

前列腺癌组织中前列腺特异性膜抗原基因表达的临床意义

张 斌¹, 李文光², 吴 优², 倪 俭², 蔡 波², 张跃平² (1. 江苏省南通市通州区第八人民医院检验科 226361; 2. 南通大学附属医院泌尿外科 226001)

【摘要】 目的 检测前列腺特异性膜抗原(PSMA)基因在前列腺癌组织中的表达,并探讨其意义。**方法** 利用半定量(RT-PCR)法检测 52 例前列腺癌组织及 35 例前列腺增生组织中 PSMA 的表达。**结果** (1)PSMA 在前列腺癌及前列腺增生组织中的阳性表达率分别为 84.6%(44/52)及 68.6%(24/35),虽然前列腺癌组织中 PSMA 表达阳性率高于前列腺增生组织,但两者差异无统计学意义($P>0.05$)。PSMA mRNA 半定量结果在两组间存在差异,癌组织中 PSMA 的表达量明显高于增生组织中的表达,差异有统计学意义($P<0.05$)。(2)PSMA 基因表达量与肿瘤的分化程度有关,分化程度越低,表达量越高,高分化前列腺癌与低分化前列腺癌间差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** PSMA 在前列腺癌中的表达与肿瘤的分化程度有关,且高于前列腺增生组织,提示 PSMA 可作为判断预后及分化程度的指标。

【关键词】 前列腺肿瘤; 前列腺特异抗原; 基因表达; 逆转录聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.18.014 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)18-2207-02

Clinical significance of PSMA gene expression in prostate cancer tissue ZHANG Bin¹, LI Wen-guang², WU You², NI Jian², CAI Bo², ZHANG Yue-ping² (1. Department of Clinical Laboratory, Eighth People's Hospital of Tongzhou District, Nantong, Jiangsu 226361, China; 2. Department of Urology, Afiliated Hospital, Nantong University, Nantong, Jiangsu 226001, China)

【Abstract】 Objective To investigate the expression of prostate specific membrane antigen (PSMA) in prostate cancer tissue and its significance. **Methods** Expression of PSMA was assayed by semiquantitative RT-PCR in 52 cases of prostate cancer and 35 cases of benign prostatic hyperplasia tissues. **Results** (1)The positive rates of PSMA in the tissues of prostate cancer and benign prostatic hyperplasia were 84.6% and 68.6% respectively. Although there was no statistical difference between the two sets of positive rate, the semiquantitative results showed that the expression level of PSMA in prostate cancer was significantly higher than that in benign prostatic hyperplasia tissues. (2)The expression quantity of PSMA was correlated with histological grade, the expression quantity of PSMA was lower in well-differentiated endometrial carcinoma than in poorly differentiated endometrial carcinoma. **Conclusion**

Expression of PSMA in prostate cancer is related with the differentiation degree of tumor and is higher than that in prostatic hyperplasia tissues, which prompts that PSMA may be used as an index to assess the differentiation degree and prognosis of prostate cancer.

【Key words】 prostatic neoplasms; prostate-specific antigen; gene expression; reverse transcriptase polymerase chain reaction

近年来,前列腺癌发病率呈明显上升趋势,出现明显临床症状时多已发生转移,其早期诊断及治疗对预后有重要意义。前列腺特异性膜抗原(prostate specific membrane antigen, PSMA)是存在于前列腺细胞膜上的一种Ⅱ型跨膜蛋白,近几年才引起研究者关注,认为其比前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)更具特异性^[1]。本研究以半定量逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测和分析前列腺癌组织及前列腺增生组织中 PSMA mRNA 的表达情况,探讨其表达与前列腺癌的关系。

1 资料与方法

1.1 组织标本 收集 2007 年 6 月至 2010 年 2 月在南通大学附属医院住院手术治疗的 52 例前列腺癌患者及 35 例前列腺增生患者手术切除组织,每例患者切下的标本分为 2 份,一份立即置液氮速冻后,保存于-80℃备用。另一份做病理检查。前列腺癌患者年龄 42~77 岁,中位年龄 61 岁。依据世界卫生组织(2004 年)前列腺恶性肿瘤组织学分级标准,其中高分化 18 例,中分化 14 例,低分化及未分化 20 例。

1.2 仪器 TRIZOL 及 DEPC 购自上海华舜生物工程有限公司。RT-PCR 一步法试剂盒购自品美生物工程有限公司,其中逆转录酶 AMV RT、Taq 酶及 dNTP 均为 Finnzymes 公司产品。凝胶电泳摄像仪为 Panasonic 公司产品,凝胶定量分析软件捷达 801 为江苏省捷达科技公司产品。

1.3 引物设计与合成 从 GenBank 查取基因序列,以 Primer 5 软件设计 PSMA 及内参 β -肌动蛋白(β -actin)的引物各一对,其序列分别为 PSMA:上游 5'-TCC TCT TCG GGT GGT TTA-3',下游 5'-CCC TCT GGC ATT CCT TGA-3'; β -actin:上游 5'-AAG TAC TCC GTG TGG ATC GG-3',下游 5'-ATG CTA TCA CCT CCC CTG TG-3'。扩增片段大小分别为 406 bp 和 495 bp。上述引物均由上海生工生物技术服务有限公司合成。

1.4 组织中 RNA 样品的提取 分别称取前列腺癌及前列腺增生组织 20~30 mg 置于匀浆器,以 TRIZOL 试剂提取总 RNA。

1.5 RT-PCR 每份 RNA 标本均做 PSMA 及 β -actin 共两对

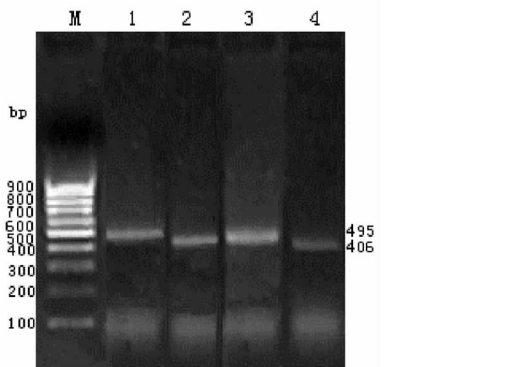
引物的扩增管,每对引物各做两管。反应条件均相同,即先置于 55 ℃ 水浴逆转录 45 min 后,直接置 PCR 扩增仪 94 ℃ 变性 45 s,54 ℃ 退火 45 s,72 ℃ 延伸 60 s,40 个循环后,再 72 ℃ 延伸 5 min。以不加模板的反应管作为空白对照。

1.6 PCR 产物半定量分析 PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳后用 Panasonic 摄像仪将含有产物条带的电泳图谱扫入电脑,以捷达 801 分析软件对条带进行分析,读取积分吸光度(A)值,以 PSMA 平均 A 值/ β -actin 平均 A 值来表示 PSMA 的相对表达强度。

1.7 统计学处理 以 Stata8.0 统计软件处理原始数据,前列腺癌与前列腺增生组织中 PSMA 表达阳性率的比较采用 χ^2 检验;PSMA 半定量数值以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用方差分析。

2 结 果

2.1 PSMA 基因表达及半定量结果 将 PSMA 及内参 β -actin 的 RT-PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳后,其条带与标准 Marker 相比较,结果表明引物有较好的特异性,只有一条产物带,且其相对分子质量大小与预先设计的相一致,如图 1。同时从所有标本 RT-PCR 扩增结果看,PSMA 在前列腺癌及前列腺增生组织中表达的阳性率分别为 84.6%(44/52)及 68.6%(24/35),虽然前列腺癌组织中 PSMA 表达的阳性率高于前列腺增生组织,但两组阳性率间差异无统计学意义($P>0.05$)。44 例前列腺癌及 24 例前列腺增生患者 PSMA mRNA 阳性表达,其半定量结果两组存在差异,前列腺癌组织中 PSMA 的表达量(0.759 ± 0.161)明显高于前列腺增生组织(0.551 ± 0.132),差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。



注:M 为 DNA 相对分子质量;1、2 为前列腺癌组织 β -actin、PSMA;3、4 为前列腺增生组织 β -actin、PSMA。

图 1 前列腺癌及前列腺增生组织中 β -actin、PSMA RT-PCR 扩增结果

表 1 PSMA 在前列腺癌及前列腺增生组织中的表达

组别	n	PSMA	
		阳性(%)	相对表达量($\bar{x}\pm s$)
前列腺癌组织	52	44(84.6)*	0.759 $\pm$ 0.161 [#]
前列腺增生组织	35	24(68.6)	0.551 $\pm$ 0.132

注:与前列腺增生组织比较,* $P>0.05$;[#] $P<0.05$ 。

2.2 PSMA 相对表达量与前列腺癌分化程度的关系 见表 2。由表 2 可见,高、中、低分化前列腺癌 PSMA 阳性表达例数分别为 12 例(66.7%)、12 例(85.7%)、20 例(100.0%),3 种不同分化程度的前列腺癌中阳性表达例数间分别作两两比较,结果低分化癌 PSMA 阳性率明显高于高分化癌,差异有统计学意义($P<0.05$)。从其半定量结果看,PSMA 在低分化癌的

相对表达量(0.815 ± 0.120)高于高分化癌的相对表达量(0.706 ± 0.110),差异也有统计学意义($P<0.05$)。而 PSMA 在高分化癌中的阳性率及相对表达量与中分化癌相比,差异均不明显($P>0.05$)。

表 2 PSMA 相对表达量与前列腺癌分化程度的关系

分化程度	总例数	PSMA	
		阳性例数(%)	相对表达量($\bar{x}\pm s$)
高分化	18	12(66.7)	0.706 $\pm$ 0.110
中分化	14	12(85.7)	0.753 $\pm$ 0.120
低分化癌	20	20(100.0)*	0.815 $\pm$ 0.120*

注:与高分化前列腺癌组比较,* $P<0.05$ 。

3 讨 论

人 PSMA 基因全长为 62 035 bp,由 19 个外显子和 18 个内含子组成,编码的蛋白为一种 II 型跨膜蛋白,由 750 个氨基酸残基组成,其相对分子质量约 $(100\sim 120)\times 10^3$ [2]。正常组织中 PSMA 除表达于前列腺组织外,还表达于子宫内膜、肾小管、膀胱、胃肠道的神经节细胞、脑组织、胰岛、骨骼肌以及结肠隐窝细胞。就肿瘤组织而言,目前与前列腺癌相关且特异的、可作为前列腺癌检测及生物治疗靶点的生物学指标相对较少,主要有 PSA 及 PSMA。最近 Talesa 等[3]采用实时荧光定量 PCR 法联合检测 PSMA、丝氨酸蛋白酶、前列腺癌相关抗原 3(PCA3)、 $\beta_{1,4}$ -N-乙酰氨基半乳糖转移酶及 PSA 在前列腺癌及前列腺增生组织中的表达,并对结果进行了 logistic 回归分析,结果表明 PSMA 及 PSA 对前列腺癌的诊断价值明显优于其他指标,两者均可作为前列腺癌诊断标志物。此外,有研究显示,PSMA 较之 PSA 有更好的灵敏度及特异性[1,4]。Mhawech-Fauceglia 等[5]应用组织微阵列技术研究了 2 174 例各种类型肿瘤组织中 PSMA 的表达情况,结果显示所有良性肿瘤表达均为阴性,仅有 154 例恶性肿瘤表达阳性,除前列腺癌外,其他肿瘤中膀胱尿路上皮癌 PSMA 表达率相对较高(17%),PSMA 在区分前列腺癌与其他类型恶性肿瘤的敏感性和特异性分别为 65.9%和 94.5%,区分前列腺癌和膀胱尿路上皮癌的敏感性和特异性分别为 65.9%和 82.9%,表明 PSMA 对前列腺癌有相对高的特异性[6]。

本研究显示 PSMA 在前列腺癌及前列腺增生组织中均有表达,虽然前列腺癌组织中 PSMA 表达阳性率高于前列腺增生组织,但两组阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。但本研究中 PSMA PCR 扩增条带荧光强度在两组间比较存在差异,癌组织强于增生组织,其半定量结果显示,癌组织中 PSMA 的表达量明显高于增生组织中,进一步表明虽然 PSMA 在前列腺癌及前列腺增生组织中均有表达,但存在着表达量的差异。

此外,PSMA 基因表达与前列腺癌细胞的分化程度之间的关系研究文献报道较少,本研究中 PSMA 在不同分化程度的癌组织中的表达存在差异,在高分化癌组织中,其表达阳性率及相对表达量均低于中、低分化癌组织;细胞分化程度越差,PSMA 表达越强,在低分化癌组织中 PSMA 表达阳性率达 100%,相对表达量最强,与高分化癌比较差异有统计学意义($P<0.05$),表明 PSMA 的表达与细胞的分化程度有关,PSMA 高表达可能是分化差的标志[7-8]。

总之,对 PSMA 与前列腺癌之间关系的深入研究,将对揭示前列腺癌的发生、发展规律有重要意义,同时对指导前列腺癌的诊断、预防和治疗有着重要意义。(下转第 2210 页)

气中病原微生物的监测是评价消毒效果的一种方法,也是医院感染管理的主要内容^[3]。在本院的各项调查中,空气的合格率最低,只有 87.88%,其中Ⅱ类科室(包括手术室、重症监护病房、供应室、母婴室、新生儿病房、烧伤病房)空气的合格率较高,这类科室消毒设施先进,大都采用紫外线循环风消毒,而Ⅲ类科室合格率较低。原因有医护人员无菌观念不强,消毒不及时、消毒时间不够,加之这类科室的人员流动性大,增加了污染的可能性;经过检测,有个别科室的紫外线灯照射强度不够,使用时间过长没有及时更换;还有些科室的布局不合理,污染区和半污染区没有完全分开;个别科室通风设备不足,通风不良。查明原因后院领导很重视,这些问题都及时得到了解决,使本院的空气消毒质量得到了提高。

手卫生是医院感染控制中最简单却是最有效的环节^[4-5],医务人员手上携带的细菌成为医院感染的主要致病源,由于医务人员洗手不彻底,导致病原菌传播而造成感染的占医院感染的 30%^[6],而手的清洗和消毒是防止医院感染最主要的措施之一^[7-8]。本院医护人员的手合格率较低,为 89.69%,不能按规范洗手是主要原因,医务人员手卫生知识缺乏是造成洗手依从性低的原因之一,为医务人员提供相关手卫生知识的培训,是改善医务人员洗手依从性的重要措施^[9,9-10]。本院针对这种情况定期组织手卫生知识的讲座,增强了医务人员对手卫生认识,对新上岗职工进行岗前培训,考试合格后方可上岗。洗手池上方张贴“六步洗手法”的图片,改进了部分科室洗手设施。提高了医务人员手卫生的依从性,降低了医院感染的发生。

本院高压灭菌效果和灭菌物品的合格率均达到 100%,说明本院对生物安全的管理非常重视,对高压灭菌工作非常关注,增强了对供应室的硬件投入,并经常派出相关人员进行培训,取得了一定效果。透析液 2 例不合格皆因取样人员没有按规范取样造成人为污染,本院未出现因透析出现的透析反应和院内感染。

做好医院消毒灭菌监测工作是控制医院感染病原菌传播的有效措施之一,其消毒灭菌质量直接关系到医院感染的发生与流行^[11]。本院应进一步加强消毒灭菌方面的管理,使消毒

灭菌工作做到制度化、规范化,及时发现医院感染的各种隐患,最大限度地降低医院感染的发生率。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2002; 200-201.
- [2] 董明驹, 史莉. 医院消毒灭菌效果的监测与分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(1): 73-74.
- [3] 於国珍. 空气微生物采样中存在的问题及应对措施[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(9): 1208.
- [4] Pittet D. The lowbury lecture: behavior in infection control [J]. J Hosp Infect, 2004, 58(1): 1-13.
- [5] 游建萍, 黄庆, 府伟灵, 等. 手卫生所致医院感染的预防和控制措施的探讨[J]. 中华医院感染学杂志, 2005, 15(4): 426-428.
- [6] 尚少梅, 王宜枝, 郑修霞, 等. 促进护理人员洗手行为依从性的研究[J]. 中华医学感染学杂志, 2003, 13(6): 507-510.
- [7] 邢红霞, 张红英, 武建英, 等. 医务人员手卫生现状与管理[J]. 中华医院感染学杂志, 2002, 12(8): 639-640.
- [8] 许晨耘, 柯亚娟, 于诗娃. 手术人员手卫生消毒方法[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(11): 1390.
- [9] 李亚琴, 高书义, 郭丽英. 2004~2007 年医务人员手卫生监测结果分析及对策[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(7): 956-957.
- [10] 赵岚, 孙利华. 医护人员对手卫生的认知误区及影响手卫生执行的因素调查[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(10): 1410-1412.
- [11] 吴蕊, 郭世春, 胡安建. 强化医院消毒灭菌管理及对策[J]. 中华医院感染学杂志, 2003, 13(5): 446-448.

(收稿日期: 2011-04-17)

(上接第 2208 页)

参考文献

- [1] Kurek R, Nunez G, Tselis N, et al. Prognostic value of combined “Triple”-reverse transcription-PCR analysis for prostate-specific antigen, human kallikrein 2, and prostate-specific membrane antigen mRNA in peripheral blood and lymph nodes of prostate cancer patients [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(17): 5808-5814.
- [2] Israeli RS, Powell CT, Fair WR, et al. Molecular cloning of a complementary DNA encoding a prostate-specific membrane antigen[J]. Cancer Res, 1993, 53(2): 227-230.
- [3] Talesa VN, Antognelli C, Del Buono C, et al. Diagnostic potential in prostate cancer of a panel of urinary molecular tumor markers[J]. Cancer Biomark, 2009, 5(6): 241-251.
- [4] Grasso YZ, Gupta MK, Levin HS, et al. Combined nested RT-PCR assay for prostate-specific antigen and prostate-specific membrane antigen in prostate cancer patients; cor-

relation with pathological stage[J]. Cancer, 1998, 58(7): 1456-1459.

- [5] Mhawech-Fauceglia P, Zhang S, Terracciano L, et al. Prostate-specific membrane antigen (PSMA) protein expression in normal and neoplastic tissues and its sensitivity and specificity in prostate adenocarcinoma: an immunohistochemical study using multiple tumour tissue microarray technique[J]. Histopathology, 2007, 50(4): 472-483.
- [6] 唐庆来, 姚茂银, 薛君, 等. PSMA、PSA 在前列腺癌组织中的表达及其与腺癌临床分期的相关分析[J]. 东南大学学报: 医学版, 2010, 29(1): 65-69.
- [7] 张才田, 王雪松, 崔毓桂. 前列腺特异性膜抗原的临床应用与研究进展[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2009, 28(3): 201-204.
- [8] 张致远, 李相如. 前列腺特异性膜抗原 PSMA 研究进展[J]. 中国男科学杂志, 2009, 23(4): 69-72.

(收稿日期: 2011-04-29)