

ERG、P504s 在前列腺穿刺活检标本中的表达及意义

汤代军, 叶晓霞

安徽省马鞍山市中心医院病理科, 安徽 马鞍山 243000

摘要: **目的** 探讨 Ets 相关基因 ERG 蛋白、 α -甲酰基辅酶 A 消旋酶 (AMACR, P504s) 在前列腺穿刺活检标本中的表达及临床病理意义。**方法** 收集 2015 年 1 月至 2019 年 7 月安徽省马鞍山市中心医院前列腺穿刺活检标本 60 例, 其中 50 例确诊为前列腺癌, 定义为观察组; 另外 10 例确诊为正常前列腺组织, 定义为对照组。采用免疫组织化学法检测活检组织中 ERG 和 P504s 蛋白的表达情况, 分析其与前列腺癌临床病理特征的关系。**结果** 观察组 ERG 蛋白阳性表达率稍高于对照组, 但差异无统计学意义 (24.0% vs 0, $\chi^2 = 1.688, P = 0.194$); P504s 蛋白阳性表达率显著高于对照组 (96.0% vs 0, $\chi^2 = 46.188, P = 0.000$)。与前列腺癌临床病理特征的关联性分析结果显示, ERG 表达与年龄、术前血清前列腺特异抗原 (PSA) 值无关 (P 均 > 0.05), 与 Gleason 分级、国际泌尿病理协会 (ISUP) 分组及阳性穿刺针数显著相关 ($P < 0.01, P < 0.05$), 且 Gleason 3 级中的 ERG 阳性表达率高于 Gleason 4 级 (64.3% vs 8.3%, $\chi^2 = 14.370, P = 0.000$); P504s 表达与年龄、Gleason 分级、血清 PSA 值、ISUP 分组、阳性穿刺针数均无明显相关性 (P 均 > 0.05)。**结论** ERG 与 P504s 在正常前列腺组织未见表达, 在前列腺癌中分别表达和高表达; 且 ERG 表达多在前列腺癌 Gleason 3 级; ERG 和 P504s 在前列腺癌的诊断中具有一定价值。

关键词: 前列腺癌; Gleason 分级; Ets 相关基因; α -甲酰基辅酶 A 消旋酶

中图分类号: R737.25 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2020)07-0988-04

Expression and significance of ERG and P504s in prostate biopsy specimens

TANG Dai-jun, YE Xiao-xia

Department of Pathology, the Central Hospital of Maanshan, Maanshan, Anhui 243000, China

Abstract: Objective To investigate the expressions of ERG (Ets-related gene)-associated protein and alpha-methylacyl-CoA racemase (AMACR, P504s) in prostate biopsy specimens and their clinicopathological significance. **Methods** Out of 60 prostate biopsy specimens collected from Maanshan Central Hospital of Anhui Province, there were 50 cases confirmed as prostate cancer (observation group) and 10 cases diagnosed as normal prostate tissue (control group). The immunohistochemistry method was used to detect the expressions of ERG and P504s in biopsy tissues, and the relationship between the expression levels of ERG and P504s and the clinicopathological characteristics was analyzed. **Results** There was no statistical difference in positive expression rate of ERG protein between two groups, even though it was slightly higher in observation group (24.0% vs 0, $\chi^2 = 1.688, P = 0.194$), but the positive expression rate of P504s protein in observation group was significantly higher than that in control group (96.0% vs 0, $\chi^2 = 46.188, P = 0.000$). The correlation analysis showed that ERG expression was not correlated with age, preoperative serum prostate-specific antigen (PSA) value (all $P > 0.05$), but was significantly correlated with Gleason grading, International Society of Urological Pathology (ISUP) grouping and number of positive punctures ($P < 0.01, P < 0.05$), and the positive expression rate of ERG in Gleason grade 3 prostate cancer was higher than that in Gleason grade 4 (64.3% vs 8.3%, $\chi^2 = 14.370, P = 0.000$). P504s expression was not significantly associated with age, Gleason classification, serum PSA value, ISUP grouping, and number of positive punctures (all $P > 0.05$). **Conclusions** ERG and P504s are not expressed in normal prostate tissue, but expressed and over expressed in prostate cancer, respectively. ERG expression is mostly in Gleason 3 grade of prostate cancer. Both indexes have certain value in the diagnosis of prostate cancer.

Key words: Prostatic cancer; Gleason grading; Ets related-gene; Alpha-methylacyl-CoA racemase

前列腺癌是男性泌尿生殖系统最常见的恶性上皮性肿瘤, 随着人口老年化和膳食结构的改变, 前列腺癌在我国的发病率逐年上升^[1]。前列腺穿刺活检

病理检测是前列腺癌术前确诊的重要手段, 选择适合的免疫组化标志物有助于前列腺癌穿刺活检的病理诊断及 Gleason 评分。 α -甲酰基辅酶 A 消旋酶

(P504s)是广泛应用于前列腺癌诊断的特征性标志物;跨膜丝氨酸蛋白酶 2-ERG 融合基因(TMPRSS2-ERG)属于 ETS 转录因子家族一员,在血管系统、泌尿生殖道和骨骼发育中起着关键作用,与血管源性肿瘤、尤文肉瘤、急性淋巴细胞白血病等有关;近年来研究发现 ERG 蛋白在前列腺癌中可与雄激素调节跨膜丝氨酸蛋白酶(TMPRSS2)基因融合,形成 TMPRSS2-ERG,与前列腺癌的发生、发展密切相关^[2]。在前列腺癌中 P504s 与 ERG 是否相关尚未得到充分的证据。本研究应用免疫组织化学方法检测前列腺穿刺活检标本中 ERG 和 P504s 的表达情况,探讨两者与前列腺癌临床病理特征的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集 2015 年 1 月至 2019 年 7 月在本院首次行经直肠超声引导下前列腺穿刺活检标本 60 例,选择病理确诊为前列腺癌 50 例为观察组,正常前列腺组织 10 例作为对照组;所有患者均行 10~12 针穿刺。观察组患者年龄 56~85 (71.6 ± 7.16) 岁;术前血清前列腺特异抗原(PSA)为 4.53~997.1 ng/ml,轻度异常(4 ng/ml < PSA ≤ 10 ng/ml)5 例,中度异常(10 ng/ml < PSA ≤ 100 ng/ml)35 例,重度异常(PSA > 100 ng/ml)10 例。对照组患者年龄 53~81 (68.6 ± 8.57) 岁;术前血清 PSA 为 4.40~23.51 ng/ml,轻度异常 5 例,中度异常 5 例。依据 2014 年国际泌尿病理协会(ISUP)共识会议的方法^[3],对观察组分为 5 个亚组:ISUP1 组 8 例,ISUP2 组 6 例,ISUP3 组 21 例,ISUP4 组 12 例,ISUP5 组 3 例。所有患者术前均未进行放疗、化疗和内分泌治疗。

1.2 主要试剂 ERG 兔抗人单克隆抗体(克隆号 RMA-0748,EDTA 热修复)、P504s 兔抗人单克隆抗体(克隆号 RMA-0546,EDTA 热修复)、免疫组化试剂盒、DAB 显色剂均购自福州迈新生物技术有限公司。

1.3 穿刺活检标本常规 HE 染色光镜观察 所有穿刺活检标本均经 4% 中性甲醛固定,常规取材、脱水、石蜡包埋(每条穿刺活检组织均分别包埋)、连续 3 μm 切片及 HE 染色,光镜观察。所有切片由两位高年资病理医师独立阅片。依据 2014 年 ISUP 新修订的前列腺癌 Gleason 分级系统进行 Gleason 分级分组:Gleason 3 + 3 = 6 分 (ISUP1),Gleason 3 + 4 = 7 分 (ISUP2),Gleason 4 + 3 = 7 分 (ISUP3),Gleason 4 + 4 = 8 分 (ISUP4),Gleason 4 + 5 = 9 分和 5 + 5 = 10 分 (ISUP5);并测量肿瘤成分占整条组织的百分比及计数阳性针数。

1. 蛋白的表达 采用 Envision 两步法对前列腺穿刺活检标本进行 ERG 和 P504s 免疫组织化学标记,DAB 显色,苏木精复染。操作步骤严格按照说明书进行操作。用已知前列腺癌阳性标本作阳性对照,PBS 代替一抗作空白对照,血管内皮细胞作自身内对照。

1.5 结果判读 ERG 蛋白阳性表达定位于细胞核,呈棕黄色,细胞不着色为阴性;背景淡黄色为非特异性染色,肿瘤细胞个数 > 10% 为阳性。P504s 蛋白阳性表达定位于细胞质,呈棕黄色,弥漫性颗粒状,以染色强度细胞评估 P504s 表达,染色强度:细胞不着色为阴性;淡黄色为弱阳性;棕褐色为强阳性。前列腺正常腺体 ERG、P504s 均阴性。

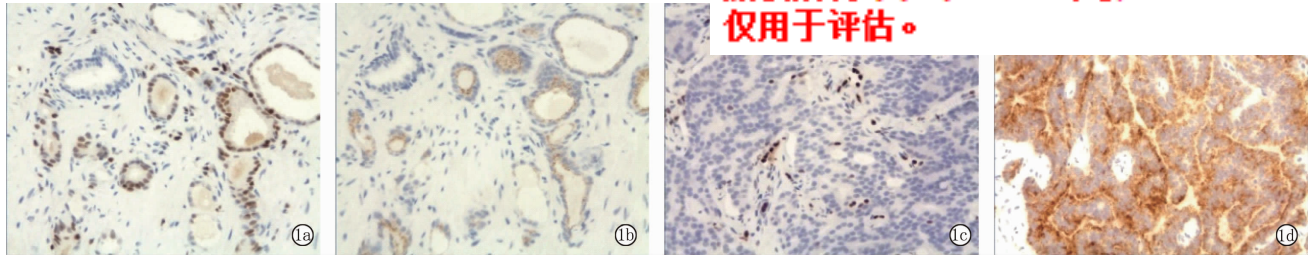
1.6 统计学分析 应用 SPSS 19.0 软件进行处理分析。计数资料用例表述,对 ERG 和 P504s 在前列腺癌和正常前列腺组织表达的比较及 ERG、P504s 表达与前列腺癌患者临床病理特征的关联性采用 χ^2 检验,当 $T < 5$ 时采用 χ^2 检验的校正法, $T < 1$ 时采用确切概率法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ERG 和 P504s 蛋白在前列腺穿刺活检组织中表达情况 ERG 在观察组阳性表达率 24.0%,在对照组阳性表达率为 0,观察组阳性表达率稍高于对照组,但差异无统计学意义($\chi^2 = 1.688, P = 0.194$)。P504s 在观察组阳性表达率 96.0%,在对照组阳性表达率为 0,观察组阳性表达率显著高于对照组($\chi^2 = 46.188, P = 0.000$)。见表 1。

2.2 ERG 和 P504s 蛋白在不同 Gleason 分级前列腺腺癌组织中的表达情况 分别选择 1 例 Gleason 3 级和 1 例 Gleason 4 级前列腺腺癌患者组织染色结果分析,在 Gleason 3 级前列腺腺癌组织中,ERG 呈阳性表达(图 1a),P504s 呈弱阳性表达(图 1b);在 Gleason 4 级前列腺腺癌组织中,ERG 呈阴性表达(图 1c),而 P504s 呈弥漫强阳性表达(图 1d)。

2.3 ERG 和 P504s 蛋白表达水平与临床病理特征的关联性 分析 ERG 和 P504s 蛋白与前列腺癌患者临床病理特征的关联性,结果显示,ERG 表达与年龄、术前血清 PSA 值无关(P 均 > 0.05),与 Gleason 分级、ISUP 分组及阳性穿刺针数显著相关($P < 0.01, P < 0.05$),且 Gleason 3 级中的 ERG 阳性表达率高于 Gleason 4 级(64.3% vs 8.3%, $\chi^2 = 14.370, P = 0.000$);P504s 表达与患者年龄、术前血清 PSA 值、Gleason 分级、ISUP 分组及阳性穿刺针数均无明显相关(P 均 > 0.05)。见表 2。



注:1a:ERG 在 Gleason 3 级前列腺腺癌中阳性表达;1b:P504s 在 Gleason 3 级前列腺腺癌中弱阳性表达;1c:ERG 在 Gleason 4 级前列腺腺癌中阴性表达,血管内皮细胞阳性表达;1d:P504s 在 Gleason 4 级前列腺腺癌中弥漫性强阳性表达。

图 1 ERG 与 P504s 蛋白在不同 Gleason 分级前列腺腺癌中的表达(Envision 法, ×400)

表 1 ERG 和 P504s 在前列腺癌组织及正常组织中的表达情况 (例)

组别	例数	ERG		χ^2 值	P 值	P504s		χ^2 值	P 值
		-	+			-	+ / ++		
观察组	50	38	12	1.688	0.194	2	48	46.188	0.000
对照组	10	10	0			10	0		

表 2 ERG、P504s 与前列腺癌患者临床病理特征的关联性 (例)

临床病理特征	例数	ERG		χ^2 值	P 值	P504s		χ^2 值	P 值
		-	+			-	+ / ++		
年龄(岁)									
≤70	19	15	4	0.000	0.967	0	19	-	0.519 ^a
>70	31	23	8			2	29		
PSA(ng/ml)									
4~10	5	2	3	4.652	0.098	0	5	0.893	0.640
10~100	35	27	8			2	33		
>100	10	9	1			0	10		
Gleason 分级									
3	14	5	9	14.370	0.000	0	14	-	1.000 ^a
≥4	36	33	3			1	35		
ISUP 分组									
1	8	3	5	18.331	0.001	0	8	1.327	0.857
2	6	2	4			0	6		
3	21	18	3			1	20		
4	12	12	0			1	11		
5	3	3	0			0	3		
阳性穿刺针数									
≤3	13	6	7	8.952	0.011	0	13	1.005	0.605
4~6	13	12	1			1	12		
≥7	24	20	4			1	23		

注:^a表示采用确切概率法。

3 讨论

穿刺活检是确诊前列腺癌的主要方法,往往活检标本体积小,且前列腺癌病灶形态差异不大,导致分化好的肿瘤腺体与正常腺体、Gleason 3 级腺体与部分 Gleason 4 级腺体难以鉴别,常常是诊断的难点,可能造成延误治疗^[4]。近年来,免疫组织化学法作为辅助诊断前列腺癌的重要手段,有利于前列腺良、恶性鉴别,促进前列腺癌的诊断及治疗。目前认为 P504s 不仅表达于胰腺、胃等正常组织,其高表达通常提示癌及癌前病变^[5-6];亦可表达于前列腺癌及其

癌前病变,如前列腺上皮内瘤(PIN)和非典型增生,是前列腺癌的重要肿瘤标志物^[7]。有研究报道,P504s 在前列腺癌组织中高表达,其基因多态性和前列腺癌的发生存在关联^[8]。本试验结果显示,P504s 在正常前列腺组织及前列腺癌组织的表达存在显著差异,其在前列腺癌组织中呈过度表达,阳性表达率达 96.0%,而在正常前列腺组织中不表达,表达率为 0,此结果与先前的研究一致。先前有学者研究发现,P504s 用作前列腺癌早期筛查的肿瘤标志物,其敏感性较高,但其没有组织特异性,不是前列腺癌的特异性肿瘤标志物^[9],所以仍需要挖掘更多的指标,以提高前列腺癌早期诊断率。

ERG 基因作为前列腺癌的原癌基因,在前列腺癌中具有较高的特异性。ERG 过表达的机制是 TMPRSS2-ERG 融合基因导致 TMPRSS2 基因中 ARE 增强子遭到破坏,引起 TMPRSS2 基因上游的雄激素效应器介导转录因子(ETS)家族成员的功能失调,从而导致基因异位和缺失,促使 ETS 及 ERG 过度表达。ERG 过表达并不能直接导致前列腺癌的发生,还需其他因素叠加,因此其高表达可能是前列腺癌的早期事件^[10]。Leyten 等^[11]认为 ERG 作为一种分子标志物,提高了前列腺癌的检出率,能够显著降低不必要的前列腺活检频率。易发现等^[12]测定前列腺癌组织中 ERG 表达,发现 ERG 作为前列腺癌诊断标志物的特异性高达 95.0%,敏感性 45.0%,表明 ERG 在前列腺癌组织中过度表达,其特异性高,具有作为新的前列腺癌早期诊断肿瘤标志物的特征。另外, Lee 等^[13]的报道中,将 ERG 作为前列腺癌穿刺活检的诊断工具,结合基底细胞标志物和 P504s 进行了研究,结果表明 ERG 本身并不能取代基底细胞标志物或 P504s,但其特异性高于基底细胞标志物,而敏感性较低。本试验结果显示,ERG 在正常前列腺组织中不表达,仅在前列腺癌组织中表达,其敏感性为 24.0%,特异性 100.0%。

ERG 表达与前列腺癌患者临床病理特征的关系也受到研究人员的关注,Font-Tello 等^[14]测定 161 例

前列腺癌组织中 ERG 的表达,分析其与前列腺癌分级、分期及预后的关系,发现 ERG 阳性表达患者通常预示着肿瘤的高侵袭性,ERG 高表达往往伴随较低的生存率。而 Bismar 等^[15]利用 ERG 免疫组化检测 293 例前列腺癌病例,发现其表达与患者更低的 Gleason 分级相关,伴随更长的无进展生存期;Darnel 等^[16]研究发现 ERG 在 Gleason 3 级的前列腺癌中更常见;本研究中,ERG 在 Gleason 3 级的前列腺癌中的阳性表达率高于 Gleason 4 级。

218 例接受根治性前列腺切除术治疗的局限性前列腺癌患者队列研究显示,高 α -甲基酰基辅酶 A 消旋酶 (AMACR)/ERG 阳性的前列腺癌患者可能处于疾病进展的较高风险中,具有重大的预后意义^[17]。分析本研究中 ERG 和 P504s 的表达与临床病理特征相关性发现,前列腺癌组织 ERG 表达与 Gleason 分级呈相关性,但 P504s 表达与 Gleason 分级无显著相关。这可能与我国前列腺癌患者确诊时多数是局部晚期和伴随转移有关,表明 ERG 过表达更倾向于发生在早期前列腺癌患者。鉴于本组研究样本量偏小,研究方法存在一定的局限性,ERG 和 P504s 表达在前列腺癌中的价值尚待进一步研究。

综上所述,ERG 与 P504s 在正常前列腺组织未见表达,在前列腺癌中分别表达和高表达;且 ERG 表达多在前列腺癌 Gleason 3 级,两指标在前列腺癌诊断中具有一定的价值。

参考文献

[1] 叶定伟,朱耀. 中国前列腺癌的流行病学概述和启示[J]. 中华外科杂志,2015,53(4):249-252.

[2] Adamo P, Ladomery MR. The oncogene ERG; a key factor in prostate cancer[J]. *Oncogene*,2016,35(4):403-414.

[3] Epstein JI, Egevad L, Amin MB, et al. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) consensus conference on gleason grading of prostatic carcinoma: definition of grading patterns and proposal for a new grading system[J]. *Am J Surg Pathol*,2016,40(2):244-252.

[4] 云帆, 缪琦, 张晋夏, 等. 穿刺活检前列腺癌 119 例病理形态、Gleason 分级及预后分组[J]. *诊断病理学杂志*,2018,25(1):17-21.

[5] 陈真伟, 施红旗, 应李雄, 等. P504s 在胰腺实性假乳头瘤和胰腺神经内分泌肿瘤鉴别诊断中的价值[J]. *中华病理学杂志*,

[6] 余德松, 王耀武, 曹旭昌, 等. ERG 和 P504s 在胃腺癌和胃淋巴瘤早期胃癌中的表达及其意义[J]. *胃肠病学*,2018,23(10):591-596.

[7] 张家伟, 赵莹莹, 马爱玲, 等. 前列腺癌组织 Ki67、P504s、34 β -E12、p63 蛋白表达情况及意义[J]. *宁夏医学杂志*,2018,40(10):921-923.

[8] Festuccia C, Gravina GL, Mancini A, et al. Trifluoroibuprofen inhibits α -methylacyl coenzyme A racemase (AMACR/P504s), reduces cancer cell proliferation and inhibits in vivo tumor growth in aggressive prostate cancer models [J]. *Anticancer Agents Med Chem*,2014,14(7):1031-1041.

[9] 张新民, 高娅文, 杨宇. P504s, 34E12, P63 及前列腺特异性抗原在前列腺癌中的表达特点及诊断意义[J]. *国际病理科学与临床杂志*,2011,31(3):200-205.

[10] Sedarsky J, Degon M, Srivastava S, et al. Ethnicity and ERG frequency in prostate cancer[J]. *Nature reviews. Urology*,2018,15(2):125-131.

[11] Leyten GH, Hessels D, Jannink SA, et al. Prospective multicentre evaluation of PCA3 and TMPRSS2-ERG gene fusions as diagnostic and prognostic urinary biomarkers for prostate cancer[J]. *Eur Urol*,2014,65(3):534-542.

[12] 易发现, 李虹, 魏强, 等. 融合基因 TMPRSS2; ERG 与前列腺癌病理分级关系的研究[J]. *中华男科学杂志*,2015,21(10):887-891.

[13] Lee SL, Yu D, Wang C, et al. ERG expression in prostate needle biopsy: potential diagnostic and prognostic implications[J]. *Appl Immunohistochem Molecular Morphol*,2015,23(7):499-500.

[14] Font-Tello A, Juanpere N, Demuga S, et al. Association of ERG and TMPRSS2-ERG with grade, stage, and prognosis of prostate cancer is dependent on their expression levels [J]. *Prostate*,2015,75(11):1216-1226.

[15] Bismar TA, Dolph M, Teng LH, et al. ERG protein expression reflects hormonal treatment response and is associated with Gleason score and prostate cancer specific mortality [J]. *Eur J Cancer*,2012,48(4):538-546.

[16] Darnel AD, Lafargue CJ, Vollmer RT, et al. TMPRSS2-ERG fusion is frequently observed in Gleason pattern 3 prostate cancer in a Canadian cohort[J]. *Cancer Biol Ther*,2008,8(2):125-130.

[17] Box A, Alshalalfa M, Hefazy SA, et al. High alpha-methylacyl-CoA racemase (AMACR) is associated with ERG expression and with adverse clinical outcome in patients with localized prostate cancer [J]. *Tumor Biology*,2016,37(9):12287-12299.

收稿日期:2019-10-18 修回日期:2019-11-04 编辑:石嘉莹