

网络出版时间: 2016-5-9 15:43:11 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20160509.1543.060.html>

IL-6、NF- κ B 在前列腺癌组织中表达及其临床意义

张开平 梁朝朝 陈先国 张阳阳

摘要 目的 探讨前列腺癌组织中炎症因子白细胞介素-6 (IL-6) 和核转录因子 κ B (NF- κ B) 表达及其与各项临床病理特征的相关性。方法 通过免疫组化 SP 法检测 IL-6 和 NF- κ B 蛋白在 42 例前列腺癌组织及 26 例前列腺增生组织中的表达, 分析 IL-6 和 NF- κ B 在前列腺癌组织表达与临床各项病理特征的相关性。结果 IL-6、NF- κ B 在前列腺癌组织表达水平明显高于前列腺增生组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。前列腺癌组织中 IL-6 的表达与前列腺特异性抗原 (PSA) 水平、临床分期及 Gleason 评分差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 与淋巴结是否转移差异无统计学意义。NF- κ B 表达与 PSA 水平、临床分期及淋巴结转移有关, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 与 Gleason 评分差异无统计学意义。结论 IL-6、NF- κ B 在前列腺癌组织中高表达, 并与前列腺癌侵袭性有关。

关键词 白介素-6; 核转录因子; 前列腺癌; 侵袭性

中图分类号 R 737.25

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)06-0893-04

前列腺癌 (prostate cancer, PCa) 是泌尿系最常见的恶性肿瘤, 严重威胁着男性身体健康。据 2015

年美国最新数据^[1] 统计显示, PCa 在男性中发病率第一, 死亡率居第二。其发病机制不祥, 可能与年龄、种族、环境因素和遗传有关。近年来关于炎症在肿瘤中作用成为研究热点, 大量流行病学资料^[2] 表明慢性前列腺炎 (chronic prostatitis, CP) 在 PCa 发生发展中发挥着重要作用。在 CP 诱导 PCa 过程中可能存在一些关键调控因子, 如白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、环氧合酶 (cyclooxygenase, COX)、核转录因子 (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 等。其中 IL-6 由 T 细胞、B 细胞等分泌的一种多功能促炎因子, 促进细胞增殖, 免疫细胞分化。病理条件下可能存在促进免疫应答, 参与免疫反应的应答。NF- κ B 是转录因子家族, 在细菌或病毒刺激下, 表面受体或 I κ B 蛋白磷酸化, 随后被蛋白酶降解, NF- κ B 进入细胞核诱导基因的表达。长期的病原微生物刺激会诱导 NF- κ B 的高表达在肿瘤的发生发展中发挥着重要作用。该研究主要探讨 IL-6、NF- κ B 在 PCa 组织中表达及其与侵袭性的关系。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集 2014 年 2 月~2015 年 4 月就诊于安徽医科大学第一附属医院泌尿外科的 42 例 PCa 标本作为实验组, 其中有 10 例行达芬奇机器人辅助腹腔镜前列腺根治术, 23 例行腹腔镜下前列腺根治术, 9 例行经尿道前列腺电切术; 另外收集 26

2016-02-25 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81370856, 81470986)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院泌尿外科、安徽医科大学泌尿外科研究所, 合肥 230022

作者简介: 张开平, 男, 硕士研究生;

梁朝朝, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: liang_chaozhao@163.com

was performed between the coactivation levels and clinical assessment of motor function. **Results** Coactivation levels of wrist flexors and of elbow flexors during the elbow flexion and the wrist flexion tasks respectively were significantly higher in the paretic upper extremity than those in the unaffected side. For the wrist flexion tasks, coactivation levels of elbow flexors were significantly higher in the unaffected side than those in the control group. Levels of coactivation of elbow flexors during the wrist flexion task were negatively correlated with both Fugl-Meyer scores and coordination scores, and were positively correlated with degrees of spasticity. **Conclusion** Abnormal coactivation patterns of upper extremity flexors appeared in the both sides of hemiplegic patients. The motor impairment of paretic upper extremity is associated with the abnormal coactivation. The changes of spinal pathways may participate in the abnormal coactivation of elbow and wrist flexors.

Key words stroke; hemiparesis; abnormal coactivation; surface electromyography

例前列腺增生标本作为对照组,都是行经尿道前列腺电切术,标本经过病理科确诊。患者年龄 47 ~ 78 (58 ± 15.26) 岁,病例资料完整,术前未经过放、化疗。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化试剂 IL-6 抗体(ab6672)、NF-κB 抗体(ab16502) 购自英国 Abcam 公司,上海艾博抗贸易有限公司代理;二抗(PV9001) 购自合肥奥达生物有限公司。

1.2.2 免疫组化步骤 采用 SP 两步法。标本均经 10% 福尔马林固定,常规石蜡包埋后行 4 μm 连续切片,常规脱蜡水化,PBS 冲洗后微波修复抗原。滴加过氧化酶阻断溶液 37 °C 孵育 10 min,PBS 冲洗后山羊血清封闭。滴加一抗(IL-6 和 NF-κB 抗体浓度分别为 1 : 800 和 1 : 1 000) 4 °C 过夜,加二抗 37 °C 孵育 15 min,滴加生物素-过氧化物酶溶液 37 °C 孵育 15 min,DAB 显色,苏木精复染,中性树胶封片后显微镜下面观察。另外用 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.2.3 免疫结果判定 用低倍和高倍镜观察全片,IL-6、NF-κB 的阳性染色为细胞膜或细胞质内出现棕黄色颗粒。按照贺荣芳等^[3]分级方法,每例切片随机选取 5 个高倍视野进行结果判定,按染色强度及阳性细胞数所占百分比综合计分。染色强度:无色计为 0 分,淡黄色计为 1 分,棕黄色计为 2 分,棕褐色为 3 分;阳性细胞数:阳性细胞数 < 5% 为阴性,> 5% 为阳性。总数 < 5% 时计为 0 分,5% ~ 25% 为 1 分,26% ~ 50% 为 2 分,> 50% 为 3 分。染色强度得分与阳性细胞数得分相乘,0 分计为(-),1 ~ 3 分计为弱阳性(+),4 ~ 5 分计为中度阳性(++),≥ 6 分计为强阳性(+++)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行分析,主要采用 Fisher 精确检验。

2 结果

2.1 IL-6 和 NF-κB 在上皮细胞表达情况 IL-6 主要在上皮肿瘤细胞胞质中表达,也会在胞核表达,呈黄染(图 1);NF-κB 主要表达于上皮肿瘤细胞核中,偶尔也在胞膜和胞质中表达,呈棕黄色(图 2)。

2.2 PCa 和前列腺增生(benign prostatic hyperplasia, BPH) IL-6 和 NF-κB 表达 42 例 PCa 和 26 例 BPH 组织标本纳入本次研究,其中 IL-6 在 PCa

和 BPH 组织表达阳性率分别为 76.19% (32/42) 和 42.31% (11/26),差异有统计学意义($P < 0.05$)。NF-κB 在 PCa 和 BPH 组织表达阳性率分别为 83.33% (35/42) 和 11.54% (9/26),差异有统计学意义($P < 0.001$)。

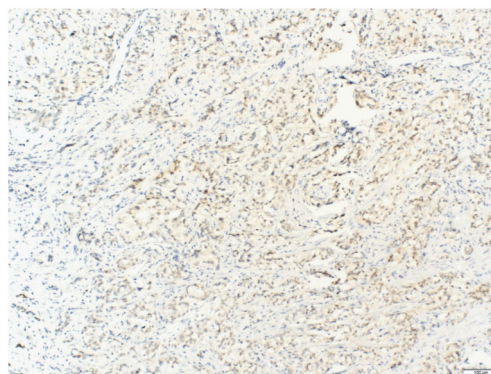


图 1 炎症因子 IL-6 在 PCa 组织中表达 ×10

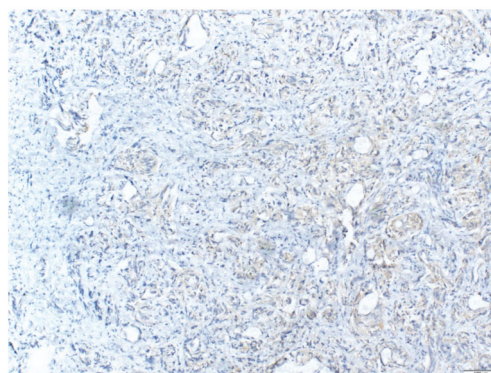


图 2 核转录因子 NF-κB 在 PCa 组织中表达 ×10

2.3 PCa 组织中 IL-6 和 NF-κB 表达与临床病理特征关系 本次研究显示,IL-6 在 PCa 中表达与前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)水平、临床分期及 Gleason 评分密切相关($P < 0.05$),与患者年龄及淋巴结转移无相关性;NF-κB 表达与 PSA 水平、临床分期及淋巴结转移相关($P < 0.05$),与患者年龄及 Gleason 评分无相关性,见表 1。

3 讨论

长期慢性炎症刺激诱导肿瘤的发生,目前显示 20% 肿瘤由慢性炎症刺激引起的,已经明确的胃炎和胃癌、肝炎和肝癌等。目前大量流行病学、病理学研究^[3]表明前列腺炎在 PCa 发生发展中发挥着重要作用。其中微环境改变是炎症影响肿瘤分子基础,包括炎症因子,趋化因子及转录因子等失衡。

IL-6 和 NF- κ B 被认为在 PCa 发生发展中发挥重要作用的调控因子。

表1 PCa 组织中 IL-6 和 NF- κ B 表达与临床病理特征关系(n)

临床病理特征	n	IL-6		P 值	NF- κ B		P 值
		阳性	阴性		阳性	阴性	
年龄(岁)				0.714			0.716
≥60	25	20	5		19	6	
<60	17	12	5		14	3	
PSA(μ g/L)				0.046			0.021
4~10	13	7	6		8	5	
>10	29	25	4		27	2	
Gleason(分)				0.040			0.328
5~7	32	27	5		26	6	
8~10	10	5	5		9	1	
临床分期				0.017			0.031
T1~T2	28	18	10		26	2	
T3~T4	14	14	0		9	5	
淋巴结转移				0.068			0.038
有	15	14	1		13	2	
无	27	18	9		22	5	

IL-6 是一种由炎性细胞分泌的促炎的多功能因子,肿瘤细胞也可以分泌,可调节细胞间生长与分化,具有调节免疫应答,并在机体的抗感染免疫反应中起重要作用。同时 IL-6 表达失调可引起许多疾病,IL-6 低表达时主要表现为免疫调节作用,浓度高时则易引起病理损伤从而在许多疾病的发病机制中起着重要的作用^[4]。在 CP 患者中,巨噬细胞大量分泌 IL-6 导致前列腺液 IL-6 水平高于正常者,旁分泌的 IL-6 通过 IL-6-磷脂酰肌醇激酶-蛋白激酶 B (IL-6-PI3K-AKT) 信号通路激活 AKT 调控细胞的生长、存活和细胞周期的进级,促进肿瘤的发生,这可能是炎症恶变为肿瘤过程中维持肿瘤持续的生长状态重要机制^[5]。而在雄激素抵抗性 PCa,尤其是伴骨转移的 PCa 组织 IL-6 表达水平远远高于正常组织或局部 PCa^[6]。在 DU-145、PC-3 等雄激素非依赖性细胞株中能够大量自分泌 IL-6,发挥着对自身癌细胞生长刺激作用,进一步促进肿瘤的生长发展^[7]。显然抗炎因子 IL-6 通过旁分泌和自分泌可以促进 PCa 发生发展。同时 IL-6 参与 PCa 血管生成,体外培养的 LNCaP 细胞经过 IL-6 处理后 VEGF 明显高表达,可能 IL-6 作用 PI3K 信号通道有关^[8]。另外,IL-6 结合其亚基 GP130 而激活 mTORC1 信号途径的在炎症转变为肿瘤过程中起关键作用,使用 mTORC1 抑制剂后减少了肿瘤的血管生成和细胞增殖^[9]。Hobisch et al^[10] 发现 Gleason ≥ 7 分、伴骨转

移或淋巴结转移的 PCa 组织 IL-6 明显高表达,而且 IL-6 表达水平与 PSA 及 Gleason 评分相关,本研究结果与之相似。

NF- κ B 是一种主要表达细胞质的核转录因子,参与免疫应答、细胞凋亡、肿瘤形成及转移等过程。NF- κ B 诱导肿瘤机制包括作用细胞周期抑制其凋亡,肿瘤的生长转移和 NF- κ B 上调密切相关。在 CP 中,长期的慢性炎症刺激会诱导 NF- κ B 的高表达,NF- κ B 信号途径和转录活化分子-3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT-3) 密切相关,NF- κ B 可以上调 STAT-3 基因表达,STAT-3 可以介导肿瘤细胞增殖、侵袭及转移等,是肿瘤形成环境中重要因子^[11]。在一些非雄激素依赖性 PCa,如 PC-3、DU145 的增长取决于 NF- κ B 的水平,通过药物抑制或者刺激 I κ B 的过度表达来降低 NF- κ B 水平,会发现肿瘤细胞大量死亡^[12]。研究^[13] 显示 PSA 有 4 个 NF- κ B 的作用位点,在雄激素非依赖性 PCa 细胞中有更多的 NF- κ B 作用位点,肿瘤细胞通过上调 NF- κ B 表达来上调 PSA 表达,在雄激素非依赖性 PCa 转化进展中发挥重要作用。同时 PCa 中 NF- κ B 表达可以促进 VEGF 表达,增加非依赖性 PC-3 细胞侵袭能力^[14]。

另外,在 PCa 中 IL-6 可以通过研究 PI3K-AKT 途径促进 NF- κ B 表达,IL-6 因子的促肿瘤作用主要是通过激活 NF- κ B 信号通路来实现的,而 NF- κ B 可以激活和促进 IL-6 在前列腺癌组织中进一步表达,二者相互作用,在 PCa 中发挥着重要作用^[15]。

本研究显示 IL-6 和 NF- κ B 在 PCa 组织表达水平明显高于 BPH 组织($P < 0.05$),而且 IL-6 和 NF- κ B 表达与临床病理特征存在相关性,尽管本研究也存在局限性,如样本量不足、标本未及时处理等问题,依旧能说明 IL-6 和 NF- κ B 的表达在 PCa 发生发展中发挥重要作用,对 IL-6 和 NF- κ B 的研究可以更好了解 CP 和 PCa 关系,为 PCa 发病机制研究提供基础,同时在临床方面可以针对 IL-6 和 NF- κ B 设计新的治疗 PCa 靶点。

参考文献

- [1] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(1): 5-29.
- [2] Chai E Z, Siveen K S, Shanmugam M K, et al. Analysis of the intricate relationship between chronic inflammation and cancer [J]. Biochem, 2015, 468(1): 1-15.

- [3] 贺荣芳, 胡忠良, 沈明等. 胃癌组织中 PTEN, VEGF, MMP-9 的表达及相关性研究[J]. 中国普通外科杂志, 2005, 14(3): 173-7.
- [4] Sheng W H, Chiang B L, Chang S C, et al. Clinical manifestations and inflammatory cytokine responses in patients with severe acute respiratory syndrome[J]. J Formos Med Assoc, 2005, 104(10): 715-23.
- [5] Ara T, Declerck Y A. Interleukin-6 in bone metastasis and cancer progression[J]. Eur J Cancer, 2010, 46(7): 1223-31.
- [6] Zoubeydi A, Rocha J, Zouanat F Z, et al. The Fer tyrosine kinase cooperates with interleukin-6 to activate signal transducer and activator of transcription 3 and promote human prostate cancer cell growth[J]. Mol Cancer Res, 2009, 7(1): 142-55.
- [7] Lee S O, Chun J Y, Nadiminty N, et al. Interleukin-6 undergoes transition from growth inhibitor associated with neuroendocrine differentiation to stimulator accompanied by androgen receptor activation during LNCaP prostate cancer cell progression[J]. Prostate, 2007, 67(7): 764-73.
- [8] Bao B, Ahmad A, Kong D, et al. Hypoxia induced aggressiveness of prostate cancer cells is linked with deregulated expression of VEGF, IL-6 and miRNAs that are attenuated by CDF[J]. PLoS One, 2012, 7(8): e43726.
- [9] Thiem S, Pierce T P, Palmieri M, et al. mTORC1 inhibition restricts inflammation-associated gastrointestinal tumorigenesis in mice[J]. J Clin Invest, 2013, 123(2): 767-81.
- [10] Hobisch A, Rogatsch H, Hittmair A, et al. Immunohistochemical localization of interleukin-6 and its receptor in benign, premalignant and malignant prostate tissue[J]. J Pathol, 2000, 191(3): 239-44.
- [11] Lee H, Herrmann A, Deng J H, et al. Persistently activated Stat3 maintains constitutive NF-kappaB activity in tumors[J]. Cancer Cell, 2009, 15(4): 283-93.
- [12] Yemelyanov A, Gasparian A, Lindholm P, et al. Effects of IKK inhibitor PS1145 on NF-kappaB function, proliferation, apoptosis and invasion activity in prostate carcinoma cells[J]. Oncogene, 2006, 25(3): 387-98.
- [13] Chen C D, Sawyers C L. NF-kappa B activates prostate-specific antigen expression and is upregulated in androgen-independent prostate cancer[J]. Mol Cell Biol, 2002, 22(8): 2862-70.
- [14] Pei Z, Li H, Guo Y, et al. Sodium selenite inhibits the expression of VEGF, TGFbeta(1) and IL-6 induced by LPS in human PC3 cells via TLR4-NF-kappa B signaling blockage[J]. Int Immunopharmacol, 2010, 10(1): 50-6.
- [15] Tsai C C, Kuo T Y, Hong Z W, et al. Helicobacter pylori neutrophil-activating protein induces release of histamine and interleukin-6 through G protein-mediated MAPKs and PI3K/Akt pathways in HMC-1 cells[J]. Virulence, 2015, 6(8): 755-65.

Expression and significance of IL-6 and NF- κ B in prostate cancer

Zhang Kaiping, Liang Chaozhao, Chen Xianguo, et al

(Dept of Urology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To explore the expression of IL-6 and NF- κ B in prostate cancer and its relationship with clinicopathological features. **Methods** The expressions of IL-6 and NF- κ B in 42 cases of prostate cancer and 26 controls of benign prostatic hyperplasia tissue were examined by immunohistochemistry staining, and the relationship between IL-6, NF- κ B and the biological behavior of prostate cancer was investigated by using SPSS software. All specimens were confirmed by pathological examinations. **Results** In comparison with those in benign prostatic hyperplasia, the expressions of IL-6 and NF- κ B in prostate cancer were significantly higher ($P < 0.05$). There was a positive correlation between the expression of IL-6 in prostate cancer and PSA level, the clinical stage and Gleason scores ($P < 0.05$). Likewise, significant association was detected between the expression of NF- κ B and PSA level, the clinical stage and lymph node metastasis ($P < 0.05$). **Conclusion** The expressions of IL-6 and NF- κ B are higher in prostate cancer, and may be related to the aggressiveness of prostate cancer.

Key words interleukin-6; nuclear factor- κ B; prostate cancer; aggressiveness