

- patients. *Dig Dis Sci* 2002;47:1611-1617
- 8 中华医学会传染病与寄生虫病分会、肝病分会. 病毒性肝炎防治方案. *中华传染病杂志* 2001;19:56-62
- 9 Morita K, Tananka K, Saito S, Kitamura T, Kondo M, Sakaguchi T, Morimoto M, Sekihara H. Expression of interferon receptor genes (IFNAR1 and IFNAR2 mRNA) in the liver may predict outcome after interferon therapy in patients with chronic genotype 2a or 2b hepatitis C virus infection. *J Clin Gastroenterol* 1998;26:135-140
- 10 Pestka S. The interferon receptor. *Semin Oncol* 1997;24(3Suppl 9):s9-18
- 11 Uze G, Lutfalla G, Gresser I. Genetic transfer of a functional human interferon alpha receptor into mouse cells: cloning and expression of its cDNA. *Cell* 1990;60:225-234
- 12 Novic D, Cohen B, Rubinstein M. The human interferon α/β receptor: characterization and molecular cloning. *Cell* 1994;77:391-400
- 13 Yatsushashi H, Fujino T, Matsumoto T, Inoue O, Koga M, Yano M. Immunohistochemical analysis of hepatic interferon alphas-beta receptor level: relationship between receptor expression and response to interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatology* 1999;30:995-1003
- 14 Chu CM, Sheen IS, Yeh CT, Hsieh SY, Tsai SL, Liaw YF. Serum levels of interferon-alpha and -gamma in acute and chronic hepatitis B virus infection. *Dig Dis Sci* 1995;40:2107-2112
- 15 Cacciarelli TV, Martinez OM, Gish RG, Villanueva JC, Krams SM. Immunoregulatory cytokines in chronic hepatitis C virus infection: Pre- and posttreatment with interferon alfa. *Hepatology* 1996;24:6-9
- 16 Cohen B, Novick D, Barak S, Rubinstein M. Ligand-Induced association of type I interferon receptor components. *Mol Cell Biol* 1995;15:4208-4214
- 17 Domanski P, Witte M, Kellum M, Rubinstien M, Hackett R, Pitha P, Colamonici OR. Cloning and expression of a long form of the β subunit of the interferon α/β receptor that is required for signaling. *J Biol Chem* 1995;270:21606-21611
- 18 Tsubota A, Chayama K, Ikeda K, Yasuji A, Koida I, Saitoh S, Hashimoto M, Iwasaki S, Kobayashi M, Hiromitsu K. Factors predictive of response to interferon-alpha therapy in hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1994;19:1088-1094
- 19 Lau JY, Davis GL, Kniffen J, Qian KP, Urdea MS, Chan CS, Mizokami M, Neuwald PD, Wilber JC. Significance of serum hepatitis C virus RNA levels in chronic hepatitis C. *Lancet* 1993;341:1501-1504
- 20 徐道振, 李正钦, 谢尧. 外周血单个核细胞内 HCV RNA 是慢性丙型肝炎干扰素治疗效果的预测因子. *中华肝病杂志* 2004;12:76-78

编辑 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 研究快报 •

大肠癌组织 KISS-1, hOT7T175 基因表达与转移的关系

陈海金, 黄宗海, 吴爱国, 高毅, 范应方

陈海金, 黄宗海, 吴爱国, 高毅, 范应方, 南方医科大学附属珠江医院普通外科 广东省广州市 510280

通讯作者: 陈海金, 510280, 广东省广州市, 南方医科大学附属珠江医院普通外科. chenhaijin@sina.com

电话: 020-31396133

收稿日期: 2005-01-11 接受日期: 2005-01-20

摘要

目的: 研究 KISS-1, hOT7T175 基因在大肠癌组织表达及其与转移的关系。

方法: 大肠癌组织 60 例, 采用逆转录聚合酶链式扩增反应对 KISS-1, hOT7T175 mRNA 的表达进行检测。

结果: 大肠癌组织和周缘正常组织 KISS-1, hOT7T175 阳性表达例数相比有显著差异($P=0.000$ 和 $P=0.037$)。肿瘤 I - II 期和 III - IV 期 KISS-1 阳性表达例数对比有显著差异($P=0.020$)。

结论: KISS-1, hOT7T175 有可能成为预计大肠癌恶性程度的一个指标。

陈海金, 黄宗海, 吴爱国, 高毅, 范应方. 大肠癌组织 KISS-1, hOT7T175 基因表达与转移的关系. *世界华人消化杂志* 2005;13(8):1026-1028

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1026.asp>

0 引言

近来, KISS-1 基因编码产物(被命名为 metastin 或 Kisspetin-54)和他的同源性G-蛋白偶联受体(被命名为 hOT7T175)的发现, 为 KISS-1 基因如何抑制肿瘤转移提供了一个新的研究线索和途径. KISS-1 基因的编码产物通过与 hOT7T175 结合后, 抑制了肿瘤细胞的侵袭, 转移和趋化性. 我们检测60例已确诊大肠癌外科手术切除后组织中 KISS-1, hOT7T175 mRNA 的表达, 探讨 KISS-1, hOT7T175 基因是否可以作为一个预测大肠癌恶性潜能的新的生物学标记物。

1 材料和方法

1.1 材料 南方医科大学附属珠江医院普外科 2003-08/

2004-08 已行手术切除的大肠癌新鲜标本 60 例, 男 33 例, 女 27 例. 年龄 31-69 (中位 51) 岁. 临床资料完整. 大肠癌分期、分型分别参照国际抗癌联盟 TNM 分期和 Dukes 分期. 临床分期中 I - II 期 30 例, III - IV 期 30 例. 组织离体后 5 min 癌组织和距肿瘤至少 5 cm 的切缘组织 (均经术后病理证实, 切缘无癌细胞), 液氮速冻后置 -80℃ 冰箱保存, 备 RNA 抽提.

1.2 方法 组织总 RNA 抽提采用 TRIZOL (美国 Invitrogen 公司) 一步法, 按说明书操作. 琼脂糖凝胶 (西班牙 Biowest 公司) 电泳检测 RNA 有无降解, 并测 RNA 样品的 A260/A280 比值和水平. KISS-1 引物参照 GenBank 中发表的 NM_002256 基因序列合成^[1]. 扩增长度为 302 bp. hOT7T175 引物参照 GenBank 中发表的 AB051065 基因序列合成^[2]. 扩增长度为 102 bp (表 1). 反转录试剂盒 (SuperScript™ First-Strand Synthesis System for RT-PCR), DNA 多聚酶 (Platinum Taq DNA Polymerase High Fidelity) 和 10 mmol/L dNTPs 购自 Invitrogen 公司. 在无 RNA 酶的 0.5 mL EP 管中加入提取的总 RNA 5 μL, 10 mmol/L dNTPs 1 μL, Oligo (dT) 1 μL, DEPC 水补足 10 μL, 65℃ 5 min, 冰浴 1 min, 加入 2 μL 10× 反转录缓冲液, 4 μL 25 mmol/L MgCl₂, 2 μL 0.1 mol/L DTT 和 4 μL 无 RNA 酶的重组 RNA 酶抑制物, 混匀离心后 42℃ 水浴 2 min, 加入 SuperScript II 反转录酶 1 μL, 混匀后 42℃ 水浴 50 min, 70℃ 水浴 15 min, 4℃ 10 000 g 离心 1 min, 在做 PCR 反应前加入 RNaseH 1 μL 后置 37℃ 水浴 20 min, 将 cDNA 链与 RNA 链分离. 同时做阴性对照. KISS-1 基因 PCR 反应条件: 94℃ (3 min), 94℃ (30 s), 61.2℃ (30 s), 72℃ (40 s), 72℃ (6 min) 35 轮; hOT7T175 基因反应条件: 94℃ (3 min), 94℃ (30 s), 59.4℃ (30 s), 72℃ (40 s), 72℃ (6 min) 35 轮; 20 g/L 琼脂糖凝胶电泳鉴定. 阳性表达情况 (图 1).

表 1 Primers for KISS-1, hOT7T175

Gene	Function	Sequence
KISS-1	Forward	CTCTGTGCCACCCACTTTG
	Reverse	TGTAGTTCGGCAGGTCCTTCT
hOT7T175	Forward	CCTGGCTCGTGCCGCTCTTCTT
	Reverse	ACGGTCCGCATCGGCTTG

统计学处理 阳性表达例数经 χ^2 检验, 所有数据通过 SPSS10.0 统计软件处理.

2 结果

大肠癌组织阳性 KISS-1 表达 17 例 (28%), 周缘正常组织 37 例 (62%), 二者对比有显著差异 ($P = 0.000$). 大肠癌组织阳性 hOT7T175 表达 19 例 (32%)、周缘正常组织 35 例 (58%), 二者对比有显著差异 ($P = 0.037$). 并且在

同一标本, 无论是癌组织还是周缘组织, KISS-1 的表达往往伴随着 hOT7T175 表达 (14 vs 33), 说明 KISS-1 的表达与 hOT7T175 表达有明显的相关. 在大肠癌组织中, 肿瘤分期位于 I 期和 II 期 KISS-1 阳性表达例数为 13 例, III 期和 IV 期的 4 例, 对比 I - II 期和 III - IV 期阳性表达例数, 有显著差异 ($P = 0.020$).

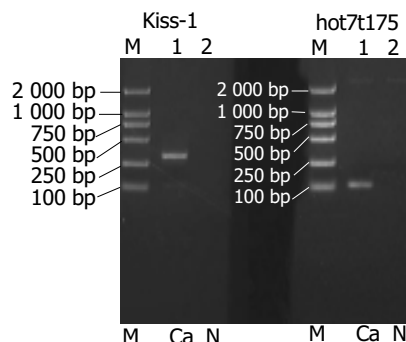


图 1 KISS-1、hOT7T175 基因表达图.

3 讨论

1996 年, Lee *et al*^[3] 通过把完整的第 6 号染色体转移进入 C8161 和 MelJuSo 黑色素瘤细胞系, 观察到他们的转移能力 95% 被抑制, 但没有影响肿瘤形成. 然后, 用递减杂交技术对比非转移细胞 (neo6/C8161 或 neo6/MelJuSo) 和父系转移细胞 (C8161 或 MelJuSo) mRNA 的表达, 结果发现了一个新的有抑制转移作用的基因, 并命名为 KISS-1. Ohtaki *et al*^[4] 在从事 G 蛋白偶联受体配体研究中, 发现了 KISS-1 基因编码的 54 个氨基酸的羧基末端酰胺化的肽, 并命名为 metastin. Kotani *et al*^[5] 预测了这个肽是来源于前激素切割酶对 KISS-1 蛋白的水解. Horikoshi *et al*^[6] 报告 metastin 在孕妇的血清含量非常高, 认为 metastin 可能是来源于胎盘的激素. 但是, 低水平的 metastin 也存在于非孕妇的血清中, 这提示在非孕妇体内, metastin 可能从非胎盘组织释放并有一种内激素样的功能. metastin 被证实是 G 蛋白偶联受体 (被命名为 hOT7T175^[4], GPR54^[5], AXOR12^[7]) 的配体. Ohtaki *et al* 发现 metastin 通过激活 hOT7T175, 导致激活 G 蛋白的磷酸化酶 C 的激活, 引起了细胞内钙的增长. Sanchez-Carbayo *et al*^[8] 报道在膀胱癌, KISS-1 的表达是与肿瘤的组织病理分期紧密的联系在一起的, 在转移性的膀胱癌 KISS-1 是完全缺失的, KISS-1 的表达率提供了患者的预后信息. 提示可以通过 KISS-1 的表达水平来预测患者的预后. Ikeguchi *et al*^[9] 报道虽然在肝癌组织没有发现 KISS-1 缺失, 而且 KISS-1/GAPDH 的比值在肝癌组织和非肝癌组织没有明显差异, 但 hOT7T175/GAPDH 比值却从非肝癌组织的 0.8 增加到肝癌组织 0.48, 并在 6 个晚期肝癌发现 KISS-1. hOT7T175 过份表达. 提示 KISS-1. hOT7T175 过份表达是和肝细胞肝癌的进展有密切的关系, 有可能 KISS-1 和 hOT7T175 过份表达是介导生长信号进入癌细胞. Lee *et al*^[10] 把转