

染了KiSS-1的克隆注入无胸腺鼠乳腺脂肪组织中,发现KiSS-1的表达显著抑制了肿瘤的转移,但没有影响肿瘤的形成.何进 *et al*^[11]报告KiSS-1可能是影响胃癌转移的基因之一.乔宠 *et al*^[12]报道KiSS1基因在滋养细胞表达随孕周增长而增加,提示该基因在调控早孕滋养细胞的浸润行为中起重要作用.本实验中,KiSS-1、hOT7T175基因在大肠癌周缘正常组织的表达率明显高于癌组织,预示着肿瘤的发生与KiSS-1基因的缺失有关,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,说明KiSS-1的表达与hOT7T175表达有明显的相关,且在肿瘤分期中,位于I-II期表达率也明显高于III-IV期的,提示KiSS-1编码产物与hOT7T175的结合,抑制了肿瘤的侵袭和转移.本课题运用RT-PCR方法,通过检测大肠癌组织中KiSS-1基因、hOT7T175基因RNA表达情况及相互间表达的内在关系,表明了KiSS-1可能是影响大肠癌转移的众多基因之一,并初步探讨KiSS-1基因、hOT7T175基因与大肠癌临床病理特征及转移的关系,预示KiSS-1、hOT7T175基因可能成为预测大肠癌恶性潜能的新的生物学标记物,通过恢复和提高体内KiSS-1表达有望为结直肠癌基因治疗开辟新的途径.

4 参考文献

- 1 Homo sapiens KiSS-1 metastasis-suppressor(KiSS1), mRNA gi|29571103|ref|NM_002256.2|[29571103]. Available from: URL:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?db=nucleotide&val=29571103>
- 2 Homo sapiens hot7t175 mRNA for G protein-coupled receptor, complete cds gi|14041797|dbj|AB051065.1|[14041797]. Available from: URL:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?db=nucleotide&val=14041797>
- 3 Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, Welch DR. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:1731-1737
- 4 Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, Matsumoto H, Hori A, Kanehashi K, Terao Y, Kumano S, Takatsu Y, Masuda Y, Ishibashi Y, Watanabe T, Asada M, Yamada T, Suenaga M, Kitada C, Usuki S, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Fujino M. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature* 2001;411:613-617
- 5 Kotani M, Detheux M, Vandenbogaerde A, Communi D, Vanderwinden JM, Le Poul E, Brezillon S, Tyldesley R, Suarez-Huerta N, Vandeput F, Blanpain C, Schiffmann SN, Vassart G, Parmentier M. The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *J Biol Chem* 2001;276:34631-34636
- 6 Horikoshi Y, Matsumoto H, Takatsu Y, Ohtaki T, Kitada C, Usuki S, Fujino M. Dramatic elevation of plasma metastatin concentrations in human pregnancy: metastatin as a novel placenta-derived hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:914-919
- 7 Muir AI, Chamberlain L, Elshourbagy NA, Michalovich D, Moore DJ, Calamari A, Szekeres PG, Sarau HM, Chambers JK, Murdock P, Steplewski K, Shabon U, Miller JE, Middleton SE, Darker JG, Larminie CG, Wilson S, Bergsma DJ, Emson P, Faull R, Philpott KL, Harrison DC. AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1. *J Biol Chem* 2001;276:28969-28975
- 8 Sanchez-Carbajo 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. *Am J Pathol* 2003;162:609-617
- 9 Ikeguchi M, Hirooka Y, Kaibara N. Quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction analysis for KiSS-1 and orphan G-protein-coupled receptor (hOT7T175) gene expression in hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003;129:531-535
- 10 Lee JH, Welch DR. Suppression of metastasis in human breast carcinoma MDA-MB-435 cells after transfection with the metastasis suppressor gene, kiss. *Cancer Res* 1997;57:2384-2387
- 11 何进, 秦新裕, 周络, 刘康达. 人胃癌组织 KiSS-1 基因表达水平的检测. *实用癌症杂志* 1999;14:101-102
- 12 乔宠, 林其德. KiSS-1 基因在孕早期绒毛组织中表达的初步研究. *中国实用妇产科杂志* 2003;19:289-290

编辑 潘伯荣 审读 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 •

胃癌细胞中 P-糖蛋白和 P53 蛋白检测的意义

王翠莲, 李宗铉

王翠莲, 长治医学院病理教研室 山西省长治市 046000
李宗铉, 中国医科大学病理教研室 辽宁省沈阳市 110001
山西省教委基金资助项目, No. 199751
通讯作者: 王翠莲, 046000, 山西省长治市延安南路46号, 长治医学院病理教研室.
电话: 0355-3128112
收稿日期: 2003-08-08 接受日期: 2003-12-08

摘要

目的: 检测多药耐药基因产物 P 糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)和 P53 蛋白在胃癌细胞中的表达及其临床意义.

方法: 采用免疫组化法, 对 66 例胃癌标本进行检测.

结果: 在未接受化疗胃癌患者的癌组织, P-gp 和 P53 表达分别为 34.5% 和 40.1%, P-gp 表达与癌细胞分化程度有关 ($P < 0.05$), P53 表达与淋巴结转移有关 ($P < 0.01$). P-gp 和 P53 共同表达阳性者 18 例, 共同表达阴性者 24 例, 呈协同表达, 二者间有显著差异 ($P < 0.05$).

结论: 对胃癌术后标本进行 P-gp 和 P53 蛋白检测, 揭示患

者原发性耐药, 指导临床治疗方案的制定, 从而使化疗个体化。

王翠莲, 李宗铨. 胃癌细胞中P-糖蛋白和P53蛋白检测的意义. 世界华人消化杂志 2005;13(8):1028-1029

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1028.asp>

0 引言

肿瘤细胞对化疗药物产生耐药性直接影响化疗的疗效. 如何克服耐药成功地进行肿瘤化疗, 是提高生存率的有效手段. 因此, 探讨耐药基因机制有着重要的实际意义及价值。

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院胃癌的切除标本66例(术前未经化疗的胃癌组织)。

1.2 方法 标本经中性甲醛固定后, 石蜡包埋, 切片厚

表1 P-gp 和P53蛋白在胃癌中表达

P-gp	n	分化程度			P53	n	淋巴结转移		P	P53	浸润深度			P
		高	中	低			有	无			黏膜层	肌层	浆膜层	
+	23	3 ^a	6	14	+	27	23	4	<0.01	+	1	2	24	>0.05
-	43	25	12 ^b	6	-	39	14	25		-	1	6	32	

^aP<0.05, ^bP<0.01.

表2 P-gp 和P53在胃癌细胞中的表达关系

P-gp	P53+	P53-	(n)/P
+	18	15	
-	9	24	<0.05

3 讨论

多药抗药性(MDR)形成机制复杂, 其中途径之一是: 通过P-糖蛋白的过度表达. P-糖蛋白位于细胞膜, 是一种能量依赖性药物排除泵(energy-dependent drug efflux pump), 他既可与一些抗肿瘤药物结合, 又有与ATP结合位点, P-糖蛋白一旦与抗肿瘤药物结合, 就可通过ATP分解提供能量, 将瘤细胞内药物泵出胞外, 使肿瘤药物在胞内的浓度不断下降, 其细胞毒作用因而减弱甚至完全消失, 从而产生耐药, 导致化疗失败. 因此, 如果能准确地检测MDR, P-gp表达水平, 用于指导临床治疗方案的选定, 将会有效地促进肿瘤消退、抑制复发与转移, 延长患者无瘤存活期和生存率. 有研究表明胃癌细胞P-gp高表达患者其化疗效果差, 恶性度高, 比P-gp蛋白阴性的胃癌患者生存期短, 预后差^[1-2] P-gp的阳性表达率各家报道不一, 有报道高达85%, 本研究P-gp蛋白阳性表达率为34.5%, 可能与用不同克隆的P-gp抗体和病例数量有关^[5]. 本研究P-gp蛋白阳性表达率为34.5%, 其阳性表达与癌细胞的浸润及转移无关(P<0.01), 故认为P-gp阳性表达有可能作为胃癌患者预后判断的一个独立指

度为4 μm. P-gp, P53蛋白(鼠抗人抗体, 福州迈新生物技术开发公司), 采用S-P免疫组化法. P-gp阳性定位于胞膜及胞质, 呈棕黄色, 阳性细胞表达<10%为阴性. (数100个细胞其阳性细胞数少于10个者为阴性)P53蛋白阳性定位于细胞核, 呈棕黄色, 阳性细胞数<5%为阴性.

统计学处理 采用 χ^2 检验.

2 结果

P-gp在胃癌中阳性表达为34.5%(23/66), 其阳性表达与胃癌浸润及淋巴结转移无关(P>0.05), 与胃癌分化程度有关(P<0.05, 表1), P53阳性表达为40.1%(27/66), 其表达与癌细胞浸润无关(P>0.05), 与淋巴结转移有明显差异(P<0.01, 表1). 在双重染色中P-gp和P53表达共同为阳性者为18例, 共同为阴性者为24例, 说明二者有一致性(P<0.05, 表2).

标, 但尚有待于进一步证实. 关于胃癌与浸润、转移及分化程度的关系有报道与三者均无关^[3].

P53蛋白基因包括野生型及突变型两种, 其中突变型P53具有抑制癌细胞凋亡和促进癌细胞增殖的作用. 本研究P53蛋白阳性表达为40.1% 其与肿瘤细胞浸润、分化程度无关, 但与淋巴结转移有明显关系(P<0.01), 与文献报道相符, 提示P53过表达促进癌细胞增殖及癌细胞转移, 故对判断患者预后有一定临床意义. P-gp与P53蛋白表达呈正相关, 说明二者之间有协同表达作用, 有研究表明, 突变型P53蛋白能增加MDR基因表达^[3], 同时通过抗细胞凋亡机制使肿瘤细胞产生耐药. 故认为P53蛋白高表达可为判断胃癌较差的一个指标^[4-5].

4 参考文献

- 1 陈春燕, 朱兆华. 胃癌P-糖蛋白表达与化疗效果相关. 世界华人消化杂志 2003;11:36-38
- 2 Chen GK, Lacayo NJ, Duran GE, Wang Y, Bangs CD, Rea S, Kovacs M, Cherry AM, Brown JM, Sikic BI. Preferential expression of a mutant allele of the amplified MDR1(ABCB1) gene in drug-resistant variants of a human sarcoma. *Br J Cancer* 2002;86:1578-1585
- 3 李建党, 施作霖, 黄良祥. 胃肠道腺癌P-糖蛋白和P53蛋白表达的关系. 中华普通外科杂志 2000;15:85-87
- 4 赵行远, 夏传生, 吴建平, 侯伟, 刘运芳. MDR1产物P-gp在结肠肿瘤中表达的意义. 世界华人消化杂志 1999;7:991
- 5 Ni CR. Expression significance of GST-p, P-gp, Top-II and nm23H1 in gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:897-901