

肿瘤转移抑制基因 Kiss-1 在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义

王祖义¹, 黎传奎², 王 萍³, 刘学刚¹, 唐 震¹, 汪国文¹

[摘要] 目的: 观察肿瘤转移抑制基因 Kiss-1 在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中的表达情况, 探讨其表达与 NSCLC 临床病理参数间的关系。方法: 应用免疫组织化学 EliVision 二步法检测 68 例 NSCLC 患者癌组织及其癌旁组织中 Kiss-1 的表达, 统计学分析表达结果与 NSCLC 的临床病理参数的关系。结果: NSCLC 癌组织和癌旁组织中 Kiss-1 阳性率分别为 82.4% 和 66.2%, 两者差异有统计学意义($P < 0.05$)。有淋巴结转移和无淋巴结转移的 NSCLC 组织中 Kiss-1 阳性率分别为 39.4% 和 91.4%; 高、中分化和低、未分化的 NSCLC 组织中 Kiss-1 阳性率分别为 82.5% 和 42.9%; I + II 期和 III a 期 NSCLC 组织中 Kiss-1 阳性率分别为 81.8% 和 37.5%, 其差异均有统计学意义($P < 0.01$)。结论: 有淋巴结转移、分化差和病理分期晚的 NSCLC 中 Kiss-1 表达下调或缺失, 有望为 NSCLC 基因治疗提供理论依据。

[关键词] 癌, 非小细胞肺; 基因, 肿瘤抑制; Kiss-1; 病理学, 临床

[中国图书资料分类号] R 734.2 **[文献标识码]** A

Expression of metastasis suppressor gene Kiss-1 in non-small cell lung carcinoma and its clinical significance

WANG Zu-yi¹, LI Chuan-kui², WANG Ping³, LIU Xue-gang¹, TANG Zhen¹, WANG Guo-wen¹

(1. Department of Cardiovascular and Thoracic Surgery, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004;

2. Department of Cardiovascular and Thoracic Surgery, Bengbu First People's Hospital, Bengbu Anhui 233000;

3. Department of Pathology, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

[Abstract] **Objective:** To study the relationship between the expression downregulation or absence of metastasis suppressor gene Kiss-1 and clinicopathological parameters of non-small cell lung carcinoma(NSCLC). **Methods:** The expression of Kiss-1 was detected in the tumor and adjacent tissue in 68 paraffin sections of NSCLC by immunohistochemistry (EliVision methods), and the results were used to analyze the relationship with clinicopathological parameters. **Results:** The positive rate of Kiss-1 in tumor (82.4%) was significantly higher than that in adjacent tissue (66.2%) ($P < 0.05$). The difference of positive rate of Kiss-1 was significant between group 1 (with metastasis of lymph node) and group 2 (without metastasis of lymph node). There was significant difference between the well differentiated, moderately differentiated group (82.5%) and the poorly differentiated, undifferentiated group (42.9%). Kiss-1 expression in the (I + II) stage (81.8%) was distinctly higher than that in the III stage (37.5%) ($P < 0.01$). **Conclusions:** In the patients of NSCLC, the expression of Kiss-1 is lower in the group with metastasis of lymph node, poor differentiation and advanced stage, which may provide a theoretical basis of gene therapy for NSCLC.

[Key words] carcinoma, non-small cell lung; genes, suppressor; Kiss-1; pathology; clinical

肺癌是当今世界上对人类健康和生命危害最大的恶性肿瘤之一。肿瘤复发和转移是一个多步骤、多阶段发生及多基因参与调控的过程, 也是肺癌治疗失败的关键因素, 肿瘤转移抑制基因 (metastasis suppressor gene, MSG) 表达下调在多数实体肿瘤发生、发展中起重要作用。本文检测非小细胞肺癌 (non-small cell lung carcinoma, NSCLC) 患者 MSG

Kiss-1 的表达, 分析其与 NSCLC 临床病理参数间的关系, 以探讨 Kiss-1 基因表达下调对 NSCLC 生物学行为的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2006 年 12 月至 2007 年 10 月蚌埠医学院第一附属医院胸心外科肺癌住院手术患者资料, 所有标本为本院病理科存档的 NSCLC 患者的癌体及其癌旁组织石蜡组织块。病例选择均需满足如下标准: (1) 术前均未接受放、化疗; (2) 外科治疗为根治性切除, 存在无瘤切缘, 行同侧肺门和纵隔淋巴结清扫术; (3) 病理诊断根据 1998 年 WHO 肺癌组织学分类标准, 不包括小细胞肺癌、类癌、转移瘤。符合条件的患者为 68 例, 男 56 例, 女 12 例; 年

[收稿日期] 2009-04-20

[基金项目] 安徽省教育厅自然科学研究资助项目 (KJ2008B53ZC)

[作者单位] 1. 蚌埠医学院第一附属医院 胸心外科, 安徽 蚌埠 233004; 2. 安徽省蚌埠市第一人民医院 胸心外科, 安徽 蚌埠 233000; 3. 蚌埠医学院 病理学教研室, 安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 王祖义 (1964 -), 男, 硕士, 研究生导师, 副教授, 主任医师。

龄 37 ~ 80 岁。按国际抗癌联盟 (UICC) 1997 年修订的 TNM 分期: I 期 32 例, II 期 12 例, III a 期 24 例。组织学分类: 鳞癌 33 例, 腺癌 31 例 (其中包括细支气管肺泡癌 8 例), 分化癌 2 例, 腺鳞癌 2 例。其中, 淋巴结转移 ($N_1 + N_2$) 33 例, 无淋巴结转移 (N_0) 35 例。

1.2 试剂及染色方法 兔抗人单克隆抗体 Kiss-1 蛋白 metastin(45-54)-NH₂, 购于美国 Angiobio 公司; EliVision 二步法试剂盒为丹麦 DAKO 公司产品, 购于福州迈新生物技术开发有限公司。Kiss-1 抗体工作浓度为 1:100, 染色方法参照试剂盒说明书进行。

1.3 结果判定 Kiss-1 阳性为细胞质和(或)细胞膜出现棕色颗粒者。采用免疫反应积分标准, 即染色强度和阳性细胞百分比的乘积^[1]。阳性判定以染色强度及阳性细胞数综合判定。阳性细胞百分比: 无细胞染色为 0, 1% ~ 25% 为 1, 26% ~ 50% 为 2, >50% 为 3。染色强度: 不显色或显色不清为 0, 浅黄色为 1, 棕黄色为 2, 棕褐色为 3。按免疫反应积分进行分级: 0 为阴性 (-), 1 ~ 2 为低表达, >2 为高表达。

1.4 统计学方法 采用 χ^2 检验和秩和检验。

2 结果

2.1 Kiss-1 在 NSCLC 癌组织与癌旁组织中的表达

Kiss-1 在癌旁组织中和 NSCLC 组织的细胞质和(或)细胞膜阳性表达, 呈棕黄色 (见图 1、2)。Kiss-1 在 NSCLC 组织与癌旁组织中的阳性率分别为 66.2% 和 82.4%, 差异有统计学意义 (见表 1)。

2.2 NSCLC 癌组织中 Kiss-1 表达与 NSCLC 临床病理参数之间的关系 NSCLC 淋巴结阳性患者的 Kiss-1 阳性率为 39.4%, 而淋巴结阴性者为 91.4%, 两者差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 高、中分化与低、未分化 NSCLC 肿瘤组织中 Kiss-1 的阳性率分别为 82.5% 和 42.9%, 两者差异有统计学意义 ($P < 0.01$); I + II 期和 III a 期 NSCLC 患者 Kiss-1 的阳性率分别为 81.8% 和 37.5%, 差异亦有统计学意义 ($P < 0.01$) (见表 2)。

3 讨论

MSG 亦称抗肿瘤转移基因, 是近年来随着分子生物克隆技术的发展而提出的一类与肿瘤有关的基因^[2]。由于此类基因在非转移肿瘤中呈高表达, 而在有淋巴结转移的肿瘤中低表达, 故认为其与抑制肿瘤的转移有关而得名。Kiss-1 基因定位于人类染色体 1q32-41, 其调节肿瘤细胞生长的机制可能与核因子- κ b (NF- κ b)、MAP 信号转导通路有关^[3]。

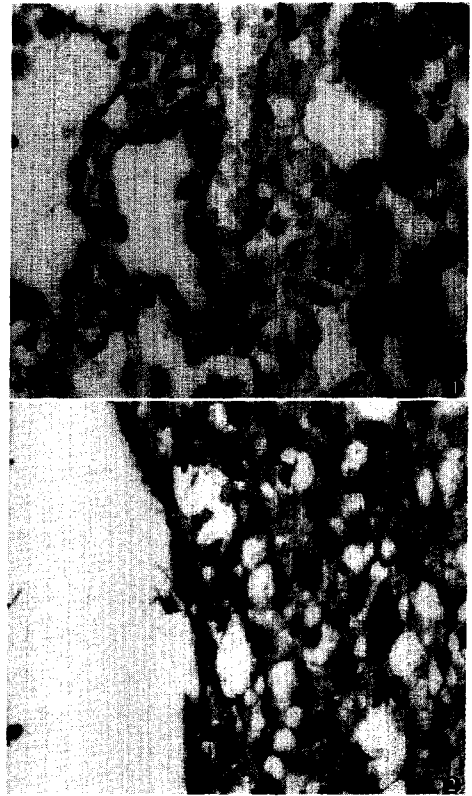


图 1 癌旁组织中 Kiss-1 表达(免疫组化) 图 2 NSCLC 癌组织中 (Kiss-1 表达(免疫组化))

表 1 NSCLC 癌组织及癌旁组织中 Kiss-1 的表达比较 (n)

NSCLC 癌组织 Kiss-1 表达	癌旁组织 Kiss-1 表达		合计	χ^2	P
	阳性	阴性			
阳性	38	7	45	4.0	<0.05
阴性	18	5	23		
合计	56	12	68		

Stegg 等^[4]研究发现, Kiss-1 基因编码的羧基端酰胺化活性肽是一种新的 G 蛋白偶联受体。受体与配体相结合激活磷脂酶 C (PLC), 也可能参与 Galpha 基因介导的 PLC-Ca²⁺ (phospholipase C-Ca²⁺, PLC-Ca²⁺) 信号转导, 进而抑制细胞的转移。肿瘤转移抑制基因作为肿瘤侵袭和转移的负向调控基因, 其作用越来越受到人们的重视。已发现的 MSG 有 nm23、KAI1、Kiss-1、MKK4、BrMS1 等, 而 Kiss-1 在 NSCLC 中的表达研究较少。

Kiss-1 基因是继 nm23 后 1997 年首先由 Lee 等^[5]使用修饰递减杂交技术, 在鉴定 neo6/黑素瘤 (neo8/c8161 和 neo6/Mel JusSo) 杂合子中起抑制转移作用的分子过程中获得的一个新基因, 命名为 Kiss-1。Ohtaki 等^[6]报道该产物是一种新的孤儿 G 蛋白偶联受体 (即 hOT7T175) 的天然配体, 并命名为 metastin; Kotani 等^[7]报道该产物是 GPR54 的天然

表 2 NSCLC 患者临床病理参数与癌组织中 Kiss-1 表达的关系(n)

临床病理参数	n	Kiss-1 表达		阳性率 (%)	χ^2	P
		阳性	阴性			
性别						
男	56	39	17	69.6	0.94	>0.05
女	12	6	6	50.0		
年龄						
>55	41	26	15	63.4	0.35	>0.05
≤55	27	19	8	70.4		
吸烟史						
有	29	21	8	72.4	0.88	>0.05
无	39	24	15	61.5		
部位						
中央型	52	33	19	63.5	0.73	>0.05
周围型	16	12	4	75.0		
组织学分类						
鳞癌	33	21	12	63.6	0.26 ^Δ	>0.05
腺癌	31	21	10	67.7		
其他	4	3	1	75.0		
分化程度						
高、中分化	40	33	7	82.5	11.56	<0.01
低、未分化	28	12	16	42.9		
病理 TNM 分期						
I + II	44	36	8	81.8	13.63	<0.01
IIIa	24	9	15	37.5		
肿瘤范围						
T ₁ + T ₂	62	42	20	67.7	0.18	>0.05
T ₃	6	3	3	50.0		
淋巴结转移						
N ₀	35	32	3	91.4	20.55	<0.01
N ₁ + N ₂	33	13	20	39.4		

Δ示 Hc 值

配体,命名为 Kiss peptin 54,简称为 KP54;Muir 等^[8]报道该产物是 AXOR12 的天然配体,命名为 Kiss-1 (68~128)。实际上,虽然有 3 种命名,但所指均为同一种物质,目前常称 metastin。

Shirasaki 等^[9]通过原位杂交技术检测了 Kiss-1 mRNA 在 51 例不同进展期的黑素瘤细胞中的表达,在所有的 4 个痣细胞和 8 个浸润深度 <4 mm 的原发性黑素瘤中发现有 Kiss-1 mRNA 的表达,然而在直径 >4 mm 的原发黑素瘤中只有 50% 表达,Kiss-1 在转移肿瘤中的表达缺失非常常见。Ringel 等^[10]研究发现,大多数正常组织、良性病变及远处转移能力较弱的甲状腺肿瘤存在 Kiss-1 表达,而在转移能力较强的甲状腺癌中 80% 缺失;Kiss-1 受体在正常甲状腺和实性肿瘤中不表达,表明 Kiss-1 及其受体在调节甲状腺肿瘤转移方面有一定潜在作用。王战会等^[11]研究发现,胃癌组织中 Kiss-1 阳性率为

36.3% (29/80),正常胃黏膜组织中 Kiss-1 阳性率为 65.0% (13/20),两者差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。本研究结果显示,Kiss-1 在 NSCLC 肿瘤组织和癌旁组织中的阳性率分别为 66.2% 和 82.4%,两者差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。对 Kiss-1 基因在 NSCLC 患者中表达下调或缺失的进一步研究,可为 NSCLC 的早期诊断、设计合理可行的治疗手段和转移的干预性治疗提供重要的线索和依据。

Stark 等^[12]研究表明,运用半定量 RT-PCR 方法发现在乳腺癌脑转移中 Kiss-1 mRNA 表达降低。转移抑制基因的表达可以通过免疫组织化学染色在蛋白水平被证实。Sanchez-Carayo 等^[13]研究发现在晚期膀胱癌中 Kiss-1 低表达,与浅表型膀胱癌相比,侵袭性膀胱癌 Kiss-1 的转录水平更低。Janneau 等^[14]报道,Kiss-1 在早期妊娠和葡萄胎妊娠中均增高,而在绒毛膜癌表达降低,提示 Kiss-1 表达与滋养层细胞的生物学行为有关,但是否抑制绒毛膜癌的转移仍不清楚。本实验结果显示,NSCLC 癌组织中 Kiss-1 阳性率与患者的性别、年龄、吸烟史、肿瘤组织学类型和肿瘤范围均无明显关系 ($P > 0.05$),而与淋巴结是否转移、TNM 分期和分化程度均密切相关 ($P < 0.01$),与王战会等^[11]研究结果一致。提示 Kiss-1 在抑制肿瘤的分化和转移方面起着重要作用,而与原发部位肿瘤的大小无关。

[参 考 文 献]

- [1] 许良中,杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. 中国癌症杂志,1996,6:229-231.
- [2] Webb CP, Vande-Woude GF. Genes that regulate metastasis and angiogenesis[J]. J Neurooncol,2000,50(1/2):71-87.
- [3] Lee JH, Welch DR. Suppression of metastasis in human breast carcinoma MDA-MB-435 cells after transfection with the metastasis suppressor gene, Kiss-1 [J]. Cancer Res, 1997, 57 (12): 2384-2387.
- [4] Steeg PS. Metastasis suppressors alter the signal transduction of cancer cells[J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(1): 55-63.
- [5] Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, et al. Kiss-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene [J]. J Natl Cancer Inst, 1996, 88(23): 1731-1737.
- [6] Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, et al. Metastasis suppressor gene Kiss-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor [J]. Nature, 2001, 411(6837): 613-617.
- [7] Kotani M, Dethoux M, Vandenbogaerde A, et al. The metastasis suppressor gene Kiss-1 encodes kiss peptides, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54 [J]. J Biol Chem, 2001, 276(37): 34631-34636.
- [8] Muir AI, Chamberlain L, Elshourbagy NA, et al. AXOR 12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide Kiss-1 [J]. J Biol Chem, 2001, 276(31): 28969-28974.
- [9] Shirasaki F, Takata M, Hata N, et al. Loss of expression of the metastasis suppressor gene Kiss-1 during melanoma progression and its association with LOH of chromosome 6q16. 3-q23 [J]. Cancer Res, 2001, 61(20): 7422-7425.

[文章编号] 1000-2200(2010)04-0352-03

· 临床医学 ·

初诊原发性干燥综合征 75 例临床分析

张莹莹,李志军,陈琳洁,李季青,江超,谢长好,梅永君

[摘要]目的:了解原发性干燥综合征(primary Sjögren's syndrome, pSS)患者的临床特点,提高对本病的认识。方法:对 75 例 pSS 患者的临床与相关实验室资料进行回顾性分析。结果:主要首发临床表现是关节痛 54 例,口干 51 例,眼干 44 例,猖獗龋齿 20 例,发热 19 例,吞咽困难 15 例,腮腺肿大 13 例;实验室检测显示贫血 27 例,WBC 减少 26 例,BPC 减少 11 例。抗 SSA 或抗 SSB 阳性的患者眼干和中性粒细胞比例减低的发生率与 SSA 和 SSB 阴性者差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论:pSS 患者早期症状不典型,容易误诊、漏诊;诊断时应注意综合临床症状和实验室检查结果。

[关键词] 干燥综合征;临床表现;自身抗体

[中国图书资料分类法分类号] R 684.3 [文献标识码] A

Clinical features of newly-diagnosed primary Sjögren's syndrome: an analysis of 75 cases

ZHANG Ying-ying, LI Zhi-jun, CHEN Lin-jie, LI Ji-qing, JIANG Chao, XIE Chang-hao, MEI Yong-jun

(Department of Rheumatology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004, China)

[Abstract] **Objective:** To improve the diagnosis and treatment of primary Sjögren's syndrome (pSS) by analyzing the clinical features of the disease. **Methods:** The clinical data and related laboratory tests of 75 pSS patients were reviewed. **Results:** The primarily incipient symptoms of pSS were arthralgia 54 cases, dry mouth 51 cases, dry eyes 44 cases, decayed tooth 20 cases, febrile 19 cases, dysphagic 15 cases and parotid enlargement 13 cases. Laboratory testes showed that 27 cases of the patients developed anemia, 26 cases leucopenia and 11 cases thrombocytopenia. Patients with positive anti-SSA or anti-SSB antibodies had a higher incidence of dry mouth and neutropenia than those with negative auto-antibodies ($P < 0.05$). **Conclusions:** The onset symptoms of pSS are diverse. It is easy to make misdiagnosis or missed diagnosis. Comprehensive clinical symptoms and laboratory tests should be included in making correct diagnosis of pSS.

[Key words] Sjögren's syndrome; clinical analysis; autoantibody

原发性干燥综合征(primary Sjögren's syndrome, pSS)是因淋巴细胞浸润泪腺和涎腺而造成的以口、眼干燥为主要临床表现的自身免疫性疾病。该病临床表现复杂多变,极易误诊、漏诊。以外分泌腺体外的器官损害为首发表现者早期诊断困难,以致本病误诊发生率较高^[1]。为提高对 pSS 的认识,减少误诊误治,本文回顾性分析 2003 年 1 月至 2008 年 12 月我科收治的 75 例 pSS 患者的临床

与实验室相关资料,现作报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料 75 例中男 3 例,女 72 例;年龄 19~78 岁,初发年龄为 13~77 岁。病程 1 个月至 20 年。均符合下列标准:(1)初次就诊符合 2002 年国际 pSS 诊断标准^[2];(2)排除继发性干燥综合征和其他相关疾病;(3)临床资料采集及时,记录完整;(4)相关实验室检查及时、方法可靠。

1.2 统计学方法 采用 χ^2 检验和四格表确切概率法。

2 结果

2.1 主要首发临床表现 75 例主要临床表现见表 1。

[收稿日期] 2009-08-05

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 风湿免疫科,安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 张莹莹(1985-),女,硕士研究生。

[通讯作者] 李志军,主任医师,教授,E-mail: lizhijun@medmail.com.cn

[10] Ringel MD, Hardy E, Bernet VJ, et al. Metastin receptor is overexpressed in papillary thyroid cancer and activates MAP kinase in thyroid cancer cells [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2002, 87(5): 2399.

[11] 王战会,冯笑山,王公平,等. Kiss-1 和 E 钙黏蛋白在贲门癌组织中的表达及临床意义[J]. 中华胃肠外科杂志, 2007, 10(4): 380-382.

[12] Stark AM, Tongers K, Mass N, et al. Reduced metastasis-suppressor gene mRNA-expression in breast cancer brain metastasis [J]. J

Cancer Res Clin Oncol, 2005, 131(3): 191-198.

[13] Sanchez-Carayo M, Capodiceci P, Cordon-Cardo C. Tumor suppressor role of Kiss-1 in bladder cancer: loss of Kiss-1 expression is associated with bladder cancer progression and clinical outcome [J]. Am J Pathol, 2003, 162(2): 609-617.

[14] Janneau JL, Maldonado-Estrada J, Tachdjian G, et al. Transcriptional expression of genes involved in cell invasion and migration by normal and tumoral trophoblast cells [J]. Clin Endocrinol Metab, 2002, 87(11): 5336-5339.