

粘着斑激酶在前列腺癌中表达的研究*

廖洪利, 米叶赛尔·阿不都拉

(新疆喀什地区第一人民医院检验科, 新疆喀什 844000)

摘要:目的 探讨粘着斑激酶(FAK)表达与前列腺癌发病的关系。方法 前列腺癌患者 60 例,经手术切除的癌组织及相应的癌旁组织行免疫组化检测 FAK 表达情况。Trizol 法提取组织总 RNA,RT-PCR 检测 FAK mRNA 表达量,并进行统计学分析。结果 FAK 在 60 例前列腺癌组织中表达明显比癌旁组织高,两者差异有统计学意义($\chi^2=72.55, P<0.01$),FAK 的 mRNA 水平在前列腺癌组织表达显著比癌旁组织高($t=30.51, P<0.01$)。淋巴结转移情况看 pN0M0 表达阳性例数比 pN3M1 少,pN0M0 的 mRNA 表达量比 pN3M1 的表达量低,差异有统计学意义($t=25.43, P<0.01$)。结论 前列腺癌细胞 FAK 表达与侵袭转移相关。

关键词:前列腺癌;粘着斑激酶(FAK);免疫组化

中图分类号:R737.25;R730.43 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2016)05-132-02

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.05.038

Research on Expression of FAK in Prostate Carcinoma

LIAO Hong-li, MIYESAIER · Abdula (Department of Clinical Laboratory,
the First People Hospital of Kashi, Xinjiang Kashi 844000, China)

Abstract: Objective To investigate the relationships between expression of FAK and Prostate Carcinoma (PC) morbidity. **Methods** By surgery, get cancer tissue and para-carcinoma tissue from 60 cases PC. To detect FAK expression by immunohistochemical. To extract total RNA by Trizol. To detect the FAK mRNA by RT-PCR, and analysis these data. **Results** FAK expression level in cancer tissue was higher than that in para-carcinoma tissue. There was statistical difference between them ($\chi^2=72.55, P<0.01$). mRNA expression levels of FAK in cancer tissue showed significant higher than the levels in para-carcinoma tissue ($t=30.51, P<0.01$). According to lymphatic metastasis, the expression positive cases of FAK in pN0M0 classification were lower than these in pN3M1 classification, and mRNA expression levels of FAK were the same results. There were clearly statistical distinctive ($t=25.43, P<0.01$). **Conclusion** The expression of FAK in PC cells was associated with tumor invasion.

Keywords: prostate carcinoma(PC); focal adhesion kinase (FAK); immunohistochemical

前列腺癌是一种异质性和遗传不稳定性疾病,其已成为危害男性健康的重大疾病之一。早期诊断和治疗将成为医治此类疾患的关键。粘着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)是一种高度保守的蛋白质,其表达与肿瘤细胞的侵袭、迁移、增殖等生物学功能相关^[1]。近年来 FAK 与肿瘤细胞的转移关系密切,这一点已得到学术界普遍认可。本研究以 FAK 为切入点,观察其表达与前列腺癌发病的关系,试图以此阐明其在前列腺癌发生发展中的作用,为遏制前列腺癌发生提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源:选取我院泌尿外科住院手术的前列腺癌患者 60 例(实验组),年龄 51~75 岁,平均年龄 67.2 ± 6.2 岁,其手术后留取组织制成病理切片,同时取距离病灶 2 cm 相对应癌旁组织标本

60 例(对照组)。所有患者的组织切片经两位高年资病理医生做出临床诊断。标本病理分级按照 Gleason 评分系统,其中 Gleason3 共 10 例, Gleason4 共 22 例, Gleason5 共 28 例。所有患者在术前未接受任何辅助治疗。没有服用任何免疫抑制剂药物。

1.1.2 主要试剂和仪器:Trizol(美国 Invitrogen 公司);鼠抗人 FAK 抗体(美国 Cayman 公司);生物素标记二抗和过氧化物酶(博士德生物公司);RT-PCR 检测试剂盒(大连宝生物公司);基因检测扩增仪(美国 PE 公司);激光共聚焦显微镜和 Olympus IX70 倒置显微镜(日本 Olympus);ID KODAK 凝胶成像系统(美国 Kodak 公司)。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色:组织 8 mm 取材,标本置 10 ml/dl 福尔马林中固定,经脱水、透明、浸蜡、

* 作者简介:廖洪利(1971-),女,副主任检验师,主要从事临床检验工作。

包埋等步骤最后行免疫组化染色。将抗原修复好的组织切片依次加入 FAK 抗体(工作浓度均为 1 : 200) 和生物素标记二抗,酒精梯度洗脱后,将组织切片 DAB 显色 2 min,苏木素复染,封片后显微镜下阅片,PBS 代替一抗作空白对照。结果判定以胞浆中出现棕黄色颗粒为阳性。组织细胞没有着色为阴性。采用双盲法统计实验结果,显微镜下每张切片随机抽取 10 个高倍视野统计。

1.2.2 RT-PCR 检测

1.2.2.1 RNA 提取:Trizol 法分别提取前列腺癌新鲜组织及癌旁组织总 RNA。具体按 RNA 提取试剂盒操作说明进行。

1.2.2.2 逆转录 cDNA:随机引物 2 μ l, RNA 3 μ l, DEPC H₂O 10 μ l, 70℃ 5 min, 然后再加入 Buffer 8 μ l, Rnasin 1.5 μ l, dNTP 1.25 μ l, 加 H₂O 14.25 μ l 共 40 μ l 体系 37℃ 温育 1 h, 95℃ 反应 5 min。

1.2.2.3 定量 PCR: 引物为: 上游 5'-GAT-AGACGCTCCTGGTGT-3', 下游 5'-GGTCGT-GCCAGGCTGGA-3'。反应体系在 95℃ 5 min, 95℃ 15 s, 60℃ 60 s, 50 个循环进行。 β -actin 的引物: 上游 5'-CTTCCTGGGCATGGAGTC-3', 下游 5'-GCCGATCCACACGGAGTA-3'。产物凝胶成像, 激光密度扫描仪记录 FAK/ β -actin 密度比值并进行分析。

1.3 统计学分析 SPSS 12.0 统计软件分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组化检测前列腺癌及癌旁组织 FAK 的表达 在前列腺癌癌旁组织中 FAK 几乎无表达(阳性例数/总例数, 2/60), 而在前列腺癌组织细胞中表达显著, 染色为棕黄色即表达阳性(阳性例数/总例数, 48/60), 两组相比差异有统计学意义($\chi^2 = 72.55, P < 0.01$)。从前列腺癌组织淋巴结受累和远端转移情况看 pN0M0 表达阳性例数(20/30), pN3M1 表达阳性例数(28/30), 两组相比差异有统计学意义($\chi^2 = 6.67, P < 0.01$)。可见淋巴结受累越严重, 远端转移越明显, FAK 表达阳性数越多, 表达水平越高。

2.2 RT-PCR 检测 FAK 表达 FAK 的 mRNA 水平在前列腺癌组织表达显著升高(FAK/ β -actin 为 1.09 ± 0.04), 前列腺癌癌旁组织表达较低(FAK/ β -actin 为 0.05 ± 0.04)。两组相比差异有统计学意义($t = 30.51, P < 0.01$)。淋巴结转移 pN0M0 的 FAK 表达比 pN3M1 显著降低, 两组相比差异有统计学意义($t = 25.43, P < 0.01$)。

3 讨论 前列腺癌发生发展与细胞侵袭转移中异常传导信号机制密不可分。粘着斑激酶(FAK)广泛存在于体内, 参与多条细胞传导信号通路。它在正常组织中不表达或低表达, 当表皮生长因子(EGF)刺激后, EGFR 和 EGF 族配体结合后表达变化明显, 其中 EGFR 与恶性肿瘤发生关系密切, 故 FAK 表达与多数肿瘤上皮 EGFR 高表达相一致^[2]。本研究通过免疫组化和逆转录聚合酶链式反应发现前列腺癌组织 FAK 表达明显比癌旁组织高, 充分表明 FAK 表达与肿瘤细胞的恶性度有关。

FAK 对细胞的粘附、伸展、增殖和凋亡具有很大的调控作用^[3]。FAK 与肿瘤细胞侵袭转移的关系越来越得到学术界的关注, 近年来大量研究发现 FAK 表达的强度与肿瘤细胞的远端转移相关^[4]。本研究结果发现前列腺癌细胞淋巴结受累越严重, 远端转移越明显, 则 FAK 表达越高。可见 FAK 表达与前列腺癌细胞转移程度相关。

本研究为前列腺癌临床治疗提供新突破点, 为前列腺癌发生发展的作用规律提供新思路。对前列腺癌诊疗具有积极的意义。另外本研究为肿瘤个体化治疗趋势, 特别为临床下一步靶向治疗奠定基础。

参考文献:

- [1] 杨 慧, 林春龙. FAK 在 COPD 呼吸道平滑肌细胞增殖中作用机制的研究进展[J]. 医学综述, 2014, 20(22): 4068-4070.
Yang H, Lin CL. Research advance in the mechanism of FAK in the proliferation of airway smooth muscle cell in Chronic Obstructive Pulmonary Disease[J]. Medical Review, 2014, 22(20): 4068-4070.
- [2] Alberghina M. Phospholipase a(2): New lessons from endothelial cells[J]. Microvasc Res, 2010, 80(2): 280-285.
- [3] Tian G, Wang XQ, Zhang F, et al. Down-regulation of cPLA2 γ expression inhibits EGF-induced chemotaxis of human breast cancer cells through Akt pathway[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2011, 409(3): 506-512.
- [4] Navarro-Tito N, Robledo T, Salazar EP. Arachidonic acid promotes FAK activation and migration in MDA-MB-231 breast cancer cells[J]. Experimental Cell Research, 2008, 314(18): 3340-3355.

收稿日期: 2016-01-20

修回日期: 2016-04-27