

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2005)03-0249-02

## 前列腺癌组织 PTI-1 基因 mRNA 的表达意义

周宇<sup>1</sup>, 王禾<sup>1</sup>, 秦卫军<sup>1</sup>, 赵晶<sup>2</sup>, 宋斌<sup>1</sup>, 张更<sup>1</sup>, 张波<sup>1</sup>, 杨安钢<sup>2</sup>(第四军医大学<sup>1</sup>; 西京医院泌尿外科<sup>2</sup>; 基础部生物化学与分子生物学教研室 陕西 西安 710033)

### Expression and clinical significance of PTI-1 in prostate cancer tissues

ZHOU Yu<sup>1</sup>, WANG He<sup>1</sup>, QIN Wei-Jun<sup>1</sup>, ZHAO Jing<sup>2</sup>, SONG Bin<sup>1</sup>, ZHANG Geng<sup>1</sup>, ZHANG Bo<sup>1</sup>, YANG An-Gang<sup>2</sup><sup>1</sup>Department of Urology, Xijing Hospital, <sup>2</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China

**【Abstract】** AIM: To study the expression and clinical significance of PTI-1 in prostate cancer tissues. **METHODS:** PTI-1 was examined in 21 cases of prostate cancer tissues, 12 cases of benign prostatic hyperplasia (BPH) and 9 cases of normal prostate tissues by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). **RESULTS:** Specific bands of PTI-1 were found in RT-PCR products of 15 cases of prostate cancer tissues, but not in BPH and normal prostate tissues. **CONCLUSION:** Detection of PTI-1 by RT-PCR can be used in diagnosing prostate cancer.

**【Keywords】** prostate carcinoma tumor-inducing gene 1; reverse transcription-polymerase chain reaction; prostatic neoplasms; diagnosis

**【摘要】**目的 探讨前列腺癌诱导基因 1(PTI-1)在前列腺癌及前列腺增生症组织中的表达及其意义。方法 采用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测 21 例前列腺癌组织、12 例前列腺增生症组织及 9 例正常前列腺组织中 PTI-1 mRNA。结果: 21 例前列腺癌组织中 15 例阳性表达, 阳性率为 71.4% ; 12 例前列腺增生症组织及 9 例正常前列腺组织中无一例阳性表达。结论: RT-PCR 检测 PTI-1 基因 mRNA 可作为诊断前列腺癌的一种新方法。

**【关键词】**前列腺癌诱导基因 1 逆转录聚合酶链反应; 前列腺肿瘤; 诊断

**【中图分类号】** R737.25 **【文献标识码】** A

## 0 引言

前列腺癌诱导基因 1( prostate carcinoma tumor-

inducing gene 1, PTI-1)是从前列腺癌细胞系 LNCap 中克隆的一个具有肿瘤诱导效应的基因<sup>[1-4]</sup>。但 PTI-1 基因在前列腺癌、前列腺增生症组织中的表达情况在国内报道较少。为探讨 PTI-1 基因在前列腺癌(Pca)、前列腺增生症(BPH)、正常前列腺(NP)组织中转录水平状况,我们采用 RT-PCR 方法检测了 PTI-1 mRNA 的表达。

## 1 对象和方法

**1.1 对象** Pca 及 BPH 的检测标本均取自开放手术。Pca 患者 21 例,年龄 53~74(平均 65)岁; BPH 患者 12 例,年龄 53~78(平均 67)岁; 正常前列腺 9 例来自意外死亡者,年龄 28~55(平均 38)岁。所有标本均经病理切片证实。新鲜标本离体后立即切成小块,置于 -70℃ 冰箱中。所用限制酶、Taq DNA 聚合酶均为 Takara 公司产品。总 RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒为 Invitrogen 公司产品。

**1.2 方法** 组织总 RNA 的提取及鉴定按试剂盒说明操作,提取细胞总 RNA,  $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$  为 1.95~2.06; 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳可见 28S, 18S 和 5S RNA 条带,表明 RNA 质量符合要求,可用于逆转录反应。按试剂盒说明进行逆转录。PTI-1 基因上游引物序列 5' TTGAATTCATGGGGGTAGAGCACTGA 3', 下游引物序列 5' TTGGATCCGGACAGCACAGTCAGCCT 3';  $\beta$ -actin 上游引物序列 5' TGCGCAGAAAA-CAAGATGAGATT 3', 下游引物序列 5' TGGGGGA-CAAAAAGGGGAAGG 3', 均由北京赛百盛公司合成。反应体系 50  $\mu$ L, 反应条件为 94℃ 预变性 1 min, 94℃ 变性 30 s, 54℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 30 次循环。末次循环后 72℃ 再延伸 5 min。反应完毕后 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳,取反应产物 9  $\mu$ L, 加入 10  $\times$  loading buffer 1  $\mu$ L 加样, 110 V 电压, 溴化乙锭染色, UVP 凝胶成像系统观察结果。在紫外灯下回收阳性 PCR 条带并纯化。纯化后的 PCR 产物与 PUC19 载体连接, 连接产物全部转化 DH5 $\alpha$  宿主菌。接种于含氨苄青霉素的培养基, 挑取阳性克隆, 酶切鉴定后送测序, 测序由北京赛百盛公司完成。

收稿日期 2004-11-03; 修回日期 2004-11-30

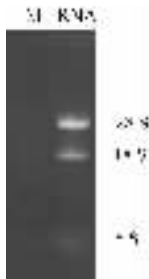
基金项目 国家自然科学基金(30371428)

通讯作者: 王禾. Tel. (029) 83375317 Email. dusxjhw@fmmu.edu.cn  
作者简介: 周宇(1977-)男(汉族)湖北省武汉市人。硕士生(导师

王禾). Tel. (029) 82502013 Email. zhoyuzs@163.com

## 2 结果

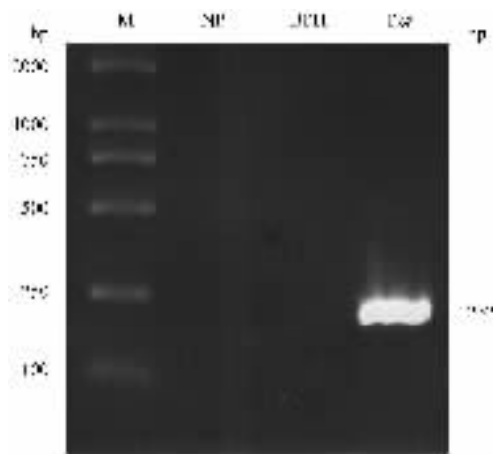
提取出的 RNA 经琼脂糖凝胶电泳显示 5S, 18S, 28S 三条电泳带( Fig 1 ). DNA/RNA 定量仪测总 RNA 2.2 ~ 4.5 g/L,  $A_{260\text{ nm}/280\text{ nm}}$  1.985 ~ 2.05. 经过 UVP 凝胶成像系统观察 RT-PCR 反应产物, 所有反转录 cDNA 以  $\beta$ -actin 引物进行 PCR 均得到 438 bp 的目的片段, 以 PTI-1 基因引物进行 PCR, 其中 Pca 组织 21 份样本中有 15 例阳性, BPH 及 NP 组织样本中均为阴性. DNA 测序结果可见 DNA 序列图清晰、可读性强. DNA 测序结果进行 BLAST 分析, 可见该扩增序列与 GenBank 中 PTI-1 基因中 537 ~ 768 bp 之间的序列完全一致( Fig 2 ).



M : DNA marker.

Fig 1 Electrophoresis of total RNA from the tissue

图 1 组织提取总 RNA 电泳图



M : DNA marker ; NP : normal prostate ; BPH : benign prostatic hyperplasia ; Pca : prostate cancer.

Fig 2 Electrophoresis of RT-PCR products

图 2 RT-PCR 电泳结果

## 3 讨论

Pca 是欧美病死率第 2 位的男性恶性肿瘤. 近年来, 随着人口老龄化及生活条件的改变, 在我国 Pca

的发病率呈逐年上升的趋势. 然而在临床早期 Pca 的诊断率较低, 因而使许多早期 Pca 患者失去了手术根治的机会. 前列腺癌特异性抗原( prostatic specific antigen, PSA )检测是目前公认的最有临床价值的肿瘤标志物, 但 PSA 并非 Pca 所特有, 缺乏足够的特异性<sup>[5,6]</sup>. 其后又提出 PSA 速度、游离 PSA 及游离 PSA 与总 PSA 比值等指标, 但均缺乏较高的诊断特异性<sup>[7,8]</sup>. 因此寻找一种具有较高特异性的 Pca 肿瘤标志物具有很大的临床意义. PTI-1 基因在半数的肿瘤细胞系中均有表达, 其中包括小细胞肺癌、乳腺癌及肠癌细胞系, 并且其检测的敏感性较高<sup>[1]</sup>. 我们应用 RT-PCR 技术检测 Pca 组织 21 例, BPH 组织 11 例, NP 组织 9 例. 其中 Pca 组织的阳性表达率为 71.4%, 而在 BPH 组织及 NP 组织中均为阴性. 因此, 该基因具有极高的检测特异性, 对于 Pca, BPH 的鉴别诊断具有较大意义.

## 【参考文献】

- [ 1 ] Shen R, Su ZZ, Olsson CA, *et al.* Identification of the human prostatic carcinoma oncogene PTI-1 by rapid expression cloning and differential RNA display[ J ]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995 92( 15 ): 6778 - 6782.
- [ 2 ] Sun Y, Lin J, Katz AE, *et al.* Human prostatic carcinoma oncogene PTI-1 is expressed in human tumor cell lines and prostate carcinoma patient blood samples[ J ]. *Cancer Res*, 1997 57( 1 ) 18 - 23.
- [ 3 ] Lamberti A, Caraglia M, Longo O *et al.* The translation elongation factor 1A in tumorigenesis, signal transduction and apoptosis: Review article[ J ]. *Amino Acids*, 2004 26( 4 ) 443 - 448.
- [ 4 ] 付振虹, 王 禾, 许彦鸣, 等. PTI-1 表达载体构建及在大肠杆菌中的高效表达和纯化[ J ]. 第四军医大学学报, 2002 23( 18 ): 1660 - 1664.  
Fu ZH, Wang H, Xu YM, *et al.* Over-expression in *E. coli* and purification of PTI-1 protein [ J ]. *J Fourth Mil Med Univ*, 2002; 23( 18 ) 1660 - 1664.
- [ 5 ] Sandblom G, Varenhorst E, Lofman O, *et al.* Clinical consequences of screening for prostate cancer: 15 Years follow-up of a randomised controlled trial in Sweden. [ J ]. *Eur Urol*, 2004; 46( 6 ): 717 - 724.
- [ 6 ] Rocco B, Matei DV, de Cobelli O. Prostate cancer with low PSA levels. [ J ]. *N Engl J Med*, 2004 351( 17 ) 1802 - 1803.
- [ 7 ] Canto EI, Singh H, Shariat SF, *et al.* Effects of systematic 12-core biopsy on the performance of percent free prostate specific antigen for prostate cancer detection[ J ]. *J Urol*, 2004 172( 3 ) 900 - 904.
- [ 8 ] Bianco FJ Jr, Kattan MW, Scardino PT. PSA velocity and prostate cancer [ J ]. *N Engl J Med*, 2004 351( 17 ) 1800 - 1802.