

• 临床检验研究论著 •

TMPRSS2:ERG 融合基因与前列腺原位癌和外周转移癌的相关性研究

毛易捷¹, 史伟峰¹, 李 青²

(苏州大学附属第三医院:1. 检验科;2. 病理科, 江苏常州 213025)

摘要:目的 分析跨膜丝氨酸蛋白酶 2(TMPS2)基因和 ETS 转录因子家族成员相关基因(ERG)融合基因与前列腺原位癌和外周转移癌的相关性。方法 采用荧光原位杂交技术对 24 例前列腺癌(PCa)患者组织标本进行 TMPS2:ERG 融合基因检测,评价 TMPS2:ERG 与前列腺原位癌和外周转移癌的相关性。结果 6 例 PCa 原发癌患者中,4 例检出 TMPS2:ERG 融合基因;18 例转移性 PCa 患者中,14 例检出该融合基因。外周淋巴结组织标本 TMPS2:ERG 融合基因阳性率为 100%(8/8)。14 例融合基因阳性转移性 PCa 患者原发病灶和转移病灶具有一致的融合基因情况。结论 TMPS2:ERG 融合基因具有较高的 PCa 诊断特异性和敏感性;应对该融合基因阳性患者尽早采取综合、有效的治疗措施,从而延长患者生存期。

关键词:前列腺肿瘤; 融合基因; 原位杂交, 荧光; ETS 转录因子相关基因; 跨膜丝氨酸蛋白酶 2

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.01.019

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)01-0044-02

Relationship between TMPS2:ERG fusion gene and primary and metastatic prostate cancer

Mao Yijie¹, Shi Weifeng¹, Li Qing²

(1. Center for Clinical Laboratory Diagnosis; 2. Department of Pathology, the Third Affiliated Hospital of Suzhou Medical College, Changzhou, Jiangsu 213025, China)

Abstract: Objective To evaluate the relationship between primary and metastatic prostate cancers(PCa) with fusion gene of transmembrane protease, serine 2(TMPS2) gene and ETS related gene(ERG). **Methods** Fluorescence in situ hybridization was used to evaluated the rearrangement of ERG gene(TMPS2:ERG fusion gene) in 24 patients with PCa. **Results** In 6 patients with primary PCa, 4 cases were with TMPS2:ERG fusion gene. In 18 patients with metastatic PCa, 14 cases were with this fusion gene. In multifocal prostate cancer, the status of this fusion gene was concordant between primary tumor focus and metastasis in all cases. **Conclusion** There might be a close relationship between TMPS2:ERG fusion gene and primary and metastatic PCa. Positivity of this fusion gene could suggest the susceptibility of metastasis, which lead to death.

Key words: prostatic neoplasms; fusion genes; in situ hybridization, fluorescence; ETS-related gene; transmembrane protease serine 2

跨膜丝氨酸蛋白酶 2(TMPS2)基因是雄激素调节基因^[1],ETS 转录因子家族成员相关基因(ERG 基因)是则为原癌基因^[2],染色体易位可导致 TMPS2 基因 5'端与 ERG 基因 3'端融合,导致原癌基因 ERG 缺失从而导致前列腺癌(PCa)的发生^[3-6]。该融合基因在前列腺癌中出现频率最高^[7-8],因此不仅可用于 PCa 诊断^[9],同时也是疾病治疗的分子靶点^[10]。然而,TMPS2:ERG 融合基因与 PCa 原位癌及外周转移癌的相关性尚未阐明。本研究采用 ERG 分离断裂探针及荧光原位杂交(FISH)对 PCa 根治术后切除的原位组织和转移至外周淋巴结的组织标本进行该融合基因检测,以探讨 TMPS2:ERG 融合基因在 PCa 进展和转移中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008 年 9 月至 2011 年 9 月于常州市第一人民医院经病理组织学检查确诊的 PCa 患者 24 例,年龄 56~88 岁,平均 72 岁,所有患者均未接受放射线、激素等治疗。本研究经医院伦理委员会审批并获得所有纳入对象的知情同意。

1.2 仪器与试剂 FISH 探针为罗丹明标记 5'ERG 基因探针(BAC RP11-95I21)和异硫氰酸荧光素标记的 3'ERG 探针(BAC RP11-476D17)。Paraffin Pretreatment Kit I 组织预处理试剂盒(美国 Vysis),胶原酶 B, RNA 酶 A(RNaseA)及胃蛋白酶(美国 Sigma);杂交仪(美国 Thermo),BX51 荧光显微镜

(日本 Olympus)。

1.3 方法 (1)标本采集:每例患者采集 PCa 根治术电切标本 2 份,1 份送病理检查,另 1 份用于 FISH 检测。标本体积按参考文献[8,11]中的公式计算。(2)FISH 检测步骤:10%(体积分数)中性甲醛溶液固定标本 6~48 h,石蜡包埋后标出杂交区域;切片厚 3 mm,65℃烤片过夜;室温二甲苯脱蜡 10 min 两次,100%、85%、70%乙醇处理各 3 min,去离子水浸泡 5 min;90℃去离子水浸泡 30 min,37℃蛋白酶 K 溶液(100 mg/L)处理 10~12 min;洗片后依次置于 70%、85%、100%乙醇脱水各 3 min,自然干燥切片;滴加 10 μL 探针混合液于杂交区,盖片并用橡胶胶水封片;85℃避光变性 5 min,置入杂交湿盒,42℃温箱孵育过夜;将切片置洗涤液(0.4×SSC,0.3%NP-40)中 72℃洗涤 2 min,洗涤液(2×SSC,0.1%NP-40)中洗涤 1 min;置于 70%乙醇中 3 min,取出避光晾干,加 10 μL DAPI 复染剂于杂交区,盖上玻片,于荧光显微镜下观察。(3)结果判定:每例标本计数 30 个以上上皮细胞核,超过 20%的细胞含有 TMPS2:ERG 融合信号判为阳性。使用分离断裂探针,正常信号为细胞核内 2 对同时存在的红绿信号点;存在 TMPS2:ERG 基因融合时,1 对分离的红绿信号点和 1 对共同存在的红绿点判为易位性重排,1 个绿色信号点和 1 对红绿信号点同时存在判为缺失性重排(5'区域红色信号点缺失)。同

时观察 TMPRSS2;ERG 融合基因和正常 ERG 基因拷贝数。探针灵敏度由分裂中期的外周淋巴细胞杂交证实;探针特异性和信号由周围淋巴细胞或上皮细胞杂交证实。

2 结 果

24 例 PCa 患者中,单病灶 6 例、多病灶 18 例。单病灶 PCa Gleason 评分平均为 9 分(4+5),肿瘤组织体积 2.80~12.16 cm³,平均 7.45 cm³;多病灶 PCa Gleason 评分平均为 7 分(4+3),肿瘤体积 1.44~10.08 cm³,平均 3.8 cm³,转移病灶 Gleason 评分平均为 6 分(3+3),体积 0.01~2.16 cm³,平

均 0.27 cm³。普通 ERG 基因信号点为 2 对绿色和 1 个红色(图 1A、B,见《国际检验医学杂志》网站“论文附件”);ERG 基因 5'端缺失和易位导致 ERG 重排基因信号点为 1 对绿色和 1 个红色(图 1C,见《国际检验医学杂志》网站“论文附件”)。4 例单病灶及 14 例多病灶 PCa 患者存在 TMPRSS2;ERG 融合基因,8 例淋巴结转移 PCa 患者均为阳性,其中 6 例重排形式为 ERG 基因 5'端缺失(图 1D,见《国际检验医学杂志》网站“论文附件”),2 例为易位。14 例融合基因阳性患者其原发病灶和转移病灶组织具有一致的融合基因状态(见表 1)。

表 1 PCa 组织标本病理学特征及 TMPRSS2 与 ERG 基因融合情况

编号	基因融合情况	原发病灶				转移病灶 1				转移病灶 2			
		GS	体积(cm ³)	融合形式	区域	GS	体积(cm ³)	融合形式	区域	GS	体积(cm ³)	融合形式	区域
1	Trans	5+4	3.36	Trans	PZ	—	—	—	—	—	—	—	—
2	Neg	4+3	5.60	Neg	PZ	—	—	—	—	—	—	—	—
3	Neg	4+5	12.16	Neg	UZ	—	—	—	—	—	—	—	—
4	Neg	4+5	2.80	Neg	PZ	—	—	—	—	—	—	—	—
5	Trans	4+5	9.60	Trans	UZ	—	—	—	—	—	—	—	—
6	Neg	4+3	11.20	Neg	PZ	—	—	—	—	—	—	—	—
7	Del	4+3	2.00	Del	PZ	3+3	0.17	Del	PZ	—	—	—	—
8	Neg	4+3	2.87	Neg	PZ	3+3	0.08	Neg	PZ	—	—	—	—
9	Del	4+5	4.20	Del	PZ	3+3	0.01	Del	TZ	—	—	—	—
10	Trans	3+4	1.44	Trans	PZ	3+4	0.35	Trans	TZ	—	—	—	—
11	Del	4+3	1.92	Del	PZ	3+4	0.50	Del	PZ	—	—	—	—
12	Del	4+5	10.08	Del	PZ	3+3	0.01	Del	PZ	—	—	—	—
13	Neg	4+3	1.92	Neg	PZ	3+3	0.05	Neg	TZ	—	—	—	—
14	Del	4+5	4.00	Del	PZ	3+3	0.03	Del	PZ	—	—	—	—
15	Neg	4+4	6.57	Neg	PZ	3+4	2.16	Neg	TZ	—	—	—	—
16	Trans	4+5	2.52	Trans	PZ	4+3	0.11	Trans	PZ	—	—	—	—
17	Del	4+5	2.04	Del	PZ	3+3	0.13	Del	PZ	3+3	0.01	Del	L
18	Trans	4+3	3.20	Trans	PZ	3+3	0.12	Trans	TZ	3+3	0.10	Trans	L
19	Neg	4+5	7.20	Neg	PZ	3+3	0.44	Neg	TZ	3+3	0.03	Del	L
20	Del	4+3	5.64	Del	PZ	3+3	0.34	Del	PZ	3+3	0.05	Del	L
21	Trans	4+5	3.46	Del	UZ	3+4	0.26	Trans	PZ	3+4	0.16	Del	L
22	Del	3+4	5.87	Del	PZ	4+3	0.18	Del	TZ	4+3	0.67	Del	L
23	Del	4+3	7.20	Del	PZ	3+3	0.35	Del	PZ	3+3	1.10	Del	L
24	Trans	4+5	9.13	Trans	PZ	3+3	0.22	Trans	TZ	3+3	0.48	Trans	L

Del:缺失重排;GS:Gleason 评分;Neg:无 ERG 基因重排;PZ:前列腺外周带;L:淋巴结;Trans:染色体易位;TZ:前列腺过渡区;UZ:未确定区域;—:无相应转移病灶。

3 讨 论

本研究发现大部分 PCa 转移病灶具有因 ERG 基因 5'端缺失或易位形成的 TMPRSS2;ERG 融合基因,且转移病灶和相应的原位病灶组织标本具有一致的融合基因存在情况及融合形式。目前关于 TMPRSS2;ERG 融合基因与 PCa 预后的关系仍无定论,有学者认为检出融合基因提示 PCa 预后良好^[12-13],但 Attard 等^[14]却发现多数病情进展迅速的 PCa 患者存在 TMPRSS2;ERG 融合基因 mRNA 大量复制,Gopalan 等^[15]的研究不仅证实了这一现象,而且还发现复制不是 TMPRSS2;ERG 融合基因座的特异性扩增,而是染色体拷贝数的增加,从而导致遗传学不稳定性,进而促进 PCa 的侵袭进展。另有研究发现在多病灶的原发性 PCa 患者中,TMPRSS2;ERG 融合基因阳性者外周转移率较阴性者高;不同病灶位点各自克隆增生,并向外周转移,与本研究结果一致^[8,16-17]。

PCa 可转移至淋巴结、骨骼、肝脏和肺脏等。Mehra 等^[7]通过研究 30 例转移性 PCa 组织标本,发现 73.3%的患者存在融合亚型,63.6%的患者 TMPRSS2;ERG 融合基因与 ERG 基

因 5'端缺失有关。Clark 和 Cooper^[18]通过研究雄激素耐药的外周转移 PCa 患者,发现 37.2%的患者 TMPRSS2;ERG 融合基因与 ERG 基因 5'端易位有关。也有学者通过 FISH 检测发现许多转移性 PCa 患者尽管有不同原发病灶,但各病灶具有一致的 TMPRSS2;ERG 融合基因存在情况及融合形式^[19-20]。Perner 等^[8]同样也发现大部分原位和转移 PCa 组织间具有一致的融合基因存在情况。这些研究都表明,含有 TMPRSS2;ERG 融合基因的 PCa 更易发生外周转移,更易导致患者的死亡。

综上所述,TMPRSS2;ERG 融合基因在 PCa 诊断中具有好的特异性和敏感性,应对该融合基因阳性患者尽早采取综合、有效的治疗方案,从而延长患者生存期。

参考文献

[1] Lin B,Ferguson C,White JT,et al. Prostate-localized and androgen-regulated expression of the membrane-bound serine protease TMPRSS2[J]. Cancer Res,1999,59(17):4180-4184. (下转第 48 页)

甲基化及表达水平进量化评估,具备快速、简便、灵敏度高等优势,可用于指导 ALL 个体化治疗,在临床上具有较为广泛的应用前景。

参考文献

- [1] Pui CH. Recent research advances in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. J Formos Med Assoc, 2010, 109(11): 777-787.
- [2] Landman-Parker J, Pagès P, Petit A, et al. New insights into acute lymphoblastic leukemia[J]. Bull Acad Natl Med, 2009, 193(7): 1501-1507.
- [3] Onciu M. Acute lymphoblastic leukemia[J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2009, 23(4): 655-674.
- [4] Ekmekci CG, Gutiérrez MI, Siraj AK, et al. Aberrant methylation of multiple tumor suppressor genes in acute myeloid leukemia[J]. Am J Hematol, 2004, 77(3): 233-240.
- [5] Herman JG, Civin CI, Issa JP, et al. Distinct patterns of inactivation of p15INK4B and p16INK4A characterize the major types of hematological malignancies[J]. Cancer Res, 1997, 57(5): 837-841.
- [6] Hsiao PC, Liu MC, Chen LM, et al. Promoter methylation of p16 and EDNRB gene in leukemia patients in Taiwan[J]. Chin J Physiol, 2008, 51(1): 27-31.
- [7] 邱吉庆, 谭岩, 赵刚, 等. 人脑胶质瘤组织 p16INK4 蛋白的表达及其基因突变 SSCP 分析[J]. 吉林大学学报医学版, 2003, 29(3): 273-276.
- [8] Csepregi A, Ebert MP, Röcken C, et al. Promoter methylation of CDKN2A and lack of p16 expression characterize patients with hepatocellular carcinoma[J]. BMC Cancer, 2010-06-22 [2012-11-12], <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2927998/>.
- [9] Lo PK, Watanabe H, Cheng PC, et al. MethySYBR, a novel quantitative PCR assay for the dual analysis of DNA methylation and CpG methylation density[J]. J Mol Diagn, 2009, 11(5): 400-414.
- [10] Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, et al. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types[J]. Science, 1994, 264(5157): 436-440.
- [11] Reed AL, Califano J, Cairns P, et al. High frequency of p16(CDKN2/MTS-1/INK4A) inactivation in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Cancer Res, 1996, 56(16): 3630-3633.
- [12] Herman JG, Merlo A, Mao L, et al. Inactivation of the CDKN2/p16/MTS1 gene is frequently associated with aberrant DNA methylation in all common human cancers[J]. Cancer Res, 1995, 55(20): 4525-4530.
- [13] Esteller M, Herman JG. Cancer as an epigenetic disease: DNA methylation and chromatin alterations in human tumours[J]. J Pathol, 2002, 196(1): 1-7.
- [14] Baur AS, Shaw P, Burri N, et al. Frequent methylation silencing of p15(INK4b)(MTS2) and p16(INK4a)(MTS1) in B-cell and T-cell lymphomas[J]. Blood, 1999, 94(5): 1773-1781.
- [15] Omura-Minamisawa M, Diccianni MB, Batova A, et al. Universal inactivation of both p16 and p15 but not downstream components is an essential event in the pathogenesis of T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(4): 1219-1228.
- [16] 范丽萍, 沈建箴, 叶宝国, 等. 巢式 MSP 法检测急性白血病患者 p16 基因甲基化状态[J]. 中国实验血液学杂志, 2007, 15(2): 258-261.
- [12] Demichelis F, Fall K, Perner S, et al. TMPRSS2:ERG gene fusion associated with lethal prostate cancer in a watchful waiting cohort[J]. Oncogene, 2007, 26(31): 4596-4599.
- [13] Lapointe J, Kim YH, Miller MA, et al. A variant TMPRSS2 isoform and ERG fusion product in prostate cancer with implications for molecular diagnosis[J]. Mod Pathol, 2007, 20(4): 467-473.
- [14] Attard G, Clark J, Ambrosini L, et al. Duplication of the fusion of TMPRSS2 to ERG sequences identifies fatal human prostate cancer[J]. Oncogene, 2008, 27(3): 253-263.
- [15] Gopalan A, Leversha MA, Satagopan JM, et al. TMPRSS2:ERG gene fusion is not associated with outcome in patients treated by prostatectomy[J]. Cancer Res, 2009, 69(4): 1400-1406.
- [16] Cheng L, Song SY, Pretlow TG, et al. Evidence of independent origin of multiple tumors from patients with prostate cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 1998, 90(3): 233-237.
- [17] Guo CC, Zuo G, Cao D, et al. Prostate cancer of transition zone origin lacks TMPRSS2:ERG gene fusion[J]. Mod Pathol, 2009, 22(7): 866-871.
- [18] Clark JP, Cooper CS. ETS gene fusions in prostate cancer[J]. Nat Rev Urol, 2009, 6(8): 429-439.
- [19] Liu W, Laitinen S, Khan S, et al. Copy number analysis indicates monoclonal origin of lethal metastatic prostate cancer[J]. Nat Med, 2009, 15(5): 559-565.
- [20] Van Der Kwast TH, Amin MB, Billis A, et al. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 2: T2 substaging and prostate cancer volume[J]. Mod Pathol, 2011, 24(1): 16-25.

(收稿日期: 2012-09-08)

(上接第 45 页)

- [2] Oikawa T, Yamada T. Molecular biology of the Ets family of transcription factors[J]. Gene, 2003, 303(1): 11-34.
- [3] Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer[J]. Science, 2005, 310(5748): 644-648.
- [4] Clark J, Merson S, Jhavar S, et al. Diversity of TMPRSS2:ERG fusion transcripts in the human prostate[J]. Oncogene, 2007, 26(18): 2667-2673.
- [5] Mehra R, Tomlins SA, Shen R, et al. Comprehensive assessment of TMPRSS2 and ETS family gene aberrations in clinically localized prostate cancer[J]. Mod Pathol, 2007, 20(5): 538-544.
- [6] Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer[J]. Science, 2005, 310(5748): 644-648.
- [7] Mehra R, Tomlins SA, Yu J, et al. Characterization of TMPRSS2-ETS gene aberrations in androgen-independent metastatic prostate cancer[J]. Cancer Res, 2008, 68(10): 3584-3590.
- [8] Perner S, Svensson MA, Hossain RR, et al. ERG rearrangement metastasis patterns in locally advanced prostate cancer[J]. Urology, 2010, 75(4): 762-767.
- [9] 毛易捷, 何晶晶, 许刚, 等. 尿液跨膜丝氨酸蛋白酶 2 基因和 ETS 转录因子家族成员相关基因融合体在前列腺癌诊断中的价值[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(8): 905-909.
- [10] Chen ME, Johnston DA, Tang K, et al. Detailed mapping of prostate carcinoma foci: biopsy strategy implications[J]. Cancer, 2000, 89(8): 1800-1809.
- [11] Epstein JI, Allsbrook WC Jr, Amin MB, et al. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) consensus conference on Gleason grading of prostatic carcinoma[J]. Am J Surg Pathol, 2005, 29(9): 1228-1242.

(收稿日期: 2012-10-08)