论著

文章编号:1000-5404(2010)22-2424-03

肿瘤转移抑制基因 KAI1/CD82 在喉鳞状细胞癌、喉鳞状上皮内瘤变中的表达及临床意义

孟黎平,黄志纯 (210009 南京,东南大学附属中大医院耳鼻咽喉科)

【摘要】 **目的** 探讨喉鳞状细胞癌(laryngeal squamous cell carcinoma, LSCC)、喉鳞状上皮内瘤变(squamous intraepithelial neoplasia, SIN)中肿瘤转移抑制基因 KAI1/CD82 表达的临床意义。**方法** 采用免疫组织化学染色 EnVision 法检测 26 例 LSCC, 34 例喉 SIN Ⅰ~Ⅲ级和 10 例正常喉组织中 KAI1/CD82 蛋白的表达和分布,并结合患者的临床病理资料对其结果进行对比分析。**结果** LSCC 中 KAI1/CD82 阴性、弱、中、强表达依次为 57.7%(15/26),26.9%(7/26),15.4%(4/26),0%(0/26),与喉 SIN 组和正常喉组织组相比,KAI1/CD82 在 LSCC 的表达存在显著下调($P=0.000\ 5$)。LSCC 中 KAI1/CD82 表达与 TNM 分期、病理分级、颈淋巴结转移均无关($P>0.05$)。喉 SIN 中 KAI1/CD82 表达出现下调趋势,但与正常喉组织组相比差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** KAI1/CD82 表达的改变是 LSCC 发生、发展中的早期事件,喉 SIN 向 LSCC 转化过程中 KAI1/CD82 可能起非常重要的作用,KAI1/CD82 可作为预测肿瘤转移潜能的指标之一。

【关键词】 喉肿瘤;鳞状细胞癌;鳞状上皮内瘤变;KAI1/CD82;免疫组化
【中图法分类号】 R392.3;R730.23;R739.65 【文献标志码】 A

Expression of KAI1/CD82 in laryngeal squamous cell carcinoma and laryngeal squamous intraepithelial neoplasia and its clinical significance

Meng Liping, Huang Zhichun (Department of Otolaryngology, Affiliated Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing, Jiangsu Province, 210009, China)

【**Abstract**】 **Objective** To explore the clinical significance of the expression of KAI1/CD82 in the tissues of laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC), laryngeal squamous intraepithelial neoplasia (SIN) Ⅰ to Ⅲ and normal laryngeal mucosa. **Methods** Envision immunohistochemistry was used to detect the expression of KAI1/CD82 gene in 26 specimens of LSCC, 34 specimens of laryngeal SIN Ⅰ to Ⅲ, and 10 specimens of normal laryngeal mucosa. Correlation of the expression of KAI1/CD82 gene to clinicopathologic data were statistically analyzed. **Results** The rates of negative, weak, moderate, and strong expression of KAI1/CD82 in LSCC were 57.7% (15/26), 26.9% (7/26), 15.4% (4/26), and 0% (0/26), respectively, significantly lower than those in normal laryngeal mucosa and laryngeal SIN ($P=0.000\ 5$). Expression of KAI1/CD82 in LSCC had no correlation with clinical stage, tumor histological grade and lymph node metastasis ($P>0.05$). There was no correlation between the expression of KAI1/CD82 in laryngeal SIN Ⅰ~Ⅲ and histological grade ($P>0.05$). **Conclusion** The change of KAI1/CD82 expression is an early event in tumorigenesis of LSCC. KAI1/CD82 may play a significant role from laryngeal SIN to LSCC. Its down-regulation may be considered as a potential marker for tumor metastasis.

【**Key words**】 laryngeal neoplasms; laryngeal squamous cell carcinoma; squamous intraepithelial neoplasia; KAI1/CD82; immunohistochemistry

Corresponding author: Meng Liping, E-mail: meng_lp@sina.com

头颈部鳞癌发病率较高,居全身恶性肿瘤第 6 位[1]。研究表明喉癌发病率占全身恶性肿瘤 1%~5%,居我国北方男性头颈部恶性肿瘤第 1 位。喉鳞状上皮内瘤变(squamous intraepithelial neoplasia, SIN)癌变率一般在 3%~10%[2]。因此病变发展趋势的判定对指导临床治疗有非常重要的意义。

【通信作者】 孟黎平,E-mail:meng_lp@sina.com

肿瘤侵袭、转移是一个极其复杂的多基因调控和多步骤发展过程。KAI1/CD82 基因是新近研究发现的一种肿瘤转移抑制基因，它的正常表达能抑制肿瘤的转移能力。1995 年 Dong 等[3]从人前列腺癌杂交细胞 AT6.1 中克隆出转移抑制基因，并将其命名为 KAI1/CD82。KAI1/CD82 分布极其广泛，机体大多数组织均有表达，它在多数恶性肿瘤中表达降低，且与肿瘤的预后、恶性进展、治疗以及与其他肿瘤相关基因有着密切的关系。

本研究从蛋白水平检测人喉鳞状细胞癌（laryngeal squamous cell carcinoma，LSCC）、喉 SIN 和正常喉黏膜组织中 KAI1/CD82 的表达情况，以探讨 KAI1/CD82 表达在 LSCC、喉 SIN 发病机制中的作用。

1　资料与方法

1.1　临床资料

选择本院 1998 年 1 月至 2008 年 12 月经手术切除，病理诊断证实为 LSCC 的石蜡标本 26 例，所有病例手术前未进行放射治疗或化学治疗。26 例患者中男性 22 例，女性 4 例，年龄 37～77 岁，平均 63.2 岁。LSCC 发生部位：声门上型 5 例，声门型 18 例，声门下型 3 例。根据 UICC 2002 年标准进行 TNM 临床分期：Ⅰ期 7 例，Ⅱ期 7 例，Ⅲ期 5 例，Ⅳ期 7 例。病理分级（三级法）：Ⅰ级 10 例，Ⅱ级 13 例，Ⅲ级 3 例。选择本院 1998 年 1 月至 2008 年 12 月经手术切除或活检，病理诊断证实为喉 SIN 的石蜡标本 34 例，其中男性 29 例，女性 5 例，年龄 31～77 岁，平均 55.3 岁。病理分级：SIN Ⅰ级 14 例，SIN Ⅱ级 10 例，SIN Ⅲ级 10 例。从 LSCC 术中取 10 例病理确诊为正常的喉黏膜组织作对照。所有标本经 4% 多聚甲醛固定，常规石蜡包埋，切成 4 μm 厚片作免疫组织化学检测。

1.2　免疫组织化学染色

采用 EnVision 法，二氨基联苯胺（DAB）显色。鼠抗人单克隆抗体 anti-CD82（M-0564），EnVision 试剂盒购于上海长岛抗体诊断公司。S-P 试剂盒、DAB 显色剂购于福州迈新生物技术公司。一抗工作浓度 1∶80，操作步骤均按说明书进行，阴性对照采用 0.01 mol/L PBS 液代替一抗，用已知阳性组织切片（扁桃体鳞状上皮）作阳性对照。

1.3　结果判定

在光学显微镜下观察并计数。以细胞膜或细胞质上出现棕黄色细颗粒作为 KAI1/CD82 的阳性标记，每例标本随机选取 5 个高倍视野（×400），计数每个高倍视野中 500 个肿瘤细胞中阳性细胞数，求阳性细胞率；阳性细胞率 < 10% 为阴性（－），阳性细胞率 10% ～24% 为弱阳性（＋），阳性细胞率 25% ～50% 为阳性（＋＋），阳性细胞率 > 50% 为强阳性（＋＋＋）；结果判定由 2 位病理医师双盲法读片确定。

1.4　统计学分析

用 STATA 9.1 软件对数据进行统计分析，不同因素下 KAI1/CD82 蛋白表达的不同水平的比较用 2 组比较 Wilcoxon 秩和检验和多组比较的秩和检验。

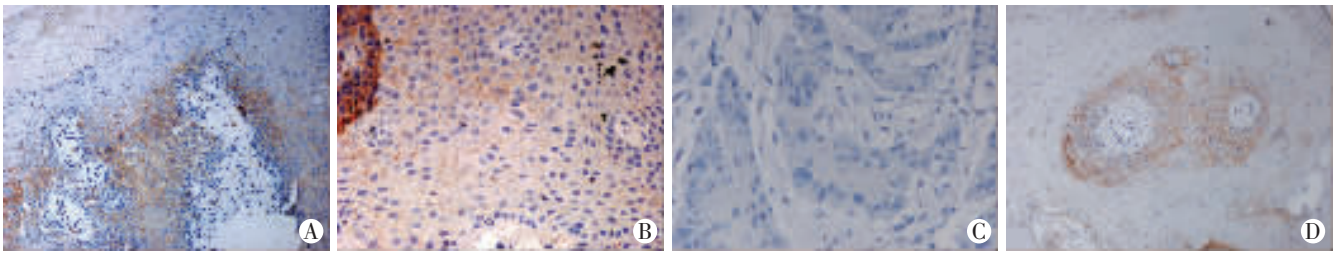
2　结果

2.1　LSCC 组织、喉 SIN 组织和正常喉黏膜组织中 KAI1/CD82 蛋白的表达

KAI1/CD82 主要定位于细胞膜，少数位于细胞质（图 1）。LSCC 组中常见 KAI1/CD82 表达的下调和缺失，未见强阳性表达，3 组综合比较结果显示，KAI1/CD82 的表达差异有统计学意义（$P = 0.000\ 5$，表 1）。进一步的两独立样本检验显示，正常喉黏膜组织和喉 SIN 组织中 KAI1/CD82 的表达差异无统计学意义（$P = 0.478$），两者分别与 LSCC 组织比较，KAI1/CD82 的表达差异有统计学意义（$P = 0.001$、0.013）。

表 1　KAI1/CD82 蛋白表达与喉 SIN、LSCC 临床病理因素的关系

病理因素	例数	KAI1/CD82 表达[例数(%)]				*P* 值
		阴性	弱	中	强	
正常喉黏膜	10	1(0.0)	1(10.0)	4(40.0)	4(40.0)	
喉 SIN	34	10(29.4)	7(20.6)	9(26.5)	8(23.5)	0.000 5
LSCC	26	15(57.7)	7(26.9)	4(15.4)	0(0.0)	
LSCC TNM 分期						
Ⅰ～Ⅱ期	14	6(42.9)	5(35.7)	3(21.4)	0(0.0)	0.110 6
Ⅲ～Ⅳ期	12	9(75.0)	2(16.7)	1(8.3)	0(0.0)	
LSCC 淋巴结转移						
有	8	6(75.0)	1(12.5)	1(12.5)	0(0.0)	0.301 2
无	18	9(50.0)	6(33.3)	3(16.7)	0(0.0)	
SIN 病理分级						
Ⅰ级	14	2(14.3)	3(21.4)	4(28.6)	5(35.7)	
Ⅱ级	10	3(30.0)	2(20.0)	3(30.0)	2(20.0)	0.134 7
Ⅲ级	10	5(50.0)	2(20.0)	2(20.0)	1(10.0)	



A：KAI1/CD82 在癌旁正常组织中呈强阳性表达（×400）；B：KAI1/CD82 在 SIN Ⅰ级中呈阳性表达（×400）；C：KAI1/CD82 在喉癌组织中呈阴性表达（×400）；D：KAI1/CD82 在 SIN Ⅲ级中呈阴性表达（×200）

图 1　免疫组织化学检测 KAI1/CD82 蛋白的表达　（S-P）

2.2 LSCC组织、喉SIN组织中KAI1/CD82蛋白的表达与临床病理特征的关系

LSCC组织中有淋巴结转移者KAI1/CD82表达水平低于无淋巴结转移者，但差异无统计学意义（$P=0.301\ 2$）；KAI1/CD82表达水平与TNM分期、病理分级的关系均为等级增加，表达降低，但差异无统计学意义（$P>0.05$）。喉SIN组织中KAI1/CD82表达出现下调趋势，但与病理分级比较差异无统计学意义（$P>0.05$）。见表1。

3 讨论

1995年Dong等[3]首先发现并分离了KAI1/CD82基因，该基因位于人染色体11p11.2上[4]，编码含有267个氨基酸的蛋白质，KAI1/CD82蛋白属于4次跨膜超家族（transmembrane 4 superfamily，TM4SF）。TM4SF在细胞的聚集、黏附、迁移、增殖中均有调节作用[5]。KAI1/CD82蛋白的上皮细胞膜定位和广泛的糖基化提示KAI1/CD82蛋白参与细胞与细胞间、细胞与细胞外基质间的反应。Abe等[6]研究发现KAI1/CD82通过作用于E-钙黏蛋白介导的胞内信号通路促进肿瘤细胞间的黏附。KAI1/CD82分布极其广泛，机体大多数组织均有表达，它的失活与一些肿瘤的进展、浸润有关。研究表明肺癌、胃癌、肾癌、口腔癌、甲状腺癌、乳腺癌等恶性肿瘤的进展与KAI1基因表达下降有明显相关性[7-9]，可以作为评价其预后的一个重要指标。本实验结果显示，KAI1/CD82在正常喉黏膜中高表达90%（9/10），位于除角化层以外的上皮细胞膜上（图1），与文献报道KAI1/CD82在人类鳞状上皮中的表达分布相同。

本实验设立3个研究组，以探讨喉SIN向LSCC发展各阶段KAI1/CD82表达变化的趋势。Schindl等[10]研究宫颈CINⅠ～Ⅲ病变组织，发现CINⅡ～Ⅲ中KAI1/CD82表达下调占40%和50%；Zheng等[11]研究发现，从正常胃黏膜、胃上皮内瘤变到胃癌KAI1/CD82的表达依次减少。本研究结果显示，喉SIN中KAI1/CD82表达与正常喉组织相比差异无统计学意义，但与LSCC组织相比差异有统计学意义（$P=0.013$）。喉SIN组织中SINⅠ级与SINⅢ级KAI1/CD82的表达差异有统计学意义（$P=0.049$）。提示KAI1/CD82表达的改变是LSCC发生、发展中的早期事件，喉SIN向LSCC转化过程中，KAI1/CD82可能起非常重要的作用，目前对喉SIN多主张早期积极干预治疗，阻断其发生恶变的病理学基础，检测KAI1/CD82对LSCC的早期诊断可能有意义。

Higashiyama等[12]用免疫组化法研究了200例非小细胞肺癌患者，发现KAI1/CD82的表达在不同的年龄、性别、组织类型、瘤体大小、分化程度、淋巴结转移、TNM分期情况及临床分期中差异均没有统计学意义，但有淋巴结转移组预后较无淋巴结转移组预后差异有统计学意义。本实验结果显示LSCC中KAI1/CD82表达水平与喉癌患者的淋巴结转移、分期、病理分级、临床分型、患者年龄、性别无关。KAI1/CD82的表达在喉癌的转移过程中具有一定作用，可作为预测肿瘤转移潜能的指标。

参考文献：

[1] Langendijk J A, Ferlito A, Takes R P, *et al*. Postoperative strategies after primary surgery for squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. Oral Oncol, 2010, 46(8): 577-585.

[2] Plch J, Par I, Navratilova I, *et al*. Long term follow-up study of laryngeal precancer[J]. Auris Nasus Larynx, 1998, 25(4): 407-412.

[3] Dong J T, Lamb P W, Rinker-Schaeffer C W, *et al*. KAI1, a metastasis suppressor gene for prostate cancer on human chromosome 11p11.2 [J]. Science, 1995, 268(5212): 884-886.

[4] Dong J T, Isaacs W B, Barrett J C, *et al*. Genomic organization of the human KAI1 metastasis-suppressor gene [J]. Genomics, 1997, 41(1): 25-32.

[5] 陈亮，罗文萍，钟东，等. CD82/KAI1在神经胶质瘤细胞株中的表达及对细胞迁移能力的影响[J]. 第三军医大学学报，2010，32(13)：1438-1441.

[6] Abe M, Sugiura T, Takahashi M, *et al*. A novel function of CD82/KAI-1 on E-cadherin-mediated homophilic cellular adhesion of cancer cells[J]. Cancer Lett, 2008, 266(2): 163-170.

[7] Kim J H, Kim M A, Lee H S, *et al*. Comparative analysis of protein expressions in primary and metastatic gastric carcinomas[J]. Human Pathol, 2009, 40(3): 314-322.

[8] Kauffman E C, Barocas D A, Chen Y T, *et al*. Differential expression of KAI1 metastasis suppressor protein in renal cell tumor histological subtypes[J]. J Urol, 2009, 181(5): 2305-2311.

[9] Buim M E, Lourenco S V, Carvalho K C, *et al*. Downregulation of CD9 protein expression is associated with aggressive behavior of oral squamous cell carcinoma[J]. Oral Oncol, 2010, 46(3): 166-171.

[10] Schindl M, Bachtiary B, Dreier B, *et al*. Impact of human papillomavirus infection on the expression of the KAI1 metastasis suppressor protein invasive cervical cancer [J]. Cancer Lett, 2001, 162(2): 261-266.

[11] Zheng H C, Wang M C, Li J Y. Expression of maspin and kai1 and their clinicopathological significance in carcinogenesis and progression of gastric cancer[J]. Chin Med Sci J, 2004, 19(3): 193-198.

[12] Higashiyama M, Kodama K, Yokouchi H, *et al*. KAI1/CD82 expression in nonsmall cell lung carcinoma is a novel, favorable prognostic factor: an immunohistochemical analysis[J]. Cancer, 1998, 83(3): 466-474.

（收稿：2010-05-28 修回：2010-07-21）

（编辑 张 维）