

[文章编号] 1000-2200(2010)07-0678-04

· 临床医学 ·

FEZ1/LZTS1 基因在膀胱移行细胞癌中的表达及意义

常 睿¹, 李庆文¹, 关 超², 周文生¹

[摘要] 目的:探讨 FEZ1/LZTS1 基因在膀胱移行细胞癌中的表达及在肿瘤发生、发展中的作用。方法:对 40 例膀胱移行细胞癌和 10 例正常膀胱黏膜应用 RT-PCR 方法检测 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 的表达。结果:FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 在正常膀胱黏膜中阳性率 100%, 无表达缺失;而在膀胱移行细胞癌中阳性率 42.50%, 阴性率 57.50%, 两者间阴性率的差异有统计学意义($P < 0.01$);FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 在 I、II、III 级膀胱移行细胞癌中的阴性率分别 28.57%、61.54% 和 84.62%, 三者之间阴性率差异有统计学意义($P < 0.05$);在表浅性和浸润性膀胱移行细胞癌中阴性率分别为 28.57% 和 89.47%, 两者之间阴性率差异亦有统计学意义($P < 0.01$)。结论:FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 在膀胱移行细胞癌中出现表达缺失, 并且与肿瘤的病理分级和临床分期有关。FEZ1/LZTS1 基因表达缺失可能作为评价肿瘤分化程度、估计预后的参考指标。

[关键词] 膀胱肿瘤; FEZ1/LZTS1 基因; 基因表达

[中国图书资料分类号] R 737.14 **[文献标识码]** A

Expression and clinicopathologic significance of FEZ1/LZTS1 mRNA in bladder transitional cell carcinomas

CHANG Rui¹, LI Qing-wen¹, Guan Chao², ZHOU Wen-sheng¹

(1. Department of Urology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004;

2. Department of Urology, The Second Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233040, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of FEZ1/LZTS1 mRNA and evaluate its effects on the tumorigenesis and progression in bladder transitional cell carcinomas (BTCCs). **Methods:** The expression of FEZ1/LZTS1 mRNA in 40 BTCCs and 10 normal bladder mucosas was detected by RT-PCR. **Results:** The negative expression of FEZ1/LZTS1 mRNA in BTCC (57.50%) was significantly higher than that in normal bladder mucosa ($P < 0.01$). Statistical analysis showed a significant association between the absence of FEZ1/LZTS1 mRNA and the histological grade of BTCC. The negative expression of FEZ1/LZTS1 mRNA was 28.57%, 61.54% and 84.62% in grade I, grade II and grade III BTCC, respectively ($P < 0.05$). The negative expression was 28.57% and 89.47% in Ta-T1 BTCC and T2-T4 BTCC, respectively ($P < 0.01$). **Conclusions:** The absence of FEZ1/LZTS1 mRNA expression in BTCC is up-regulated and associated with the histological grade and the clinical stages of BTCC. The absence of FEZ1/LZTS1 expression might act as a reference indicator in evaluating the differentiation of the tumor and predicting the prognosis.

[Key words] bladder neoplasms; FEZ1/LZTS1 genes; gene expression

在肿瘤的研究中,癌基因的激活和抑癌基因的失活越来越引起人们的重视。Ishii 等^[1]从 8p22 上分离出一个新的抑癌基因——FEZ1/LZTS1 基因。FEZ1/LZTS1 基因编码 596 个氨基酸的蛋白质。FEZ1 在许多正常组织中表达很普遍,但在 50% 以上的肿瘤细胞中有改变。我们通过 RT-PCR 方法检测 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 的表达,分析其在膀胱癌和正常膀胱组织中的表达及其与肿瘤分级、分期之间的关系,初步探讨它们在膀胱移行细胞癌发生、发展的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 40 例为蚌埠医学院第一附属医院

泌尿外科 2004 ~ 2005 年手术切除的膀胱肿瘤标本,且术后均经病理检查证实为膀胱移行细胞癌。所选病例术前均未进行放、化疗。其中男 32 例,女 8 例;年龄 32 ~ 82 岁。肿瘤分级按 WHO 分级标准: I 级 14 例, II 级 13 例, III 级 13 例。临床分期按 TNM 标准: Ta ~ T1 21 例, T2 ~ T4 19 例。10 例作对照,为良性前列腺增生症患者开放手术所取标本,且病理检查证实为正常膀胱黏膜。

1.2 试剂与仪器

1.2.1 主要试剂 UNIQ-10 柱式 Trizol 总 RNA 抽提试剂盒(上海生工生物工程技术有限公司);逆转录试剂盒(加拿大 Biobasic 公司);PCR 扩增试剂盒、dNTP、Taq DNA 聚合酶(上海生工生物工程技术有限公司);Trizol (Invitrogen 公司);DL2000 DNA Markers(大连宝生物公司)。

1.2.2 主要仪器 荧光定量 PCR 仪(MJ Research);多功能暗箱式紫外透射仪(ZF-90 型,上海顾村电光仪器厂);天能 Gis 2000 凝胶成像分析

[收稿日期] 2010-01-22

[作者单位] 1. 蚌埠医学院第一附属医院 泌尿外科,安徽 蚌埠 233004; 2. 蚌埠医学院第二附属医院 泌尿外科,安徽 蚌埠 233040

[作者简介] 常 睿(1974-),男,硕士,主治医师。

系统(上海天能科技有限公司)。

1.3 引物设计 FEZ1/LZTS1 引物设计按参考文献[2],由上海生工生物工程技术有限公司合成,序列如下:SENSE:5'-GAG CCT CAT GAA GGA GCA GG-3', ANTISENSE:5'-CAG GTC CTG GGT CCT CAG GT -3', PRODUCT:259 bp。内参照 β -actin 引物:利用 Primer 5.0 自行设计,由上海生工生物工程技术有限公司合成,序列如下,SENSE:TGC GAA GAG CGA AAC CTG C; ANTISENSE:CTG TTG GCG ATC TCG TAG TGG, PRODUCT:520 bp。

1.4 标本处理 手术标本中膀胱癌组织取自肿块中央非坏死部分,正常膀胱黏膜组织取自前列腺增生患者的膀胱前壁。每一份组织即刻用焦碳酸二乙酯(DEPC)处理的冷磷酸缓冲液(PBS)冲洗3次,去除血迹,30 min 内放入 -80°C 冰箱保存,用于 RT-PCR 检测。

1.5 总 RNA 的提取 采用上海生工生物工程技术有限公司 UNIQ-10 柱式 Trizol 总 RNA 抽提试剂盒,在液氮中将组织碾磨成粉末,每 50 mg 动物组织加 0.5 ml 的 Trizol。按照试剂盒说明书操作,获得 RNA 提取物。

1.6 cDNA 第一链合成 采用上海生工生物工程技术有限公司 MMLV 第一链 cDNA 合成试剂盒,在冰浴的试管中加入如下反应混合物:总 RNA 2 μl ,随机六合引物 1 μl (0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$),无 RNA 酶去离子水 5 μl 定容至 12 μl ,轻轻混匀后离心 3~5 s,反应混合物在 70°C 水浴 5 min 后,冰浴 30 s,然后离心 3~5 s。将试管冰浴,再加入如下组分:5 \times Reaction Buffer 4 μl ,RNase Inhibitor 1 μl (20 $\text{u}/\mu\text{l}$),dNTP Mix 2 μl (10 mmol/L),轻轻混匀后离心 3~5 s, 42°C 水浴 5 min,加入 2 μl AMV Reverse Transcriptase (10 $\text{u}/\mu\text{l}$),去离子水定容至 20 μl 。反应混合物在 42°C 水浴 60 min,在 70°C 加热 10 min 结束反应,置冰上进行后续实验或冷冻保存。

1.7 PCR 扩增反应体系 均为 50 μl :10 \times Buffer 5 μl ,dNTP Mixture 5 μl ,上下游引物各 2.5 μl (10 pmol/ μl),cDNA 5 μl ,Blend Taq 1 μl ,无 RNA 酶去离子水 5 μl 定容至 50 μl 。反应条件: 95°C 预变性 12 min,33 个循环: 94°C 变性 20 s, 60°C 退火 30 s, 72°C 延伸 30 s, 72°C 终末延伸 10 min。

1.8 PCR 产物电泳 取 5 μl 扩增产物于含溴化乙锭(EB) (0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 的 2% 琼脂糖凝胶中电泳,90 V,40 min,紫外透射仪下观察结果并照相。

1.9 结果判定 出现 259 bp 和 520 bp 内参电泳带为 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 表达阳性,仅出现 520 bp 内参电泳带为 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 表达阴性。

1.10 统计学方法 采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 总 RNA 鉴定试验 提取总 RNA 量约 10~20 μg ,所抽提总 RNA 用紫外分光光度计测定 A260/A280 的值在 1.8~2.0 之间,用 1% 的琼脂糖凝胶电泳,EB 染色可见 28 s、18 s 亮带(见图 1)。总 RNA 完全可以满足 RT-PCR 的需要。

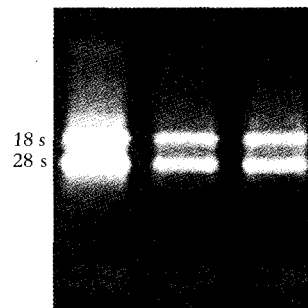


图 1 总 RNA 电泳图

2.2 RT-PCR 产物电泳结果 标本 RNA 经 RT-PCR 扩增后,经 2% 的琼脂糖凝胶电泳出现 259 bp 和 520 bp 内参电泳带为 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 表达阳性,仅出现 520 bp 内参电泳带为 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 表达阴性(见图 2)。

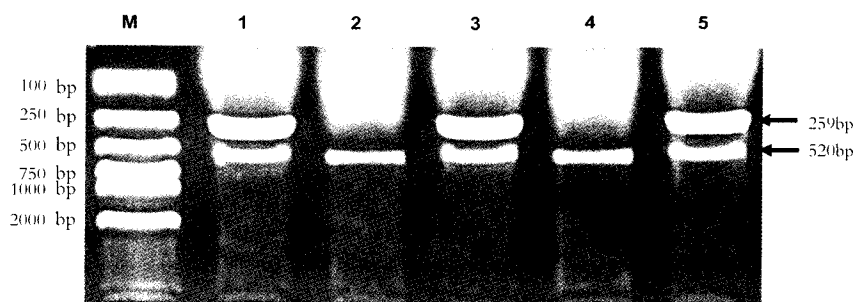
2.3 BTCC 和正常膀胱黏膜中 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 检测结果的比较 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 在正常膀胱黏膜中的阳性率为 100%,无表达缺失,而在膀胱移行细胞癌中的阳性率 42.50%,阴性率 57.50%,两者阴性率差异有统计学意义($P < 0.01$) (见表 1)。

表 1 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 在 BTCC 和正常膀胱黏膜中的表达(n)

	阴性数	阳性数	合计	阳性率(%)	χ^2	P
正常膀胱黏膜	0	10	10	0		
BTCC	23	17	40	57.50	8.46	<0.01
合计	23	27	50	46.00		

2.4 不同病理分级 BTCC 中 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 检测结果的比较 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 在膀胱移行细胞癌中的阴性率随膀胱移行细胞癌病理分级升高而增高。在 I 级、II 级、III 级膀胱移行细胞癌中的阴性率分别是 28.57%、61.54% 和 84.62%,三者之间差异有统计学意义($P < 0.05$) (见表 2)。

2.5 不同临床分期的 BTCC 中 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 检测结果的比较 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 在膀胱移行细胞癌中的阴性率随膀胱移行细胞癌临床分期升高而增高。在表浅性和浸润性膀胱移行细



M: DNA Marker (DL2000); 1、3、5: 正常膀胱黏膜组织; 2、4: 膀胱移行细胞癌组织

图2 正常膀胱黏膜组织和膀胱移行细胞癌组织电泳图

胞癌中的阴性率分别是 28.57%、89.47%，两者之间差异有统计学意义($P < 0.01$) (见表3)。

表2 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 的表达与 BTCC 病理分级的关系(n)

病理分级	阴性数	阳性数	合计	阴性率(%)	χ^2	P
I级	4	10	14	28.57	8.79	<0.05
II级	8	5	13	61.54		
III级	11	2	13	84.62		
合计	23	17	40	57.50		

表3 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 的表达与 BTCC 临床分期的关系(n)

临床分期	阴性数	阳性数	合计	阴性率(%)	χ^2	P
Tis-T1	6	15	21	28.57	15.14	<0.01
T2-T4	17	2	19	89.47		
合计	23	17	40	57.50		

3 讨论

肿瘤发生是一个涉及多基因、多步骤、多阶段的复杂过程。癌基因的激活和抑癌基因的失活发挥了重要的作用,尤其是抑癌基因的失活越来越引起人们的重视。Ishii 等^[1]利用微卫星技术对原发性食管癌的研究中发现了 FEZ1/LZTS1 基因。在国内外对该基因的研究^[1-8]中发现 FEZ1 基因在正常组织中表达很丰富,而在肺癌、膀胱癌、胃癌、食管癌、前列腺癌等多种恶性肿瘤组织中表达均表现为减弱或消失。这些结果表明,体内 FEZ1 的表达可以抑制细胞增殖和肿瘤形成,它成为候选的抑癌基因。

目前在 FEZ1/LZTS1 基因与膀胱癌关系的研究中,国内外报道较少。Vecchione 等^[4]以 Western 印迹法分析了 5 例膀胱移行细胞癌细胞系,以免疫组织化学法分析了 60 例原发性膀胱移行细胞癌组织,FEZ1 在 4 例细胞系和 37 例原发性癌组织中表达下降或缺失,阴性率分别是 80.00% 和 62.00%。本实

验采用 RT-PCR 方法检测了 40 例膀胱移行细胞癌患者癌组织中的 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 的表达情况,并以 10 例正常膀胱黏膜作对照。结果显示,10 例正常膀胱黏膜阳性率为 100%,无表达缺失,而在膀胱移行细胞癌中的阳性率 42.50%,阴性率 57.50%,两者阴性率差异有统计学意义($P < 0.01$),与上述报道相符。因此我们推测 FEZ1/LZTS1 基因的表达缺失可能与肿瘤的发生密切相关。Vecchione 等^[4]在研究中发现 FEZ1/LZTS1 基因的表达下调和缺失与膀胱癌的分级有显著的相关性,79.00% 的 G3-BTCC 的 FEZ1 表达下调和缺失,相对只有 25.00% 的 G1-BTCC 和 53.00% 的 G2-BTCC 的 FEZ1 表达下调和缺失。而本实验中在 I 级、II 级、III 级膀胱移行细胞癌中 FEZ1/LZTS1 基因的阴性率分别为 28.57%、61.54%、84.62%,三者之间差异有统计学意义($P < 0.05$),与 Vecchione 等^[5]的实验结果相似;在表浅性和浸润性膀胱移行细胞癌中的阴性率分别是 28.57%、89.47%,两者之间差异有统计学意义($P < 0.01$)。表明 FEZ1/LZTS1 基因 mRNA 在膀胱移行细胞癌中的阴性率随膀胱移行细胞癌病理分级及临床分期升高而增高。FEZ1/LZTS1 基因的缺失在膀胱癌由低分化向高分化、表浅性向浸润性转变过程中发挥重要作用。因此其表达缺失可能预示肿瘤有较高的侵袭性与不良预后。FEZ1 的 RNA 表达和蛋白表达完全一致,表明 FEZ1 表达的缺失主要发生在 RNA 表达前。FEZ1/LZTS1 基因可能的作用机制是:FEZ1 与 p34cdc2(丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶)的复合体,是细胞周期的主要调控蛋白,其激酶活性通过磷酸化和去磷酸化进行调控蛋白相互作用,尤其是当 FEZ1 磷酸化时。对处于细胞周期不同阶段的细胞研究发现,二者的相互结合主要见于 S-G₂/M 后期。FEZ1 主要是抑制 p34cdc2-CyclinB1 复合体的解离。当缺乏 FEZ1 时,激酶的稳定性下降,细胞从 M 期退出^[4],进入不可控制的增殖状态。即 FEZ1/LZTS1 基因通过调节细胞的有丝分裂而抑制肿瘤细胞的生长。

异己手综合征 2 例报道及文献复习

钱伟东,张丽娜,尹亮,谢静

[摘要] 目的:探讨异己手综合征(alien hand syndrome, AHS)的病因、临床分型和神经解剖学基础。方法:结合文献回顾性分析 2 例 AHS 的临床资料。结果:2 例均有 AHS 特征性的肢体外来感,并有双手协同障碍、对抗失用、自责、手间冲突等症状。CT 及 MRI 显示病变主要累及胼胝体。经对症治疗均有好转。结论:AHS 病因复杂,症状多样。常用的临床分型为额叶型、胼胝体型和后部型,病变部位涉及额叶内侧、胼胝体、顶叶、丘脑等。对临床上具有 AHS 表现的患者,应积极进行影像学检查,并具体分析其病因,给予及时治疗,以免误诊,延误治疗。

[关键词] 脑疾病;异己手综合征;脑梗死;额叶;胼胝体

[中国图书资料分类法分类号] R 742 **[文献标识码]** A

Alien hand syndrome: a report of 2 cases and review of the literature

QIAN Wei-dong, ZHANG Li-na, YIN Liang, XIE Jing

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

[Abstract] **Objective:** To study the etiology, clinical type and neural anatomy of alien hand syndrome (AHS). **Methods:** Two cases of alien hand syndrome were analyzed combined with review retrospectively. **Results:** Both of the 2 patients had the alienness of the affected extremity, motor preservation, autocriticism, the mirror movement and other symptoms. CT and MRI showed lesions mainly involving the corpus callosum. Symptoms of the two cases were improved after symptomatic treatment. **Conclusions:** Alien hand syndrome has complex causes, diverse symptoms. A common clinical classification includes the frontal lobe form, corpus callosum form and posterior form. Lesions involved the medial frontal cortex, corpus callosum, parietal lobe, thalamus, etc. The patients with AHS should be given active imaging examination, specific analysis of its causes, and timely treatment to prevent misdiagnosis and delayed treatment.

[Key words] brain diseases; alien hand syndrome; cerebral infarction; frontal lobe; corpus callosum

异己手综合征(alien hand syndrome, AHS)又称任性手或反常手^[1],临床上比较少见,其共同特征是患者受累肢体出现受外力控制的非意愿的活动^[2]。近年来本病国外报道较多,而国内报道较少,临床上一直未引起重视,容易误诊、误治^[3]。本文回顾 2 例典型的 AHS 临床资料,并结合国外近年

文献对 AHS 的病因、临床分型及可能的病变部位进行探讨。现作报道。

1 临床资料

例 1,女,40 岁。反应迟钝、记忆力下降伴言语不流利 7 天,2007 年 7 月 20 日入院。患者 7 天前无明显诱因出现反应迟钝,记忆力下降,不能从事以往的家务,活动减少,有时左手去持物,右手也去持物,双手向两侧用力争夺,自感迷惑不解;脱袜时一手脱

[收稿日期] 2010-03-21

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 神经内科,安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 钱伟东(1967-),女,副教授,副主任医师。

通过国外研究及我们的实验结果显示,FEZ1/LZTS1 基因在正常组织中广泛表达,而在膀胱移行细胞癌中表达缺失,并且与肿瘤的病理分级和临床分期有关。FEZ1/LZTS1 基因可抑制膀胱黏膜癌变,其表达缺失可作为评价肿瘤分化程度、估计预后的参考指标;FEZ1/LZTS1 基因有望成为膀胱癌基因诊断和治疗的新靶点。

[参 考 文 献]

- [1] Ishii H, Baffa R, Numata SJ, et al. The Fez1 gene at chromosome 8p22 encodes a leucine-zipper protein, and its expression is altered in multiple human tumors[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(7):3928-3933.
- [2] Toyooka S, Fukuyama Y, Wistuba II, et al. Differential expression of FEZ1/LZTS1 gene in lung cancers and their cell cultures[J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(7):2292-2297.

- [3] 陈刚,王小玲,刘月平,等. FEZ1 survivin 在肺小细胞癌及低分化鳞状细胞癌蛋白表达及其在凋亡中的作用[J]. 中国肿瘤临床, 2007, 34(21):1209-1211.
- [4] Vecchione A, Ishii H, Baldassarre G, et al. FEZ1/LZTS1 is down-regulated in high-grade bladder cancer, and its restoration suppresses tumorigenicity in transitional cell carcinoma cells[J]. Am J Pathol, 2002, 160(4):1345-1352.
- [5] Vecchione A, Ishii H, Shiao YH, et al. FEZ1/LZTS1 alterations in gastric carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2001, 7(6):1546-1552.
- [6] Hosseini HA, Ahani A, Galehdari H, et al. Frequent loss of heterozygosity at 8p22 chromosomal region in diffuse type of gastric cancer[J]. World Gastroenterol, 2007, 13(24):3354-3358.
- [7] 李娜,王洪兴,张洁. 食管鳞癌组织中 FEZ1 和 PCNA 蛋白的表达及意义[J]. 山东医药, 2008, 48(14):23-24.
- [8] Hawkins GA, Mychaleckyj JC, Zheng SL, et al. Germline sequence variants of the LZTS1 gene are associated with prostate cancer risk[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2002, 137(1):1-7.