

引用本文:刘凤珍,王荣,崔发财,等.前列腺癌病人血清人类泛素偶联酶 E2C 的表达及其对 DU145 细胞增殖、侵袭和转移的影响[J].安徽医药,2024,28(5):915-920.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2024.05.014.

◇临床医学◇



前列腺癌病人血清人类泛素偶联酶 E2C 的表达及其对 DU145 细胞增殖、侵袭和转移的影响

刘凤珍^a,王荣^a,崔发财^a,赵伟锋^b

作者单位:河南省人民医院,^a检验科,^b肿瘤内科,河南 郑州 450003

通信作者:赵伟锋,男,副主任医师,研究方向为头颈部肿瘤及泌尿系统肿瘤的综合诊治,Email:wfzhaod@163.com

基金项目:国家自然科学基金项目(82002210)

摘要 目的 探寻人类泛素偶联酶 E2C(UBE2C)在前列腺癌病人血清中表达及对前列腺癌细胞增殖、侵袭和迁移能力的影响。**方法** 采用基因表达交互分析数据库(GEPIA)分析 UBE2C 在前列腺癌组织中的表达情况,筛选 2021 年 1 月至 2022 年 6 月在河南省人民医院住院治疗的 50 例前列腺癌病人作为研究对象,另选前列腺增生病人和健康体检者各 50 例作为对照,采用酶联免疫吸附(ELISA)实验检测血清 UBE2C 浓度。将 si-UBE2C 及 si-NC 转染前列腺癌 DU145 细胞,采用 CCK-8 实验和 transwell 实验检测细胞增殖、侵袭和迁移能力的改变,采用蛋白质印迹法检测细胞中 UBE2C、t-Akt、p-Akt、MMP-2 和 MMP-9 的表达。**结果** GEPIA 数据库中,前列腺癌组织中 UBE2C 表达显著高于癌旁组织($P<0.05$);前列腺癌病人血清 UBE2C 表达水平显著高于前列腺增生组和对照组[0.64(0.41, 1.06) $\mu\text{g/L}$ 比 0.28(0.22, 0.39) $\mu\text{g/L}$ 和 0.19(0.18, 0.21) $\mu\text{g/L}$, $P<0.05$],血清 UBE2C 诊断前列腺癌的曲线下面积(AUC)为 0.86,诊断灵敏度和特异度分别为 76.3% 和 88.9%,血清 UBE2C 联合血清前列腺特异性抗原(PSA)诊断前列腺癌的 AUC 为 0.90,诊断灵敏度和特异度分别为 82.4% 和 89.7%。血清 UBE2C 表达与骨转移、淋巴结转移、gleason 评分和 TNM 分期相关(均 $P<0.05$)。转染 si-UBE2C 可显著降低 DU145 细胞中 UBE2C 表达($P<0.05$), p-Akt、MMP-2 和 MMP-9 表达降低($P<0.05$), DU145 细胞的增殖、侵袭和迁移能力均得到抑制[si-NC 组和 si-UBE2C 组的增殖活性分别为 48 h: (0.69 $\pm$ 0.03)和(0.57 $\pm$ 0.02), 72 h: (0.88 $\pm$ 0.03)和(0.65 $\pm$ 0.03);细胞侵袭数量分别为(225.7 $\pm$ 13.6)个和(122.7 $\pm$ 14.6)个;细胞迁移数量分别为(129.3 $\pm$ 7.6)个和(75.0 $\pm$ 11.8)个,均 $P<0.05$]。**结论** UBE2C 在前列腺癌病人血清中表达升高并对肿瘤诊断有一定价值,沉默 UBE2C 表达可显著抑制前列腺癌 DU145 细胞的增殖、侵袭和转移。

关键词 前列腺肿瘤; 人类泛素偶联酶 E2C; 诊断; 侵袭; 转移

Expression of UBE2C in serum of prostate cancer patients and its effect on the proliferation, invasion and metastasis of prostate cancer DU145 cells

LIU Fengzhen^a, WANG Rong^a, CUI Facai^a, ZHAO Weifeng^b

Author Affiliation:^aDepartment of Clinical Laboratory, ^bMedical Oncology, He'nan Provincial People's Hospital, Zhengzhou, He'nan 450003, China

Abstract Objective To investigate the expression of human ubiquitin coupling enzyme E2C (UBE2C) in the serum of prostate cancer (PCa) patients and its effect on the proliferation, invasion and migration of PCa cells. **Methods** Gene Expression Interaction Analysis database (GEPIA) was used to detect the expression of UBE2C in PCa tissues. 50 cases of PCa patients hospitalized in He'nan Provincial People's Hospital from January 2021 to June 2022 were selected as the research object, and 50 cases of benign Prostatic Hyperplasia (BPH) and 50 cases of healthy subjects were selected as control groups. The expression of UBE2C in the serum of all subjects was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). After transfected with si-UBE2C and si-NC, the proliferation, invasion and migration of DU145 cells were detected by CCK-8 assay and transwell assay. The expression of UBE2C, t-Akt, p-Akt, MMP-2 and MMP-9 were detected by western blot. **Results** In the GEPIA database, UBE2C expression in PCa tissues was significantly higher than that in adjacent normal tissues ($P<0.05$). The expression of UBE2C in serum of PCa patients was significantly higher than that of BPH patients and healthy subjects [0.64 (0.41, 1.06) $\mu\text{g/L}$ vs. 0.28 (0.22, 0.39) $\mu\text{g/L}$ and 0.19 (0.18, 0.21) $\mu\text{g/L}$, $P<0.05$] ($P<0.05$). The area under curve (AUC) of serum UBE2C in the diagnosis of PCa was 0.86, and the diagnostic sensitivity and specificity were 76.3% and 88.9%, respectively. The AUC of serum UBE2C combined with serum prostate-specific antigen (PSA) in the diagnosis of PCa was 0.900, and the sensitivity and specificity were 82.4% and 89.7%, respectively. Serum UBE2C expression in PCa patients was correlated with bone metastasis, lymph node metastasis, Gleason score and TNM stage (all $P<0.05$). Transfected with si-UBE2C significantly decreased the expression of UBE2C in DU145 cells ($P<0.05$), and also decreased the expression of p-Akt, MMP-2 and MMP-9 protein

($P<0.05$), inhibited the proliferation, invasion and migration of DU145 cells [The proliferative activity of si-NC group and si-UBE2C group were 48 h: (0.69 ± 0.03) , (0.57 ± 0.02) , 72h: (0.88 ± 0.03) , (0.65 ± 0.03) ; the number of cell invasion was (225.7 ± 13.6) and (122.7 ± 14.6) ; the number of cell migration was (129.3 ± 7.6) and (75.0 ± 11.8) , all $P<0.05$]. **Conclusions** Serum UBE2C expression is increased in PCa patients and has potential diagnostic value. Silencing UBE2C expression can significantly inhibit the proliferation, invasion and metastasis of PCa DU145 cells.

Keywords Prostatic neoplasms; UBE2C; Diagnosis; Invasion; Metastasis

前列腺癌(PCa)是一种常见的泌尿生殖系统恶性肿瘤,2020年全球新发确诊病例140万人,新发死亡病例37万人,其发病率和病死率已分列世界男性恶性肿瘤的第2位和第5位^[1-2]。近年来,随着饮食及生活方式的改变、人口老龄化水平的不断增加,我国前列腺癌发病率也呈逐步增长趋势^[3]。流行病学调查研究显示^[4],我国初诊为局限性前列腺癌病人的比例仅为30%左右,大部分病人首次确诊时癌细胞已发生深层组织浸润和远处器官转移,贻误临床治疗造成病死率高,这是我国PCa病人5年生存率低于欧美发达国家的主要原因,因此深入研究PCa进展分子机制,筛选肿瘤发生发展相关生物标志物对PCa的诊断、治疗和改善病人预后是至关重要的。泛素结合酶E2C(UBE2C)是泛素结合酶E2的家族成员,也是泛素-蛋白酶体系统中的重要参与者,可通过靶向细胞周期调控因子来调控细胞周期中的关键检查点,发挥其促进细胞有丝分裂进程的作用^[5]。研究^[6]报道,UBE2C异常表达可导致有丝分裂周期蛋白破坏和细胞染色体组的不稳定性增加,诱导肿瘤的发生和发展。目前在前列腺癌的研究中,邓兰等^[7]通过免疫组化技术分析发现UBE2C高表达病人比UBE2C低表达病人有着更为恶性的临床病理特征和更差的预后生存期,但UBE2C在相关病人血清中的表达情况、临床意义以及参与癌症进展的机制目前尚未可知。本研究中首先采用基因表达交互分析数据库分析UBE2C在前列腺癌组织中的表达情况,并进一步检测UBE2C在前列腺癌病人血清中的表达情况,分析其临床诊断价值,并通过一系列体外实验探讨UBE2C对前列腺癌细胞增殖、侵袭和转移的影响,为研究前列腺癌发生发展的分子机制提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 利用GEPIA数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)分析UBE2C在前列腺癌病人癌组织及癌旁组织中的表达情况。前列腺癌病人纳入标准:①所有病人均为首次诊断前列腺癌且临床资料完整;②所有病人留取血液样本前未接受化疗、去势治疗等任何治疗手段;③既往无恶性肿瘤史,确诊时未发生其他类型恶性肿瘤。排除标准:①合并

重要脏器器质性疾病;②合并严重自身免疫性疾病。前列腺增生(BPH)病人纳入标准:①所有病人均为首次诊断良性前列腺增生且临床资料完整;②所有病人留取血液样本前未执行前列腺电切除手术;③超声测量前列腺体积大于25 mL。排除标准:①合并膀胱结石或肿瘤;②病人患有尿路感染或前列腺炎。研究对象样本量参考公式: $N=Z^2 \times [P \times (1-P)]/E^2$,设定 $Z=1.96$, $P=90\%$, $E=10\%$ 。根据上述标准筛选2021年1月至2022年6月在河南省人民医院接受住院治疗的PCa病人和BPH病人各50例,以同时期健康管理中心50例体检者做对照,冻存所有研究对象空腹静脉血离心后的血清于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱。所有研究对象对研究方案均知情同意。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

1.2 试剂与材料 前列腺癌细胞株DU145购自武汉尚恩生物科技有限公司;0.25%胰酶、Ham's F-12K培养基、胎牛血清(FBS)和青霉素-链霉素混合双抗均购自武汉普诺赛生物科技有限公司;UBE2C酶联免疫检测(ELISA)试剂盒、兔抗人单克隆抗体(UBE2C、t-Akt、p-Akt、MMP-2、MMP-9和GAPDH)、HRP标志羊抗兔二抗和Bradford蛋白浓度测定试剂盒均购自武汉菲恩生物科技有限公司;RNA-easy Isolation试剂、通用反转录试剂盒(M-MLV)、高特异性染料法定量PCR检测试剂盒(AceQ[®] qPCR SYBR Green Master Mix)购自诺唯赞生物科技有限公司;针对UBE2C的小干扰RNA(si-UBE2C)及阴性对照(si-NC)由锐博生物公司设计合成。

1.3 ELISA实验 将试剂盒(双抗体夹心法)自带标准品根据说明书进行倍比稀释,不同浓度标准液各加50 μL 于96孔板,待测样本孔中40 μL 稀释液和10 μL 血清样本,空白孔滴加稀释液作为对照。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育30 min, PBS也洗涤3次,每孔各加50 μL 酶标试剂继续孵育30 min,洗净沥干水分后加入显色剂显色,在酶标以上读取450 nm处的吸光度(OD)值。绘制标准曲线计算样本中UBE2C含量。

1.4 血清前列腺特异性抗原(PSA)检测 使用罗氏全自动化电化学发光免疫分析仪Cobas e601及其配套PSA试剂盒检测血清PSA水平,检测方法为电化学发光法,样本检测前需进行常规肿瘤标志物质控

品检测,质控结果在控后方可开展样本检测工作。

1.5 细胞转染与分组 将生长状态良好的DU145细胞用0.25%胰酶消化,并用含10%FBS的Ham's F-12K培养基调整浓度为 1×10^6 个/升,6孔板铺板,当细胞融合度达到70%时,根据转染试剂盒说明书将si-UBE2C和si-NC转染细胞,继续培养48 h后检测转染效率。实验组分为:阳性干扰组(si-UBE2C),阴性对照组(si-NC)和空白对照组。

1.6 实时荧光定量PCR(qPCR) 根据RNA提取试剂盒说明书提取DU145细胞总RNA,紫外吸收法测定其浓度和纯度。M-MLV逆转录酶将总RNA生成cDNA,采用AceQ® qPCR SYBR Green Master试剂盒进行扩增:95℃预变性10 min后继续变性20 s,56℃退火25 s,71℃延伸20 s,扩增循环46次。UBE2C启动子引物序列(正向:GACCTGAGGTATA-AGCTCTCGC;反向:CAGGGCAGACCACTTTTCCTT),GAPDH启动子引物序列(正向:AAGGTGAAGGTCG-GAGTCAA;反向:AATGAAGGGGTCATTGATGG)。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析UBE2C mRNA表达水平。

1.7 CCK-8实验 各实验组DU145细胞用0.25%胰酶消化,用含10%FBS的Ham's F-12K培养基调整浓度为 3×10^4 个/升,96孔板每孔加入100 μ L细胞悬液,细胞贴壁后加入CCK-8试剂,分别继续培养24、48和72 h后用酶标仪测定450 nm处的吸光度值。

1.8 Transwell侵袭和迁移实验 迁移实验:各实验组DU145细胞用0.25%胰酶消化,并用无FBS的Ham's F-12K培养基调整浓度为 3×10^4 个/升,transwell小室上室加入100 μ L,套入含400 μ L Ham's F-12K培养基(含12% FBS)的下室内,继续培养48 h后取出上室,PBS清洗下室2次,多聚甲醛固定后用0.1%结晶紫染色,在显微镜下计数迁移细胞数。侵袭实验:需将预先稀释的Matrigel胶包被在transwell小室底部膜上室面,其余操作步骤同迁移实验。

1.9 蛋白质印迹实验 收集各实验组细胞用裂解液提取总蛋白,绘制BCA标准曲线测定蛋白浓度。制备SDS-PAGE电泳胶,进行蛋白上样、分离和转膜,TBST封闭后,将PVDF膜与蛋白激酶B(t-Akt和p-Akt)一抗、侵袭转移相关蛋白(MMP-2和MMP-9)一抗、UBE2C蛋白一抗和GAPDH一抗放置冷藏冰箱孵育过夜,TBST漂洗后,加入山羊抗兔二抗继续孵育1.5 h,用ECL试剂使PVDF膜显影,采用Image J进行条带分析。

1.10 统计学方法 应用SPSS 25.0和GraphPad Prism 9.0软件进行统计学分析和绘图,定量资料先进行K-S正态性检验。偏态分布数据用中位数(第25、第75百分位数)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示,采用Kruskal-

Wallis H 检验比较多组间差异,组内两两比较采用Bonferroni法,采用Mann-Whitney U 检验比较两独立样本间差异。正态分布数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析或重复测量方差分析比较多组间差异,组内两两比较采用LSD- t 检验,两组间比较采用独立样本 t 检验。绘制受试者操作特征(ROC)曲线计算血清UBE2C诊断前列腺癌的曲线下面积(AUC)。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 UBE2C在前列腺癌组织中和前列腺癌病人血清中高表达 GEPIA在线数据库分析结果表明,UBE2C mRNA在492例前列腺癌组织中的中位表达水平为显著高于其在152例癌旁组织中的中位表达水平(4.08比1.21, $P < 0.05$)。K-S检验结果显示血清UBE2C浓度在前列腺癌组、前列腺增生组和健康对照组中均为非正态分布($P < 0.001$; $P < 0.001$; $P = 0.003$)。其在前列腺癌病人中的浓度值为0.64(0.41, 1.06) μ g/L,显著高于前列腺增生组和健康对照组[0.28(0.22, 0.39) μ g/L和0.19(0.18, 0.21) μ g/L, $H = 30.52$ 、78.65,均 $P < 0.05$],采用Bonferroni法校正后的两两比较发现,前列腺增生组血清UBE2C浓度水平也显著高于健康对照组($H = 45.82$, $P < 0.05$)。

2.2 血清UBE2C检测对前列腺癌诊断的效能评价 对各50例前列腺癌、前列腺增生及健康对照的血清UBE2C结果进行ROC曲线分析,结果显示血清UBE2C诊断前列腺癌的AUC为0.86,将UBE2C诊断截取值选定为0.395 μ g/L,约登指数最大,血清UBE2C诊断前列腺癌的灵敏度和特异度分别为76.3%和88.9%,将血清PSA和血清UBE2C检测联合应用于前列腺癌诊断,AUC值为0.90,显著高于血清UBE2C单独诊断($Z = 2.31$, $P = 0.021$),其诊断前列腺癌的灵敏度和特异度分别为82.4%和89.7%。

2.3 血清UBE2C表达与前列腺癌病人临床病理特征的关系 Mann-Whitney U 检验结果显示,T3~T4期,gleason评分 >7 分,有淋巴结转移和骨转移的前列腺癌病人中血清UBE2C水平显著高于T1-T2期、低gleason评分、无淋巴结转移和无骨转移的前列腺癌病人(均 $P < 0.05$),见表1。

2.4 沉默UBE2C表达抑制结前列腺癌细胞的增殖、侵袭和迁移能力 qPCR和蛋白质印迹法检测结果显示,阳性干扰组DU145细胞内UBE2C表达水平较阴性对照组和空白对照组显著降低(均 $P < 0.05$),表明转染si-UBE2C能显著下调前列腺癌DU145细胞中UBE2C的表达;重复测量方差分析结果显示,不同时间和不同组间细胞增殖吸光度均差异有统计学意义($F = 222.31$ 、66.34,均 $P < 0.05$),且时

表1 人类泛素偶联酶E2C (UBE2C)表达与前列腺癌病人临床病理特征的关系

临床病理特征	例数	血清UBE2C浓度/ [μg/L, <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	<i>Z</i> 值	<i>P</i> 值
年龄			0.79	0.428
≤70岁	20	0.27(0.60, 0.98)		
>70岁	30	0.43(0.68, 1.48)		
T分期			2.85	0.004
T1~T2	22	0.46(0.25, 0.68)		
T3~T4	28	0.87(0.47, 1.81)		
Gleason 评分			2.73	0.006
≤7分	18	0.46(0.24, 0.68)		
>7分	32	0.79(0.43, 1.81)		
淋巴结转移			3.51	<0.001
无	31	0.43(0.24, 0.84)		
有	19	0.96(0.65, 2.21)		
骨转移			3.73	<0.001
无	17	0.43(0.20, 0.55)		
有	33	0.78(0.55, 1.75)		

间与组间存在显著的交互效应($F=11.60, P<0.05$), 阳性转染组在48h和72h时的细胞增殖吸光度均显著高于阴性对照组和空白对照组($F=24.02, 38.44$, 均 $P<0.05$); transwell侵袭迁移实验结果显示, 阳性转染组的细胞侵袭数和细胞迁移数均显著低于阴性对照组($P=0.003, P=0.006$)和空白对照组($P=0.006, P=0.004$), 见表2, 3; 图1, 2。

表2 转染 si-UBE2C 后各组前列腺癌细胞增殖吸光度的比较/ $\bar{x} \pm s$

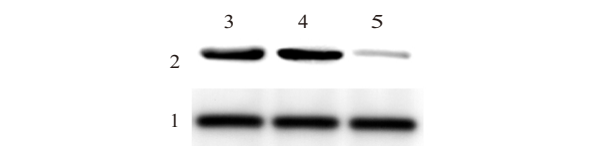
组别	重复次数	24 h	48 h	72 h	24 h
空白对照组	3	0.52±0.02	0.72±0.03	0.90±0.05	0.52±0.02
阴性对照组	3	0.54±0.01	0.69±0.03	0.88±0.03	0.54±0.01
阳性干扰组	3	0.48±0.02	0.57±0.02 ^{①②}	0.65±0.03 ^{①②}	0.48±0.02

注: ①与空白对照组比较, $P<0.05$ 。②与阴性对照组比较, $P<0.05$ 。

表3 转染 si-UBE2C 后前列腺癌细胞 UBE2C 表达水平、细胞侵袭和迁移能力的变化/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	UBE2C mRNA 表达	UBE2C 蛋白表达	侵袭细胞数	迁移细胞数
空白对照组	3	0.95±0.08	0.65±0.09	210.3±33.5	123.7±16.9
阴性对照组	3	0.89±0.06	0.59±0.06	225.7±13.6	129.3±7.6
阳性干扰组	3	0.34±0.06 ^{①②}	0.18±0.07 ^{①②}	122.7±14.6 ^{①②}	75.0±11.8 ^{①②}
<i>F</i> 值		72.85	33.82	18.25	16.67
<i>P</i> 值		<0.001	0.001	0.003	0.004

注: ①与空白对照组比较, $P<0.05$ 。②与阴性对照组比较, $P<0.05$ 。



注: 1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH); 2—人类泛素偶联酶E2C (UBE2C); 3—空白对照组(blank); 4—阴性对照组(si-NC); 5—阳性干扰组(si-UBE2C)。

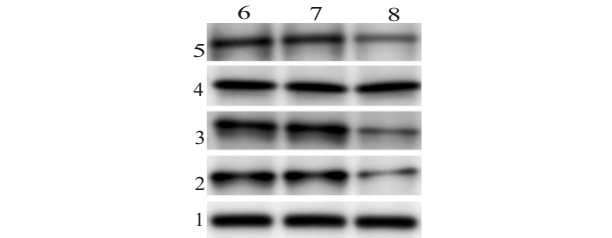
图2 蛋白质印迹法检测 DU145 细胞内 UBE2C 蛋白表达

2.5 沉默UBE2C表达后其前列腺癌细胞内p-Akt、MMP-2和MMP-9蛋白表达降低 蛋白质印迹法检测结果显示, p-Akt、MMP-2和MMP-9蛋白在阳性干扰组、阴性对照组和空白对照组间的表达量均差异有统计学意义(均 $P<0.05$), p-Akt、MMP-2和MMP-9蛋白在阳性干扰组中的表达量均显著低于阴性对照组($P=0.003; P<0.001; P=0.001$)和空白对照组($P=0.002; P<0.001; P=0.002$), 而t-Akt蛋白在阳性干扰组、阴性对照组和空白对照组间的表达量差异无统计学意义($P>0.05$), 见表4; 图3。

表4 转染 si-UBE2C 后前列腺癌细胞 DU145 中 t-Akt、p-Akt、MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达水平的变化/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	Akt 蛋白	p-Akt 蛋白	MMP-2 蛋白	MMP-9 蛋白
空白对照组	3	0.48±0.05	0.33±0.04	0.83±0.04	0.85±0.05
阴性对照组	3	0.48±0.06	0.34±0.03	0.79±0.06	0.87±0.07
阳性干扰组	3	0.47±0.03	0.18±0.03 ^{①②}	0.46±0.05 ^{①②}	0.53±0.08 ^{①②}
<i>F</i> 值		0.13	21.94	56.27	25.87
<i>P</i> 值		0.882	0.002	<0.001	0.001

注: Akt 为蛋白激酶 B, MMP 为基质金属蛋白酶。
①与空白对照组比较, $P<0.05$ 。②与阴性对照组比较, $P<0.05$ 。



注: 1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH); 2—基质金属蛋白酶9 (MMP-9); 3—基质金属蛋白酶2(MMP-2); 4—总蛋白激酶B(t-Akt); 5—磷酸化蛋白激酶B(p-Akt); 6—空白对照组(blank); 7—阴性对照组(si-NC); 8—阳性干扰组(si-UBE2C)。

图3 蛋白质印迹法检测 DU145 细胞内 t-Akt、p-Akt、MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达

3 讨论

PCa 早期发病隐匿, 临床表现多与前列腺增生症状类似, 易被临床忽视。当病人出现特征性临床

表现时,癌细胞已发生周围组织浸润和远距离转移,而侵袭和转移是导致PCa病人死亡的主要原因^[8-9]。我国国家癌症中心的调查研究显示,2015年PCa标准化生存率为69.2%,较10年前提升了近13个百分点,这得益于PCa诊断技术和治疗方案的不断完善和提升^[10],然而相比较西方发达国家平均80%以上的生存率^[11],我们还相差甚远。临床常用于筛查和诊断PCa的检测手段分别是前列腺癌特异性抗原(PSA)检测和组织穿刺活检^[12-13],但前者特异性不高,后者费用昂贵且是有创操作,病人接受度不高,这都造成了潜在PCa初级病人的漏诊,贻误最佳治疗时机。因此,阐明PCa发生、发展、侵袭转移的分子机制,筛选高特异性高灵敏度的生物标志物和新的治疗靶点,对早期诊断PCa和提高病人生存率是至关重要的。

UBE2C,又被称为泛素结合酶10(UBH10),在细胞周期过程中发挥重要作用。近来研究发现,UBE2C异常表达导致细胞染色体不稳定和有丝分裂紊乱,促进肿瘤的发生和发展^[14]。例如,Kariri等^[15]报道UBE2C在乳腺癌组织中高表达,其表达水平与p53、Ki67、EGFR、PI3K等细胞周期相关标志物呈正相关,UBE2C高表达是乳腺癌病人预后的独立标志物。Zhang、Yang^[16]报道UBE2C在肝细胞癌组织中高表达,其表达水平与肿瘤分期和p53基因突变率呈正相关,与病人预后和总生存期呈负相关。UBE2C不但具有组织特异性,其在一些类型肿瘤的病人体液中也能检测到异常表达,为肿瘤的诊断、恶性度评估及预后效果评估提供了无创性检测可能。例如,血清UBE2C水平与胶质瘤病人的TNM分期和Karnofsky(KPS)评分相关,是评估病人预后的有效指标^[17];尿液UBE2C检测可以评估膀胱癌的浸润程度,其诊断膀胱癌的AUC、灵敏度和特异度分别是0.78、0.71和0.85^[18]。本研究利用GEPIA数据库分析发现,UBE2C基因在前列腺癌组织中表达水平显著高于癌旁组织,这与相关研究报道一致,提示UBE2C异常表达与PCa的发生发展相关。之后通过分析PCa病人及对照组血清样本发现,UBE2C在PCa病人血清中也处于高表达状态,其表达与PCa病人的T分期、gleason评分、淋巴结转移和骨转移呈正相关,提示血清UBE2C检测可用于评估PCa病人的疾病进展状态。此外,血清UBE2C诊断前列腺癌的AUC为0.86,灵敏度和特异度分别为76.3%和88.9%,而将血清PSA和UBE2C联合用于诊断前列腺癌的AUC为0.90,灵敏度和特异度进一步提高,表明UBE2C可作为潜在的前列腺癌联合诊断指标之一发挥良好的诊断价值。在细胞学实验

中,通过转染小干扰RNA(siRNA)的方式沉默UBE2C的表达,前列腺癌DU145细胞的增殖、侵袭和迁移能力均得到有效抑制。PI3K/Akt信号通路中关键基因的活化或异常表达是引起肿瘤的增殖、侵袭或转移的重要原因,研究报道UBE2C通过影响Akt/mTOR信号通路促进乳腺癌细胞的增殖^[19];在胰腺癌^[20]的研究中,UBE2C可激活PI3K/Akt信号通路促进基质金属蛋白酶(MMPs)表达,UBE2C与表皮生长因子受体(EGFR)结合,使其稳定表达并驱动PI3K-Akt通路激活,在胰腺癌的增殖和转移过程中发挥重要作用。此外,在宫颈癌^[21]的研究中也报道UBE2C调控mTOR/PI3K/Akt通路的表达和活性。为研究UBE2C影响前列腺癌发生发展的机制,本研究通过蛋白质印迹法检测PI3K/Akt信号通路关键基因的表达,结果显示UBE2C表达下调后,Akt磷酸化水平降低,PI3K/Akt信号通路的异常活化状态得到抑制。MMP-2和MMP-9同属基质金属蛋白酶成员,共同参与肿瘤细胞外基质的降解,其高表达促进了PCa的侵袭和转移过程^[22],另在一些肿瘤的机制研究^[23]中还发现MMP-2和MMP-9作为下游靶基因受到PI3K/Akt信号通路的调控。本研究中,在p-Akt表达下调的同时,MMP-2和MMP-9表达水平也相应下调,上述结果表明UBE2C表达水平的改变与p-Akt、MMP-2和MMP-9表达水平的变化存在一定联系,但UBE2C是否通过调控PI3K/Akt/MMP-2/9信号通路参与前列腺癌的增殖、侵袭和转移过程需要我们后续更深入地研究和探讨。

(本文图1见插图5-6)

参考文献

- [1] SIEGEL RL, MILLER KD, FUCHS HE, et al. Cancer statistics, 2022 [J]. CA Cancer J Clin, 2022, 72(1):7-33.
- [2] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249.
- [3] 李星,曾晓勇.中国前列腺癌流行病学研究进展[J].肿瘤防治研究,2021,48(1):98-102.
- [4] 刘灿,李想,王雷,等.2005-2014年中国前列腺癌流行特征[J].中华疾病控制杂志,2021,25(7):806-811.
- [5] CAO JZ, NIE G, HU H, et al. UBE2C promotes the progression of pancreatic cancer and glycolytic activity via EGFR stabilization-mediated PI3K-Akt pathway activation [J]. J Gastrointest Oncol, 2022, 13(3):1444-1453.
- [6] DASTSOOZ H, CEREDA M, DONNA D, et al. A comprehensive bioinformatics analysis of UBE2C in cancers [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(9):2228.
- [7] 邓兰,廖堃,付琴,等.前列腺癌组织中泛素偶联酶E2C、蛋白激酶B表达及其与预后相关性[J].安徽医药,2022,26(10):1964-1968.
- [8] RYAN C, STOLTZFUS KC, HORN S, et al. Epidemiology of

- bone metastases [J]. Bone, 2022, 158:115783.
- [9] ZHANG AC, RASUL R, GOLDEN A, et al. Incidence and mortality trends of metastatic prostate cancer: Surveillance, Epidemiology, and End Results database analysis [J/OL]. Can Urol Assoc J, 2021, 15(12):e637-e643. DOI: 10.5489/auaj.7173.
- [10] 韩苏军, 刘飞, 邢念增. 1988—2015年中国肿瘤登记地区前列腺癌发病趋势分析[J]. 中华泌尿外科杂志, 2022, 43(1):51-55.
- [11] LUO Q, YU XQ, KAHN C, et al. Changes in prostate cancer incidence, mortality and survival in relation to prostate specific antigen testing in New South Wales, Australia [J]. Cancer Epidemiol, 2022, 78:102159.
- [12] SHAN J, GENG X, LIU Z, et al. Clinical research analysis based on prostate cancer screening diagnosis [J/OL]. Andrologia, 2022, 54(4):e14371. DOI:10.1111/and.14371.
- [13] 顾成元, 秦晓健, 黄永墙, 等. 我国部分省市前列腺癌精准筛查初步结果分析[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(42):3292-3297.
- [14] YUAN L, YANG Z, ZHAO J, et al. Pan-cancer bioinformatics analysis of gene UBE2C [J]. Front Genet, 2022, 13:893358.
- [15] KARIRI Y, TOSS MS, ALSALEEM M, et al. Ubiquitin-conjugating enzyme 2C (UBE2C) is a poor prognostic biomarker in invasive breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat, 2022, 192(3):529-539.
- [16] ZHANG CY, YANG M. Functions of three ubiquitin-conjugating enzyme 2 genes in hepatocellular carcinoma diagnosis and prognosis [J]. World J Hepatol, 2022, 14(5):956-971.
- [17] 苑兵舰, 郭双磊, 陈小兵, 等. 血清泛素耦联酶 2C、缺氧诱导因子 1 α 水平与脑胶质瘤患者临床病理参数及预后的关系[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(19):4087-4089.
- [18] 周邦奋, 梁培育, 欧善际, 等. 联合检测尿液中 UBE2C、NMP22 在膀胱癌诊断中的临床应用[J]. 国际泌尿系统杂志, 2021, 41(4):614-617.
- [19] LU ZN, SONG J, SUN TH, et al. UBE2C affects breast cancer proliferation through the AKT/mTOR signaling pathway [J]. Chin Med J (Engl), 2021, 134(20):2465-2474.
- [20] CAO JZ, NIE G, HU H, et al. UBE2C promotes the progression of pancreatic cancer and glycolytic activity via EGFR stabilization-mediated PI3K-Akt pathway activation [J]. J Gastrointest Oncol, 2022, 13(3):1444-1453.
- [21] CHIANG AJ, LI CJ, TSUI KH, et al. UBE2C drives human cervical cancer progression and is positively modulated by mTOR [J]. Biomolecules, 2020, 11(1):37.
- [22] LUO BF, YUAN Y, ZHU YF, et al. microRNA-145-5p inhibits prostate cancer bone metastatic by modulating the epithelial-mesenchymal transition [J]. Front Oncol, 2022, 12:988794. DOI: 10.3389/fonc.2022.988794.
- [23] LI CL, QIN Y, ZHONG Y, et al. Fentanyl inhibits the progression of gastric cancer through the suppression of MMP-9 via the PI3K/Akt signaling pathway [J]. Ann Transl Med, 2020, 8(4):118.
- (收稿日期: 2023-02-09, 修回日期: 2023-03-21)

引用本文: 刘红正, 郜顺兴, 张楠. 不同负压引流方式联合氨甲环酸对颈椎后路单开门手术病人失血量、引流量及并发症的影响[J]. 安徽医药, 2024, 28(5): 920-924. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2024.05.015.

◇临床医学◇



不同负压引流方式联合氨甲环酸对颈椎后路单开门手术病人失血量、引流量及并发症的影响

刘红正, 郜顺兴, 张楠

作者单位: 沧州中西医结合医院脊柱脊髓外一科, 河北 沧州 061000

摘要 **目的** 探究不同负压引流方式联合氨甲环酸对颈椎后路单开门手术的多节段脊髓型颈椎病病人失血量、引流量及并发症的影响。**方法** 按照研究目标设定的纳入、排除标准, 将2018年10月至2020年10月沧州中西医结合医院接受颈椎后路单开门手术的多节段脊髓型颈椎病病人182例作为研究对象进行回顾性研究, 根据负压引流情况分为A组(持续负压引流联合氨甲环酸, 46例)、B组(间断负压引流联合氨甲环酸, 46例)、C组(持续负压引流, 不使用氨甲环酸, 45例)及D组(间断负压引流, 不使用氨甲环酸, 45例)。对比四组病人手术时间、总失血量、术后引流量、术后72 h血红蛋白水平, 生化指标[活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶原时间(PT)、纤维蛋白原(Fib)], 术后疼痛视觉模拟评分(VAS)及日本骨科协会评估治疗分数(JOA)评分。**结果** 手术后, 四组手术时间、总失血量比较差异无统计学意义($P>0.05$), 四组术后24 h引流量[A组(191.21 ± 22.38)mL、B组(175.34 ± 17.85)mL、C组(205.62 ± 20.78)mL、D组(210.43 ± 20.14)mL]、术后隐性失血量[A组(275.37 ± 30.12)mL、B组(251.42 ± 26.12)mL、C组(321.47 ± 35.62)mL、D组(296.78 ± 32.14)mL]、引流管留置时间[A组(1.85 ± 0.51)d、B组(1.45 ± 0.42)d、C组(2.32 ± 0.65)d、D组(2.78 ± 0.78)d]比较差异有统计学意义($P<0.05$), 其中B组最优, 其次为A组。四组术后72 h血红蛋白水平[A组(112.43 ± 12.57)g/L、B组(120.53 ± 17.85)g/L、C组(103.47 ± 10.78)g/L、D组(102.58 ± 11.12)g/L]均明显降低($P<0.05$), 但是B组下降最少, 其次为A组。四组血清APTT、PT、Fib水平差值比较差异有统计学意义($P<0.05$), 其中A组各指标变化最明显, B组血清APTT水平变化最小; 四组VAS评分与JOA评分比较差异无统计学意义($P>0.05$); 四组发热、脑脊液漏、血肿压迫脊髓、下肢深静脉血栓、心血管事件等并发症发生情况比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 颈椎后路单开门手术中应用间断负压引流联合氨甲环酸利于手术时间缩短, 并减少术后引流量及隐性失血量, 改善血红蛋白水平。

关键词 颈椎; 椎管; 持续负压引流; 颈椎后路单开门手术; 氨甲环酸; 凝血酶原时间; 间断负压引流