

·临床研究·

性激素受体在膀胱肿瘤生存预后中的临床价值\*

崔迪 韩邦旻 荆翌峰 夏术阶<sup>△</sup>

(上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科 上海 200080)

**摘要** 目的:观察性激素受体(雄激素受体和雌激素 $\beta$ 受体,AR和ER $\beta$ )在膀胱癌中的表达,通过它们与临床病理特征和术后复发预后的相关分析来探讨性激素受体的临床意义与价值。方法:采用免疫组织化学SP法检测AR和ER $\beta$ 蛋白在64例膀胱尿路上皮癌的表达。显微镜下随机选取5个400 $\times$ 高倍视野,每个视野计数100个癌细胞中的阳性细胞数,通过计算染色阳性的细胞率来评估受体蛋白的表达情况。结果:两种性激素受体蛋白均阳性定位于细胞核中。AR阳性表达率为26.6%,ER $\beta$ 阳性率为81.2%。AR和ER $\beta$ 的阳性表达率在男女性别方面均无统计学差别( $P=0.1982, 0.0669$ )。随着膀胱癌病理分级升高,AR和ER $\beta$ 的阳性表达率均增高( $P=0.0182, 0.0360$ )。同时,AR和ER $\beta$ 的表达与患病年龄、膀胱内肿瘤数目、肿瘤大小、肿瘤的临床分期均无统计学相关性( $P$ 均 $>0.05$ )。术后随访患者时间为2-81月,生存分析显示:AR与肿瘤的复发间隔期和5年复发率相关( $P=0.0442$ )。ER $\beta$ 则与肿瘤患者的总生存期相关( $P=0.0001$ )。阳性表达AR的患者,复发间隔时间增长,5年复发率较低,ER $\beta$ 阳性患者总生存期较长。结论:性激素受体AR和ER $\beta$ 阳性表达于临床膀胱癌组织中,并且均与膀胱癌的分化密切相关。这提示AR和ER $\beta$ 可能在膀胱癌的发生发展中起一定作用。同时,两种蛋白还能作为评估膀胱癌复发预后的预测指标。

**关键词** 雄激素受体 雌激素 $\beta$ 受体 膀胱癌

中图分类号:R737.14 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)07-1261-04

Expression of Sex Hormone Receptors in Bladder Urothelial Carcinoma and its Correlations to Clinicopathological Features and Survival Outcomes\*

CUI Di, HAN Bang-min, JING Yi-feng, XIA Shu-jie<sup>△</sup>

(Department of Urology, The First People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University, 200080, Shanghai, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the expression of sex hormonal receptors (Androgen receptor and Estrogen receptor  $\beta$ , AR and ER $\beta$ ) in urothelial carcinomas, and to find the relationship between clinicopathological features and sex hormonal receptors, as well as survival outcomes. **Methods:** AR and ER $\beta$  expressions were measured by immunohistochemistry in 64 TURBT or partial cystectomy samples, using streptavidin-biotin peroxidase method. **Results:** Positive expression of AR and ER $\beta$  were noted in 17 (26.6%) and 52 (81.2%) specimens, respectively. No statistically significant difference in AR and ER $\beta$  expressions between men and women was observed ( $P>0.05$ ). Patients with more poorly differentiated bladder cancer were accompanied with higher AR and ER $\beta$  expressions ( $P=0.0182, P=0.0360$ ). There was no statistically significant difference in age of onset, tumor multiplicity, tumor diameter, clinical tumor stage between sex hormonal receptors positive and negative cases. Positive AR expression increased recurrence-free survival rate while no significant association was found between it and cancer-special survival rate. Meanwhile, positive ER $\beta$  expression increased cancer-sepcial survival rate, with no association with recurrence-free survival rate. **Conclusions:** AR and ER $\beta$  expressions were associated with differentiation in bladder urothelial carcinoma, which means they might play roles in the development and progression of bladder cancer. Furthermore, AR and ER $\beta$  might be options for postoperative recurrence and cancer-related survival prediction.

**Key words:** Androgen receptor; Estrogen receptor $\beta$ ; Urothelial carcinomas

**Chinese Library Classification:** R737.14 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2012)07-1261-04

前言

膀胱癌是我国中发病率最高的泌尿系肿瘤,其发病率逐年上升<sup>[1]</sup>。流行病学调查显示,男性膀胱癌的发病率是女性的3-4倍;同时,绝经女性的膀胱癌的发病率高于未绝经女性,并且,

在绝经女性中,使用雌激素替代治疗的患者发病率低于未使用激素的患者<sup>[2-4]</sup>。因此,性激素及其受体在膀胱癌中的生物作用引起了广泛关注。体外实验结果显示:雄激素受体(Androgen receptor, AR)和雌激素 $\beta$ 受体(Estrogen receptor  $\beta$ , ER $\beta$ )与膀胱肿瘤细胞的增殖和凋亡相关<sup>[5-7]</sup>。但是,针对性激素及其受体在

\* 基金项目:上海市自然科学基金(10ZR1423800),上海交通大学医学院博士生创新基金(BXJ201136)

作者简介:崔迪(1987-),男,硕士研究生,主要研究方向:膀胱肿瘤

<sup>△</sup>通讯作者:夏术阶,电话:15301655577, E-mail: xsjurologist@163.com

(收稿日期:2011-08-08 接受日期:2011-08-31)

膀胱癌临床转归和预后影响的研究较少,它们对体内膀胱肿瘤的具体影响及临床价值仍不甚明了。为此,我们通过免疫组织化学方法测定这两种激素受体在体内膀胱癌中的表达,同时结合患者的临床病理资料和预后情况,探讨 AR 和 ER $\beta$  在膀胱癌中的临床价值及其生物学作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

上海交通大学附属第一人民医院 2005 年住院手术并有完整临床和随访资料的膀胱癌患者 48 例。其中男 36 例,女 12 例,发病年龄在 47-92 岁之间,平均 71.4 岁。选取 48 例患者初发及首次复发的蜡块标本共计 64 例,其中行经尿道膀胱肿瘤电切术 51 例,膀胱部分切除术 13 例。

### 1.2 试剂及方法

兔抗人 AR 单克隆抗体购自上海长岛生物公司,兔抗人 ER $\beta$  单克隆抗体购自武汉博士得生物公司。采用免疫组织化学 SP 法进行检测。

### 1.3 结果判断

光学显微镜下以细胞核出现棕黄色或者棕褐色染色为阳性细胞。每张切片随机选取 5 个 400 $\times$  高倍视野,每个视野计

数 100 个癌细胞中的阳性细胞数,计算阳性细胞率。AR 表达阳性细胞率 $\geq 5\%$ 即认定为阳性,余为阴性;ER $\beta$  表达阳性细胞率 $\geq 10\%$ 认定为阳性,余为阴性(图 1)。

### 1.4 统计学方法

采用 SAS8.2 统计软件,AR 和 ER $\beta$  与膀胱癌临床病理特征的分析采用  $\chi^2$  检验, Fisher 确切概率法和 Wilcoxon 秩和检验。复发间隔时间及肿瘤相关总生存期的单因素生存分析采用 Kaplan-Meier 法,变量组别间的生存函数统计学检验采用 Logrank 检验。以上统计结果中  $P$  值  $<0.05$  认为有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 病例标本的临床病理特征

根据 WHO 1973 膀胱癌分级标准, G1、G2、G3 级各 24、31、9 例。肿瘤临床分级方面,浅表性膀胱肿瘤(cTis-cT1 期)51 例(79.7%),浸润性肿瘤(cT2-cT3 期)13 例(20.3%)。术后复发间隔时间为 2-72 月,生存时间为 7-81 月,复发次数 0-7 次。若术后复发膀胱癌病理分级或分期等级增高,即被视为前次肿瘤术后进展,64 例标本中有 13 例被认定为术后发生肿瘤进展,其中男 11 例,女 2 例。

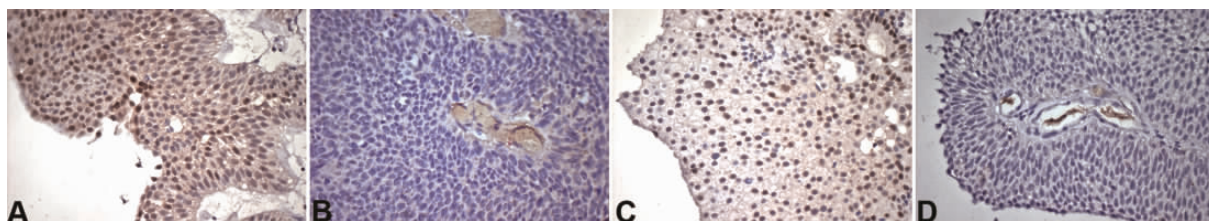


图 1 免疫组化法检测 AR 和 ER $\beta$  在膀胱癌组织中的表达 (SP 法 400 $\times$ )

A: AR 阳性表达 B: AR 阴性表达 C: ER $\beta$  阳性表达 D: ER $\beta$  阴性表达

Fig.1 AR and ER $\beta$  expressions in bladder cancer (400 $\times$ )

A: AR positive expression B: AR negative expression C: ER $\beta$  positive expression D: ER $\beta$  negative expression

### 2.2 AR 和 ER $\beta$ 的表达与膀胱肿瘤临床病理特征的关系

在 64 例膀胱癌中,AR 阳性表达率为 26.6%(17 例),ER $\beta$  阳性率为 81.2%(52 例)。如表一所示,两种性激素受体的表达无性别差异。同时,两种蛋白的表达在不同患病年龄、肿瘤数目、肿瘤大小方面均无统计学差异( $P$  均  $>0.05$ )。随着病理分级的升高,AR 和 ER $\beta$  的表达率均随之升高( $P$  值分别为 0.0182,0.0360)。相比于 G1 期,G3 期膀胱癌中 AR 阳性率升高了 52%,ER $\beta$  升高了 255%。与病理分级不同的是,两种性激素受体的阳性表达率在临床分期方面未有明显差别。

### 2.3 AR 和 ER $\beta$ 的表达与肿瘤复发、进展的关系

生存分析显示,AR 阳性表达组的复发间隔期比阴性组长( $P=0.0442$ ),总生存时间无明显变化( $P=0.9993$ ),阳性表达 ER $\beta$  组与阴性组相比,复发间隔期上无明显差别( $P=0.3939$ ),但是却有更长的总生存期( $P=0.0001$ )(图 2)。

## 3 讨论

雄激素受体和雌激素受体作为体内类固醇激素核受体超家族的成员在多种肿瘤的生成、进展及其转移中均起到一定的

作用,如乳腺癌、妇科肿瘤以及前列腺癌等<sup>[8,9]</sup>。虽然膀胱并非传统意义上的激素靶向器官,但是实验发现,膀胱上皮中也存在雄激素受体和雌激素受体的表达<sup>[7,10]</sup>。同时,体外实验研究进一步发现,性激素受体通路在膀胱癌发生发展中可能起到一定的作用<sup>[6,11]</sup>。但是,有关性激素的临床膀胱癌研究却较少提及,我们通过临床膀胱癌标本来探索性激素受体的在膀胱癌中的临床价值。

我们实验室前期实验发现,干扰掉膀胱肿瘤细胞系 T24 中 AR 表达可抑制细胞体外增殖活性及促进其凋亡的发生<sup>[5]</sup>。这说明 AR 信号通路可能在膀胱癌中起到调控细胞生长作用。在此次实验中,我们研究 AR 在临床膀胱癌标本中的表达后发现,AR 在男女患者中的阳性表达率并无统计学差异。同时,AR 的表达与肿瘤的分级相关联,随着肿瘤分级的增高,AR 的表达阳性率随之增高。这说明,AR 信号通路在膀胱正常细胞向肿瘤细胞的分化中起到一定的作用。肿瘤患者复发预后的生存分析结果也提示了 AR 在预测膀胱癌复发方面的价值:AR 表达阳性的患者伴随着较长的复发间隔期和较短 5 年内的复发率。综合这些结果我们认为:在临床膀胱肿瘤的发生发展中,AR 信

表 1 AR、ERβ 表达与膀胱癌临床病理特征的关系  
Table 1 The correlation between pathologic tumor characteristics and AR/ERβ expression status

|                      | AR expression |            | P      | ERβ expression |            | P      |
|----------------------|---------------|------------|--------|----------------|------------|--------|
|                      | Positive      | Negative   |        | Positive       | Negative   |        |
| Gender               |               |            |        |                |            |        |
| Male                 | 15(31.9)      | 32(68.1)   | 0.1982 | 41(87.2)       | 6(12.8)    | 0.0669 |
| Female               | 2(11.8)       | 15(88.2)   |        | 11(64.7)       | 6(35.3)    |        |
| Age (year)           | 71.2± 9.79    | 71.5± 9.94 | 0.8551 | 70.2± 9.98     | 76.8± 7.21 | 0.0834 |
| Tumor diameter (cm)  | 1.95± 1.11    | 1.93± 1.35 | 0.7983 | 1.88± 1.35     | 2.15± 1.00 | 0.2305 |
| Tumor multiplicity   |               |            |        |                |            |        |
| Single               | 11(33.3)      | 22(66.7)   | 0.2057 | 27(81.82)      | 6(18.18)   | 0.9044 |
| Multiply             | 6(19.3)       | 25(80.7)   |        | 25(80.65)      | 6(19.35)   |        |
| Tumor grade          |               |            |        |                |            |        |
| G1                   | 10(41.67)     | 14(58.33)  | 0.0182 | 21(87.5)       | 3(12.5)    | 0.0360 |
| G2                   | 6(19.35)      | 25(80.65)  |        | 26(83.87)      | 5(16.13)   |        |
| G3                   | 1(11.11)      | 8(88.89)   |        | 5(55.56)       | 4(44.44)   |        |
| Clinical tumor stage |               |            |        |                |            |        |
| Superficial type     | 14(27.4)      | 37(72.6)   | 1.0000 | 41(80.39)      | 10(19.61)  | 1.0000 |
| Muscle invasive type | 3(23.1)       | 10(76.9)   |        | 11(84.62)      | 2(15.38)   |        |

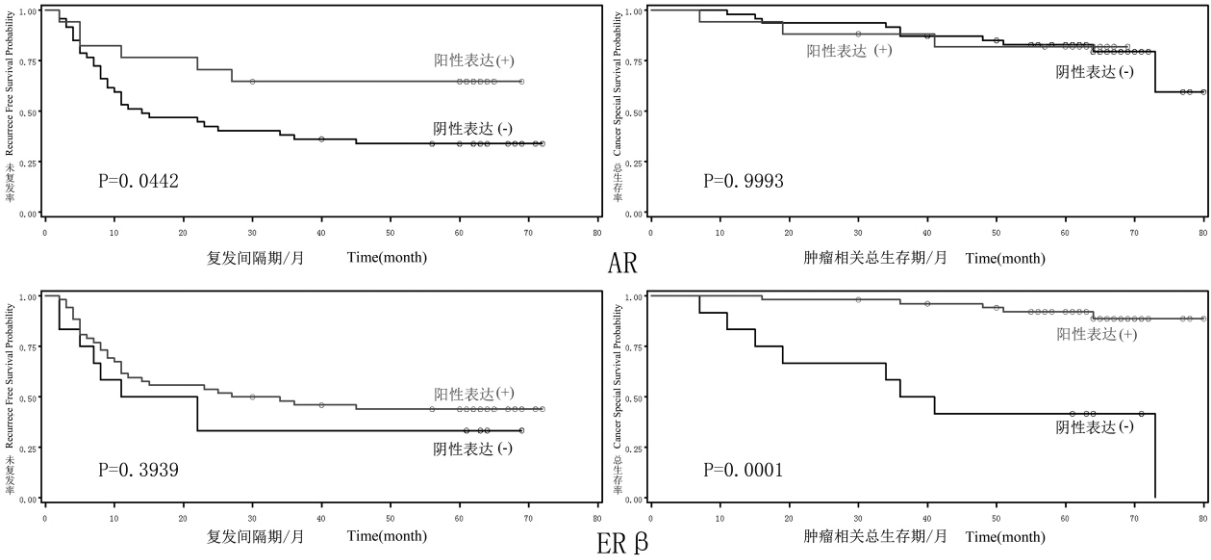


图 2 AR 和 ERβ 的表达在膀胱癌复发间隔期和肿瘤相关总生存期的 K-M 生存曲线  
Fig. 2 Kaplan-Meier estimates recurrence-free and cancer-special survival probability with respect to AR/ERβ expression status  
Note : positive expression (+), negative expression(-)

号通路能增强癌细胞的低分化 ,同时 ,它还能作用预测膀胱肿瘤的复发间隔及 5 年复发率的生物学指标。

与 AR 的单一亚型不同 ,ER 受体在体内有多个亚型 ,而 ERβ 为在膀胱肿瘤中的 ER 的主要表达亚型<sup>[8,12]</sup>。同时 ,体外实验也证实 ,ERβ 调节剂能改变膀胱肿瘤细胞系 RT4 和 5637 细胞的增殖能力 ,其激动剂可以增强肿瘤细胞增殖 ,抑制剂降低其增殖能力<sup>[7][13]</sup>。分析膀胱肿瘤标本中 ERβ 的表达情况 ,我们发现 :与 AR 相类似 ,ERβ 在男女患者中的阳性表达并无差

异。同样 ,随着肿瘤分级的增高 ,ERβ 的表达也随之增高 ,而 ERβ 的高表达并不能更改患者的 5 年复发率及复发间隔时间 ,但却伴随着较高的总生存率。上述结果同样提示了 :ERβ 信号通路可能与膀胱癌的分化程度相关联 ;但是同 AR 不同的是 ,ERβ 信号通路可以作为预测膀胱肿瘤 5 年生存率的生物学指标。

综上所述 ,本研究结果表明 ,AR、ERβ 与膀胱癌的分化程度密切相关 ,这两种信号通路在膀胱癌的发生发展仍发挥着一定的生物学效应。同时 ,AR、ERβ 的临床价值还体现在它们可

以作为患者复发预后的预测参考指标。

#### 参考文献(References)

- [1] 张思维, 等. 中国部分市县膀胱癌发病趋势比较研究[J]. 中华泌尿外科杂志, 2009, 30: 4  
Zhang Si-wei, Ma Jian-hui, Li Ming, et al. Incidence trends of bladder cancer in cities and counties in China[J]. Chinese Journal of Urology, 2009, 30: 4
- [2] Negri E, La Vecchia C. Epidemiology and prevention of bladder cancer[J]. Eur J Cancer Prev, 2001, 10: 7-14
- [3] Davis-Dao CA, Henderson KD, Sullivan-Halley J, et al. Lower risk in parous women suggests that hormonal factors are important in bladder cancer etiology[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2011, 20: 1156-1170
- [4] McGrath M, Michaud DS, De Vivo I. Hormonal and reproductive factors and the risk of bladder cancer in women [J]. Am J Epidemiol, 2006, 163: 236-244
- [5] Wu JT, Han BM, Yu SQ, et al. Androgen receptor is a potential therapeutic target for bladder cancer[J]. Urology, 2010, 75: 820-827
- [6] Miyamoto H, Yang Z, Chen YT, et al. Promotion of bladder cancer development and progression by androgen receptor signals [J]. J Natl

Cancer Inst, 2007, 99: 558-568

- [7] Teng J, Wang ZY, Jarrard DF, et al. Roles of estrogen receptor alpha and beta in modulating urothelial cell proliferation [J]. Endocr Relat Cancer, 2008, 15: 351-364
- [8] Younes M, Honma N. Estrogen receptor beta[J]. Arch Pathol Lab Med, 2011, 135: 63-66
- [9] Gelmann EP. Molecular biology of the androgen receptor [J]. J Clin Oncol, 2002, 20: 3001-3015
- [10] Chavalmane AK, Comeglio P, Morelli A, et al. Sex steroid receptors in male human bladder: expression and biological function [J]. J Sex Med, 2010, 7: 2698-2713
- [11] Kontos S, Kominea A, Melachrinou M, et al. Inverse expression of estrogen receptor-beta and nuclear factor-kappaB in urinary bladder carcinogenesis[J]. Int J Urol, 2010, 17: 801-809
- [12] Shen SS, Smith CL, Hsieh JT, et al. Expression of estrogen receptors-alpha and -beta in bladder cancer cell lines and human bladder tumor tissue[J]. Cancer, 2006, 106: 2610-2616
- [13] Sonpavde G, Okuno N, Weiss H, et al. Efficacy of selective estrogen receptor modulators in nude mice bearing human transitional cell carcinoma[J]. Urology, 2007, 69: 1221-1226

(上接第 1243 页)

- [8] Restrepo-Angulo I, Sanchez-Torres C, Camacho J. Human EAG1 potassium channels in the epithelial-to-mesenchymal transition in lung cancer cells[J]. Anticancer Res, 2011, 31(4):1265-1270
- [9] Yoshida GJ, Saya H. Encounter of cancer cells with bone. The Significance of Cancer Stem Cells and Epithelial-Mesenchymal Transition in Tumor Invasion and Metastasis [J]. Clin Calcium, 2011, 21 (3): 411-417
- [10] Nakamura T, Matsumoto K, Kiritoshi A. Induction of hepatocyte growth factor in fibroblasts by tumor-derived factors affects invasive growth of tumor cells: in vitro analysis of tumor-stromal interactions [J]. Cancer Res, 1997, 57(15):3305-3313

- [11] Sasaki M, Ito T, Kashima M, et al. Erythromycin and clarithromycin modulation of growth factor-induced expression of heparanase mRNA on human lung cancer cells in vitro [J]. Mediators Inflamm, 2001, 10(5):259-267
- [12] Battula VL, Evans KW, Hollier BG, et al. Epithelial-mesenchymal transition-derived cells exhibit multilineage differentiation potential similar to mesenchymal stem cells [J]. Stem Cells, 2010, 28 (8): 1435-1445
- [13] Ramos C, Becerril C, Montano M, et al. FGF-1 reverts epithelial-mesenchymal transition induced by TGF-beta1 through MAPK/ERK kinase pathway [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2010, 299 (2):L222-231