

检测 KAI1 / CD82 蛋白在结肠腺癌中表达的临床意义 *

陈玉强¹ 吴乔³ 纪元 史大林 谢静凯 张鸣青²

摘要:目的 KAI1 是一种特异性抑制肿瘤转移的基因,其蛋白产物为 KAI1 / CD82。通过检测 64 例结肠腺癌石蜡切片的 KAI1 / CD82 蛋白表达,探讨其与预后等临床因素的相关性。方法 肿瘤经福尔马林固定,石蜡包埋。免疫组化方法检测石蜡切片中 KAI1 / CD82 蛋白表达水平。生物学统计采用 χ^2 检验法。生存曲线采用 Kaplan-Meier 软件绘制。结果 KAI1 / CD82 蛋白呈现棕褐色、细颗粒状物,弥漫性分布结肠腺癌细胞膜上。KAI1 / CD82 蛋白在结肠腺癌组织中表达阳性率为 51.56%。生物学统计结果表明,KAI1 / CD82 蛋白表达与淋巴结转移、远处转移及肿瘤临床分期等密切相关,有统计学意义;而与肿瘤患者的年龄和性别、肿瘤大小、分化程度及肿瘤部位等无关。KAI1 / CD82 蛋白阳性结肠腺癌患者的术后生存期明显高于阴性患者,前者平均术后生存期为 54.27 \pm 21.51 月,而后者仅为 37.55 \pm 15.17 月,具有统计学意义。结论 KAI1 / CD82 表达水平与结肠腺癌分期、淋巴结转移及远处转移关系密切,可能和其它指标一起作为判断结肠腺癌预后的指标之一,对术后进一步治疗具有一定的指导意义。

关键词: KAI1 基因; 大肠癌; 抑癌基因; 肿瘤转移; 基因表达

The clinical significance of KAI1 / CD82 expression in colon tumor CHEN Yuqiang, WU Qiao, JI Yuan, et al. (Key Laboratory of the Ministry of Education for Cell Biology and Tumor Cell Engineering, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: **Objective** KAI1 gene is a specific metastasis-suppressor gene, and its protein product is KAI1 / CD82. The relationship between KAI1 / CD82 expression and colon cancer patient prognosis was investigated. **Methods** 64 colon tumor specimens were detected and analyzed for their KAI1 / CD82 protein expression level with immunohistochemical method, the paraffin embedded tissue sections were incubated with anti-KAI1 antibody. The Student's *t*-test and the Kaplan-Meier method were used. **Results** The KAI1 / CD82 protein was located in the membrane of colon tumor cells with a positive rate of 51.56%. The statistical evaluation showed that the expression of KAI1 / CD82 protein had a close relation with lymph node metastasis and distant metastasis as well as clinical stages, but was not related with age, gender, tumor size, differentiation and tumor location in vivo. Surviving time for the patients after being operated was dramatically higher with positive expression of KAI1 / CD82 (54.27 \pm 21.51 months) than those with negative one (37.55 \pm 15.17 months). **Conclusion** KAI1 / CD82 expression is closely correlated with the colon tumor stages, lymph node metastasis and distant metastasis, which, together with other indexes, may be used as an index for prognosis of colon tumor, and will be significant for instructing further treatment.

Key words: KAI1 gene; Colon tumor; Suppressor gene; Metastasis; Gene expression

原发性大肠癌近年来的发病率处于逐年上升趋势,其中大肠腺癌在大肠癌各个亚型中的发病率位居首位。KAI1 是近年来发现的特异性抑制肿瘤转移的基因,其蛋白产物为 KAI1 / CD82^[1]。研究发现,KAI1 / CD82 蛋白表达水平的高低与前列腺癌、肺癌、乳腺癌及肝癌等实体瘤的预后密切相关^[1-3]。但有关 KAI1 / CD82 蛋白表达与结肠腺癌进展及预后的关系研究尚不多见,国内未见报道。本文通过

检测 64 例结肠腺癌手术标本中 KAI1 / CD82 蛋白表达情况,探讨其与预后等临床因素的相关性。

材料与方法

一、临床资料 收集 1992 ~ 1999 年间手术治疗的结肠腺癌肿瘤样品 64 例,其中男性 38 例,女性 26 例。患者年龄 20 ~ 66 岁,平均 45 岁,经术前和/或术后病理检验,证实诊断正确。肿瘤样品经福尔马林固定,石蜡常规包埋,连续切片,切片厚度为 5 μ m。

二、免疫组化方法 肿瘤石蜡切片经 3% 过氧化氢孵育 5 min,以消除内源性过氧化物酶活性。10% 山羊血清封闭后,加入 1:500 的鼠抗人 KAI1 / CD82 单克隆抗体 (Santa Cruz),4 $^{\circ}$ C 温育过夜。第 2 天滴加生物素标记的相应二抗,37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min,再

基金项目:1. 教育部科学技术重点项目(00073)

2. 教育部访问学者专项基金(2000 年度)。

作者单位:1. 中国人民解放军第 174 医院(厦门 361003)

2. 中国人民解放军第 175 医院

3. 厦门大学生命科学院细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室(本文通讯作者 基金项目申请者)

加入辣根过氧化物酶标记的链霉卵白素,37 温育 15 min, DAB 显色,苏木素复染后,蒸馏水充分冲洗,梯度酒精脱水,二甲苯透明,封片。以 PBS 替代一抗做阴性对照,并用前列腺增生组织作为阳性对照。

三、结果判定 光镜下观察切片,经免疫组化染色呈棕褐色的组织为阳性。任意选择 2~4 张连续切片,观察其中 10 个高倍视野,计数阳性肿瘤细胞。无阳性反应细胞和阳性反应细胞率 < 10% 为阴性反应(-);标本阳性细胞率 10% 为阳性反应(+)。阳性肿瘤细胞 25% 为高表达,< 25% 为低表达。

四、统计学处理 生物学统计采用 χ^2 检验法,用 Kaplan-Meier 软件绘制病人术后生存曲线。

结 果

一、KAI1 / CD82 蛋白在结肠腺癌组织中的表达 免疫组化检测结果,不表达 KAI1 / CD82 蛋白的肿瘤组织细胞呈现蓝紫色(见封三图 4A),表达 KAI1 / CD82 蛋白的肿瘤组织细胞呈现不同程度的棕褐色,蛋白以细颗粒弥漫状分布在结肠腺癌细胞膜(见封三图 4B);高转移的肿瘤组织细胞不表达或低表达 KAI1 / CD82 蛋白(见封三图 4C),而低转移的肿瘤组织细胞则高表达 KAI1 / CD82 蛋白(见封三图 4D);但是,在分化低和分化高的肿瘤组织中,KAI1 / CD82 蛋白表达水平差别不明显(结果未显示)。以 PBS 替代一抗作阴性对照的肿瘤组织细胞不表达 KAI1 / CD82 蛋白而呈现蓝紫色(结果未显示);以前列腺增生组织作为阳性对照,细胞表达 KAI1 / CD82 蛋白而呈现棕褐色(结果未显示)。

二、KAI1 / CD82 蛋白表达及其与各临床因素的关系 对 64 例肿瘤石蜡切片进行生物学统计分析(每一例肿瘤石蜡切片都设有阴性对照),结果表明,KAI1 / CD82 蛋白表达与肿瘤病人的年龄、性别、肿瘤生长部位和肿瘤分化程度无关, P 值均 > 0.05,无统计学意义,但与肿瘤病人淋巴结转移、远处转移和肿瘤恶性临床分期密切相关, P 值均 < 0.05,具有统计学意义(见表 1)。

三、KAI1 / CD82 蛋白表达与结肠腺癌术后生存期的关系 KAI1 / CD82 蛋白高表达的肿瘤患者,其术后生存期明显高于 KAI1 / CD82 蛋白低表达的肿瘤患者,前者的平均生存期为 54.27 ± 21.51 月,而后者则为 37.55 ± 15.17 月,两者差别非常显著($P < 0.01$,见图 2)。

表 1 KAI1 / CD82 蛋白表达与病人淋巴结转移的关系

指 标	KAI1 +	KAI1-	P 值
淋巴结转移	无转移	13	3
	转移	20	28
远处转移	无转移	32	24
	转移	1	7
临床分期	I 期	3	0
	II 期	10	3
	III 期	18	20
	IV 期	2	8

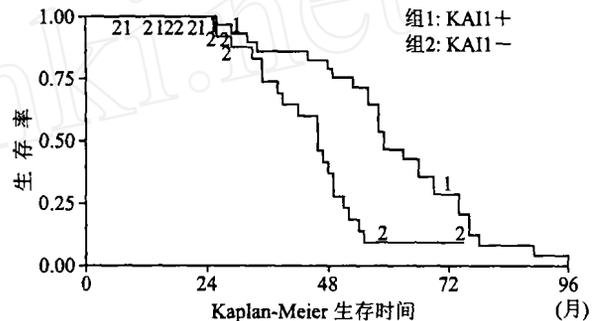


图 1 KAI1 / CD82 蛋白表达与肿瘤患者术后生存期的相关性

讨 论

KAI1 基因位于人染色体 11p11.2-13,最早在人前列腺组织和转移受抑制的杂交瘤细胞中发现,而在发展期及转移期的前列腺癌中不表达或低水平表达^[1]。但进一步研究发现,KAI1 基因产物 KAI1 / CD82 蛋白分布在乳腺、肺、肝、胰、消化道等组织中,对前列腺癌、小细胞肺癌、乳腺癌、胰腺癌和胃肠道等肿瘤的发展有着重要的影响,是多种肿瘤的预后因子^[3-5]。

Takaoka^[2]采用 Northern blot 方法发现 60% 的胃癌和结肠腺癌细胞不表达或低表达 KAI1 基因。转染 KAI1 基因对结肠腺癌细胞的体外生长无抑制作用,但能提高非钙粘凝集能力,并抑制癌细胞的运动和侵袭能力。本研究发现,KAI1 / CD82 蛋白在结肠腺癌组织中表达的阳性率为 51.56% (33 / 64),阳性反应物呈棕褐色的细微颗粒,弥漫性分布于细胞膜上。生物学统计结果表明,KAI1 / CD82 蛋白在结肠腺癌组织中的表达水平与肿瘤病人的淋巴结转移、远处转移及肿瘤临床分期等密切相关,而与年龄、性别、肿瘤大小、分化程度及肿瘤部位等无关。多数学者认为,KAI1 基因在肿瘤发生早期高表达,而在肿瘤进展期或发生转移时低表达,说明 KAI1 基因的表达呈双相改变^[6],即在早期 KAI1 基因的高表达对肿瘤的恶性进展起抑制作用,而一旦无法保持 KAI1 基因的高表达,则肿瘤进入进展期并开始发生侵袭和转

移。Maurer^[7]报道, II 期结肠腺癌的 KAI1 / CD82 蛋白表达水平较正常组织高, 而 III、IV 期结肠腺癌的 KAI1 / CD82 蛋白表达则明显降低。结合本文研究结果认为, KAI1 / CD82 的表达与肿瘤临床分期密切相关, 可能是由于在淋巴结转移或远处转移的结肠腺癌组织中 KAI1 / CD82 蛋白表达明显降低所致。

肿瘤转移在肿瘤发展过程中具有十分重要的作用。恶性肿瘤患者绝大多数是死于肿瘤的转移。本文研究结果还表明, KAI1 / CD82 蛋白表达与预测肿瘤转移和病人生存的趋势有一定的关联性, 可以和其它指标一起作为预后因素来考虑。KAI1 / CD82 阳性结肠腺癌患者的术后生存期明显长于阴性表达患者, 前者的平均生存期为 54.27 ± 21.51 月, 而后者仅为 37.55 ± 15.17 月, 两者差别非常显著 (P < 0.01)。临床病理资料的分析也表明, KAI1 / CD82 蛋白表达阴性的结肠腺癌患者, 其淋巴结转移率比阳性患者明显升高, 且多数已在血管根部及腹主动脉周围发生淋巴结转移。说明检测 KAI1 / CD82 蛋白的表达水平有可能作为判断结肠腺癌的预后及生存率的指标之一, 对术后的进一步治疗具有一定的指导意义。

参 考 文 献

[1] Dong JT, Lamb PW, Rinker CW, et al. KAI1, a metastasis sup-

pressor gene for prostate cancer on human chromosome 11p11.2[J]. Science, 1995, 268:799

[2] Takaoka A, Hinoda Y, Satoh S, et al. Suppression of invasive properties of colon cancer cells by a metastasis suppressor KAI1 gene[J]. Oncogene, 1998, 16:1443

[3] Takaoka A, Hinoda Y, Sato S, et al. Reduced invasive and metastatic potentials of KAI1-transfected melanoma cells[J]. Jpn J Cancer Res, 1998, 89:397

[4] Bouras M, Frauman AG. Expression of the prostate cancer metastasis suppressor gene KAI1 in primary prostate cancers: a biphasic relationship with tumour grade[J]. J Pathol, 1999, 188:382

[5] Adachi M, Taki T, Ieki Y, et al. Correlation of KAI1 / CD82 gene expression with good prognosis in patients with non-small cell lung cancer[J]. Cancer Res, 1996, 56:1751

[6] Higashiyama M, Kodama K, Yokouchi H, et al. KAI1 / CD82 expression in non-small cell lung carcinoma is a novel, favorable prognostic factor: an immunohistochemical analysis[J]. Cancer, 1998, 83:466

[7] Maurer CA, Graber HU, Friess H, et al. Reduced expression of the metastasis suppressor gene KAI1 in advanced colon cancer and its metastases[J]. Surgery, 1999, 126:869

[8] Shinohara T, Miki T, Nishimura N, et al. Nuclear factor-kappaB-dependent expression of metastasis suppressor KAI1 / CD82 gene in lung cancer cell lines expressing mutant p53[J]. Cancer Res, 2001, 61:673

(收稿日期:2001-11-23;修回日期:2002-02-20)

作者简介:陈玉强,男,博士,副主任医师

(本文编辑:严勤华)

(上接第 490 页)

近年来,相继发现了多种肿瘤细胞株同时表达 VEGF 及其受体。本组研究资料亦显示,胶质瘤细胞株 U251、SF767、SHG44 均表达 VEGF。表明除旁分泌调节机制外,自分泌调节可能在血管形成过程中发挥重要作用。

显然,VEGF 基因的高表达与人脑胶质瘤间质血管增生存在明显相关性。通过抑制肿瘤血管形成的方法来抑制胶质瘤的生长正日益受到人们的重视。Mary Saleh 等^[8]将鼠反义 VEGF165 cDNA 重组入 pEF-BOS 载体的 XbaI 酶切位点后,用磷酸钙与 DNA 共沉淀法转移入大鼠 C6 细胞,移植到裸鼠后发现,同对照组相比肿瘤生长受到明显抑制,肿瘤组织血管数目减少且存在高度坏死现象。表明从抗血管形成入手抑制胶质瘤生长已经展示了较光明的前景,有可能起到改善患者预后的作用,甚至最终治愈胶质瘤。

参 考 文 献

[1] Keihues P, Burger PC, Sheithauer BM, et al. The new WHO classifi-

cation of brain tumors[J]. Brain Pathol, 1993, 3:255

[2] Cambell CL, Savarese DMF, Quesenberry PJ, et al. Expression of multiple antigeneic cytokines in cultured normal human prostate epithelial cells: predominance of vascular endothelial growth factor[J]. Int J Cancer, 1999, 80:868

[3] Ferrara N, Houck K, Jakeman L, et al. Molecular and biological properties of the vascular endothelial-growth-factor family of proteins [J]. Endocrine Rev, 1992, 13:18

[4] Klagsbrum M, Sober S. VEGF / VPF: The angiogenesis factor found? [J] Carr Biol, 1997, 3:699

[5] Lamszus K, Schmidt NO, Jin L, et al. Scatter factor promotes motility of human glioma and neuromicrovascular endothelial cells[J]. Int J Cancer, 1998, 75:19

[6] Dazzi C, Cariello A, Maioli P, et al. Prognostic and predictive value of intratumoral microvessels density in operable non-small-cell lung cancer[J]. Lung Cancer, 1999, 24:81

[7] Dala Jaille A, Katz AE, Bagiella E, et al. Microvessel density as a predictor of PSA recurrence after radical prostatectomy. A comparison of CD34 and CD31[J]. Am J Clin Pathol, 2000, 113:555

[8] Saleh M, Stacker SA, Wilks AF, et al. Inhibition of growth factor sequence[J]. Cancer Res, 1996, 56:393

(收稿日期:2001-10-15;修回日期:2002-01-30)

作者简介:叶明,男,硕士,神经外科医师

(本文编辑:严勤华)

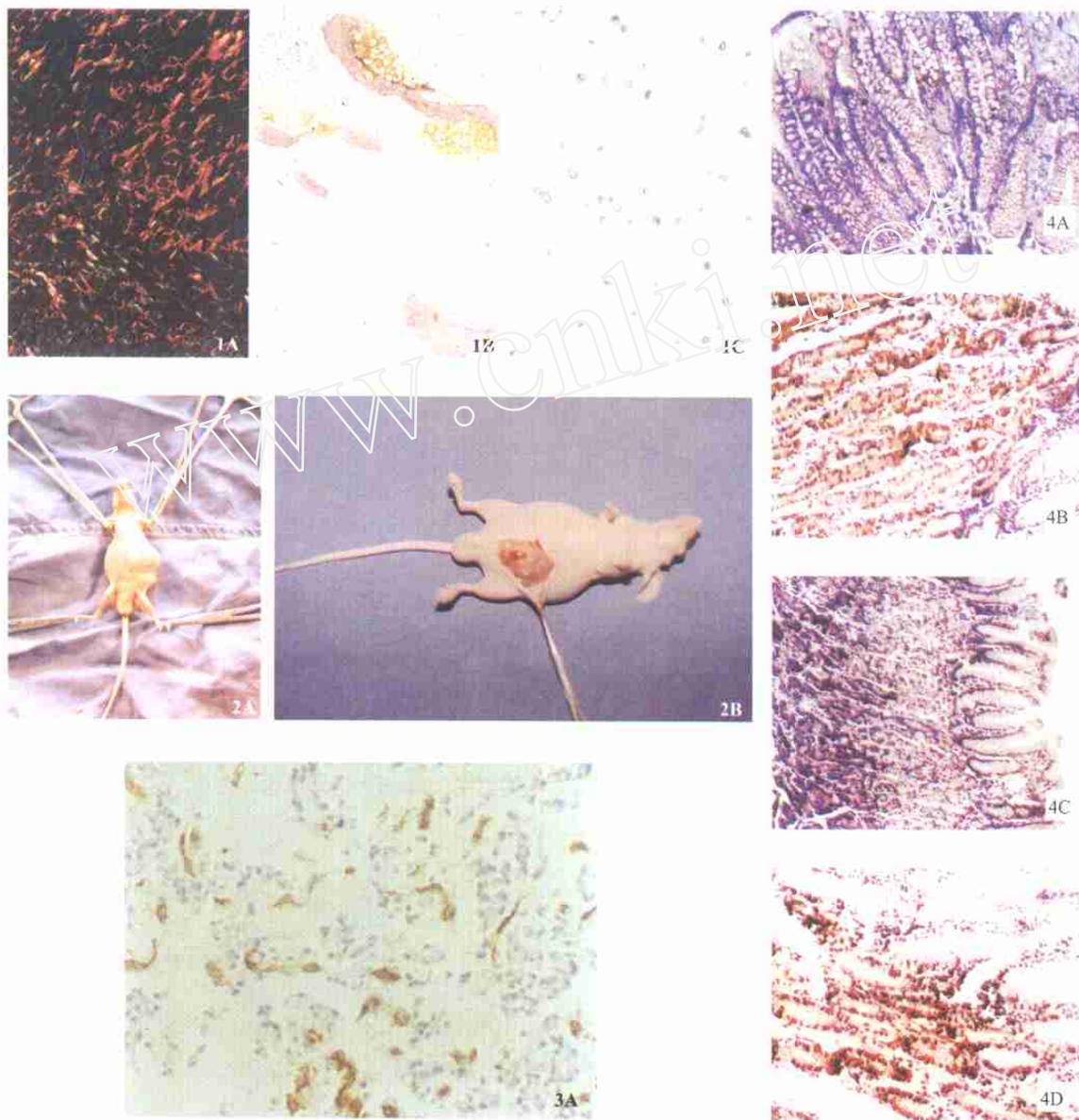


图1A 人骨肉瘤组织中 I、II、III型胶原基因的表达

图1B 人骨肉瘤组织中 I、II、III型胶原基因的表达

图1C 人骨肉瘤组织中 I、II、III型胶原基因的表达(图1A~C正文见第464页)

图2A 接种成功的裸小鼠

图2B 皮下盲肠肿瘤(图2A~B正文见第484页)

图3A 微血管免疫组化染色(多形性胶质母细胞瘤), 抗CD34, $\times 200$ (图3正文见第490页)

图4 免疫组化方法检测KAI1/CD82蛋白在结肠腺癌肿瘤标本中的表达。(A)不表达KAI1/CD82蛋白的肿瘤组织呈现蓝紫色;

(B)表达KAI1/CD82蛋白的肿瘤组织呈现棕褐色, 分布在细胞膜上;

(C)高转移的肿瘤组织低表达KAI1/CD82蛋白;

(D)低转移的肿瘤组织高表达KAI1/CD82蛋白。(图4A~D正文见第504页)