

·实验研究·

前列腺癌中雄激素受体基因突变的研究^①张 勇^② 桂治宁

(中山医科大学实验核医学教研室: 广州, 510089)

摘 要 应用受体的放射配基结合分析(RBA)和多聚酶链反应-单链构象多态分析(PCR-SSCP)技术对未经治疗的16例前列腺癌和23例前列腺增生症组织中雄激素受体的表达水平和雄激素受体基因第8外显子突变情况作检测。结果显示,前列腺癌中雄激素受体的平均水平明显高于前列腺增生症,在2例前列腺癌和1例前列腺增生症标本中检出雄激素受体基因第8外显子突变,前列腺癌中雄激素受体的表达水平与雄激素受体基因突变和前列腺癌临床分期具有相关性。结果表明,在前列腺癌中雄激素受体有过量表达,有必要对雄激素受体基因突变与前列腺癌和前列腺增生症的关系做进一步研究。

主题词 前列腺肿瘤; 受体 雄激素; 突变

中图分类号 R737.25

雄激素受体(AR)在前列腺癌发生发展中的地位一直是前列腺癌研究中的一个重要方向。在早期国内外作者主要对AR在前列腺癌中的表达做了重点研究,其中,国内研究发现,前列腺癌组织中的AR平均水平比前列腺增生症和正常前列腺组织有明显升高^[1],与多数国外文献报道不相一致。近年来,一些国外作者相继在前列腺癌组织中检出AR基因突变,对AR基因突变与前列腺癌的关系做了初步探讨^[2~6],但在国内还未见有同类研究报道。作者采用RBA技术和PCR-SSCP技术研究了国人前列腺癌和前列腺增生症组织中AR的表达及AR基因第8外显子突变情况,对AR的表达及AR基因突变与前列腺癌生物学行为的关系作进一步探讨。

1 材料和方法

1.1 材 料

1995年5月~1996年2月共收集前列腺癌穿刺标本16例,前列腺增生症手术切除标本23例,另取1例尸体正常前列腺组织作为阴性对照,均经病理证实。

1.2 RBA法测定AR水平

经饱和分析法,选取浓度为5 nmol/L的³H-

R1881作为标记配基,采用单点法测量7例前列腺癌和全部23例前列腺增生症标本中的AR水平^[1]。

1.3 PCR扩增AR基因第8外显子

DNA抽提按常规酚-氯仿抽提方法进行。参照相关文献^[2]合成引物。PCR扩增的特异性循环参数为94℃变性45s,60℃退火45s,72℃延伸1min,30个循环后再72℃延伸5min。

1.4 PCR-SSCP

取AR基因第8外显子的PCR产物(346bp)8 μL经碱变性后上样于6%中性聚丙烯酰胺凝胶,用0.5×TBE为缓冲液,恒电流15 mA,室温下电泳12~16 h,凝胶以银染^[7]后观察结果。

2 结 果

2.1 RBA结果

7例前列腺癌标本中AR的平均水平(均数±标准差):胞浆为(220.7±183.3)fmol/mg蛋白质,胞核为(344.1±273.8)fmol/mg蛋白质;23例前列腺增生症标本中AR的平均水平(均数±标准差):胞浆为(82.4±53.0)fmol/mg蛋白质,胞核为(80.3±57.5)fmol/mg蛋白质。前列腺癌中胞浆和胞核AR的平均水平比前列腺增生症有明显增高(方差分析

① 国家自然科学基金资助课题; ② 第一作者,1968年出生,男,医学硕士,现为中山医科大学附属第三医院核医学科医师

$P < 0.01$).

2.2 PCR-SSCP 结果

与标准分子量 DNA 对照, 所有前列腺标本均有 AR 基因第 8 外显子的特异性扩增产物(346bp)。与正常前列腺组织 DNA 对照, 发现 2 例前列腺癌和 1 例前列腺增生症标本中 AR 基因第 8 外显子扩增片段的泳动率有改变, 提示该片段内有碱基突变(图 1, 2)。

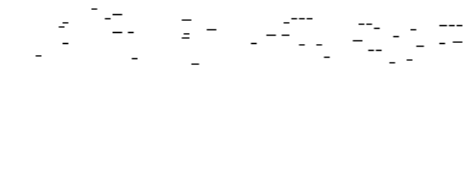


图 1 前列腺癌组织中 AR 基因

第 8 外显子 PCR 产物的 SSCP 分析

图中可见第 6 和第 7 号标本各有一条单链带出现泳动变位像多出一条带

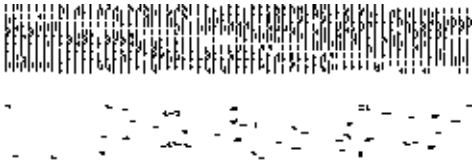


图 2 前列腺增生症组织中 AR 基因

第 8 外显子 PCR 产物的 SSCP 分析

图中可见第 1 号标本有一条单链带出现泳动变位(位置前移)

2.3 前列腺癌中 AR 水平与 AR 基因突变以及临床分期之间的关系

从表 1 可以看出, 2 例发生 AR 基因突变的标本中胞浆核的 AR 水平均明显高于没有发生突变的标本, 提示在前列腺癌中 AR 基因突变与 AR 的过量表达关系密切; 5 例 D 期(已有转移)、标本中胞浆核的 AR 水平明显高于 2 例 B 期(肿瘤限于包膜之内)标本, 提示 AR 水平与前列腺癌的临床分期有关。

表 1 前列腺癌标本中的 AR 水平、

AR 基因突变及临床分期情况 (fmol/mg 蛋白质)

| 标本 | 分期 | 突变 | 胞核 AR 水平 | 胞浆 AR 水平 |
|----|----|----|----------|----------|
| 1 | B | 无 | 89.6 | 34.7 |
| 2 | B | 无 | 75.2 | 114.2 |
| 3 | D | 无 | 310.0 | 139.8 |
| 4 | D | 无 | 370.6 | 216.5 |
| 5 | D | 无 | 211.5 | 90.3 |
| 6 | D | 有 | 867.2 | 512.8 |
| 7 | D | 有 | 484.6 | 436.8 |

3 讨论

结果显示, 未经治疗的前列腺癌组织中胞浆核 AR 的平均水平明显高于前列腺增生症, 表明在前列腺癌中 AR 有过量表达^[1]。结果还显示晚期前列腺癌中 AR 的水平明显高于早期前列腺癌, 提示癌组织中 AR 水平与前列腺癌临床分期具有相关性^[8]。作者认为, 在前列腺癌中 AR 有过量表达, 随着前列腺癌的进展 AR 水平有逐步增高趋势, 提示前列腺癌的生长需要 AR 的过量表达^[6], 而且 AR 的表达水平有可能区分前列腺良恶性病变。

在前列腺癌中 AR 基因第 8 外显子发生突变较为常见, 作者利用 PCR-SSCP 方法对 16 例未经治疗的前列腺癌标本中 AR 基因第 8 外显子作了检测, 发现其中 2 例呈阳性结果, 表明在国人前列腺癌中也有 AR 基因发生突变。由于突变是在 2 例已发生转移的晚期前列腺癌中被检出, 且位于 AR 的激素结合功能区, 作者推测这两个突变可能会影响 AR 的功能特性和内分泌治疗的效果^[3-6]。此外, 这 2 例发生 AR 基因突变的前列腺癌标本中胞核胞浆 AR 的水平均比其它 5 例没有突变的标本为高, 提示前列腺癌中 AR 的过量表达可能与 AR 基因突变关系密切, 这对于解释一些 AR 水平较高的前列腺癌为何对内分泌治疗不敏感可能具有重要意义。

值得注意的是, 在 23 例前列腺增生症组织中检出其中 1 例有 AR 基因(第 8 外显子)突变。虽然作者至今还未见有关于前列腺增生症中 AR 基因突变的研究报道, 考虑到雄激素对正常前列腺的生长发育具有重要的调节作用并与前列腺增生症的发生密切相关^[9], 此结果表明, 有必要进一步研究前列腺增生症中 AR 基因突变影响疾病发生发展的理论基础及其与前列腺癌的相互关系。

参 考 文 献

- 1 桂治宁, 胡笑克, 卢汉平, 等. 人前列腺癌雄激素受体分布特性及血清睾酮水平变化的研究. 核技术, 1993, 16(11):649
- 2 Newmark JR, Hardy DO, Tonb DC, et al. Androgen receptor gene mutations in human prostate cancer. Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89:6319
- 3 Culig Z, Hobisch A, Cronauer MV, et al. Mutant androgen receptor detected in an advanced-stage prostatic carcinoma.

- noma is activated by adrenal androgens and progesterone. *Endocrinology*, 1993, 7:1541
- 4 Gaddipati JB, McLeod DG, Heidenberg HB, *et al*. Frequent detection of codon 877 mutation in the androgen receptor gene in advanced prostate cancers. *Cancer Res*, 1994, 54:2861
 - 5 Takahashi H, Furusato M, Allsbrook WC, *et al*. Prevalence of androgen receptor gene mutations in latent prostatic carcinomas from Japanese men. *Cancer Res*, 1995, 55(8):1621
 - 6 Taplin ME, Bubley GJ, Shuster TD, *et al*. Mutation of the androgen receptor gene in metastatic androgen-independent prostate cancer. *N Engl J Med*, 1995, 332(21):1393
 - 7 Budowle B, Chakraborty R, Giusti AM, *et al*. Analysis of the VNTR Locus DIS80 by the PCR followed by High-Resolution PAGE. *Am J Hum Genet*, 1991, 48:137
 - 8 Benson RC, Utz DC, Holicky E, *et al*. Androgen receptor binding activity in human prostate cancer. *Cancer*, 1985, 55(2):382
 - 9 Wilson JD. The pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. *Am J Med*, 1980, 68:745
- (1996-10-24 收稿 1997-02-18 修回)

THE STUDY OF ANDROGEN RECEPTOR GENE MUTATIONS IN HUMAN PROSTATE CANCER

Zhang Yong Gui Zhining

(Department of Nuclear Medicine, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510089)

The androgen receptor (AR) expression and the AR gene (exon 8) mutation in 16 specimens of untreated prostate cancer(PC) and 23 specimens of benign prostatic hypertrophy (BPH) were examined using the radioligand binding assay (RBA) and the polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) analysis. The average cytosol and nuclear AR level of PC was significantly higher than that of BPH. 2 specimens of PC and 1 specimen of BPH showed the presence of mutation in exon 8 of the AR gene. There was significant relationship between the AR level and the AR gene mutation or the clinical stage in PC. These results indicate that there is over-expression of the AR in PC, and that the further study with regard to the correlation between the AR gene mutation and the development or progression of PC and BPH is necessary.

Subject headings prostatic neoplasms; receptors; androgen; mutation