

胃癌组织中KAI1、nm23及P53的表达及其临床意义

刘茗露, 刘斌, 邢传平, 陈一伟

刘茗露, 兰州大学基础医院病理研究所 甘肃省兰州市 730020
刘斌, 邢传平, 陈一伟, 兰州军区兰州总医院 甘肃省兰州市 730050
刘茗露, 女, 1978-11-30生, 汉族, 西安交通大学医学院毕业, 主要从事消化道肿瘤的研究。
通讯作者: 刘斌, 兰州军区兰州总医院病理科, 730050, 甘肃省兰州市 liumb@public.lz.gs.cn
电话: 0931-8975406 传真: 0931-8975404
收稿日期: 2005-11-30 接受日期: 2006-12-19

Expression of KAI1, nm23 and P53 in gastric carcinoma and their clinical significances

Ming-Lu Liu, Bin Liu, Chuan-Ping Xing, Yi-Wei Chen

Ming-Lu Liu, Institute of Pathology, Basic Medicine of Lanzhou University, Lanzhou 730020, Gansu Province, China
Bin Liu, Chuan-Ping Xing, Yi-Wei Chen, General Hospital of Lanzhou Military Command, Chinese PLA, Lanzhou 730050, Gansu Province, China
Correspondence to: Department of Pathology, General Hospital of Lanzhou Military Command, Chinese PLA, Lanzhou 730050, Gansu Province, China. liumb@public.lz.gs.cn
Received: 2005-11-30 Accepted: 2005-12-19

Abstract

AIM: To investigate the expression of KAI1, nm23 and P53 protein as well as their significances in the development of gastric carcinoma.

METHODS: The expression of KAI1, nm23 and P53 protein were detected by SP immunohistochemistry in gastric atypical hyperplasia ($n = 65$), gastric carcinoma ($n = 74$) and normal gastric tissues ($n = 22$).

RESULTS: The positive rates of KAI1 and nm23 protein expression were decreased with the malignancy of gastric tissues, and there were significantly differences between normal gastric tissues, atypical hyperplasia and carcinoma (KAI1: $\chi^2 = 20.885$, $P < 0.001$; nm23: $\chi^2 = 29.133$, $P < 0.05$), while the positive rate of P53 protein expression was in the opposite tendency ($\chi^2 = 21.954$, $P < 0.001$). The expression of KAI1, nm23 and P53 protein were notably correlated with the depth of invasion, lymph nodes metastasis

and vessel invasion ($\chi^2 = 20.885$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 29.133$, $P < 0.05$; $\chi^2 = 21.954$, $P < 0.001$), but they were not correlated with the age and gender of patients. Besides, the expression of KAI1 was positively related to that of nm23 ($r = 0.859$, $P < 0.05$), but negatively related to that of P53 ($r = -0.859$, $P < 0.05$). Negative correlation was also found between the expression of nm23 and P53 ($r = -0.874$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Loss expression of KAI1 and nm23 and over-expression of P53 may play important roles in the progression and lymph node metastasis of gastric carcinoma.

Key Words: Gastric carcinoma; KAI1; nm23; P53; immunohistochemical

Liu ML, Liu B, Xing CP, Chen YW. Expression of KAI1, nm23 and P53 in gastric carcinoma and their clinical significances. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;(5):491-496

摘要

目的: 探讨正常胃黏膜、不典型增生胃黏膜及癌组织中KAI1、nm23及P53蛋白的表达。

方法: 应用SP法免疫组化检测22例正常胃黏膜, 65例不典型增生胃黏膜及74例胃癌组织中的KAI1、nm23及P53蛋白的表达。

结果: 正常胃黏膜、不典型增生胃黏膜及胃癌组织中, KAI1和nm23阳性率呈降低趋势, 组间差异性有统计学意义($\chi^2 = 20.885$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 29.133$, $P < 0.05$); P53蛋白阳性表达率呈增加趋势, 组间差异性有统计学意义($\chi^2 = 21.954$, $P < 0.001$)。Fisher精确概率检验显示: 在胃癌组中不同的浸润深度、有无淋巴结转移和脉管侵犯组内KAI1、nm23及P53组阳性表达率的差异性有统计学意义($\chi^2 = 20.885$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 29.133$, $P < 0.05$; $\chi^2 = 21.954$, $P < 0.001$); 而在年龄、性别组间的差异性无统计学意义。Spearman等级相关分析显示KAI1与nm23表达呈正相关($r = 0.859$, $P < 0.05$); KAI1与P53表达呈负相关($r = -0.859$, $P < 0.05$),

■背景资料

目前文献中罕见胃癌组织中KAI1、nm23、及P53相互作用机制的报道, 胃癌中P53蛋白高表达的意义仍不确切。

■创新盘点

本研究通过对胃癌组织中KAI1、nm23、及P53表达的检测和分析发现抑癌基因KAI1与nm23的缺失以及P53蛋白的过表达可能是胃癌发生、发展及浸润和转移的重要原因之一。

nm23与P53表达呈负相关($r = -0.874, P < 0.05$)。

结论: 抑癌基因KAI1与nm23的缺失以及P53蛋白的过表达可能是胃癌发生、发展及浸润和转移的重要原因之一。

关键词: 胃癌; KAI1; nm23; P53; 免疫组织化学

刘茗露, 刘斌, 邢传平, 陈一伟. 胃癌组织中KAI1、nm23及P53的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2006;14(5):491-496
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/491.asp>

0 引言

胃癌是消化道肿瘤中最常见的一种, 也是我国死亡率最高的恶性肿瘤. 近年来在恶性肿瘤基因研究中不少学者提出多种基因协同作用假说. 认为在肿瘤发生发展和转移的各阶段, 至少有两个以上功能不同的癌基因各自发挥不同作用, 并在时间和空间上相互配合, 协同促进了组织的癌变及转移. 其中胃癌的发生就具有多阶段、多因素的特征. KAI1及nm23被认为是抑癌基因, 但在胃癌转移过程中的作用机制尚未阐明. P53蛋白正常功能丧失的最主要方式是基因突变, 突变型P53蛋白不但丧失了抑癌活性, 反而具有促进恶性转化的功能, 由抑癌基因转为原癌基因^[1], 胃癌细胞中P53蛋白积聚的临床意义仍不明确^[2]. 本研究采用免疫组化SP法检测KAI1、nm23及P53在正常胃黏膜、不典型增生胃黏膜及癌组织中的表达, 以探讨在胃癌发生、发展、转移浸润过程中肿瘤转移相关基因和转移抑制基因的作用及其关系。

1 材料和方法

1.1 材料 65例不典型增生胃黏膜及74例胃癌均来自兰州军区总医院2004-08/2005-07病理科存档石蜡包埋标本. 65例不典型增生胃黏膜, 包括轻度不典型增生20例, 中度不典型增生21例, 重度不典型增生24例. 胃癌组包括男性49例, 女性25例, 年龄30-84岁, 中位年龄62岁. 所有标本术前均未行放疗和化疗, 胃癌组织包括高分化腺癌21例, 中分化腺癌24例, 低分化腺癌21例, 黏液细胞癌8例; 其中淋巴结转移阳性组36例, 淋巴结转移阴性组38例; 有脉管侵犯者25例, 无脉管侵犯者49例; 所有标本均经40 g/L福尔马林固定, 常规石蜡包埋, 4 μ m厚切片, 分别进行HE和免疫组化染色. 同时取距离肿瘤组织>5 cm的胃黏膜22例作为正常黏膜。

1.2 方法 免疫组化采用SP法. 将制好的组织切片, 经二甲苯脱蜡, 梯度乙醇脱水后行免疫组化染色. 采用高压锅高温抗原修复后, 余步骤按试剂盒说明书进行操作. DAB显色, 苏木精复染, 中性树胶封固. PBS代替一抗作为阴性对照. 鼠抗人KAI1单抗为美国PharMingen公司产品, 克隆号50F11. 链菌素抗生物素蛋白-过氧化物酶(SP)试剂盒、即用型一抗nm23、P53试剂由北京中杉金桥生物技术有限公司提供。

KAI1蛋白阳性为胞膜上及胞质中出现棕褐色颗粒. 阴性对照为PBS代一抗. nm23阳性表达位于细胞质内. P53蛋白阳性为细胞核内出现棕褐色颗粒. 采用双盲法对每张切片在高倍镜($\times 400$)下计数10个视野, 首先按染色强度评分, 无染色为0分, 浅黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分; 再以阳性细胞所占百分比评分, 阴性为0分, 阳性细胞 $\leq 10\%$ 为1分, 11%-50%为2分, 51%-75%为3分, >75%为4分. 染色强度计分与阳性细胞百分比评分之和>2者为免疫组化阳性。

统计学处理 采用SPSS10.0统计软件进行统计分析, 包括 χ^2 检验、Fisher精确检验及求Spearman相关系数。

2 结果

2.1 KAI1、nm23及P53蛋白在不同胃组织中的表达 KAI1蛋白表达为腺上皮细胞膜出现棕黄(褐)色颗粒, 伴胞质部分有棕黄(褐)色颗粒沉着. 在正常胃黏膜组织中KAI1蛋白呈强阳性表达(图1A); 与正常胃黏膜比较: 高分化胃癌上皮细胞表达明显减弱(图1B), 中分化胃癌上皮细胞表达呈弱阳性(图1C), 低分化胃癌组织中仅见少数散在上皮细胞呈弱阳性表达(图1D). 说明正常胃黏膜组织中KAI1阳性率(81.8%, 18/22)高于胃癌组织(43.2%, 32/74). 组间差异性有统计学意义($\chi^2 = 10.111, P < 0.001$). P53蛋白在胃癌细胞核内出现黄(棕)色颗粒沉着. 正常胃黏膜组织中仅见少数散在上皮细胞呈弱阳性表达; 中度不典型增生胃黏膜组织中上皮细胞呈阳性表达(图2A); 低分化胃癌组织中上皮细胞表达较中度不典型增生胃黏膜组织中明显增强(图2D); 中分化胃癌上皮细胞表达呈阳性(图2C), 高分化胃癌上皮细胞表达呈强阳性(图2B). 说明正常胃黏膜组织中P53阳性率(18%, 4/22)低于胃癌组织(70.2%, 52/74), 其差异有统计学意义($\chi^2 = 18.930, P < 0.001$). nm23在正常胃黏膜及不典型增生的黏膜腺上皮细胞胞质中表达为阳性(图3A), 其阳性表达率呈递减

表 1 不同胃黏膜组织中KAI1、nm23及P53蛋白的表达情况

临床病理指标	n	KAI1		nm23		P53	
		阳性数(%)	阴性	阳性数(%)	阴性	阳性数(%)	阴性
正常胃黏膜	22	18 (81.8)	4	19 (86.3)	3	4 (18.0)	18
胃黏膜不典型增生	65	50 (76.9)	15 ^a	52 (80.0)	13 ^c	12 (18.4)	53 ^e
轻	20	17 (85.0)	3	18 (90.0)	2	3 (15.0)	17
中	21	17 (80.9)	4	20 (95.0)	1	2 (9.0)	19
重	24	16 (66.7)	8	14 (58.3)	10	7 (29.1)	17
胃腺癌	74	32 (43.2)	42 ^g	30 (40.5)	44 ⁱ	52 (70.2)	22 ^k
高分化	21	13 (61.9)	8	14 (66.7)	7	14 (66.7)	7
中分化	24	12 (50.0)	12	11 (45.8)	13	15 (62.5)	9
低分化	21	5 (23.8)	16	4 (19.0)	17	18 (85.7)	3
黏液细胞癌	8	2 (25.0)	6	1 (12.5)	7	8 (100.0)	0

各组内比较 ^{a,c,e,g,i,k} $P < 0.05$.

表 2 胃癌组织中KAI1、nm23及P53蛋白表达与临床病理参数的关系

临床病理指标	n	KAI1		nm23		P53	
		阳性数(%)	阴性	阳性数(%)	阴性	阳性数(%)	阴性
年龄(岁)							
< 45	34	16 (47.0)	18	18 (52.9)	16	20 (58.8)	14
≥ 45	40	21 (52.5)	19	25 (62.5)	15	30 (75.0)	10
性别							
男	49	21 (42.8)	28	21 (42.8)	28	34 (69.3)	15
女	25	11 (44.0)	14	9 (36.0)	16	18 (72.0)	7
浸润深度							
黏膜内	25	15 (60.0)	10 ^a	13 (52.0)	12 ^c	10 (40.0)	15 ^f
肌层	23	11 (47.8)	12	13 (56.5)	10	16 (69.5)	7
浆膜外	26	6 (23.0)	20	5 (19.2)	21	26 (100.0)	0
淋巴结转移							
无	38	24 (63.1)	14 ^g	22 (57.8)	16 ⁱ	19 (50.0)	19 ^j
有	36	8 (22.2)	28	8 (22.2)	28	33 (91.6)	3
脉管侵犯							
无	49	24 (49.0)	25 ^m	26 (53.0)	23 ^o	28 (57.1)	21 ^x
有	25	6 (24.0)	19	9 (36.0)	16	24 (96.0)	1

各组内比较 ^{a,c,g,i,m,o} $P < 0.05$; ^{f,l,x} $P < 0.001$.

趋势, χ^2 检验显示正常胃黏膜、不典型增生胃黏膜及胃癌(图3B-D)组间差异性有统计学意义($\chi^2 = 29.133$, $P < 0.001$). 各组内KAI1及nm23蛋白阳性表达率依次递减, 但各组内差异性无统计学意义. P53在正常胃黏膜及不典型增生组织腺上皮细胞质中为阴性表达, 在胃癌细胞质中基本为阳性表达, 其阳性表达率在正常胃黏膜、不典型增生及腺癌组织中呈递增趋势, χ^2 检验显示组间差异性有统计学意义($\chi^2 = 21.954$, $P < 0.001$)(表1).

2.2 KAI1、nm23及P53蛋白在胃癌中的表达见(表2). 经 χ^2 检验和Fisher精确概率法检验,

KAI1、nm23及P53在不同浸润深度胃癌组内、在有无淋巴结转移胃癌组内及在有无脉管侵犯组内表达的差异性有统计学意义($\chi^2 = 20.885$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 29.133$, $P < 0.05$; $\chi^2 = 21.954$, $P < 0.001$), 在年龄及性别组内表达的差异性却无统计学意义, 这可能是病例数太少所致, 有待于今后增大样本量继续研究.

2.3 胃癌中KAI1、nm23及P53表达的相关性 Spearman等级相关分析显示KAI1及nm23表达呈正相关($r = 0.859$, $P = 0.0006$), nm23与P53蛋白表达呈负相关($r = -0.859$, $P = 0.0009$), KAI1与

■同行评价

该研究标本量较大, 所选指标相关性、创新性佳, 有一定的科学及临床应用意义.

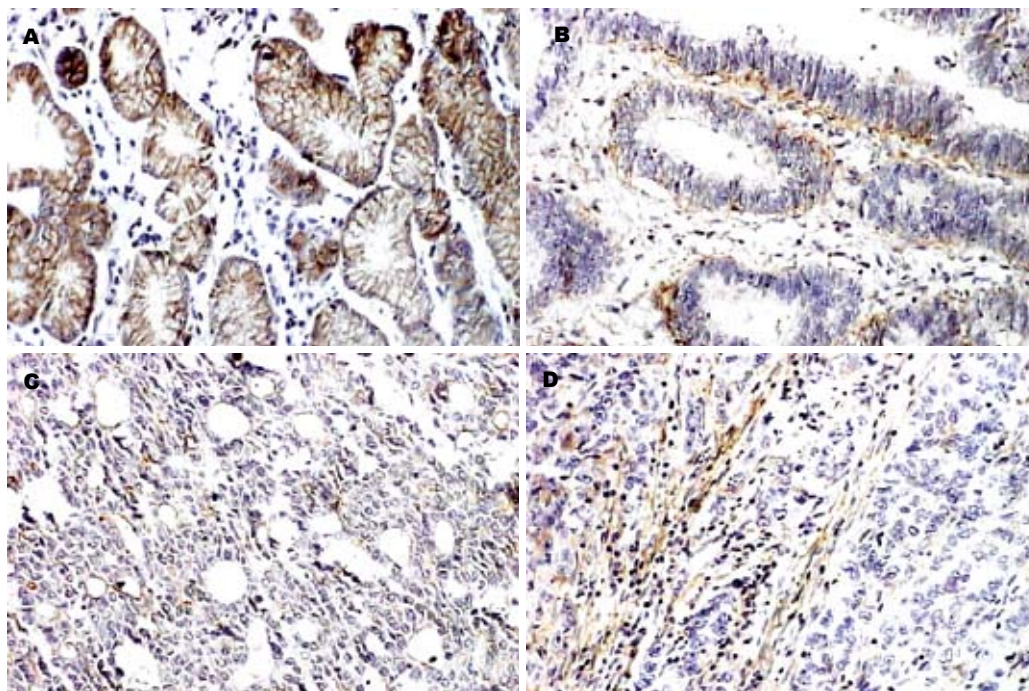


图1 KAI1蛋白的表达. A: 正常胃黏膜组织中呈强阳性表达 (SP × 200); B: 高分化胃癌组织的表达 (SP × 200); C: 中等分化胃癌组织中的表达 (SP × 200); D: 低分化胃癌组织中的表达 (SP × 200).

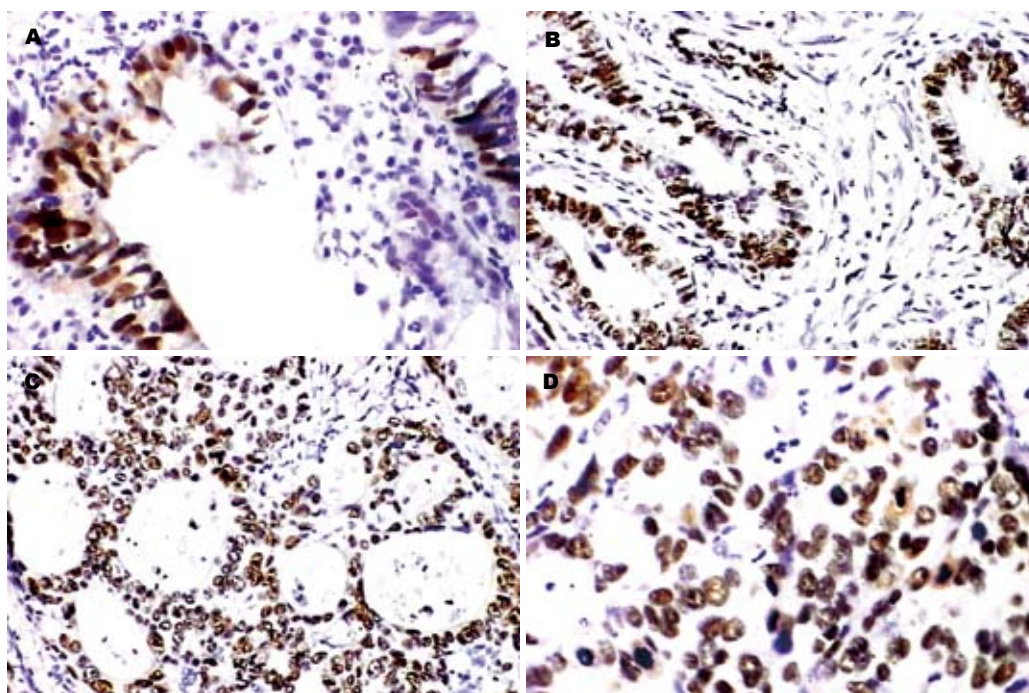


图2 P53蛋白的表达. A: 中度不典型增生黏膜组织中的阳性表达 (SP × 200); B: 高分化胃癌组织中表达 (SP × 200); C: 中等分化胃癌组织中表达 (SP × 200); D: 低分化胃癌组织中 (SP × 200).

P53表达呈负相关($r = -0.874$, $P = 0.000$).

3 讨论

胃癌的发生、发展涉及多个基因突变的过程及多种分子遗传学改变^[2]. 近期研究表明, KAI1和nm23基因在多种肿瘤中对转移有抑制作用.

自从1995年首先报道KAI1基因以来, KAI1基因在不同肿瘤中的转移抑制作用已有报道^[3]. 体外研究证实, 该基因表达的降低可使细胞-细胞基质的黏附力改变及细胞间相互作用降低. KAI1基因在绝大部分恶性肿瘤中起抑制肿瘤转移作用, 与肿瘤的分化程度、转移、预后显

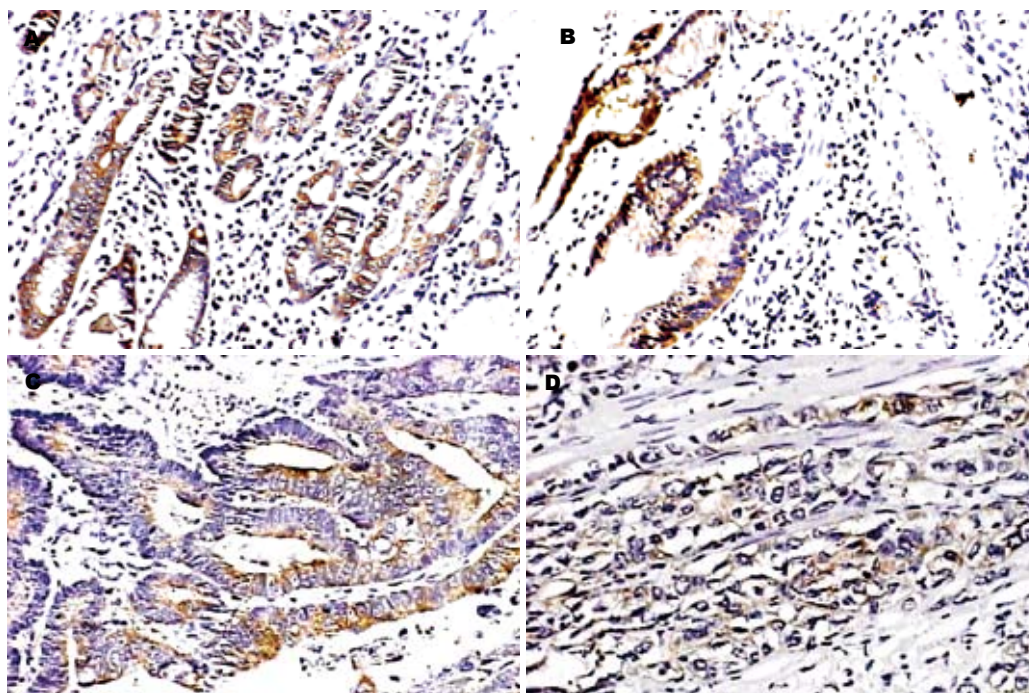


图3 nm23蛋白的表达. A: 正常胃黏膜组织中呈强阳性表达 (SP×200); B: 中度不典型增生黏膜组织中 (SP×200); C: 高分化胃癌组织中 (SP×200); D: 低分化胃癌组织中 (SP×200).

著相关, 可作为肿瘤预后指标^[4,5]. Hinoda研究证实, 在正常胃腺体中有丰富的KAI1 mRNA和蛋白表达. 胃癌组织中也有KAI1的表达, 但阳性率较低, 且KAI1低表达与胃癌的发展、分期有关. Lee *et al*^[3]研究也表明, 胃癌预后差与KAI1低表达有关. 但Lee *et al*^[8]等研究发现, 在正常胃腺体及胃癌组织中KAI1mMRA表达无统计学差异. 本研究表明, KAI1在正常胃组织中呈阳性表达81.8%(18/22); KAI1在胃癌中的阳性率为43.2%(32/74), 与Hinoda *et al*研究的结果相似, 但与患者年龄、性别无关. 由此可见, KAI1可以抑制胃黏膜上皮细胞的恶性转化以及癌细胞的浸润和转移.

nm23是目前肿瘤转移抑制基因的代表, 其活性与肿瘤增生过程及转移有关. 一般认为nm23表达在人类多种肿瘤中与淋巴结转移有相关性, 而与组织学分级的关系各家报道不一^[6]. 近年来很多文献报道, 在一些肿瘤的发生和进展过程中, nm23的表达水平是降低的, 但又有一些研究发现, 在诸如肺癌、膀胱癌、喉癌、胃癌等很多恶性肿瘤中, nm23表达的蛋白量是升高的^[7-10], 因此表明nm23与肿瘤的关系是相当复杂的. 本研究发现: 在胃正常组织中有较高的nm23阳性表达86.3%(19/22), 随胃癌分化程度的降低, nm23的表达率降低; 随胃癌浸润深度增加,

nm23阳性表达率降低; 伴有淋巴结转移的胃癌, nm23的表达降低, 这表明nm23参与胃癌发生、发展过程, 其蛋白表达随着浸润深度的增加呈递减趋势. 这表明nm23对胃癌的浸润性生长具有抑制作用, 并可作为预测胃癌转移及判断预后的指标之一.

p53基因是目前公认的重要抑癌基因^[11,12]. p53基因分为野生型和突变型两种类型, Lee *et al*^[8]研究表明P53蛋白过表达与胃癌的预后密切相关, 其阳性率越高则肿瘤的恶性程度越高, 分化程度越低. 本研究采用免疫组化SP法, 使用P53单克隆抗体测定74例胃癌及22例胃正常组织中P53的表达情况. 结果发现, 正常胃组织中很少有P53蛋白表达18%(4/22), 而在74例胃癌中P53阳性率为70.2%(52/74), 并且P53表达与胃癌分期、分级有关. 本研究表明P53过度表达与肿瘤的分化、浸润、转移有关.

肿瘤的进展与转移是多基因共同作用的结果. 本研究提示胃癌组织中抑癌基因及原癌基因间可能组成了复杂的肿瘤抑制及促进网络, 任何一种蛋白的功能异常, 均可使肿瘤细胞获得自主生长优势, 促进恶性肿瘤细胞的浸润和转移. 对胃癌患者进行KAI1, nm23及P53蛋白检测有可能成为临床判断胃癌分化程度、浸润深度及转移潜能的重要指标.

4 参考文献

- 1 Jackson P, Grimm MO, Kingsley EA, Brosius U, Antalis T, Yardley G, Russell PJ. Relationship between expression of KAI1 metastasis suppressor gene, mRNA levels and P53 in human bladder and prostate cancer cell lines. *Urol Oncol* 2002; 7: 99-104
- 2 Shinohara T, Miki T, Nishimura N, Nokihara H, Hamada H, Mukaida N, Sone S. Nuclear factor-kappaB-dependent expression of metastasis suppressor KAI1/CD82 gene in lung cancer cell lines expressing mutant P53. *Cancer Res* 2001; 61: 673-678
- 3 Lee JH, Seo YW, Park SR, Kim YJ, Kim KK. Expression of a splice variant of KAI1, a tumor metastasis suppressor gene, influences tumor invasion and progression. *Cancer Res* 2003; 63: 7247-7255
- 4 季润元, 沈阳, 王成海, 孙泽, 冯振卿. KAI1/CD82蛋白表达与食管癌淋巴结转移的关系. *实用癌症杂志* 2004; 19: 379-380
- 5 Yang X, Wei LL, Tang C, Slack R, Mueller S, Lippman ME. Overexpression of KAI1 suppresses *in vitro* invasiveness and *in vivo* metastasis in breast cancer cells. *Cancer Res* 2001; 61: 5284-5288
- 6 Salerno M, Ouatas T, Palmieri D, Steeg PS. Inhibition of signal transduction by the nm23 metastasis suppressor: possible mechanisms. *Clin Exp Metastasis* 2003; 20: 3-10
- 7 Chen JQ, Zhan WH, He YL, Peng JS, Wang JP, Cai SR, Ma JP. Expression of heparanase gene, CD44v6, MMP-7 and nm23 protein and their relationship with the invasion and metastasis of gastric carcinomas. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 776-782
- 8 Lee HS, Lee HK, Kim HS, Yang HK, Kim WH. Tumour suppressor gene expression correlates with gastric cancer prognosis. *J Pathol* 2003; 200: 39-46
- 9 Delektorskaia VV, Perevoshchikov AG, Kushlinskii NE. Expression of nm23 and cerbB-2 proteins in cells of primary colorectal cancer and its metastases. *Arkiv Patol* 2003; 65: 11-15
- 10 Forte A, D'Urso A, Gallinaro LS, Lo Storto G, Soda G, Bosco D, Bezzi M, Vietri F, Beltrami V. NM23 expression as prognostic factor in colorectal carcinoma. *G Chir* 2002; 23: 61-63
- 11 狄根红, 刘刚, 吴昊, 沈镇宙, 邵志敏. 乳腺癌患者外周血DNA P53基因突变的检测及其与预后关系的研究. *中国肿瘤杂志* 2003; 25: 137-140
- 12 Chen SS, Chang PC, Cheng YW, Tang FM, Lin YS. Suppression of the STK15 oncogenic activity requires a transactivation-independent P53 function. *EMBO J* 2002; 21: 4491-4499

电编 韩江燕 编辑 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006 年版权归世界胃肠病学杂志社

•消息•

第十届全国普通外科学术会议征文通知

本刊讯 由解放军普通外科专业委员会主办, 南京军区福州总医院承办的“第十届全国普通外科学术会议”拟定于2006年7月在福州举行. 会议采用院士论坛、专题报告等形式, 对普通外科近年来的新技术、新方法及发展趋势进行介绍和讨论. 欢迎军内外普通外科医师参加会议.

1 征文内容

征文内容: 有关普通外科疾病的诊断、治疗的基础和临床研究及护理内容.

2 征稿要求

征稿要求包括: (1) 要求中文全文(4000字以内)及摘要(500字以内)各1份. 稿件请寄软盘(Word 格式), 欢迎用电子邮件方式投稿. (2) 来稿请注明单位、作者姓名、邮编及联系电话(请自留底稿, 恕不退稿), 请在信封左下角注明“会议征文”字样.

来稿请寄: 邮编: 350025 福建省福州市西二球路156号 南京军区福州总医院普通外科 王烈收. E-mail地址: www.fzptwk@public.fz.fj.cn 传真: 0591-83796855, 电话: 0591-24937077, 军线: 0611-97077, 959770. 联系人: 王烈