

## 血清高迁移率族蛋白 B1 检测在 T3N0M0 期前列腺癌冷冻治疗后复发中的意义

胡 萍, 司同国, 郭 志

**【摘要】 目的** 探讨血清高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)预测 T3N0M0 期前列腺癌冷冻治疗后复发的临床意义。**方法** 收集 65 例 T3 期前列腺癌患者(PCa 组)和 30 例前列腺良性增生患者(BPH 组)的血清样本,应用酶联免疫吸附试验测定血清 HMGB1 水平;PCa 组患者均行经皮穿刺冷冻消融治疗,术后随访外周血前列腺特异抗原(PSA)、前列腺 MRI,可疑复发者行病理穿刺活检证实。比较 PCa 组患者血清 HMGB1 水平。**结果** 术前血清 HMGB1 在 PCa 组为 $(55.28 \pm 29.37)$ ng/ml,明显高于 BPH 组的 $(34.61 \pm 13.15)$ ng/ml( $P = 0.004$ )。PCa 组患者冷冻治疗后,无复发 46 例,局部复发 15 例,远处转移 4 例,三者术前 HMGB1 平均值分别为 $(55.49 \pm 7.12)$ ng/ml、 $(73.13 \pm 7.89)$ ng/ml 和 $(94.23 \pm 17.91)$ ng/ml,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。**结论** 术前血清 HMGB1 水平高的 PCa 患者冷冻治疗后复发、转移率较高,血清 HMGB1 的检测可为冷冻治疗后复发性前列腺癌的诊断提供重要临床价值。

**【关键词】** 前列腺癌; 复发; 转移; 高迁移率族蛋白 B1; 肿瘤标记

中图分类号:R737.25 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2013)-04-0297-04

**The significance of serum HMGB1 in forecasting the recurrence of stage T3N0M0 prostate cancer after cryotherapy** HU Ping, SI Tong-guo, GUO Zhi. Department of Interventional Therapy, Affiliated Tumor Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin Municipal Key Laboratory of Cancer Prevention and Treatment, Tianjin 300060, China

Corresponding author: GUO Zhi, E-mail: cjr.guozhi@vip.163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the clinical application of serum high-mobility group box 1 protein (HMGB1) in forecasting the early recurrence of stage T3N0M0 prostate cancer after cryotherapy. **Methods** A total of 65 patients with stage T3N0M0 prostate cancer (PCa group) and 30 patients with benign prostate hyperplasia (BPH group) were collected. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine the serum HMGB1 and PSA levels in all patients. Percutaneous cryoablation therapy was performed in the patients of PCa group. Follow-up examinations with determination of PSA level in peripheral blood and MRI scanning of the prostate were carried out, and puncturing biopsy was employed in patients who was suspected of having recurrent cancer. The results were analyzed, and the HMGB1 levels of the two groups were compared. **Results** Before the treatment, the HMGB1 levels of the PCa group and the BPH group were  $(55.28 \pm 29.37)$  ng/ml and  $(34.61 \pm 13.15)$  ng/ml respectively. The HMGB1 level of the PCa group was significantly higher than that of the BPH group ( $P = 0.004$ ). Of the 65 patients with stage T3N0M0 prostate cancer after percutaneous cryoablation therapy, no recurrence was seen in 46, local recurrence in 15 and distant metastasis in 4, and the preoperative HMGB1 levels of these three groups were  $(55.49 \pm 7.12)$  ng/ml,  $(73.13 \pm 7.89)$  ng/ml and  $(94.23 \pm 17.91)$  ng/ml respectively. The differences in the preoperative HMGB1 level among the three groups were statistically significant ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** This study indicates that patients with stage T3N0M0 prostate cancer have higher recurrence rate and metastasis rate after percutaneous cryoablation therapy if

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81001002);天津市应用基础及前沿技术研究计划(09JCYBJC10400);天津市卫生局科技基金(2010KZ71)  
DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2013.04.008  
作者单位: 300060 天津医科大学附属肿瘤医院介入科,天津市肿瘤防治重点实验室  
通信作者: 郭 志 E-mail: cjr.guozhi@vip.163.com

their preoperative HMGB1 levels are higher. Therefore, serum HMGB1 level can be used as a helpful prognostic factor for predicting the recurrence of prostate cancer after percutaneous cryoablation therapy. (J Intervent Radiol, 2013, 22: 298-300)

**【Key words】** prostate cancer; recurrence; metastasis; high - mobility group box 1 protein; tumor marker

前列腺癌是老年男性常见的泌尿系恶性肿瘤,近年发病率直线上升且呈年轻化趋势<sup>[1]</sup>。经皮穿刺前列腺癌氩氦冷冻消融治疗具备操作简单、微创、疗效确切等优点,由根治术或放疗后复发的补救治疗手段发展为早期局限性前列腺癌的一线治疗手段<sup>[2]</sup>。与放射治疗、外科手术治疗一样,前列腺癌氩氦冷冻治疗亦有局部复发的风险,而 T3 期前列腺癌患者更是局部复发的高危人群。早期发现复发的前列腺癌患者,及时予以补救治疗,可显著提高生存率。目前,常用血清前列腺特异抗原 (prostate-specific antigen, PSA) 进行随访指导穿刺病理活检,但其对于局部复发的诊断敏感度偏低,探讨新的血清标志物是目前研究的热点和难点。多项研究发现高迁移率族蛋白 B1 (high - mobility group box 1 protein, HMGB1) 在前列腺癌中呈高表达,与肿瘤形成、进展和转移相关<sup>[3]</sup>。同时,血清 HMGB1 对于肿瘤的诊断价值已在结肠癌、宫颈癌等多种肿瘤中进行研究。本文检测前列腺癌氩氦冷冻治疗的 T3 期患者术前血清 HMGB1 和 PSA 水平,结合临床检测疾病复发的金标准,评价 HMGB1 预测前列腺癌患者治疗后复发的临床价值。

## 1 资料和方法

### 1.1 临床资料

收集 2005 年 1 月—2011 年 6 月在我科诊治的 T3N0M0 前列腺癌患者 65 例,年龄 65 ~ 80 岁,中位年龄 72 岁。所有患者均经前列腺穿刺活检确诊,病理均为腺泡癌, Gleason 评分 5 ~ 9 分,术前均行前列腺 MRI 检查、全身骨扫描、胸部 CT 检查,排除其他合并肿瘤,术前均未接受内分泌及其他治疗。选择同期 30 例前列腺良性增生门诊患者作为对照组,取血 48 h 内不做直肠指检。两组患者年龄分布具可比性 ( $P > 0.05$ )。

### 1.2 方法

**1.2.1 血清 HMGB1 检测** 所有患者术晨起抽取空腹静脉血 5 ml, 1 h 内离心 (300 g × 5 min, 5 000 g × 5 min), 去除细胞成分取上清, 等量分装 -80℃ 超低温冰箱保存。采用酶联免疫吸附试验 (ELISA,

R&D 公司) 检测血清 HMGB1 水平。板条室温平衡 20 min 后使用, 标准品孔各加不同浓度标准品 50 μl; 样本孔加待测样本 10 μl (样本室温平衡 20 min 后进行检测), 空白孔不加样本。除空白孔, 各孔加辣根过氧化物酶标记抗体 100 μl, 封板膜封孔, 置 37℃ 恒温箱中温育 60 min; 弃液体, 洗板、拍干 (重复 5 次); 加底物 50 μl 于 37℃ 避光孵育 15 min; 各孔加终止液, 15 min 内于波长 450 nm 处测吸光度 (A) 值, 通过线性回归方程计算样本浓度。实验重复 3 次取均值。

**1.2.2 冷冻治疗** 采用美国 Endocare 公司氩氦冷冻治疗设备, 低位硬膜外麻醉或全身麻醉下取膀胱截石位, 留置三腔气囊导尿管, 38 ~ 39℃ 生理盐水常压下循环保护尿道。BK1101 型超声双平面直肠探头, 轴面、矢状面导引下定位穿刺, 根据肿瘤大小, 选择 2 ~ 6 个 2 mm 的冷冻器。冷冻消融治疗始于腹侧, 依次向背侧进行。根据冰球扩展速度及范围, 调整输出功率, 控制温度在 -45 ~ -80℃, 持续 18 ~ 20 min 后氦气迅速复温, 完成 2 个循环的冷冻-复温治疗。操作均在超声、心电监护下进行。术后局部压迫穿刺点 10 ~ 15 min; 维持尿道循环灌注大于 30 min, 持续膀胱冲洗大于 24 h, 留置导尿管 14 d。

**1.2.3 随访** 所有前列腺癌患者, 术后每月定期复查 PSA, 若 PSA > 0.5 μg/ml, 1 周内行 MRI 检查及超声引导下穿刺组织病理检查。对 PSA < 0.5 μg/ml 患者, 术后 1、3、6 个月行前列腺 MRI 检查, 影像学异常者行病理穿刺活检。对于 PSA、MRI 或 CT 结果无异常患者, 于术后 12 个月行超声引导下穿刺活检病理检查。术后病理活检证实肿瘤细胞存活者, 定义为术后局部复发。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS13.0 软件进行统计分析, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 数据先进行正态分布性 (K-S) 检验, 证实为正态分布后, 两样本均数比较采用独立样本  $t$  检验, 组间比较采用卡方检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组术前血清 HMGB1、PSA 检测结果

术前血清 HMGB1 水平在前列腺癌组为  $(55.28 \pm 29.37)$  ng/ml, 明显高于对照组的  $(34.61 \pm 13.15)$  ng/ml, 组间差异有统计学意义 ( $P = 0.004$ ); 对照组和前列腺癌组术前 PSA 分别为  $(3.65 \pm 1.95)$   $\mu$ g/L 和  $(26.7 \pm 8.3)$   $\mu$ g/L, 两组间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

### 2.2 冷冻治疗后临床随访

65 例前列腺癌患者冷冻术后 3 年内局部复发 15 例, 远处转移 4 例, 无进展生存 46 例。局部复发组中 11 例为 PSA 生化复发 ( $PSA > 0.5$   $\mu$ g/L), 4 例 PSA 生化无复发而活检证实局部复发; 远处转移组 4 例患者为 MRI 及全身骨显像提示盆腔淋巴结及远处转移(无原位复发); 无进展组中 2 例出现非特异性 PSA 升高, 活检、MRI、腹部 CT 及全身骨显像均未见原位复发及明显转移灶。

### 2.3 HMGB1 在前列腺癌各亚组患者中的表达水平

将 65 例前列腺癌患者按治疗后有无复发分为局部复发、远处转移和无进展生存亚组。在无进展生存组, 患者术前血清 HMGB1 平均值为  $(55.49 \pm 7.12)$  ng/ml。在局部复发组, 患者血清 HMGB1 平均值为  $(73.13 \pm 7.89)$  ng/ml, 其中 11 例 PSA 生化复发患者术前血清 HMGB1 平均值为  $(81.91 \pm 17.67)$  ng/ml, 4 例 PSA 生化无复发患者血清 HMGB1 均值为  $(62.75 \pm 5.87)$  ng/ml。在远处转移组, 患者血清 HMGB1 平均值为  $(94.23 \pm 17.91)$  ng/ml。局部复发组和远处转移组术前血清 HMGB1 显著高于无进展生存组 ( $P = 0.003$ ), 而远处转移组亦明显高于局部复发组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.001$ )。局部复发组中 4 例局部复发而 PSA 生化无复发患者的术前血清 HMGB1 水平亦明显高于无进展生存组 ( $P < 0.001$ )。无进展生存组中 2 例术后 PSA 非特异性升高患者术前血清 HMGB1 平均值为 50.04 ng/ml。

## 3 讨论

T3 期前列腺癌具有独特的生物学特性, 具有潜在治愈性, 对这部分不适合行外科根治术治疗的患者采取前列腺癌氩氦冷冻治疗, 可达到与根治术类似的治疗效果。但是, 由于 T3 期前列腺癌患者病理 Gleason 评分较高, 有较高的复发和远处转移风险。对于前列腺癌局部氩氦冷冻治疗术后复发的患者, 再次补救治疗仍有较好的疗效。因此, 对于经冷冻治

疗后复发的前列腺癌患者, 早期诊断至关重要<sup>[4-5]</sup>。目前, 血清 PSA、骨 ECT、MRI、强化 CT 等为常用的局部复发或远处转移的诊断方法, 对于随访异常患者, 最终可经穿刺病理活检确诊。血清 PSA 虽然在前列腺癌的诊断、监测和随访中应用广泛, 但其敏感度高、特异度低<sup>[6]</sup>。而且, PSA 对于前列腺癌的分期及有无远处转移提示意义不大。美国肿瘤放疗协会(ASTRO)建议前列腺癌放疗后前 2 年每 3 ~ 4 个月检测 1 次, 以后每 6 个月 1 次, PSA 降至最低点, 连续检测 3 次逐渐升高, 将复发时间定为最低点至第 1 次升高的中点<sup>[7]</sup>; 而新的 Phoenix 生化复发定义为术后 PSA 水平超过 PSA 谷值加 2。通常, 临床中将 PSA 生化复发以 0.5 ng/ml 为标准。在我国, 前列腺癌患者多数确诊时即为中晚期, 局部治疗后复发患者很多 PSA 水平并未升高。既往报道, 血清 PSA 对于前列腺癌局部治疗后复发诊断的敏感度和特异度分别为 72% 和 83%<sup>[7]</sup>。因此, 单一血清 PSA 对于监测前列腺癌复发价值有限, 需要探讨新的肿瘤标志物。

HMGB1 是一种分布广泛、进化高度保守的非组蛋白核蛋白, 因在琼脂糖凝胶电泳中高迁移率而得名。研究发现, 坏死癌症细胞分泌到细胞外的 HMGB1 可能有助于癌细胞的存活、增殖和侵袭<sup>[8]</sup>。HMGB1 在多种人类恶性肿瘤和动物模型中呈过表达, 尽管其与肿瘤相互作用的具体机制尚不清楚, 但其作为预测肿瘤侵袭性和预后的标志物已在多种肿瘤的免疫组化和免疫测定过程得到很好的研究, 包括胃癌、结肠癌、乳腺癌、宫颈癌等<sup>[9-10]</sup>。最近, HMGB1 在前列腺癌中的作用受到广泛关注, 发现雄激素剥脱可导致前列腺癌细胞分泌 HMGB1<sup>[3]</sup>。有研究报道 HMGB1 过表达预示前列腺癌根治术后预后差<sup>[11]</sup>。该研究亦发现, 在前列腺癌细胞系中 HMGB1 高表达, 同时对 168 例前列腺癌切除标本进行免疫组化染色, 发现 HMGB1 阳性染色与生化无复发存活差明显相关, 同时是根治术后生化无复发存活的独立预测因子。

对于血清 HMGB1 表达在前列腺癌患者中的诊断意义目前尚少见报道。本研究中, 前列腺癌组患者血清 HMGB1 比对照组明显升高。此外, 局部复发及远处转移者血清 HMGB1 明显升高, 提示 HMGB1 可能与肿瘤的形成、转移相关, 而 HMGB1 通过何种机制促进肿瘤转移, 尚需进一步研究。此外, 4 例术后 PSA 随访阴性的局部复发患者, 血清 HMGB1 明显升高。同时, 2 例 PSA 非特异性升高的未复发患

者,血清 HMGB1 未见升高,提示 HMGB1 在预测前列腺癌冷冻治疗后复发方面可弥补 PSA 随访的不足。因此,在一定程度上血清 HMGB1 可作为一种新的肿瘤标志物,作为局部治疗后高复发患者的筛查指标。由于本研究样本量较小,存在一定局限性,要进一步探讨 HMGB1 与前列腺癌预后的关系还需要大样本的临床对照研究。

#### [参考文献]

- [1] Tanaka N, Fujimoto K, Hirayama A, et al. Trends of the primary therapy for patients with prostate Cancer in Nara uro-oncological research group (NUORG): a comparison between the CaPSURE data and the NUORG data [J]. Jpn J Clin Oncol, 2010, 40: 588 - 592.
- [2] Lian H, Guo H, Gan W, et al. Cryosurgery as primary treatment for localized prostate Cancer [J]. Int Urol Nephrol, 2011, 43: 1089 - 1094.
- [3] Ishiguro H, Nakaigawa N, Miyoshi Y, et al. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) and its ligand, amphoterin are overexpressed and associated with prostate Cancer development[J]. Prostate, 2005, 64: 92 - 100.
- [4] 郭志. 关注冷冻消融治疗前列腺癌的若干问题 [J]. 中华医学杂志, 2010, 84: 2959 - 2961.
- [5] 郭志, 王海涛, 邢文阁, 等. 冷冻消融治疗 T3N0M0 期前列腺癌的初步临床观察 [J]. 中华医学杂志, 2004, 90: 2815 - 2819.
- [6] 朱刚, 刘明, 万奔, 等. 早期前列腺癌的诊断和治疗 [J]. 中华男科学杂志, 2005, 11: 693 - 696.
- [7] Kuban DA, Levy LB, Potters L, et al. Comparison of biochemical failure definitions for permanent prostate brachytherapy [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2006, 65: 1487 - 1493.
- [8] Kuniyasu H, Chihara Y, Kondo H, et al. Amphoterin induction in prostatic stromal cells by androgen deprivation is associated with metastatic prostate Cancer[J]. Oncol Rep, 2003, 10: 1863 - 1868.
- [9] Chen J, Liu X, Zhang J, et al. Targeting HMGB1 inhibits ovarian Cancer growth and metastasis by lentivirus - mediated RNA interference[J]. J Cell Physiol, 2012, 227: 3629 - 3638.
- [10] Lee H, Song M, Shin N, et al. Diagnostic significance of serum HMGB1 in colorectal carcinomas [J]. PLoS One, 2012, 7: e34318.
- [11] Li T, Gui Y, Yuan T, et al. Overexpression of high mobility group box 1 with poor prognosis in patients after radical prostatectomy[J]. BJU Int, 2012, 110: e1125 - 1130.

(收稿日期:2012-11-12)

(本文编辑:侯虹鲁)