

胃镜活检组织*kiss-1*基因检测与肿瘤分期及预后的关系

徐夏, 张志强, 关晓军, 卢润章, 吴丹西, 郑丹

背景资料
肿瘤转移是恶性肿瘤最重要的生物学特征之一。肿瘤转移抑制基因在体内能直接抑制转移潜能并抑制肿瘤向第二位点扩散, 故成为临床及基础研究的热点。*kiss-1*基因是近年新发现的一种肿瘤转移抑制基因。

徐夏, 张志强, 关晓军, 卢润章, 吴丹西, 哈尔滨市第一医院血液病肿瘤研究所 黑龙江省哈尔滨市 150010
郑丹, 哈尔滨市红十字医院妇产科 黑龙江省哈尔滨市 150010
哈尔滨市科技创新人才研究专项基金资助项目, No. RC2008RFQSQ078
作者贡献分布: 此课题由徐夏与关晓军设计; 研究过程由徐夏、关晓军、卢润章及张志强操作完成; 研究所用试剂及分析工具由卢润章提供; 数据分析由徐夏、吴丹西及郑丹完成。
通讯作者: 徐夏, 副主任医师, 150010, 黑龙江省哈尔滨市道里区地段街149号, 哈尔滨市第一医院血液病肿瘤研究所。
xuxia1972@126.com
电话: 0451-84883478 传真: 0451-87650339
收稿日期: 2009-12-16 修回日期: 2010-01-21
接受日期: 2010-01-26 在线出版日期: 2010-03-08

Relationship of *kiss-1* gene expression with the TNM stage and prognosis in gastric cancer

Xia Xu, Zhi-Qiang Zhang, Xiao-Jun Guan, Run-Zhang Lu, Dan-Xi Wu, Dan Zheng

Xia Xu, Zhi-Qiang Zhang, Xiao-Jun Guan, Run-Zhang Lu, Dan-Xi Wu, Institute of Hematology & Oncology, Harbin First Hospital, Harbin 150010, Heilongjiang Province, China
Dan Zheng, Department of Obstetrics and Gynecology, Harbin Red Cross Hospital, Harbin 150010, Heilongjiang Province, China
Supported by: the Special Fund for Scientific and Technological Innovative Talents in Harbin, No. RC2008RFQSQ078
Correspondence to: Xia Xu, Institute of Hematology & Oncology, Harbin First Hospital, 149 Didian Street, Daoli District, Harbin 150010, Heilongjiang Province, China. xuxia1972@126.com
Received: 2009-12-16 Revised: 2010-01-21
Accepted: 2010-01-26 Published online: 2010-03-08

Abstract

AIM: To investigate the clinical value of the expression of *kiss-1* (a metastasis suppressor gene) in gastric cancer.

METHODS: The expression of *kiss-1* mRNA in gastroscopic biopsy specimens taken from 30 gastric cancer patients was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction. Based on *kiss-1* expression level, the patients were divided into two groups: those with high and low expression of *kiss-1* mRNA. The clinicopathologic characteristics of gastric cancer were then

compared between the two groups.

RESULTS: The expression levels of *kiss-1* mRNA in stage III-IV (TNM) gastric cancer patients ($t = 1.87$, $F = 1.00$, $P = 0.025$) and those with frequent venous invasion ($t = 3.51$, $F = 1.22$, $P = 0.009$) or frequent distant lymph node metastasis ($t = 2.26$, $F = 2.17$, $P = 0.009$) were significantly lower than those in stage I-II (TNM) gastric cancer patients and those without venous invasion or distant lymph node metastasis, respectively.

CONCLUSION: The expression level of *kiss-1* mRNA can be used as an important biological marker for evaluating the TNM stage and prognosis of gastric cancer.

Key Words: *Kiss-1*; Prognosis; Tumor staging; Prognosis

Xu X, Zhang ZQ, Guan XJ, Lu RZ, Wu DX, Zheng D. Relationship of *kiss-1* gene expression with the TNM stage and prognosis in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(7): 726-729

摘要

目的: 研究*kiss-1*基因在胃癌中的表达水平及其临床意义。

方法: 30例患者依照PCR技术检测出的*kiss-1*表达中位数分为高表达和低表达2组, 对比临床病理学特征。

结果: *kiss-1*基因低表达者较高表达者均伴有低肿瘤分期($t = 1.87$, $F = 1.00$, $P = 0.025$)、频发肿瘤周围静脉侵袭($t = 3.51$, $F = 1.22$, $P = 0.009$)和远处淋巴结转移($t = 2.26$, $F = 2.17$, $P = 0.009$)。

结论: *kiss-1*基因表达可以成为反映胃癌分期和预后的重要生物学标志物。

关键词: *kiss-1*; 胃镜; 肿瘤分期; 预后

徐夏, 张志强, 关晓军, 卢润章, 吴丹西, 郑丹. 胃镜活检组织*kiss-1*基因检测与肿瘤分期及预后的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18(7): 726-729

同行评议者
姚登福, 教授, 南通大学附属医院分子医学中心

http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/726.asp

0 引言

肿瘤转移是恶性肿瘤最重要的生物学特征之一, 肿瘤转移抑制基因在体内能直接抑制转移潜能并抑制肿瘤向第二位点扩散, 故成为临床及基础研究的热点, *kiss-1*基因是近年新发现的一种肿瘤转移抑制基因. 我们选取已经病理证实但未行手术和其他治疗的胃癌患者, 在麻醉下活检肿瘤组织, 应用PCR技术提取并扩增肿瘤的*kiss-1* mRNA, 通过该基因的表达同时结合患者经手术后的临床病理学特征进行分析, 旨在分析其在胃癌发生、发展及浸润、转移中所起的作用, 为进一步探讨胃癌的发生、发展及浸润、转移机制和寻找有效地抑制胃癌浸润、转移途径提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 TRIzol试剂为大连宝生物工程有限公司生产. 逆转录合成试剂盒为瑞士Roche公司生产. Olympus CV-240电子胃镜, 美国ABI公司PCR仪, 德国贝朗医疗有限公司Perfusor Compact S注射泵, 英国GE公司Datex-Ohmeda Excel-80麻醉机.

1.2 方法

1.2.1 分组: 对30例病理证实均为胃腺癌, 之前均未接受手术、化疗、放疗及免疫治疗的患者行胃镜活检, 手术后平均分为2组进行临床病理学特征分析, 分组原则为通过测定所得*kiss-1*基因表达率的中位数来界定, 分为高表达组(15例)和低表达组(15例).

1.2.2 取材: 所有患者应用注射泵推注瑞芬太尼和丙泊酚, 在麻醉状态下使胃镜进至病变部位, 应用活检钳夹取肿瘤组织数块, 检查中确保患者生命体征平稳.

1.2.3 RNA抽提和RT-PCR: 将存放在标本瓶中的2-4块肿瘤组织用DEPC处理过的生理盐水洗净血液, 立即置于液氮中, 24 h后储存在-80 °C冰箱保存, 备RNA抽提. 用TRIzol试剂提取组织总RNA, 逆转录合成cDNA. PCR扩增检测*kiss-1*基因的mRNA表达及其 β -actin表达, 以 β -actin作定量对照, 对结果进行分析. PCR引物序列及退火温度见表1. PCR反应后, 2%琼脂糖凝胶电泳, 紫外灯下照相.

统计学处理 采用SPSS14.0统计软件, 采用 χ^2 检验中Fisher确切概率法、*t*检验和*F*检验, ($P < 0.05$)为差异有统计学意义.

2 结果

结合临床病理学特征, 发现*kiss-1* mRNA表达水平在TNM I - II、无肿瘤周围静脉侵袭以及无远处淋巴结转移的患者明显高于TNM III-IV、有肿瘤周围静脉侵袭和有远处淋巴结转移者 ($P < 0.05$). 不同临床病理学特征胃癌组织中*kiss-1* mRNA表达见表2及图1.

3 讨论

目前, 癌症是威胁人类健康的第一杀手, 大多数患者死于癌症的转移. 如果肿瘤转移得到控制, 将大幅度提高肿瘤患者的生存期限和生活质量^[1,2]. 因此, 揭示肿瘤侵袭和转移的分子机制是当今肿瘤研究的焦点. *kiss-1*是继nm23后1996年首先由Lee等^[3]使用修饰递减杂交技术, 在黑色素瘤细胞系中分离鉴别的另一种新近发现的与肿瘤转移有关的肿瘤转移抑制基因. *kiss-1*基因定位于染色体1q32-q41, 有4个外显子, 编码1个大小为145个氨基酸的亲水性蛋白^[4-7]. Kotani等^[8]报道1个由*kiss-1*蛋白的68-121个氨基酸残基构成的54个氨基酸残基肽, 在孤儿G蛋白偶联受体(orphan G protein-coupled receptors, GPCRs)上显示拮抗活性的天然多肽, 这种*kiss-1*多肽能明显抑制肿瘤细胞的化学趋向性和侵袭性, 并限制肿瘤细胞的迁移蠕动功能, 从而抑制恶性肿瘤的侵袭和转移. 随后应用RT-PCR、原位杂交及免疫组织化学等方法, 研究发现*kiss-1*基因在包括甲状腺、乳腺、心脏、肝脏、胃、结肠、肾脏、胰腺、膀胱、卵巢等多种正常组织中广泛表达, 在肿瘤存在转移、进展快、预后差者表达阴性或缺失, 而*kiss-1*阳性率高者肿瘤进展慢、淋巴结及远处转移率低、预后好^[9-17]. 这些研究结果进一步印证了*kiss-1*为恶性肿瘤重要的转移抑制基因, 是评估恶性肿瘤侵袭和转移潜能及预后的重要标志物^[10-11,18-19].

本试验结果显示: *kiss-1* mRNA表达在肿瘤分期方面相比较差异有显著性($P < 0.05$); *kiss-1* mRNA在不同分化的胃癌组织中*kiss-1* mRNA表达组间比较差异无显著性, 表明*kiss-1*参与胃癌的发生发展过程, 可能和*kiss-1*通过信号传导通路促使细胞内第二信使DAG和IP3产生, 导致细胞内钙离子水平增加, 进而抑制肿瘤细胞的增殖、诱导其凋亡有关^[20].

本试验结果显示: *kiss-1* mRNA在有肿瘤周围静脉侵袭以及远处淋巴结转移的胃癌患者表达率降低, 与无肿瘤周围静脉侵袭($P < 0.01$)以及

研究前沿

研究发现*kiss-1*基因的表达下降或缺失与包括黑色素瘤、乳腺癌、膀胱癌、食管癌、肝癌、胰腺癌、结肠癌等多种疾病的进展和转移密切相关, *kiss-1*基因及其蛋白产物为临床癌症转移的治疗提供了新的靶点; 亟待研究的问题是*kiss-1*基因抑制肿瘤转移的具体机制和如何利用他进行抑制治疗.

创新盘点

本文运用麻醉条件下胃镜活检组织检测*kiss-1*基因的表达水平, 取得了与检测病理标本基因表达情况相似的结果, 创新点在于无痛和微创技术.

应用要点
手术前通过胃镜活检组织检测 *kiss-1* 基因的表达水平, 可以预先检测并分析胃癌的分期及预后, 对于临床有一定的指导意义, 从而为患者制定最佳治疗方案并可节约医疗成本。

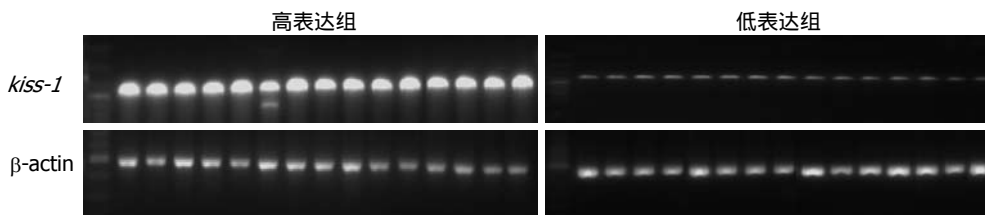


图1 *kiss-1* mRNA低表达及高表达。

表1 RT-PCR的引物序列

引物名称	引物序列	退火温度(°C)
<i>kiss-1</i>	上游引物 5'-GCCATTAGAAAAGGTGGCCTC-3'	55
	下游引物 5'-CCAGTTGTAGTTCGGCAGGTCCTC-3'	
β-actin	上游引物 5'-GATTCCTATGTGGGCGACGAG-3'	55
	下游引物 5'-CCATCTCTTGCTCGAAGTCC-3'	

表2 不同临床病理特征胃癌组织中*kiss-1*蛋白的表达

	高表达	低表达	<i>t</i> 值	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
肿瘤大小(cm)	6.7 × 4.3	6.5 × 5.3	1.36	1.74	0.374
分化程度					
高	9	8	0.00	1.00	1.000
中/低	6	7			
肿瘤分期					
I	12	5	1.87	1.00	0.025
II	3	10			
静脉侵袭					
阳	4	12	3.51	1.22	0.009
阴	11	3			
远处转移					
有	2	7	2.26	2.17	0.009
无	13	8			

远处淋巴结转移($P \leq 0.01$)的胃癌患者表达率相比, 差异有显著性; 表明*kiss-1*参与胃癌浸润转移过程, 可能是*kiss-1*可通过调节细胞质内抑制性IκBα降解胞质中p65/p50 NF-κB蛋白, 使其与MMP-9启动子的结合降低, 从而减少MMP-9的合成, 导致细胞外基质降解减少、细胞间黏附能力增强及肿瘤细胞移行能力下降, 进而抑制肿瘤细胞的侵袭性^[14-21]。

本研究采用微创、无痛的方式取得胃肠中活检组织, 可以对肿瘤的分期及预后进行早期判定, 方法简单、方便、价格低、易为患者接受, *kiss-1*基因表达缺失或下调在胃癌的发展、侵袭及转移过程中发挥重要的作用^[2,22], 可已成为判断肿瘤已发生侵袭和转移的重要的生物学标志; 并且可以把*kiss-1*基因作为靶点对肿瘤转

移进行基因治疗^[23-25]。*kiss-1*基因在胃癌发生、发展及浸润、转移过程中的具体作用机制还有待于进一步的研究。

志谢: 感谢哈尔滨市第一医院教科科崔艳科长在研究工作中给予的大力帮助。

4 参考文献

- Dhar DK, Kubota H, Tachibana M, Kinugasa S, Masunaga R, Shibakita M, Kohno H, Nagasue N. Prognosis of T4 gastric carcinoma patients: an appraisal of aggressive surgical treatment. *J Surg Oncol* 2001; 76: 278-282
- 张延新, 任亮, 宁文刚, 杜华贞, 陈奎生, 张云汉. *kiss-1*蛋白在胃癌中的表达及临床病理意义. *广东医学* 2008; 29: 2035-2036
- 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
- West A, Vojta PJ, Welch DR, Weissman BE. Chromosome localization and genomic structure of the KiSS-1 metastasis suppressor gene (KISS1). *Genomics* 1998; 54: 145-148
- 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
- Janneau JL, Maldonado-Estrada J, Tachdjian G, Miran I, Motté N, Saulnier P, Sabourin JC, Coté JF, Simon B, Frydman R, Chaouat G, Bellet D. Transcriptional expression of genes involved in cell invasion and migration by normal and tumoral trophoblast cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 5336-5339
- Dun SL, Brailoiu GC, Parsons A, Yang J, Zeng Q, Chen X, Chang JK, Dun NJ. Metastatin-like

- immunoreactivity in the rat medulla oblongata and spinal cord. *Neurosci Lett* 2003; 335: 197-201
- 8 Kotani M, Detheux M, Vandenbogaerde A, Communi D, Vanderwinden JM, Le Poul E, Brézillon 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
 - 9 Ringel MD, Hardy E, Bernet VJ, Burch HB, Schuppert F, Burman KD, Saji M. Metastin receptor is overexpressed in papillary thyroid cancer and activates MAP kinase in thyroid cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2399
 - 10 Sanchez-Carbayo 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
 - 11 Ikeguchi M, Yamaguchi K, Kaibara N. Clinical significance of the loss of KiSS-1 and orphan G-protein-coupled receptor (hOT7T175) gene expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 1379-1383
 - 12 Stark AM, Tongers K, Maass N, Mehdorn HM, Held-Feindt J. Reduced metastasis-suppressor gene mRNA-expression in breast cancer brain metastases. *J Cancer Res Clin Oncol* 2005; 131: 191-198
 - 13 Hata K, Dhar DK, Watanabe Y, Nakai H, Hoshiai H. Expression of metastin and a G-protein-coupled receptor (AXOR12) in epithelial ovarian cancer. *Eur J Cancer* 2007; 43: 1452-1459
 - 14 Hou YK, Wang Y, Cong WM, Wu MC. [Expression of tumor metastasis-suppressor gene KiSS-1 and matrix metalloproteinase-9 in portal vein tumor thrombus of hepatocellular carcinoma] *Ai Zheng* 2007; 26: 591-595
 - 15 Wang ZH, Feng XS, Wang GP, Gao SG, Mi JQ, Sun JT, Qu ZF, Han J, Zhang L. [Expression and clinical significance of KiSS-1 and E-cadherin in gastric cardia carcinoma] *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2007; 10: 380-382
 - 16 Shengbing Z, Feng LJ, Bin W, Lingyun G, Aimin H. Expression of KiSS-1 gene and its role in invasion and metastasis of human hepatocellular carcinoma. *Anat Rec (Hoboken)* 2009; 292: 1128-1134
 - 17 桑温昌, 何庆泗, 孙充兵. Kiss-1和kai-1在大肠癌组织中的表达及临床意义. *中国现代普通外科进展* 2009; 12: 398-401
 - 18 Dhar DK, Naora H, Kubota H, Maruyama R, Yoshimura H, Tonomoto Y, Tachibana M, Ono T, Otani H, Nagasue N. Downregulation of KiSS-1 expression is responsible for tumor invasion and worse prognosis in gastric carcinoma. *Int J Cancer* 2004; 111: 868-872
 - 19 Yao HL, Yang ZL, Li YG, Liu GW. [In situ hybridization study on the expression of Kiss-1 and KAI-1 metastasis suppressor genes in gastric cancer] *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2007; 10: 274-277
 - 20 Rao JS, Bhoopathi P, Chetty C, Gujrati M, Lakka SS. MMP-9 short interfering RNA induced senescence resulting in inhibition of medulloblastoma growth via p16(INK4a) and mitogen-activated protein kinase pathway. *Cancer Res* 2007; 67: 4956-4964
 - 21 Hori A, Honda S, Asada M, Ohtaki T, Oda K, Watanabe T, Shintani Y, Yamada T, Suenaga M, Kitada C, Onda H, Kurokawa T, Nishimura O, Fujino M. Metastin suppresses the motility and growth of CHO cells transfected with its receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 286: 958-963
 - 22 Mead EJ, Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP. Kisspeptins: a multifunctional peptide system with a role in reproduction, cancer and the cardiovascular system. *Br J Pharmacol* 2007; 151: 1143-1153
 - 23 王战会, 冯笑山. 肿瘤转移抑制基因kiss-1的研究进展. *临床肿瘤学杂志* 2006; 11: 553-555
 - 24 Iiizumi M, Liu W, Pai SK, Furuta E, Watabe K. Drug development against metastasis-related genes and their pathways: a rationale for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1786: 87-104
 - 25 Shoji S, Tang XY, Umemura S, Itoh J, Takekoshi S, Shima M, Usui Y, Nagata Y, Uchida T, Osamura RY, Terachi T. Metastin inhibits migration and invasion of renal cell carcinoma with overexpression of metastin receptor. *Eur Urol* 2009; 55: 441-449

同行评价
本文科学性和可读性能反映胃肠病学临床和基础研究的先进水平。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告—RCCSE 权威、核心期刊排行榜与指南》

本刊讯 《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》由中国科学评价研究中心、武汉大学图书馆和信息管理学院联合研发,采用定量评价和定性分析相结合的方法,对我国万种期刊大致浏览、反复比较和分析研究,得出了65个学术期刊排行榜,其中《世界华人消化杂志》位居396种临床医学类期刊第45位。(编辑部主任:李军亮 2010-01-08)