

抗凋亡基因 *Bfl-1* 在前列腺癌中的表达及作用*

李星澜¹, 陈雪芹¹, 聂玲¹, 徐苗¹, 李秋尧¹, 商维维¹
陈锐¹, 黄蕤², 曾浩³, 周桥^{1△}

1. 四川大学华西医院 病理研究室·病理科(成都 610041); 2. 四川大学华西医院 核医学科(成都 610041);
3. 四川大学华西医院 泌尿外科(成都 610041)

【摘要】 目的 检测 Bcl2 相关蛋白 A1(Bfl-1) mRNA 在前列腺癌细胞株、前列腺癌组织及良性前列腺增生组织中的表达,观测阻断 *Bfl-1* 表达对前列腺癌细胞的影响,探讨 *Bfl-1* 在前列腺癌发生发展中的作用。方法 采用 RT-PCR、实时荧光定量 PCR(Q-PCR)、cDNA 探针原位杂交(ISH)等技术检测 *Bfl-1* mRNA 在前列腺癌组织、细胞株和良性前列腺增生组织的表达水平;结合临床资料分析 *Bfl-1* 的表达与临床病理指标的关系;利用反义寡核苷酸干预前列腺癌细胞株,RT-PCR 检测 *Bfl-1* 表达,MTT 法检测细胞的存活,倒置显微镜下观察前列腺癌细胞的形态变化。结果 RT-PCR、Q-PCR 结果显示 *Bfl-1* mRNA 在激素非依赖性前列腺癌细胞株 PC-3 和 DU145 中高表达,在激素依赖性前列腺癌细胞株 LNCaP 中未见表达,表达差异有统计学意义($P<0.05$);原位杂交结果显示 *Bfl-1* mRNA 在前列腺癌组织中高表达,而在良性前列腺增生组织中未见表达,表达差异有统计学意义($P<0.05$);有转移、分期高的前列腺癌病例的 *Bfl-1* mRNA 表达水平高于无转移、分期低的病例($P<0.05$);*Bfl-1* 反义寡核苷酸转染 PC-3 和 DU145 细胞后,*Bfl-1* 表达下调,细胞生长受到抑制($P<0.05$),细胞脱落、碎裂形成大小不一的细胞团块。结论 激素非依赖性前列腺癌细胞的生长与 *Bfl-1* 过表达有关;干预 *Bfl-1* 表达可能成为晚期前列腺癌治疗的新策略。

【关键词】 Bcl2 相关蛋白 A1 前列腺癌 细胞生长 反义寡核苷酸

The Expression and Function of Anti-apoptotic *Bfl-1* in Prostate Cancer LI Xing-lan¹, CHEN Xue-qin¹, NIE Ling¹, XU Miao¹, LI Qiu-yao¹, SHANG Wei-wei¹, CHEN Ni¹, HUANG Rui², ZENG Hao³, ZHOU Qiao^{1△}.
1. Laboratory of Pathology, Department of Pathology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Nuclear Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. Department of Urology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: zhou_qiao@hotmail.com

【Abstract】 **Objective** To determine the expression of Bcl2 related protein A1(Bfl-1) mRNA in prostate cancer cell lines and tissues, and to explore the functions of *Bfl-1* in prostate adenocarcinoma. **Methods** RT-PCR, real-time quantitative PCR(Q-PCR) and *in situ* hybridization(ISH) were used to detect the expression of *Bfl-1* mRNA in prostate cancer cell lines, tissues and benign prostate hyperplasia(BPH) tissue samples. The relationship between *Bfl-1* expression and clinicopathological parameters was analyzed. Antisense oligonucleotides(ASONs) were used to interfere the expression of *Bfl-1* and its effects on prostate cancer cells. MTT was used to detect the survival, morphologic changes of prostate cancer cells was observed by inverted microscope. **Results** *Bfl-1* mRNA, detected by RT-PCR, Q-PCR and ISH, was overexpressed in the androgen-independent prostate cancer cell lines PC-3 and DU145, but not detectable in the androgen-dependent prostate cancer cell line LNCaP and BPH tissue samples ($P<0.05$). Significantly higher *Bfl-1* mRNA levels were observed in higher stage and metastatic prostate cancer cases than those without metastasis or of low stage. ASONs targeting *Bfl-1* significantly inhibited androgen-independent prostate cancer cell growth ($P<0.05$), cell was rounding off or fragmentation. **Conclusion** *Bfl-1* is involved in maintaining the hormone-independent prostate cancer cell growth. *Bfl-1* may become a new therapeutic target in advanced prostate cancer.

【Key words】 Bfl-1 Prostate cancer Cell growth Antisense oligonucleotides

前列腺癌是男性生殖系统主要恶性肿瘤之一。在美国和多数欧洲国家是男性发病率最高的肿

瘤^[1, 2]。过去认为前列腺癌在亚洲国家(包括中国)少见,但是随着我国人口的老齡化、生活方式的改变以及医疗诊断水平的提高,前列腺癌的发病率和检出率亦呈逐年上升趋势^[3]。大多数早期前列腺癌有雄激素依赖性,采用手术或药物去势能得到较好控制。但随着疾病进展,几乎所有的前列腺癌转变为激素非依赖性,严重影响晚期前列腺癌的治疗效

* 国家自然科学基金(No. 30871383、30800637、31071134、81101529)、高等学校博士学科点专项科研基金(No. 20100181110019、20110181120021)和中国博士后科学基金(No. 20100480076、201104643)资助

△ 通讯作者, E-mail: zhou_qiao@hotmail.com

果^[4]。目前对激素非依赖性前列腺癌发生发展的机制尚缺乏充分了解。我们前期在前列腺癌基因芯片筛查中注意到抗凋亡基因 *Bfl-1*〔又称 *Bcl2* 相关蛋白 A1(Bcl2 related protein A1)〕在激素依赖性和激素非依赖性前列腺癌细胞中的表达存在差异,推测 *Bfl-1* 可能与激素非依赖性前列腺癌的发生发展有关。

Bfl-1 是 *Bcl2* 抗凋亡家族的成员之一^[5]。近年研究显示,*Bfl-1* 在某些实体肿瘤(如胃癌、结直肠癌、乳腺癌)和淋巴造血系统肿瘤中表达增高;*Bfl-1* 促进肿瘤细胞生存,参与肿瘤的演进^[6]。目前尚未见前列腺癌中 *Bfl-1* 表达的研究。本研究旨在明确前列腺癌细胞株及前列腺癌组织中 *Bfl-1* 的表达状况,并利用反义寡核苷酸干预技术探讨 *Bfl-1* 对前列腺癌细胞生长的作用。

1 材料与方法

1.1 标本来源

1.1.1 细胞株 前列腺癌细胞株 DU145 和 PC-3(激素依赖性)、LNCaP(激素非依赖性)均购自美国标准生物制品收藏中心(ATCC, Manassas, VA, USA)。

1.1.2 组织样本 新鲜组织样本 5 例,包括前列腺癌组织(PCa)1 例,良性前列腺增生组织(BPH1~BPH4)4 例。标本取下后立即液氮速冻, -70 °C 保存。

91 例存档石蜡包埋组织样本来源于四川大学华西医院(2005~2006 年),包括 66 例前列腺癌和 25 例良性前列腺增生组织。前列腺癌患者年龄 53~88 岁,平均年龄(72.5±7.7)岁; Gleason 评分 5~6 分者 4 例,7 分者 21 例,8~10 分者 41 例;按照美国癌症联合委员会(AJCC)TNM 分期为 I 期(T_{1a}N₀M₀)0 例, II 期(T_{1/2}N₀M₀)29 例, III 期(T₃N₀M₀)1 例, IV 期(T₄N₀M₀, T_{任意}N₁M₀, T_{任意}N_{任意}M₁)36 例。25 例良性前列腺增生患者年龄 60~86 岁,平均(70.2±7.2)岁。所有病例均经组织病理学确定诊断。

1.2 RT-PCR 检测 *Bfl-1* mRNA 在细胞和新鲜组织中的表达

1.2.1 细胞培养及样本处理 DU145、PC-3 和 LNCaP 细胞常规培养于 RPMI-1640〔含 10% 小牛血清(FCS)、2 mmol/L 谷氨酰胺、100 μg/mL 硫酸链霉素和 100 U/mL 青霉素 G 钠,购自 GIBCO〕。细胞均置于 37 °C、5% CO₂ 孵箱培养。收集上述细

胞,3000 r/min,5 min 离心获取细胞沉淀。5 例新鲜组织样本经低温研磨备用。

1.2.2 RT-PCR 收集前列腺癌细胞沉淀,低温碾磨组织样本, Trizol 试剂提取上述各样本的总 RNA,逆转录合成 cDNA,并进行 RT-PCR 扩增。PCR 扩增引物为:*Bfl-1* (FP 5'-CATCAAGAAAC TTCTACGACAGC-3', RP 5'-CATCCAGCCAGA TTTAGGTTC-3'; 扩增产物长度 169 bp), β -actin (FP 5'-TGGAGAAATCTGGCACCAC-3', RP 5'-GAGGCGTACAGGGATAGCAC-3'; 扩增产物长度 190 bp)。逆转录条件为:16 °C,30 min;42 °C,30 min;85 °C,5 min。PCR 反应条件为:95 °C,3 min;95 °C,30 s,56 °C,30 s,72 °C,40 s,30 个循环;72 °C,10 min。以 β -actin 为内参照,无 cDNA 模板的反应体系为空白参照。

1.3 实时荧光定量 PCR (Q-PCR) 检测 *Bfl-1* mRNA 在细胞和新鲜组织中的表达量

细胞和组织样本处理同 1.2.1。用 Real time PCR Master Mix(Osaka, Japan)试剂盒、RT-PCR 引物、cDNA 模板作为反应材料,95 °C,30 s;95 °C,5 s,56 °C,5 s,72 °C,20 s(收集荧光),40 个循环。以 0.1 °C/0.2 s,从 65 °C 持续升温到 95 °C 作为熔解曲线分析条件。最后记录 Ct 值及熔解温度,用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 计算目的基因的相对表达量(以 β -actin 为参照)。

1.4 原位杂交检测 *Bfl-1* mRNA 在石蜡组织及细胞中的表达

1.4.1 cDNA 探针制备 测序正确的 *Bfl-1* PCR 扩增产物(169 bp)进行纯化,按照地高辛 DNA 标记与检测试剂盒(Roche Diagnostics, Germany)的操作手册进行探针标记、纯化和检测标记效率。

1.4.2 DNA-RNA 原位杂交 91 例存档石蜡组织切片后常规脱蜡到 DEPC 水。2 mol/L HCl 室温处理 20 min,蛋白酶 K(15 μg/mL)37 °C 处理 20 min,0.2% 甘氨酸终止消化,40 g/L 多聚甲醛处理 10 min。加入不含探针的杂交液(博士德)37 °C 孵育 2 h 进行预杂交。变性 cDNA 探针,95 °C,10 min,迅速冰浴冷却。根据探针标记效率检测结果采用杂交液稀释探针(1:25),45 °C 杂交 16~20 h。杂交完毕用 2×SSC(37 °C)、1×SSC(40 °C)、0.5×SSC(45 °C)依次洗涤,各 5 min 2 次。加入抗地高辛抗体(1:1000)37 °C 孵育 1 h,4 °C 孵育过夜。NBT/BCIP 显色,适时终止,甲基绿复染。PC3 及 DU145 细胞接种于 6 孔培养板(孔底放置清洗消毒后的盖

玻片供细胞贴附), 10^5 细胞/孔。培养至 80% 融合, 弃培养液, 40 g/L 多聚甲醛室温固定 30 min, PBS 清洗 2 次, 0.1% Triton X-100 处理, 4 °C, 30 min, 后续杂交过程与石蜡组织切片处理相同。以 RNA 酶消化样本、非变性 cDNA 探针和非人类序列 DNA 探针作为阴性对照。

1.4.3 结果判定 光镜下观察, *Bfl-1* mRNA 表达的阳性信号定位于细胞质中, 呈蓝紫色颗粒。连续 10 个高倍视野(10×40)计数 1000 个肿瘤细胞中阳性表达细胞数。阳性细胞 $\geq 5\%$ 为阳性; $< 5\%$ 为阴性。

1.5 *Bfl-1* 的表达与前列腺癌临床病理指标的关系

利用方法 1.4 中原位杂交结果与 66 例前列腺癌组织的临床病理指标[年龄、Gleason 评分、术前血清前列腺癌特异性抗原(PSA)含量、TNM 分期]进行分析, 寻找 *Bfl-1* 与这些指标的关系。

1.6 细胞转染 *Bfl-1* 反义寡核苷酸后 *Bfl-1* mRNA 的表达及细胞存活检测

1.6.1 转染 当 DU145 及 PC-3 细胞生长融合率达 90% 时, 胰酶消化, 以 10^5 细胞/mL 接种于无血清无抗生素的培养基中, 孵育过夜, 使细胞生长融合至 80% ~ 90%。用 *Bfl-1* 反义寡核苷酸(*Bfl* antisense)加脂质体 Lipofectamine™ 2000 (购自 Invitrogen)转染细胞, 4~6 h 后更换含 10% 血清的完全培养基继续孵育, 分别观察转染后 24 h 及 48 h 的效果。以 *Bfl-1* 正义寡核苷酸(*Bfl* sense)和脂质体 (Blank) 转染作为对照。*Bfl*-sense: 5'-ATGACAGACTGTGAATTTGG-3', *Bfl*-antisense: 5'-CCAAATTCACAGTCTGTCAT-3' (硫代修饰前后各 3 个碱基, 由 Invitrogen 合成)。

1.6.2 RT-PCR 检测转染细胞中 *Bfl-1* mRNA 的表达 DU145 及 PC 细胞沉淀制备方法同 1.2.1, *Bfl-1* 与 β -actin 扩增引物及方法同 1.2.2。

1.6.3 MTT 检测转染细胞存活率 用含 10% FCS 的培养液制备 DU145 及 PC-3 细胞悬液, 分别以每孔 10^4 /mL 的密度接种于 96 孔板。用 *Bfl-1* 反义寡核苷酸加脂质体、*Bfl-1* 正义寡核苷酸加脂质体和空脂质体 (Blank) 分别转染细胞, 24 h 后进行常规 MTT 检测。在 BIO-TEK FL600A 型酶联免疫检测仪上测 570 nm 吸光度(A)值。细胞存活率(%) = 转染反义或正义寡核苷酸组 A_{570} 值/Blank 组 A_{570} 值 $\times 100\%$ 。

1.6.4 观察细胞转染后形态学变化 利用倒置显

微镜 $\times 200$ 倍分别观察 DU145 及 PC-3 细胞转染 *Bfl-1* 反义寡核苷酸、*Bfl-1* 正义寡核苷酸和空脂质体后细胞形态学变化。

1.7 统计学方法

每组实验均重复 3 次以上, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用方差分析, 多个样本均数的两两比较则采用 q 检验或 Dunnett- t 检验。样本率比较采用 Fisher 精确概率检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RT-PCR、Q-PCR 检测 *Bfl-1* mRNA 在各前列腺细胞和组织中的表达

见图 1。RT-PCR 检测显示, *Bfl-1* mRNA 在雄激素非依赖性前列腺癌细胞株 PC-3 和 DU145 及前列腺癌组织中高表达, 在激素依赖性前列腺癌细胞株 LNCaP 和良性前列腺增生组织中均未见表达 ($P < 0.05$)。Q-PCR 检测显示, *Bfl-1* mRNA 在 PC-3 和 DU145 细胞中的表达量分别为良性前列腺增生组织的 182.3 倍及 81.6 倍(以良性前列腺增生组织的相对拷贝数为 1), 而 LNCaP 中 *Bfl-1* mRNA 的表达量仅为良性前列腺增生组织的 0.7 ($P < 0.05$)。两种方法均证实 *Bfl-1* mRNA 在雄激素非依赖性前列腺癌细胞中高表达, 激素依赖性前列腺癌细胞株和良性前列腺增生组织不表达, 故后续实验的前列腺癌细胞只使用 DU145 及 PC-3。

2.2 原位杂交检测前列腺细胞及组织中 *Bfl-1* mRNA 表达水平

激素非依赖前列腺癌细胞株 PC-3 和 DU145 的 *Bfl-1* mRNA 含量丰富。66 例前列腺癌组织中 *Bfl-1* mRNA 的总体阳性表达率为 59.1% (39/66), 呈弥漫阳性表达模式; 而良性前列腺增生组织中 *Bfl-1* mRNA 的阳性表达率仅 32% (8/25), $P < 0.05$, 主要见于伴有上皮内瘤变的局部区域, 见图 2。

2.3 *Bfl-1* 的表达与前列腺癌临床病理指标的关系

有转移(淋巴结转移和/或远处转移)、分期高(Ⅲ期和Ⅳ期)的前列腺癌病例的 *Bfl-1* mRNA 表达水平高于无转移、分期低(Ⅰ期和Ⅱ期)的病例 ($P < 0.05$)。 *Bfl-1* mRNA 的表达在患者不同年龄、Gleason 评分及术前血清 PSA 水平间的差异无统计学意义(附表)。

2.4 转染 *Bfl-1* 反义核苷酸对前列腺癌细胞 *Bfl-1*

mRNA 表达及细胞生长的影响

从图 3A 的 RT-PCR 结果可见,瞬时转染 *Bfl-1* 反义寡核苷酸抑制了 *Bfl-1* mRNA 表达水平,24 h 的抑制效果最明显,48 h 后抑制效果减弱,故只进行转染 24 h 后 MTT 检测。MTT 结果显示,在 PC-3 和 DU145 细胞中,转染 *Bfl-1* 反义寡核苷酸组细胞存活率较转染正义寡核苷酸组和空白组低($P <$

0.05),转染正义寡核苷酸组与转染空白脂质体组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。利用 *Bfl-1* 反义寡核苷酸抑制下调 *Bfl-1* mRNA 表达后,PC-3 与 DU145 细胞存活受到抑制($P < 0.05$),显微镜下见 PC-3 细胞变圆、皱缩、细胞膜出泡、细胞间互相分离,最终脱落;DU145 细胞碎裂形成大小不一的细胞团块(图 3B,3C)。

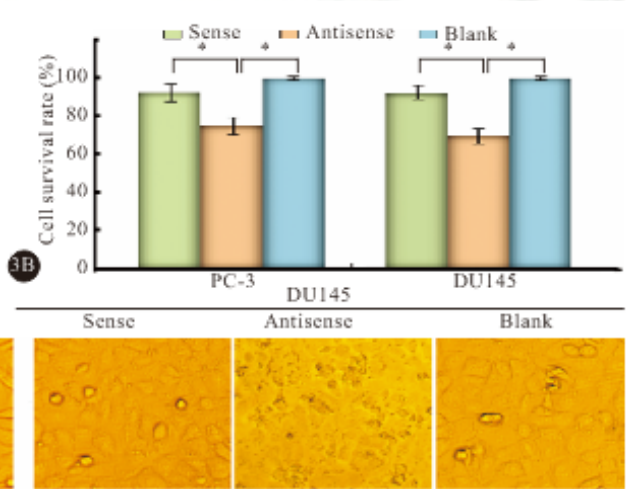
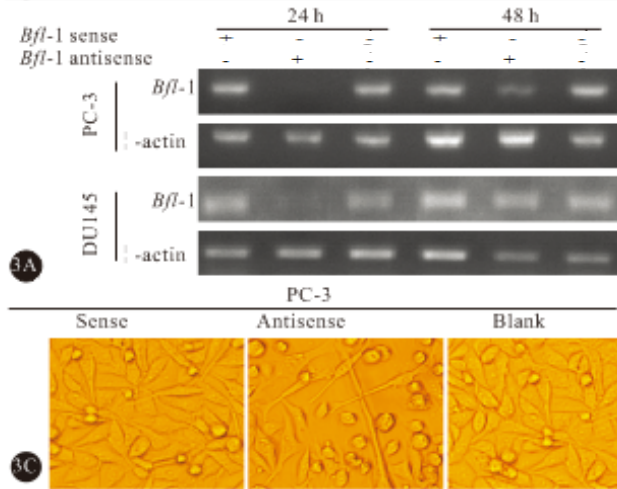
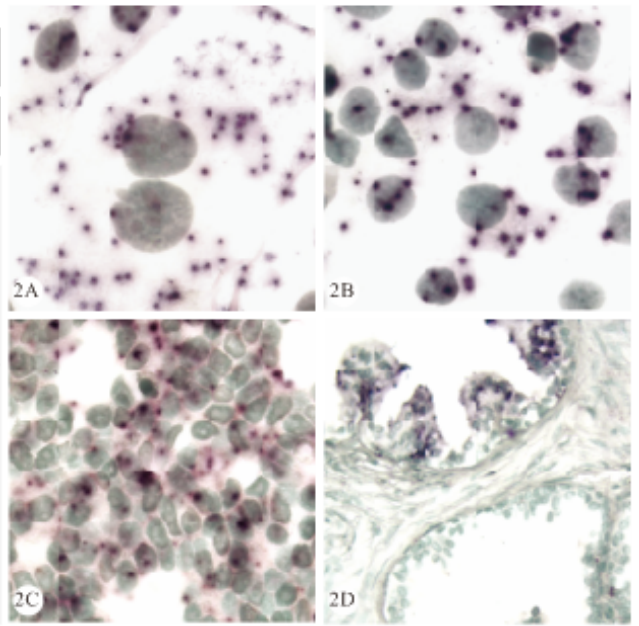
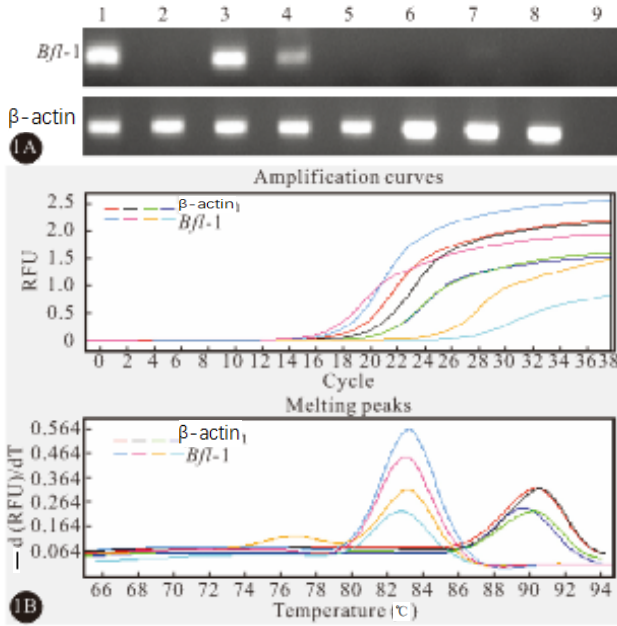


图 1 *Bfl-1* mRNA 在前列腺癌细胞株(DU145、PC-3 和 LNCaP)、前列腺癌组织(PCa)和良性前列腺增生组织(BPH)中的表达 图 2 ISH 检测 *Bfl-1* mRNA 在前列腺癌细胞株(DU145、PC-3)、PCa 和 BPH 中的表达 图 3 下调 *Bfl-1* mRNA 使激素非依赖性前列腺癌细胞存活率降低

Fig 1 *Bfl-1* mRNA expression in benign prostate hyperplasia (BPH), prostate cancer tissue (PCa), and prostate cancer cell lines (DU145, PC-3, LNCaP) Fig 2 The expression of *Bfl-1* mRNA in prostate cancer cell lines (DU145, PC-3), BPH and PCa examined by ISH (represented by cytoplasmic purple blue granules, nuclear counterstain with methyl green) Fig 3 Hormone-independent prostate cancer cell survival rate was decreased by reducing the expression of *Bfl-1* mRNA

1A: RT-PCR (1: DU145; 2: LNCaP; 3: PC-3; 4: PCa; 5-8: BPH 1-BPH4; 9: Blank); 1B: Real-time quantitative PCR; 2A: PC-3 (×400); 2B: DU145 (×400); 2C: PCa (×200); 2D: BPH (×200); 3A: RT-PCR analysis; 3B: The cell survival rate (* $P < 0.05$); 3C: Morphologic changes (×200)

附表 *Bfl-1* 的表达与 66 例前列腺癌临床病理指标的关系Table The relationship between *Bfl-1* expression and clinicopathologic parameters

	<i>Bfl-1</i> (+) [case/n (%)]	P
Age (yr.)		1.000
<70	8/20 (40.0)	
≥70	16/46 (34.8)	
Gleason (score)		0.799
<8	10/25 (40.0)	
≥8	15/41 (36.6)	
PSA (ng/mL)		0.799
<80	10/29 (34.5)	
≥80	15/37 (40.5)	
TNM		
T		0.121
<3	10/37 (27.0)	
≥3	14/29 (48.3)	
N		0.027
Non-metastasis	13/47 (27.7)	
Metastasis	11/19 (57.9)	
M		0.001
Non-metastasis	6/35 (17.1)	
Metastasis	18/31 (58.1)	
Stage		0.012
I + II	6/29 (20.7)	
III + IV	19/37 (51.4)	

3 讨论

Bfl-1 基因定位于 15q24.3, 蛋白质相对分子质量为 20100, 属 Bcl2 抗凋亡家族成员。Bfl-1 蛋白包括高度保守的 BH1 和 BH2 结构域及保守的 BH3 和 BH4 结构域, 但缺乏明确的羧基端跨膜结构域^[7, 8], 其羧基末端是独特的两亲性锚着肽段 (amphipathic tail-anchoring peptide, ATAP), Bfl-1 借之定位于线粒体, 行使抗凋亡功能^[9]。

文献报道 *Bfl-1* mRNA 主要表达于淋巴造血组织及相关肿瘤组织与细胞株^[5, 10, 11], 其余组织器官 (如心、肝、肾、睾丸、卵巢、骨骼肌等) 均极少表达 *Bfl-1*^[12]; 但 *Bfl-1* mRNA 在胃癌、结肠癌、乳腺癌、黑色素瘤、肝细胞癌、皮肤和口腔鳞状细胞癌中均有高表达, 且与肿瘤病理分级和转移情况相关^[5, 6]。*Bfl-1* 在前列腺癌中研究甚少, 仅 Placzek 等^[13] 在前列腺癌细胞 PC-3、DU145 中观察到 Bfl-1 的表达丰度高于 LNCaP, 与本研究结果一致。本研究首次证实, *Bfl-1* mRNA 在前列腺癌组织中高表达, 而在良性前列腺增生组织中未见表达; 有转移、分期高的前列腺癌病例的 *Bfl-1* mRNA 表达水平明显高于无转移、分期低的病例; 提示 *Bfl-1* 可能成为预测前列腺癌转移、治疗抵抗的指标。后续研究拟扩大样本量并完善随访资料来进一步证实 *Bfl-1* 与前列腺癌预后的关系。对本组病例 PSA 水平和 Gleason 评分的各截断值进行分析, 我们尚未观察到 *Bfl-1*

与患者 PSA 水平和 Gleason 评分有明显关系, 可能与病例的 PSA 水平变异度较大和 Gleason 分级总体较高有关。Bfl-1 除了在肿瘤的发生发展中起作用, 也在肿瘤细胞化疗抵抗中发挥显著作用。研究表明, 高表达 Bfl-1 的肿瘤细胞对依托泊甙、顺铂等化疗药物不敏感^[14-16], 所以降低 Bfl-1 在肿瘤细胞中的表达, 增加其对化疗药物的敏感性, 可能增加肿瘤化疗效果。Brien 等^[17] 采用 RNA 干扰 (RNAi) 技术下调弥漫性大 B 细胞淋巴瘤细胞中 *Bfl-1* 水平, 可促进瘤细胞凋亡, 并可增加其对阿霉素与长春新碱等化疗药物的敏感性。

本研究结果显示, 随着 *Bfl-1* mRNA 下调, PC-3 和 DU145 生长明显抑制, 细胞存活率明显下降, 提示 *Bfl-1* 对于维持激素非依赖性前列腺癌细胞株 PC-3 和 DU145 的存活、促进其生长发挥重要作用。后续研究拟进一步探究 *Bfl-1* 在前列腺癌中发挥抗凋亡作用的分子机制。

综上, 本研究显示 *Bfl-1* 在激素非依赖性前列腺癌细胞株中高表达, 而在激素依赖性前列腺癌细胞株及良性前列腺增生组织中不表达; 下调 *Bfl-1* mRNA 表达水平, 可以明显抑制激素非依赖性前列腺癌细胞生长, 提示 *Bfl-1* 可能成为治疗激素非依赖性前列腺癌的新靶点, 值得深入研究。

参 考 文 献

- Hudson T, Denis LJ. Europa uomo; the European prostate cancer coalition. In: Schlag PM. Recent Results in Cancer Research. Vol. 175. New York: Springer, 2007; 267-273.
- Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics, 2010. CA Cancer J Clin, 2010; 60(5): 277-300.
- 叶定伟. 前列腺癌的流行病学和中国的发病趋势. 中华外科杂志, 2006; 44(6): 362-364.
- Nelson WG, Marzo AD, Isaacs WB. Prostate cancer. N Engl J Med, 2003; 349(4): 366-381.
- Choi SS, Park IC, Yun JW, et al. A novel Bcl-2 related gene, *Bfl-1*, is overexpressed in stomach cancer and preferentially expressed in bone marrow. Oncogene, 1995; 11(9): 1693-1698.
- Vogler M. BCL2A1: the underdog in the Bcl2 family. Cell Death Differ, 2011; 19(1): 67-74.
- Choi S, Park S, Kim UJ, et al. *Bfl-1*, a Bcl-2-related gene, is the human homolog of the murine A1, and maps to chromosome 15q24.3. Mamm Genome, 1997; 8(10): 781-782.
- Lin EY, Kozak CA, Orloffsky A, et al. The Bcl-2 family member, Bcl2a1, maps to mouse chromosome 9 and human chromosome 15. Mamm Genome, 1997; 8(4): 293-294.
- Ko JK, Choi KH, Pan Z, et al. The tail-anchoring domain of *Bfl1* and HCCS1 targets mitochondrial membrane permeability to induce apoptosis. J Cell Sci, 2007; 120(16): 2912-2923.
- Karsan A, Yee E, Kaushansky K, et al. Cloning of human Bcl-2 homologue; inflammatory cytokines induce human A1 in

cultured endothelial cells. Blood,1996;87(8):3089-3096.

11 Kenny JJ, Knobloch TJ, Augustus M, et al. GRS, a novel member of the Bcl-2 gene family, is highly expressed in multiple cancer cell lines and in normal leukocytes. Oncogene, 1997;14(8):997-1001.

12 Hatakeyama S, Hamasaki A, Negishi I, et al. Multiple gene duplication and expression of mouse Bcl-2-related genes, A1. Int Immunol,1998;10(5):631-637.

13 Placzek WJ, Wei J, Kitada S, et al. A survey of the anti-apoptotic Bcl-2 subfamily expression in cancer types provides a platform to predict the efficacy of Bcl-2 antagonists in cancer therapy. Cell Death Disease,2010;1(5):e40.

14 Wang CY, Guttridge DC, Mayo MW, et al. NF-kappaB induces expression of the Bcl-2 homologue A1/Bfl-1 to

preferentially suppress chemotherapy-induced apoptosis. Mol Cell Biol,1999;19(9):5923-5929.

15 Shim YH, Byun EK, Lee MJ, et al. Anti-apoptotic role of Bfl-1 in staurosporine-treated B-lymphoblastic cells. Int J Hematol,2000;72(4):484-490.

16 Cheng Q, Lee HH, Li Y, et al. Upregulation of Bcl-x and Bfl-1 as a potential mechanism of chemoresistance, which can be overcome by NF-kappaB inhibition. Oncogene, 2000; 19(42):4936-4940.

17 Brien G, Trescol BM, Bonnefoy BN. Downregulation of Bfl-1 protein expression sensitizes malignant B cells to apoptosis. Oncogene,2007;26(39):5828-5832.

(2012-03-21 收稿,2012-07-18 修回)

编辑 吕 熙

· 个案报告 ·

永久性坐骨动脉瘤 1 例诊治报告

马玉奎¹, 赵纪春^{1△}, 卢武胜¹, 黄 斌¹, Joseph D. Raffetto², 卢春燕³

1. 四川大学华西医院 肝脏及血管外科 (成都 610041); 2. Department of Vascular Surgery, VA Boston HCS, West Roxbury MA, USA; 3. 四川大学华西医院放射科 (成都 610041)

【关键词】永久性坐骨动脉 动脉瘤 诊断 治疗

患者,女,76岁,1年前发现右臀部一搏动性包块,逐渐长大,伴压痛。以“右臀部动脉瘤”收入院。查体:右臀部坐

骨结节外侧扪及一搏动性包块,大小约 3 cm×3 cm×3 cm, 双下肢动脉可扪及搏动。CT 示髂内动脉分支动脉瘤(图 1)。拟行经左侧股动脉穿刺置管,右髂内动脉栓塞术。

在治疗过程中,经左侧股动脉穿刺行数字减影动脉造影(DSA)时(图 2)发现,右髂内动脉主干在臀部延续成为动脉瘤(右股骨大转子平面),远端迂曲下降与腘动脉相续,其表现符合永久性坐骨动脉瘤;右髂外动脉仅向下分支供应右大腿,故放弃原治疗计划。择期行右髂内动脉远端及腘动脉近端结扎、右髂内动脉远端及腘动脉人造血管旁路手术。术后 2 年随访,右足背动脉、胫后动脉可扪及搏动。CT 血管造影提示移植血管通畅(图 3)。

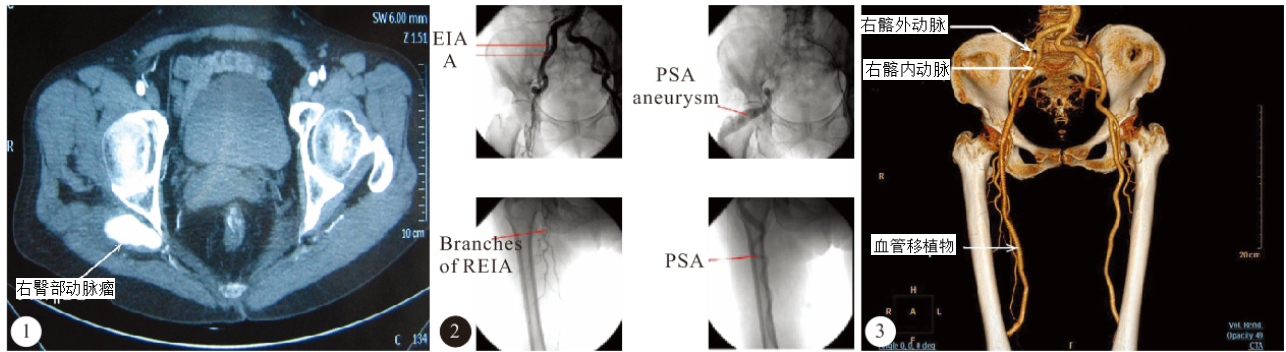


图 1 术前 CT 图 2 DSA (EIA:右髂外动脉, IIA:右髂内动脉, PSA aneurysm:永久性坐骨动脉瘤;Branches of REIA:右髂外动脉分支; PSA:永久性坐骨动脉) 图 3 术后 2 年 CT 血管造影

讨论 永久性坐骨动脉(PSA)是先天发育异常形成,在做 DSA 检查的人群中其发生率为 0.025%至 0.060%。在 6 mm 胚胎期,原始脐动脉发出坐骨动脉向下肢供血;至 9 mm 胚胎期成为下肢血供的主要来源;随后坐骨动脉逐渐退化为臀下动脉。在股动脉发展成为下肢主要供血血管及坐骨动脉退化的交替过程中,如果发生异常,就可导致永久性坐骨动脉的发生。PSA 的临床意义在于这类人群的髂内动脉与小腿的血供密切相关,如果不对有病变的 PAS 重建,则可能导致患者小腿缺血、坏死。PSA 人群中 PSA 动脉瘤的发生

率为 14%至 45%。PSA 动脉瘤临床表现有臀部包块、臀部疼痛、下肢缺血性疼痛等,也可并发动脉瘤破裂、血栓形成或栓塞、坐骨神经压迫等。DSA 是本病的金标准检查方法,CT 或 MRI 血管造影也可以显示 PSA 动脉瘤及其与下肢动脉的关系。彩超检查可用作体表标记 PSA 的行程及反复监测动脉瘤的变化。本例患者行右髂内动脉远端及腘动脉近端结扎、右髂内动脉远端及腘动脉人造血管旁路手术,既隔离了动脉瘤,又使重建的血管符合正常解剖特点,髂内动脉供血充足,且手术方式不复杂,效果满意。

(2012-05-09 收稿,2012-09-21 修回)