

## 论 著

## 蛋白质精氨酸甲基转移酶5参与膀胱癌发生、发展的相关性研究

徐卫东<sup>1,2</sup>, 顾晓<sup>3</sup>(1. 扬州大学, 江苏 扬州, 225000; 2. 南京鼓楼医院集团仪征医院, 江苏 仪征, 221400;  
3. 扬州大学 临床医学院, 江苏 扬州, 225000)

**摘要:**目的 探讨蛋白质精氨酸甲基转移酶5(PRMT5)在膀胱癌中的表达情况及其与膀胱癌发生、发展的相关性。方法 收集癌症和肿瘤基因组(TCGA)数据库中膀胱癌患者相关信息,下载PRMT5基因表达谱资料及临床信息资料。分析PRMT5 mRNA表达水平在膀胱癌与癌旁组织中的差异,分析PRMT5与临床病理特征的相关性。通过组织芯片做免疫组化实验,在蛋白水平验证基因水平的结论。结果 PRMT5在癌组织中显著高表达( $P=0.0001$ )。PRMT5高表达组较低表达组患者预后显著更差(Log-rank  $P=2.6 \times 10^{-4}$ )。PRMT5高表达更倾向于分布在T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub>期(以TNM分期)。PRMT5在癌和癌旁组织中蛋白质水平表达无显著差异。结论 在膀胱癌中,基因水平下PRMT5高表达是一种预后不良因素,蛋白水平未发现明显差异。

**关键词:** 蛋白质精氨酸甲基转移酶5; 膀胱癌; 预后; 相关性; 病理特征

**中图分类号:** R 737.14 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2353(2019)04-023-07 **DOI:** 10.7619/jcmp.201904008

## Correlation between protein arginine methyltransferase 5 and occurrence, development of bladder cancer

XU Weidong<sup>1,2</sup>, GU Xiao<sup>3</sup>

(1. Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu, 225000; 2. Yizheng Hospital of Nanjing Gulou Hospital Group, Yizheng, Jiangsu, 221400; 3. Clinical Medical College of Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu, 225000)

**ABSTRACT: Objective** To investigate the expression of protein arginine methyltransferase 5 (PRMT5) in bladder cancer, and its correlation with occurrence and development of bladder cancer.

**Methods** The PRMT5 gene expression profiles in Cancer Genome Atlas(TCGA) were collected and clinical information were downloaded. The differences in PRMT5 mRNA expression levels in bladder cancer and paracancerous tissue were analyzed, and the correlation between PRMT5 and clinicopathologic feature was analyzed. The protein level was determined by immunohistochemistry. **Results**

PRMT5 had higher expression in cancer tissues ( $P=0.0001$ ). The prognosis in high expression group was poorer compared with PRMT5 lower expression group(Log-rank  $P=2.6 \times 10^{-4}$ ). High expression of PRMT5 was more likely to be distributed in T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> stage in TNM stage, and there was no significant difference in PRMT5 expression between cancer and para-carcinoma tissue. **Conclusion**

High expression of PRMT5 at the gene level in bladder cancer is a poor prognostic factor, and no significant differences in protein levels are found.

**KEY WORDS:** protein arginine methyltransferase 5; bladder cancer; prognosis; correlation; pathological feature

膀胱癌是全球范围内泌尿生殖系统最常见的恶性肿瘤之一<sup>[1-4]</sup>。膀胱癌早期症状不明显,且

早期的诊断技术特异性和灵敏性欠佳,患者诊断膀胱癌时多已是中晚期<sup>[5-8]</sup>。目前,膀胱癌的

收稿日期: 2018-08-13 录用日期: 2018-10-23

基金项目: 南京鼓楼医院集团仪征医院科研基金资助项目(NH16005)

通信作者: 顾晓, E-mail: xgu@yzu.edu.cn

复发率和转移率还是较高,加强膀胱癌发病风险及其分子机制研究,对早期发现以及后期个体化治疗有着深远的意义<sup>[9-13]</sup>。蛋白质精氨酸甲基转移酶(PRMTs)在蛋白质的甲基化中起着十分重要的作用<sup>[14-16]</sup>。PRMTs在真菌、高等植物以及无脊椎和脊椎动物中都有着广泛的表达,能够将S-腺苷甲硫氨酸上的甲基转移到底物蛋白肌基上,从而影响RNA转录、RNA剪接、DNA修复、细胞周期、细胞增殖凋亡等多种细胞生物学过程<sup>[17-20]</sup>。现在已经发现的PRMTs家族成员有11个,根据催化精氨酸甲基化方式的不同,可将其主要分为以下3种类型<sup>[21]</sup>:① I型PRMT家族成员,包括PRMT1~4、PRMT6、PRMT8,其可以催化形成单甲基精氨酸(MMA)和非对称二甲甲基精氨酸(ADMA);② II型PRMT家族成员,包括PRMT5、PRMT9,可以催化形成MMA和对称性二甲甲基精氨酸(SDMA);③ PRMT7是唯一的III型PRMT,只能催化形成MMA。PRMT5是一种非常重要的II型PRMT,在所有研究的真核生物中都发现了它的存在,其作为一种表观遗传酶,能够对称性地甲基化组蛋白或者非组蛋白底物的精氨酸残基,影响靶基因的表达或者信号分子的翻译后修饰,调节多种细胞过程,发挥着不同生物学功能<sup>[17-18, 22-23]</sup>。大量研究<sup>[24-30]</sup>表明,PRMT5在多种肿瘤中显著高表达,如在乳腺癌、肺癌、淋巴瘤、恶性胶质瘤、卵巢癌、黑色素瘤、结直肠癌以及白血病等疾病中表达水平都较正常人群增高,发挥着癌基因作用。

大量证据表明PRMT5可能是临床肿瘤筛查的重要标志物。本研究检测PRMT5在膀胱尿路上皮癌中的表达情况,探讨其在膀胱尿路上皮癌发生、发展及预后中的意义。通过癌症基因组图谱(TCGA)公共数据集,在RNA水平研究PRMT5在膀胱癌及正常组织中的表达水平及其对预后生存的影响,在此基础上再通过组织芯片进行免疫组化实验,在蛋白水平验证上述结果,现将结果报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 癌症和肿瘤基因组图谱数据库

TCGA是美国政府2005年发起资助的癌症研究项目,是目前最大的癌症基因信息数据库,目前主要由美国国家癌症研究所(NCI)和国家人类基因组研究所(NHGRI)共同维护。TCGA通过大

规模的高通量的基因组测序及生物信息学分析,系统地汇总并揭示疾病的遗传突变信息,了解癌细胞发生、发展的机制,为疾病的预防、诊断以及治疗提供了理论基础,最后勾画出新型“预防癌症的策略”。TCGA数据库中的每个样本包含多种基因组学信息,有基因表达谱数据、基因分型数据、全基因组DNA甲基化表达数据以及microRNA表达数据等。本研究下载了TCGA数据库中的349例膀胱癌患者的基因表达谱及相关的临床信息进行后续研究。

### 1.2 实验样本

1.2.1 样本收集:收集2007-2011年南京医科大学第一附属医院以及江苏省中医院接受手术治疗的56例膀胱癌病例,在签署知情同意后,采集其癌组织和癌旁组织。所有患者术前未接受化疗,有完整的临床资料及术后回访资料。所有标本均在手术切除后10 min内收集,4%中性福尔马林固定,经石蜡包埋和组织切片进行免疫组织化学染色。所有病例是组织病理学确诊的膀胱癌患者。

1.2.2 流行病学调查:对调查人员进行统一培训,并且设计好统一的调查表,然后采用面对面的方式调查研究对象。调查内容主要包括年龄、性别、吸烟史、饮酒史、临床分期、病理分级、肿瘤大小以及有无淋巴结转移等。自2014年3月对调查对象进行跟踪随访。所有结果使用EpiData 3.1进行双轨录入,并进行逻辑校对。

### 1.3 实验方法

1.3.1 组织芯片:将HE染色切片进行病理诊断,并对病变组织的范围进行标记;按照实验目的设计组织芯片阵列的组织类型和排列方式;在组织数据库中选择合适的组织病例编号;按照组织病例编号从组织库中取出组织蜡块和对应的HE染色切片;用组织包埋机制备合适的空白受体蜡块;用组织阵列仪按照阵列设计抽提病理蜡块组织芯,并有规律的排列在空白受体蜡块上;组织阵列块在52℃恒温烤箱中加热融合,使组织芯与受体蜡块紧密相连;用全自动组织切片机以20 μm/转的进刀速度对组织阵列块进行修整蜡块,直至80%的组织芯完全曝露;用全自动组织切片机以4 μm/转的进刀速度对组织阵列块进行切片,切片附在防脱片处理的进口载玻片上;阵列切片置于60℃恒温烤箱中,烤片16 h;组织芯片按编号每隔10张抽取1张做HE染色;病理医

生对抽检组织芯片中每一个组织样本进行复诊质检,结果输入组织芯片数据库;组织芯片实验白片保存在切片盒中,置于冰箱5℃冷藏室保存;对使用过的病理组织蜡块进行封蜡,并将其和对应的HE染色切片归位放回蜡块柜和切片盒。作者制作1张组织芯片,共包含了56例膀胱癌组织(黑点)和10例癌旁组织(白点)。每个点代表一个组织样本,每组组织样本含有完整的临床病理资料。见图1。

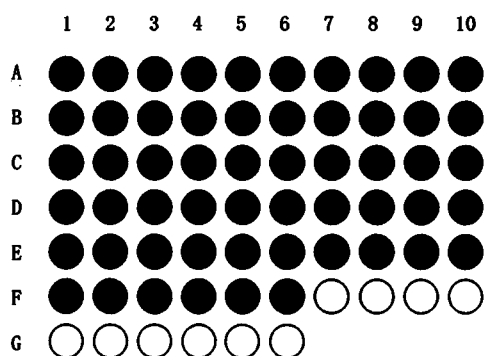


图1 组织芯片构建模式图

1.3.2 免疫组化: 将制作好的组织芯片放入烘箱中,温度调至63℃,烘蜡1h。烘蜡过程中配置好试剂,即10倍浓缩PBS缓冲液和抗原修复液(pH值=5.96)。片子烘烤完成后,从烘箱内取出,放入全自动染色机中,进行脱蜡。脱蜡过程有3个步骤:首先二甲苯2缸,每缸15min;然后无水乙醇2缸,每缸7min;90%酒精1缸,5min;80%酒精1缸,5min;70%酒精1缸,5min。从染色机中取出片子,用纯水冲洗3次,1min/次。冲洗过程中将柠檬酸修复液放在电磁炉上开始加热。柠檬酸高压修复:柠檬酸修复液沸腾后,将片子放入高压锅中,盖上高压锅盖,待出气后开始计时(长出气)。计时2min,到时间后终止加热,将高压锅盖打开,将其放在水池中冷却30min。配制内源性过氧化物酶阻断剂。将片子放入阻断剂中15min。取出片子,用PBS缓冲液冲洗3次,1min/次。冰箱中取出PRMT5一抗,放入离心机以7200转离心30s;在滴加一抗之前,用免疫组化笔画出所要滴加一抗的组织范围,保持湿盒水平放置,滴加动物非免疫血清,室温孵育10min。取出一抗,按照稀释度1:50用DAKO抗体稀释液稀释。保持湿盒水平放置,滴加一抗,放入冰箱4度过夜。第2天,从冰箱取出湿盒,保持湿盒水平放置,室内放置30~45min,

让湿盒恢复到室温状态。将片子用PBS缓冲液冲洗3次,1min/次。滴加DAKO公司的EnVision™+HRP兔工作液,孵育30min。到时间后用PBS冲洗3次,1min/次。从冰箱里取出DAB试剂盒,按1mL DAB稀释液+1滴DAB色原进行配制。在片子上滴加稀释后的DAB(滴加之前最好在湿盒下面铺好白色的纸张,以便于看清显色情况),显色5min(按照实际情况,染色不再加深即可停止显色),到时间后自来水冲洗5min。片子浸泡在哈氏苏木素1min,到时间后在0.25%的盐酸酒精中浸没3~4s,用自来水冲洗2min。将片子放入65℃烘箱或者通风橱自然晾干,直至片子没有水分,用中性树胶封片。

1.3.3 结果判定: 将使用膀胱癌组织芯片进行实验产生的所有PRMT5抗体的原始实验数据纳入本次统计分析。原始实验数据的判读方式:判读PRMT5的胞浆、胞核染色的染色强度(0、+、++、+++和染色阳性率,癌组织和癌旁组织(上皮)分别判读。原始实验数据的标准化方案:①染色强度评分:0分(阴性),1分(+),2分(++),3分(+++)。②染色阳性率评分:0分(阴性),1分(1%~25%),2分(>25%~50%),3分(>50%~75%),4分(>75%~100%)。③总评分:以"染色强度评分"和"染色阳性率评分"的乘积为总评分。④生存期分析分组:总评分≤4为低表达组,总评分>4为高表达组。

#### 1.4 统计学方法

配对 $t$ 检验用于比较19对膀胱癌患者癌组织及癌旁组织中PRMT5基因表达差异。将PRMT5基因表达按中位数分成高、低表达组,采用Kaplan-Meier方法分析并绘制生存曲线,以及Log-rank方法比较膀胱癌患者PRMT5高、低表达组的生存情况。应用 $\chi^2$ 检验比较PRMT5基因表达高、低组间的性别、TNM分期以及有无复发等临床特征差异。所有的统计检验均为双侧概率检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。使用的统计学软件为SAS统计软件(v.9.2; SAS Institute, Cary, NC)。

## 2 结果

### 2.1 TCGA数据库结果

2.1.1 PRMT5在配对的膀胱癌组织与癌旁组织中的表达差异: 下载了TCGA数据库中的膀胱癌患者的基因表达谱,其中匹配的癌和癌旁组织

一共有 19 对。通过配对 *t* 检验比较这 19 对膀胱癌患者癌组织及癌旁组织中 PRMT5 基因的表达水平,结果显示 PRMT5 在膀胱癌组织中的表达水平显著高于在癌旁组织中的表达水平 ( $P = 0.0001$ )。见图 2。

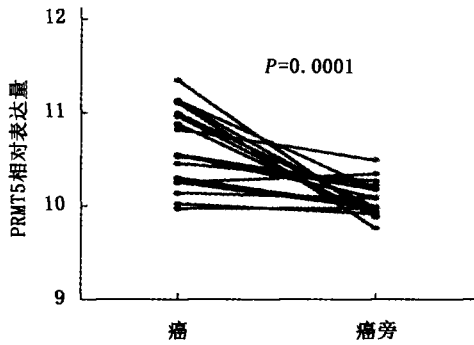


图 2 膀胱癌组织及其配对的癌旁组织中 PRMT5 的表达

2.1.2 PRMT5 基因表达与膀胱癌患者生存的关联性:本研究下载了 TCGA 数据库中 349 例膀胱癌患者的基因表达谱及预后信息,并探讨 PRMT5 表达水平与膀胱癌预后的关系。将 PRMT5 的表达量从低到高进行排序,取表达量中位数为标准,分为 PRMT5 低表达组和 PRMT5 高表达组。采用 Kaplan-Meier 方法分析并绘制生存曲线,接着通过 Log-rank 方法比较膀胱癌患者在 PRMT5 高低表达组中的生存情况。结果显示 PRMT5 高表达组的膀胱癌患者较低表达组膀胱癌患者的预后更差 ( $\text{Log-rank } P = 2.6 \times 10^{-4}$ )。见图 3。

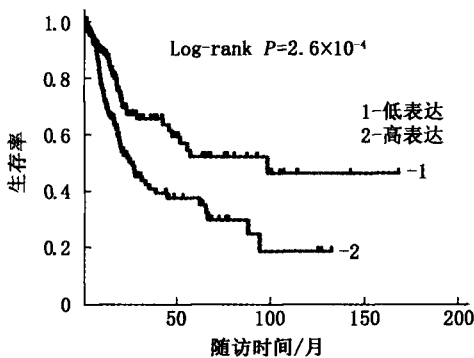


图 3 PRMT5 mRNA 高、低表达组膀胱癌患者的生存曲线

2.1.3 PRMT5 基因表达与膀胱癌患者的临床特征的相关性:作者整理了 349 例膀胱癌患者的相关临床信息,包括年龄、临床分期、病理分级、肿瘤大小以及有无淋巴结转移等,探讨 PRMT5 表达水平与膀胱癌的关系。将 PRMT5 的表达量按中位数为标准,分为低表达组和高表达组。应用  $\chi^2$  检

验比较 PRMT5 基因表达高、低组的性别、TNM 分期以及有无复发等临床特征差异。结果显示 PRMT5 高表达更倾向于分布在浸润深度  $T_3$ 、 $T_4$  ( $P = 0.047$ ), TNM 分期  $T_3$ 、 $T_4$  期 ( $P = 0.017$ ) 和新发肿瘤组中 ( $P = 0.007$ )。见表 1。

表 1 膀胱癌患者 PRMT5 基因表达与临床特征的相关性

变量	n	PRMT5 表达	
		低表达	高表达
性别	男性	137	125
	女性	40	52
浸润深度	$T_1$ 、 $T_2$	64 *	47
	$T_3$ 、 $T_4$	100 *	117
淋巴转移	N0	106	106
	$N_1$ 、 $N_2$ 、 $N_3$	61	52
远处转移	$M_0$	95	79
	$M_1$	4	3
TNM 分期	I	3 *	0
	II	63 *	49
	III	47 *	71
	IV	62 *	54
新发肿瘤	否	114 *	98
	是	36 *	61

与 PRMT5 高表达组比较, \* $P < 0.05$ 。

2.2 组织芯片结果

2.2.1 PRMT5 在膀胱癌组织与癌旁组织中的染色结果:采用组织芯片-免疫组化技术检测 PRMT5 在膀胱癌和癌旁组中的表达水平,46 例膀胱癌组织和 10 例癌旁组织的检测结果见表 2、3、4、5、6、7、8。结果包括 PRMT5 在每个样本胞浆和胞核中的染色强度和染色阳性率。

2.2.2 PRMT5 在膀胱癌组织与癌旁组织中的表达:按结果判定标准,将染色强度和染色阳性率转化为相应的评分,然后以“染色强度评分”和“染色阳性率评分”的乘积为总评分来定量表达 PRMT5 在膀胱癌和癌旁组织中的蛋白表达水平。应用成组 *t* 检验比较 2 组间 PRMT5 的表达水平,结果无显著差异 ( $P = 0.563$ )。接着分别观察 PRMT5 在 2 组细胞胞核和细胞质中的表达水平,结果也无显著差异 ( $P = 0.404, 0.925$ )。见图 4。

2.2.3 PRMT5 蛋白表达与膀胱癌患者生存时间的关系:将 PRMT5 蛋白表达量的总评分从低到高进行排序。总评分  $\leq 4$  为 PRMT5 低表达组,总评分  $> 4$  为 PRMT5 高表达组。采用 Kaplan-Meier 方法分析并绘制生存曲线,接着通过 Log-rank 法比较膀胱癌患者在 PRMT5 高、低表达组中的生存情况。结果显示 2 组膀胱癌患者的生

存时间无显著差异 (Log-rank  $P = 0.285$ )。分别膀胱癌患者生存时间的关系,结果也无显著差异在细胞核和细胞质中探讨 PRMT5 的表达水平与 (Log-rank  $P = 0.723, 0.298$ )。见图5。

表2 A行 PRMT5 在膀胱癌组织与癌旁组织中的染色结果

染色结果		A01	A02	A03	A04	A05	A06	A07	A08	A09	A10
		癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌
胞浆	染色强度	1	2	2~3	2	2	2~3	1~2	2~3	1~2	0.5~1
	阳性率/%	90	85	95	98	95	100	95	90	100	85
胞核	染色强度	1~2	0.5~1	2	0.5~1	2	1	1	3	0	0.5~1
	阳性率/%	20	70	5	5	20	80	90	90	0	30

表3 B行 PRMT5 在膀胱癌组织与癌旁组织中的染色结果

染色结果		B01	B02	B03	B04	B05	B06	B07	B08	B09	B10
		癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌
胞浆	染色强度	2	2	2~3	1~2	2	1~2	1	1~2	2	1~2
	阳性率/%	98	95	95	95	90	60	90	80	96	98
胞核	染色强度	0.5~1	1	0.5~1	0.5~1	0.5~1	1~2	1	1~2	0.5~1	1
	阳性率/%	50	10	25	85	15	70	75	80	15	90

表4 C行 PRMT5 在膀胱癌组织与癌旁组织中的染色结果

染色结果		C01	C02	C03	C04	C05	C06	C07	C08	C09	C10
		癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌
胞浆	染色强度	2~3	2	2	2	1	1~2	2	1~2	1~2	1~2
	阳性率/%	98	98	95	100	95	60	95	90	85	90
胞核	染色强度	1~2	1~2	0.5~1	1~2	1	1	1~2	0.5~1	2	1~2
	阳性率/%	95	60	75	90	60	15	70	20	90	50

表5 D行 PRMT5 在膀胱癌组织与癌旁组织中的染色结果

染色结果		D01	D02	D03	D04	D05	D06	D07	D08	D09	D10
		癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌
胞浆	染色强度	2	1~2	2	1	1~2	1	1~2	1~2	1~2	2
	阳性率/%	95	95	98	98	98	100	95	90	95	98
胞核	染色强度	1	2	1~2	1	1	1	1	1	1~2	1
	阳性率/%	60	95	90	80	10	20	10	70	80	85

表6 E行 PRMT5 在膀胱癌组织与癌旁组织中的染色结果

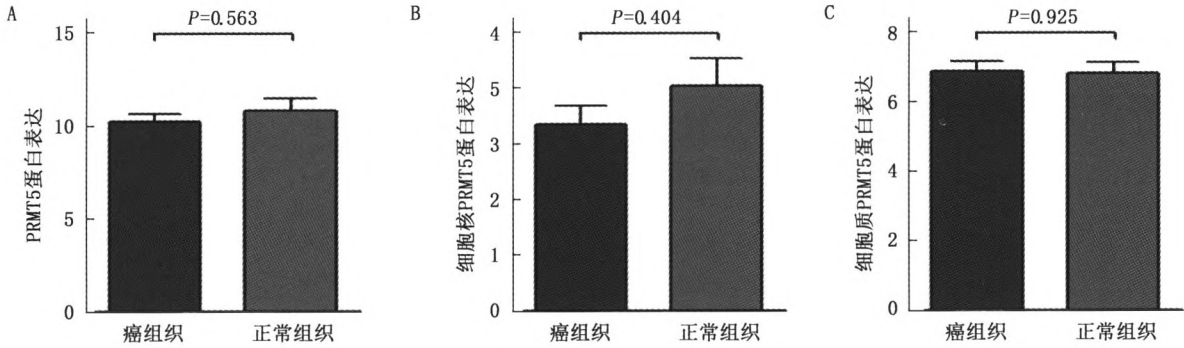
染色结果		E01	E02	E03	E04	E05	E06	E07	E08	E09	E10
		癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌
胞浆	染色强度	2~3	2	1~2	3	1~2	1~2	0.5	1~2	2	2~3
	阳性率/%	95	100	98	98	100	95	20	95	100	95
胞核	染色强度	1	1~2	2~3	0	1~2	0.5~1	1	1~2	1~2	1~2
	阳性率/%	50	45	90	0	85	25	90	65	95	60

表7 F行 PRMT5 在膀胱癌组织与癌旁组织中的染色结果

染色结果		F01	F02	F03	F04	F05	F06	F07	F08	F09	F10
		癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌	癌
胞浆	染色强度	1~2	1~2	1~2	2	1	2~3	1~2	1~2	2	2
	阳性率/%	98	95	90	96	80	98	95	100	98	95
胞核	染色强度	1~2	1	1	0.5~1	0.5~1	0	1~2	1	1~2	0.5~1
	阳性率/%	95	60	60	40	70	0	85	95	90	80

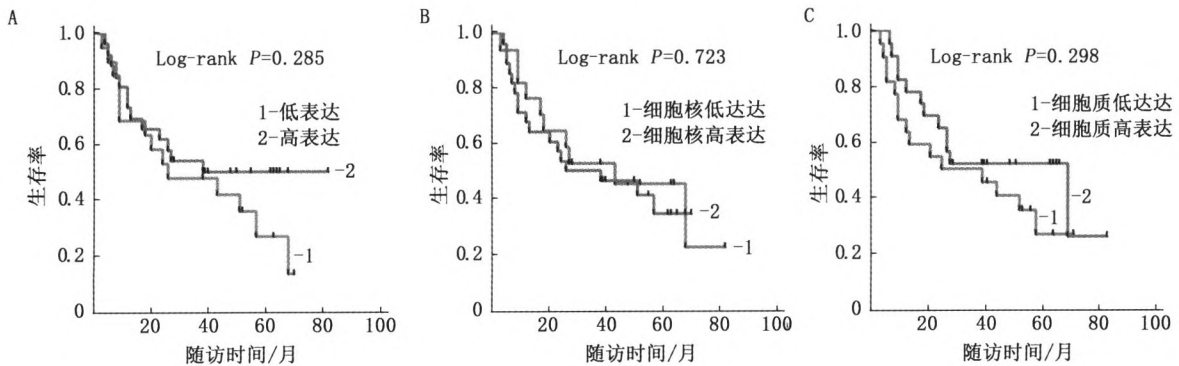
表 8 G 行 PRMT5 在膀胱癌组织与癌旁组织中的染色结果

染色结果		G01 癌旁	G02 癌旁	G03 癌旁	G04 癌旁	G05 癌旁	G06 癌旁
胞浆	染色强度	2	1~2	1~2	1~2	1~2	2
	阳性率/%	98	98	98	98	95	100
胞核	染色强度	1~2	1	0.5~1	0.5~1	1	0.5
	阳性率/%	80	90	95	90	95	70



A. 总体表达水平; B. 细胞核表达水平; C. 细胞质表达水平

图 4 PRMT5 蛋白在癌组织与正常组织中的表达水平

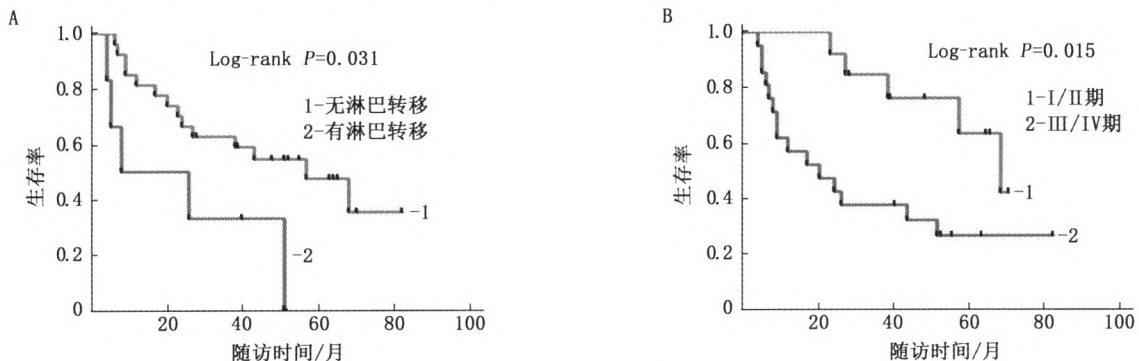


A. 总体表达水平; B. 细胞核表达水平; C. 细胞质表达水平

图 5 PRMT5 蛋白表达水平与膀胱癌患者生存时间的关系

2.2.4 不同临床病理参数与膀胱癌患者生存时间的关系: 结合膀胱癌组织的临床病理参数, 将膀胱癌样本分为有淋巴结转移和无淋巴结转移, 比较 2 组患者生存时间。结果显示, 有淋巴结转

移的膀胱癌患者预后更差 (Log-rank  $P = 0.031$ )。将膀胱癌样本按病理分期分为 I、II 期和 III、IV 期。结果显示位于 III、IV 期的膀胱癌患者预后更差 (Log-rank  $P = 0.015$ )。见图 6。



A. 有、无淋巴结转移; B. 不同病理分期

图 6 不同临床病理参数膀胱癌患者生存时间的关系

### 3 讨论

Jeon JY 等<sup>[31]</sup>发现 PRMT5 在肝细胞癌和结肠癌细胞中的过表达有助于其获得侵袭性等特征, 因此有希望为这些疾病提供新的治疗靶点。PRMT5 作为一种表观遗传酶, 能够对称性地甲基化组蛋白或者非组蛋白底物的精氨酸残基, 影响靶基因的表达或者信号分子的翻译后修饰, 进而调节多种细胞过程, 发挥着不同生物学功能。

本研究利用 TCGA 数据集, 证实 PRMT5 在膀胱癌中显著高表达, 且其表达水平与肿瘤浸润深度、分化程度等显著相关, 即恶性程度越高的患者, PRMT5 的表达越高。本研究显示 PRMT5 表达和预后生存具有显著的相关性, PRMT5 高表达患者预后差, 提示 PRMT5 基因在膀胱癌中有可能作为临床预后指标。Dai Shimizu 团队同样发现 PRMT5 可能作为肝细胞癌的致癌基因, PRMT5 mRNA 水平有希望成为一种预后标志物, 也可能成为肝细胞癌分子治疗的潜在靶点<sup>[32]</sup>。本研究采用组织芯片-免疫组化技术检测 PRMT5 在膀胱癌和癌旁组织中的表达水平, 结果未发现 PRMT5 在 2 组间存在表达的差异。接着通过 Log-rank 方法比较膀胱癌患者在 PRMT5 高低表达组中的生存情况, 结果显示 2 组膀胱癌患者生存时间无显著差异。但是结合膀胱癌组织的临床病理参数, 显示有淋巴结转移的膀胱癌患者预后更差, 位于 III、IV 期的膀胱癌患者预后更差。

本研究中还存在着一些不足: 首先, 本研究通过 TCGA 数据库来探讨 PRMT5 mRNA 在膀胱癌组织与癌旁组织中的表达以及与膀胱癌患者生存的关联性, 并没有在自己样本中进一步验证; 其次, 本研究采用组织芯片-免疫组化技术检测 PRMT5 表达水平, 探讨生存预后关系, 但结果都无显著差异, 这可能与样本数量有限, 或者前期在挑选样本时存在选择偏倚以及一些随访中断等问题有关。

大量证据表明 PRMT5 可能是临床肿瘤筛查的重要标志物, 被认为是药物治疗的一个十分有价值的靶标。本研究结果进一步说明了 PRMT5 异常表达与膀胱癌的临床参数及预后都存在着密切关系, 为进一步研究 PRMT5 在膀胱癌发生、发展中的作用机制以及开发特异性 PRMT5 抑制剂提供了新线索和新思路。

#### 参考文献

[1] Ghafouri-Fard S, Nekooesh L, Motevaseli E. Bladder cancer

biomarkers: review and update[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(6):2395-2403.

[2] Torre L A, Bray F, Siegel R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2):87-108.

[3] Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115-132.

[4] Chen W, Zheng R, Zeng H, et al. Annual report on status of cancer in China, 2011[J]. *Chin J Cancer Res*, 2015, 27(1):2-12.

[5] Chen W, Zheng R, Zeng H, et al. Trend analysis of the changes of male/female, urban/rural incidences and average age of cancer patients in China 1989-2008 [J]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 2014, 36(10):796-800.

[6] Jacobs B L, Lee C T, Montie J E. Bladder cancer in 2010: how far have we come[J]. *CA Cancer J Clin*, 2010, 60(4):244-272.

[7] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2013, 63(1):11-30.

[8] Khandelwal P, Abraham S N, Apodaca G. Cell biology and physiology of the uroepithelium[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 297(6):F1477-F1501.

[9] Letasiova S, Medve'ova A, Sovcikova A, et al. Bladder cancer, a review of the environmental risk factors [J]. *Environ Health*, 2012, 11(Suppl 1):S11-S19.

[10] Zeegers M P, Tan F E, Dorant E, et al. The impact of characteristics of cigarette smoking on urinary tract cancer risk: a meta-analysis of epidemiologic studies [J]. *Cancer*, 2000, 89(3):630-639.

[11] Kuper H, Boffetta P, Adami H O. Tobacco use and cancer causation: association by tumour type [J]. *J Intern Med*, 2002, 252(3):206-224.

[12] Czerniak B, Dinney C, McConkey D. Origins of Bladder Cancer[J]. *Annu Rev Pathol*, 2016, 11:149-174.

[13] Yu M C, Skipper P L, Tannenbaum S R, et al. Arylamine exposures and bladder cancer risk [J]. *Mutat Res*, 2002, 506/507:21-28.

[14] Davie J K, Dent S Y. Transcriptional control: an activating role for arginine methylation [J]. *Current biology*, 2002, 12(2):R59-R61.

[15] Trievel R C. Structure and function of histone methyltransferases [J]. *Critical reviews in eukaryotic gene expression*, 2004, 14(3):147-169.

[16] Wysocka J, Allis C D, Coonrod S. Histone arginine methylation and its dynamic regulation [J]. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 2006, 11:344-355.

[17] Stopa N, Krebs J E, Shechter D. The PRMT5 arginine methyltransferase: many roles in development, cancer and beyond [J]. *Cellular and molecular life sciences*, 2015, 72(11):2041-2059.

[18] Karkhanis V, Hu Y J, Baiocchi R A, et al. Versatility of PRMT5-induced methylation in growth control and development [J]. *Trends in biochemical sciences*, 2011, 36(12):633-641.

(下转第 33 面)

- 407-413.
- [2] Lim K G, Mottram C. The use of fraction of exhaled nitric oxide in pulmonary practice [J]. *Chest*, 2008, 133(5): 1232-1242.
- [3] 潘静, 曾健, 陈敏, 等. 呼出气一氧化氮检测对咳嗽变异性哮喘糖皮质激素减量治疗的价值[J]. *医药导报*, 2014, 33(3): 331-334.
- [4] 任旭斌, 刘春涛, 黄玉芳, 等. 呼出气一氧化氮检测对支气管哮喘的诊断价值[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2009, 8(4): 322-326.
- [5] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 60-66.
- [6] ATS/ERS. Recommendations for Standardized Procedures for the Online and Offline Measurement of Exhaled Lower Respiratory Nitric Oxide and Nasal Nitric Oxide, 2005[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 171(8): 912-930.
- [7] 罗社文, 李友林, 晁恩祥. 咳嗽变异性哮喘的中医证候学研究[J]. *北京中医药大学学报: 中医临床版*, 2007, 14(3): 11-14.
- [8] 陶玲, 张骠. 咳嗽变异性哮喘的中医药研究进展[J]. *河南中医药学刊*, 2012, 27(5): 544-545.
- [9] 林敏, 仇中叶, 张桂才. 中西药联合治疗咳嗽变异性哮喘临床观察及护理[J]. *齐鲁护理杂志*, 2009, 15(23): 33-34.
- [10] 钱卫斌, 张伟, 卢绪香, 等. 浅谈三伏穴位贴敷疗法的理论基础及临床应用[J]. *湖南中医杂志*, 2011, 27(5): 102-103.
- [11] 叶伶, 龚颖, 童岳阳, 等. 呼出气一氧化氮检测在慢性咳嗽病因诊断中的价值[J]. *临床内科杂志*, 2010, 27(9): 601-603.
- [12] 林国辉. 呼出气一氧化氮检测对慢性咳嗽的临床诊断价值[J]. *中国当代医药*, 2013, 20(29): 42-43, 45.

## (上接第29面)

- [19] Huddleston J E. Development: a new move for PRMT5[J]. *Nature reviews Molecular cell biology*, 2011, 12(2): 76-84.
- [20] Zhang H T, Zhang D, Zha Z G, et al. Transcriptional activation of PRMT5 by NF- $\kappa$ B is required for cell growth and negatively regulated by the PKC/c-Fos signaling in prostate cancer cells[J]. *Biochimica et biophysica acta*, 2014, 1839(11): 1330-1340.
- [21] Hu H, Qian K, Ho M C, et al. Small Molecule Inhibitors of Protein Arginine Methyltransferases[J]. *Expert opinion on investigational drugs*, 2016, 25(3): 335-358.
- [22] Bedford M T, Clarke S G. Protein arginine methylation in mammals: who, what, and why[J]. *Molecular cell*, 2009, 33(1): 1-13.
- [23] Yang Y, Bedford M T. Protein arginine methyltransferases and cancer[J]. *Nature reviews Cancer*, 2013, 13(1): 37-50.
- [24] Wei H, Wang B, Miyagi M, et al. PRMT5 dimethylates R30 of the p65 subunit to activate NF- $\kappa$ B[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(33): 13516-13521.
- [25] Cho E C, Zheng S, Munro S, et al. Arginine methylation controls growth regulation by E2F-1[J]. *The EMBO journal*, 2012, 31(7): 1785-1797.
- [26] Wang L, Pal S, Sif S. Protein arginine methyltransferase 5 suppresses the transcription of the RB family of tumor suppressors in leukemia and lymphoma cells[J]. *Molecular and cellular biology*, 2008, 28(20): 6262-6277.
- [27] Bandyopadhyay S, Harris D P, Adams G N, et al. HOXA9 methylation by PRMT5 is essential for endothelial cell expression of leukocyte adhesion molecules[J]. *Molecular and cellular biology*, 2012, 32(7): 1202-1213.
- [28] Powers M A, Fay M M, Factor R E, et al. Protein arginine methyltransferase 5 accelerates tumor growth by arginine methylation of the tumor suppressor programmed cell death 4[J]. *Cancer research*, 2011, 71(16): 5579-5587.
- [29] Hsu J M, Chen C T, Chou C K, et al. Crosstalk between Arg 1175 methylation and Tyr 1173 phosphorylation negatively modulates EGFR-mediated ERK activation[J]. *Nature cell biology*, 2011, 13(2): 174-181.
- [30] Yan F, Alinari L, Lustberg M E, et al. Genetic validation of the protein arginine methyltransferase PRMT5 as a candidate therapeutic target in glioblastoma [J]. *Cancer research*, 2014, 74(6): 1752-1765.
- [31] Jeon J Y, Lee J S, Park E R, et al. Protein arginine methyltransferase 5 is implicated in the aggressiveness of human hepatocellular carcinoma and controls the invasive activity of cancer cells[J]. *Oncology reports*, 2018, 40(1): 536-544.
- [32] Shimizu D, Kanda M, Sugimoto H, et al. The protein arginine methyltransferase 5 promotes malignant phenotype of hepatocellular carcinoma cells and is associated with adverse patient outcomes after curative hepatectomy [J]. *International journal of oncology*, 2017, 50(2): 381-386.