结果显示前列腺癌的预后影响因素有年龄、COX-2 (P 均 < 0.05)。见表 1。

表 1 Cox 回归模型单因素分析

项目	B	SE	wald	df	Sig.	Exp(B)	95% CI 用于 Exp(B)
年龄	0.159	0.063	6.374	1	0.012	1.173	1.036 - 1.327
TNM 分期	-0.342	1.389	0.061	1	0.806	0.711	0.047 - 10.808
淋巴转移	1.119	1.732	0.417	1	0.518	3.061	0.103 - 91.165
切缘	-0.109	1.207	0.008	1	0.928	0.897	0.084 - 9.547
神经	-0.674	1.066	0.400	1	0.527	0.510	0.063 - 4.117
AR	0.453	1.190	0.144	1	0.704	1.572	0.152 - 16.213
Ki67	1.247	1.098	1.290	1	0.256	3.481	0.404 - 29.954
P53	-0.012	0.799	0.000	1	0.988	0.988	0.207 - 4.728
Cox -2	-3.089	1.443	4.583	1	0.032	0.046	0.003 - 0.770
EGFR	-0.386	1.578	0.060	1	0.807	0.680	0.031 - 14.993
PSA	-0.013	0.024	0.273	1	0.602	0.987	0.942 - 1.035
gleason 分级	-0.848	1.009	0.707	1	0.401	0.428	0.059 - 3.096

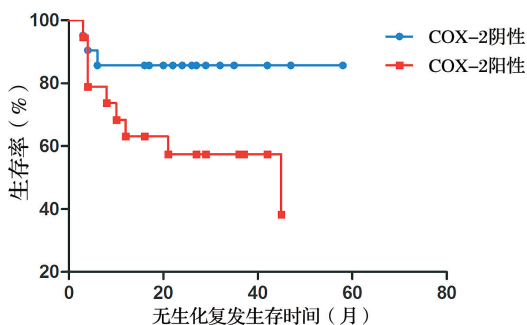


图 1 不同 COX-2 表达的前列腺癌患者生存曲线比较

2.3 不同 COX-2 表达前列腺癌患者生化复发率比较 COX-2 阴性组 19 例, 生化复发 3 例, COX-2 阳性组 21 例, 生化复发 9 例, 两组患者生化复发率比较差异有统计学意义 (P = 0.032), COX-2 阴性组较 COX-2 阳性组生化复发率低, 预后好。见图 1。

## 3 讨论

前列腺癌 (prostatic carcinoma) 为老年男性发病率较高的肿瘤, 是公认的老年性疾病, 其具有病因复杂、初期症状不明显、潜伏期长等特点, 在欧美占男性生殖系统中恶性肿瘤的首位<sup>[3]</sup>。但随着人群平均寿命的延长、饮食结构的改变, 加上 B 超引导下前列腺穿刺活检等检查技术的提升, 我国前列腺癌的发病率较以往呈明显上升的趋势<sup>[4]</sup>。前列腺癌作为老年男性最常见的恶性肿瘤之一, 其细胞生物学行为不确定, 不同病例之间的自然病程及预后有很大差异。因此, 了解影响前列腺癌预后的因素十分重要。

多种因素均可影响前列腺癌的生存时间, Cox 比例风险回归模型是一种兼具有参数分析与非参数分析两种特点, 能处理多因素生存分析数据的比例风险模型<sup>[5]</sup>。对于含删失 (失访) 数据, 危险率的种类繁多而难于确定, 观察时间长而难以控制的生存资料能够进行分析。本组 40 例资料的生存分析采用 Cox 比例风险回归模型分析法使结果更具客观合理性, 从而能够较准确评估生存预后情况, 分析预后影响因素。结果显示 COX-2 是影响前列腺癌预后的危险因素。环氧化酶 (cyclooxygenase, COX)<sup>[6]</sup>, 又称为前列腺素 H 合成酶 (prostaglandin H synthase, PGHS), 它是一个在花生四烯酸生物合成前列腺素 (PG) 过程中发挥着重要作用的限速酶, 它能够将花生四烯酸代谢成各种 PG 产物, 从而参与机体的多种病理生理过程, 如炎症、免疫应答、发热等。根据研究已证实, 细胞中至少存在两种 COX 的编码基因, 即 COX-1 及 COX-2。COX-1 参与机体炎症反应、肾脏血流调节、胃肠道黏膜保护等生理过程<sup>[7]</sup>, COX-2 则与人类许多癌前病变和恶性肿瘤的发生、进展有着密切联系<sup>[8-10]</sup>。COX-2 属于诱导型酶的一种, 它在组织细胞中诱导表达, COX-2 基因位于染色体 1q25.2 ~ q25.3, 基因全长 8.3kb, 含有 9 个内含子和 10 个外显子, COX-2 基因共编码 603/604 个氨基酸, 含有 17 个氨基酸残基构成相关信号肽, 它与 COX-1 在基因构成上有着 59% ~ 61% 的同源性。长约 0.8 kb 的上游 5' 非翻译区, 其中含有一些转录调控基因序列, 主要有 CRE/box 重叠区域, 它是一种顺式作用元件, 与 COX-2 启动子转录激活密切相关, 含有一个 NF/IL6 和两个 NF-κB 结合位点。在正常的生理功能状态下, 多数组织内检测不到 COX-2, 只有在机体受到炎症或肿瘤相关刺激后迅速的合成表达<sup>[9]</sup>。研究表明, COX-2 与肿瘤间有着诸多的联系。已有文献报道 COX-2 在人体多数恶性肿瘤和癌前病变高度表达, 如在肺癌、

结肠癌、胃癌、宫颈癌、卵巢癌等恶性肿瘤中有着 40% ~ 80% 的高表达率;而在肿瘤血管内皮细胞和临近肿瘤浸润部位的正常组织也发现有 COX-2 表达。有文献报道食管鳞癌组织及癌细胞株中 COX-2 表达增高参与食管癌的发生、发展,COX-2 的高表达是临床上判断肾上腺皮质癌预后有价值的指标。对于 COX-2 呈高表达的肾上腺嗜铬细胞瘤的患者,其术后恶性倾向可能性较大<sup>[11-12]</sup>。这些与本组资料相对应,本组病例分析显示 COX-2 阴性者,前列腺癌术后的患者预后较好。有文献显示,COX-2 在人类前列腺癌组织中的持续高表达,且发现在同时伴有淋巴结转移的患者中表达更为显著,这也更说明 COX-2 阳性表达的患者预后较差。但 COX-2 的作用机制目前尚未完全清楚,(1)有研究显示 COX-2 高表达促使 PGE 生成增多,再作用于 PGE 受体 EP2 或 EP4 受体或过氧化物酶体增殖物活化受体 1 (PPAR $\alpha$ ),再通过 EP/cAMP 途径,激活各种胞内激酶,或通过核受体直接激活促血管生成因子如 VEGF 等,导致血管生成从而促进肿瘤的进展;(2)高表达 COX-2 可促进合成大量的 PGs,这个由 COX-2 催化生成的产物可直接促进前列腺癌细胞的生长,又因为它能正反馈作用于 COX-2,使后者表达上调,进而能合成更多的 PGs,更能增强其促肿瘤生长的进程,PGs 可导致肿瘤细胞增殖;(3)高表达 COX-2 也可致其催化产物 PGE2 和组胺的增加,进而通过 cAMP 介导抑制中性粒细胞侵袭、单核巨嗜细胞的活性,也可以抑制 IL2 受体以及 IFN- $\gamma$  受体的表达,进而削弱机体对细胞的免疫监视功能,减弱细胞杀伤;(4)高表达 COX-2 能够减弱介导细胞间粘附的 E-钙蛋白的活性、上调肿瘤细胞基质金属蛋白酶 (MMP) 的表达进而催化及形成了能促血小板凝聚的血栓烷和尿激酶型纤溶酶原激活酶 (uPA) 上调表达,从而起到促进转移的作用,COX-2 能直接导致肿瘤细胞表型改变,COX-2 上调 Bcl-2 的表达诱导致前列腺癌细胞向激素非依赖型转化;COX-2 的催化形成的产物——PGE2,能够增加细胞迁移及侵袭力<sup>[13]</sup>。

综上所述,COX-2 是本组 40 例前列腺癌患者预

后的影响因素。COX-2 为前列腺癌患者预后的危险因素。

#### 参考文献

- [1] Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics, 2014 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2014, 64(1): 9 - 29.
- [2] Nandana S, Chung LW. Prostate cancer progression and metastasis: potential regulatory pathways for therapeutic targeting [J]. *Am J Clin Exp Urol*, 2014, 2(2): 92 - 101.
- [3] Hayes JH, Barry MJ. Screening for prostate cancer with the prostate-specific antigen test: a review of current evidence [J]. *JAMA*, 2014, 311(11): 1143 - 1149.
- [4] Hua L, Qiao D, Xu B, et al. Clinical and pathological characteristics of screen-detected versus clinically diagnosed prostate cancer in Nanjing, China [J]. *Med Oncol*, 2011, 28(1): 357 - 364.
- [5] Chen M, Zhou ZY, Chen JG, et al. Effect of miR-146a polymorphism on biochemical recurrence risk after radical prostatectomy in southern Chinese population [J]. *Genet Mol Res*, 2014, 13(4): 10615 - 10621.
- [6] Rajakariar R, Yaqoob MM, Gilroy DW. COX-2 in inflammation and resolution [J]. *Mol Interv*, 2006, 6(4): 199 - 207.
- [7] Jia Z, Zhang Y, Ding G, et al. Role of COX-2/mPGES-1/prostaglandin E2 cascade in kidney injury [J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 147894.
- [8] Wang Z, Chen JQ, Liu JL. COX-2 Inhibitors and Gastric Cancer [J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2014, 2014: 132320.
- [9] Harris RE, Casto BC, Harris ZM. Cyclooxygenase-2 and the inflammation of breast cancer [J]. *World J Clin Oncol*, 2014, 5(4): 677 - 692.
- [10] Maru GB, Gandhi K, Ramchandani A, et al. The role of inflammation in skin cancer [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2014, 816: 437 - 469.
- [11] Saffar H, Samii S, Heshmat R, et al. Expression of galectin-3, nm-23, and cyclooxygenase-2 could potentially discriminate between benign and malignant pheochromocytoma [J]. *Am J Clin Pathol*, 2011, 135(3): 454 - 460.
- [12] Zhu Y, He HC, Yuan F, et al. Heparanase-1 and Cyclooxygenase-2: prognostic indicators of malignancy in pheochromocytomas [J]. *Endocrine*, 2010, 38(1): 93 - 99.
- [13] Fernández-Martínez AB, Carmena MJ, Bajo AM, et al. VIP induces NF- $\kappa$ B1-nuclear localisation through different signalling pathways in human tumour and non-tumour prostate cell [J]. *Cell Signal*, 2015, 27(2): 236 - 244.

收稿日期: 2015 - 02 - 28 修回日期: 2015 - 03 - 28 编辑: 王国品