DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.24.029
第25卷第24期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 24
2234 2003年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2003

论著

文章编号:1000-5404(2003)24-2234-03

KAI1基因蛋白表达与大肠癌转移及预后的关系

杨 景,柳凤轩,阎晓初,贺光友,刘丽梅 (第三军医大学附属西南医院病理学研究所,重庆 400038)

提 要:目的 探讨KAI1基因与大肠癌转移及预后的关系。方法 采用免疫组织化学检测91例大肠癌原发灶及25例淋巴结转移灶的KAI1表达。结果 KAI1在大肠癌原发灶中表达阳性54例(59.3%),弱阳性22例(24.2%),阴性15例(16.5%)。KAI1在伴淋巴结转移、远隔器官转移的癌组织中表达显著降低($P<0.01$);淋巴结转移灶的KAI1表达显著低于原发灶($P<0.05$);5年生存者的KAI1阳性表达率显著高于死亡者($P<0.05$);KAI1表达阳性、弱阳性以及阴性患者的5年生存率(87.04%;63.34%;60%)依次递减,有显著性差异($P<0.05$)。结论 KAI1的表达下调参与了大肠癌的淋巴结转移和远处转移,可能是分析大肠癌预后的有效指标。

关键词:大肠癌;KAI1;转移;预后
中图法分类号:R735.34;R394.3;R73-37 文献标识码:A

Relationship of protein expression of KAI1 gene with metastasis and prognosis of colorectal cancer

YANG Jing, LIU Feng-xuan, YAN Xiao-chu, HE Guang-you, LIU Li-mei (Research Institute of Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the relationship of KAI1 gene with metastasis and prognosis of colorectal cancer(CRC). Methods The expression of KAI1 in 91 cases of primary CRC and 25 cases with lymph node metastasis of CRC was detected by immunohistochemistry. Results Positive expression, weak expression, and negative expression of KAI1 were found in 54 (59.3%), 22 (24.2%), and 15 case (16.5%) of primary CRC, respectively. KAI1 expression decreased significantly in cases of CRC with lymph node metastasis and distant metastasis ($P<0.01$). KAI1 expression in cases of CRC with lymph node metastasis was lower than that in the primary locus($P<0.05$). The positive rate of KAI1 expression of 5-year survival patients was higher than that of the dead($P<0.05$). The 5-year survival rate of patients with positive, weak, and negative expression of KAI1 decreased in turn ($P<0.05$). Conclusion The down-regulation of KAI1 expression may participate in the lymph node metastasis and distant metastasis of CRC, and may probably be the valuable marker to predict the prognosis of CRC.

Key words: colorectal cancer; KAI1; metastasis; prognosis

浸润、转移是肿瘤演进的重要特征,也是导致患者不良预后的主要原因。KAI1是近年发现的新的肿瘤转移抑制基因,参与细胞粘附、运动和信号转导,与多种肿瘤的转移和预后有密切关系[1~3]。本实验拟通过检测KAI1在大肠癌原发灶中的表达,分析其与淋巴结、远处转移以及患者预后的关系,并与淋巴结转移灶的表达水平相比较,初步探讨KAI1表达在大肠癌转移及预后中的意义,为大肠癌的临床治疗、预后判断提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 标本来源与临床资料

1990-01—1995-07手术切除的大肠癌根治标本91例,按照"全国大肠癌病理研究统一规范"(2000年)分为管状腺癌66例,乳头状腺癌10例,粘液腺癌15例,经5~10年全部获得完整随访结果。所有标本经10%福尔马林液固定,石蜡包埋,4~5 μm连续切片。91例大肠癌中淋巴结转移共25例,伴有远隔器官(肝、肺等)转移16例,生存期超过5年有70例,5年以内21例。术后30 d内死亡者不在本研究之列。

1.2 试剂

KAI1鼠抗人单克隆抗体购自法国Pharmingen公司,Envision™试剂盒、DAB显色液购自DAKO公司。

1.3 免疫组织化学染色(Envision™二步法)检测KAI1表达

1.3.1 实验步骤 组织切片脱蜡、水化后,3% H_2O_2 封闭内源性过氧化物酶15 min,柠檬酸缓冲液(pH 6.0)微波抗原修复20 min,冷却至常温,滴加一抗(1∶30),4 ℃冰箱过夜。次日滴加Envision™,37 ℃孵育30 min,各步骤间均以磷酸缓冲液漂洗5 min×3次。DAB显色、苏木精复染,常规脱水、透明、封片,光镜观察。以PBS替代一抗设立阴性对照,用人扁桃体鳞状上皮[4]为阳性对照。

作者简介:杨 景(1973—),女,四川省泸州市人,硕士,主治医师,主要从事肿瘤病理方面的研究,发表论文9篇。电话:(023)68754434

收稿日期:2002-11-16;修回日期:2003-03-11

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.3.2　结果判定　KAI1 免疫组化阳性产物呈棕黄色细颗粒状, 定位于癌细胞胞质内。根据阳性细胞数所占百分比分为 4 级计分: ①0 分, < 5%; ②1 分, 5% ~ 24%; ③2 分, 25% ~ 50%; ④3 分, 50%以上。显色度按细胞着色的深浅计分: ①1 分, 弱; ②2 分, 中等; ③3 分, 强。两计分相加, 0 分为表达阴性: (−); 得分< 4 分为弱阳性: (+); ≥4 分为阳性: (++)。

1.4　统计学处理

KAI1 表达与组织类型、转移、预后的显著性以及在肿瘤原发灶与淋巴结转移灶之间表达的差异的显著性采用 χ^2 检验; 生存曲线采用 Kaplan-Meier 法绘制, Log-rank 检验。以上统计分析采用 SPSS10.0 软件进行。

2　结果

2.1　KAI1 在大肠癌原发灶中的表达

91 例大肠癌中 KAI1 表达阳性 54 例(59.3%), 弱阳性 22 例(24.2%), 阴性 15 例(16.5%)。KAI1 在癌组织中呈弥漫表达, 淋巴细胞、部分浆细胞、肥大细胞和纤维细胞也有阳性表达。KAI1 表达与肿瘤的组织学类型无明显关系, 但在伴淋巴结转移、远隔器官转移的癌组织中的表达与非转移者比较有显著下调(P< 0.01); 5 年生存者的 KAI1 阳性表达率明显高于死亡者(P< 0.05), 见表 1。KAI1 阳性者的总生存时间平均为 114.03 个月, 弱阳性者为 94.23 个月, 阴性者为 73.90 个月; 其 5 年生存率(KAI1 阳性: 87.04%, 47/54; 弱阳性: 63.34%, 14/22; 阴性: 60%, 9/15)依次递减, 有显著性差异(P< 0.05), 见图 1。

表 1　**KAI1** 表达与大肠癌组织学类型、转移以及预后的关系

Tab1　Relation of KAI1 expression with histological type, metastasis and prognosis of colorectal cancer

		Cases	KAI1			P
			−	+	++	
Histological type	Tubular	66	8	17	41	> 0.05
	Papillare	10	1	2	7	
	Mucoid	15	6	3	6	
Lymph-node metastasis	Negative	66	6	16	44	< 0.01
	Positive	25	9	6	10	
Distant metastasis	Negative	75	8	19	48	< 0.01
	Positive	16	7	3	6	
5-year Survival status	Alive	70	9	14	47	< 0.05
	Dead	21	6	8	7	

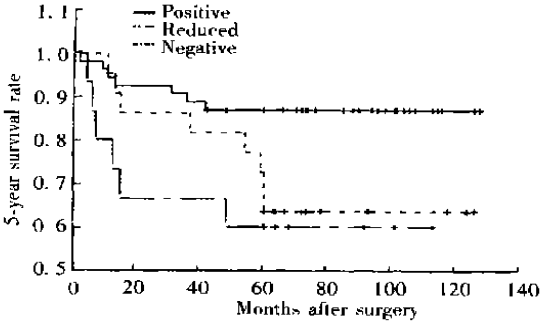
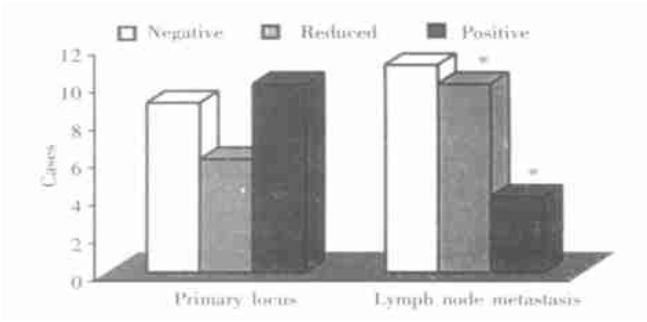


图 1　不同 **KAI1** 表达的大肠癌患者的生存率 **Kaplan-Meier** 曲线

Fig 1　Kaplan-Meier curves of the survival rates of patients with colorectal cancer categorized according to different expression levels of KAI1

2.2　大肠癌转移灶的 KAI1 表达及其与原发灶表达的关系

25 例淋巴结转移灶中 KAI1 表达阳性有 4 例(16%), 弱阳性 10 例(40%), 阴性 11 例(44%), 显著弱于相应的原发灶(P< 0.05), 见图 2 ~ 4。



*: P< 0.05 *vs* primary locus

图 2　**KAI1** 在大肠癌原发灶和淋巴结转移灶中的表达

Fig 2　Expression of KAI1 in primary CRC and lymph node metastasis



图 3　大肠癌原发灶的 **KAI1** 表达　(Envision™× 200)

Fig 3　Expression of KAI1 in primary CRC　(Envision™× 200)

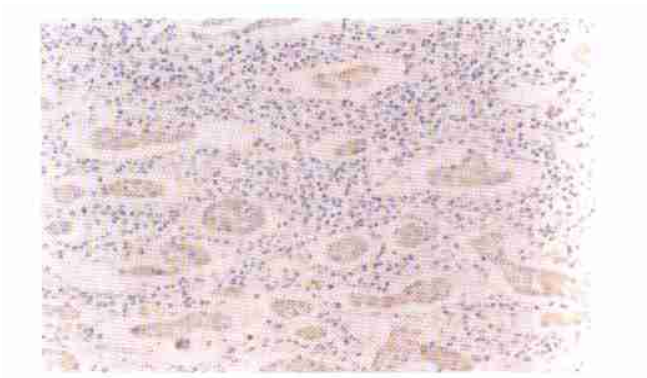


图 4　淋巴结转移性大肠癌的 **KAI1** 表达　(Envision™× 200)

Fig 4　Expression of KAI1 in lymph node metastasis of CRC (Envision™× 200)

3　讨论

KAI1 最初是用 Alu-PCR 法分离出来, 能抑制鼠前

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

列腺癌细胞肺转移但不影响其成瘤力[5]，因此命名为KAI1。KAI1 基因位于人染色体 11p11.2，编码含 267 个氨基酸的蛋白质分子 KAI1，分子量为 29×10^3，是 TM4SF 的成员之一。该家族成员还包括 MRP-1/CD9、ME491/CD63、CD53、CD37、TAPA-1/CD81 等，其分子结构的共同特点是具有 4 个疏水跨膜区(TM1～TM4)和一个大的包括 3 个潜在的氨基末端糖基化位点的细胞外亲水区。KAI1 在人体分布广泛，可在多种组织中表达，在肠道中含量较微。

目前对于 KAI1 在大肠癌中的研究国内鲜见报道，国外较少，意见不甚一致。Maurer[6] 采用 Northern blot、原位杂交和免疫组化检测 36 例大肠癌的 KAI1mRNA 和蛋白表达，结果显示所有的癌组织都有 KAI1 表达，但在转移性大肠癌中表达量显著降低，与大肠癌的远处转移负相关；Muneyuki[7] 的免疫组化结果则显示 KAI1 在 70 例大肠癌中表达率为 55%，与淋巴结转移、肝转移有关；Lombardi 等[8] 的研究也支持 KAI1 在部分大肠癌中表达下调，而且其下调与肝转移发展有关。我们的结果表明 KAI1 在大肠癌原发灶中的表达率为 59.3%，与 Muneyuki 等[7] 的报道近似；统计学分析显示 KAI1 在伴有淋巴结转移、远处器官转移的癌组织原发灶中表达明显下调，提示 KAI1 有显著的抑制淋巴结转移和远处器官转移的作用，其下调与大肠癌的发展密切相关。

研究认为，KAI1 在细胞粘附、运动、信号转导、免疫等方面均具有诸多重要的生物学功能。因此，KAI1 抑制大肠癌转移的机制可能是该基因的异常表达使 KAI1 正常功能减弱或丧失，导致癌细胞粘附力减弱、移动性增强、细胞分化降低，从而侵袭性加强，发生淋巴结转移甚至远处器官的转移。近年报道粘附分子间可彼此交联构成信号网络，调节信号转导级联反应[9]。部分研究显示 KAI1 和 TM4SF 成员如 E-Cadherin 彼此连接，通过改变细胞与细胞、细胞与基质的相互作用，潜在影响癌细胞的侵袭和转移[10]。我们推测，KAI1 可能与 E-Cadherin 共同作用抑制大肠癌的转移。至于 KAI1 基因抑制肿瘤转移的作用是否包含免疫学机制还不明确，需要深入研究。

有学者比较已发生转移的大肠癌原发灶和淋巴结、肝转移灶中的 KAI1 基因表达，发现淋巴结转移癌的 KAI1 表达低于原发灶，而肝转移癌的 KAI1 基因表达几乎完全阴性[6,8]。本实验检测 25 例淋巴结转移性大肠癌的 KAI1 表达，结果显示 KAI1 在转移癌中的表达与相应的原发灶相比显著下调，提示 KAI1 基因的表达可能影响了体内大肠癌细胞的转移能力：原发灶中 KAI1 表达下调的癌细胞易于转移至淋巴结或远处器官，而仍保持表达的癌细胞脱离原发灶后发生转移的几率相对减少，KAI1 表达下调可能是大肠癌细胞成功转移的重要影响因素之一，但其具体机制尚不清楚。

侵袭转移势必导致肿瘤的恶性演进、患者生存期缩短。由于大部分研究缺少完整随访资料[6,8]，对 KAI1 与大肠癌远处器官转移以及预后关系的研究报道很少。本研究显示 KAI1 阳性表达者术后生存时间多在 5 年以上，KAI1 表达的减弱伴随有患者的总生存时间的缩短，KAI1 表达阳性、弱阳性以及阴性患者的 5 年生存率依次递减，呈显著下降趋势。近年来，在食管癌[11]、卵巢癌[3]等肿瘤的研究中已显示 KAI1 表达阳性患者的生存率显著高于阴性患者，提示 KAI1 可作为部分肿瘤的预后指标。可见，本实验中 KAI1 在大肠癌中的异常表达并预示低生存率可能是 KAI1 预测恶性肿瘤预后的一个普遍事件，也提示 KAI1 表达的下调可能促进了大肠癌的转移，在预测大肠癌预后上有一定价值。

参考文献：

[1] Uzawa K, Ono K, Suzuki H, *et al*. High prevalence of decreased expression of KAI1 metastasis suppressor in human oral carcinogenesis[J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(3): 828－835.

[2] Liu F S, Chen J T, Dong J T, *et al*. KAI1 metastasis suppressor gene is frequently down-regulated in cervical carcinoma[J]. Am J Pathol, 2001, 159(5): 1629－1634.

[3] Schindl M, Birner P, Breitenecker G, *et al*. Downregulation of KAI1 metastasis suppressor protein is associated with a dismal prognosis in epithelial ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2001, 83(2): 244－248.

[4] Geradts J, Maynard R, Birrer M J, *et al*. Frequent loss of KAI1 expression in squamous and lymphoid neoplasms[J]. Am J Pathol, 1999, 154(6): 1665－1671.

[5] 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]. Scince, 1995, 268(5212): 884－886.

[6] Maurer C A, Graber H U, Friess H, *et al*. Reduced expression of the metastasis suppressor gene KAI1 in advanced colon cancer and its metastases[J]. Surgery, 1999, 126(5): 869－880.

[7] Muneyuki T, Watanabe M, Yamanaka M, *et al*. KAI1/CD82 expression as a prognosic factor in sporadic colorectal cancer[J]. Anticancer Res, 2001, 21(5): 3581－3587.

[8] Lombardi D P, Geradts J, Foley J F, *et al*. Loss of KAI1 expression in the progression of colorectal cancer[J]. Cancer Res, 1999, 59(22): 5724－5731.

[9] Juliano R L. Signal transduction by cell adhesion receptors and the cytoskeleton: functions of integrins, cadherins, selectins, and immunoglobulin-superfamily members[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2002, 42: 283－323.

[10] Tagawa K, Arihiro K, Takeshima Y, *et al*. Down-regulation of KAI1 messenger RNA expression is not associated with loss of heterozygosity of the KAI1 gene region in lung adenocarcinoma[J]. Jpn J Cancer Res, 1999, 90(9): 970－976.

[11] Miyazaki T, Kato H, Shitara Y, *et al*. Mutation and expression of the metastasis suppressor gene KAI1 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cancer, 2000, 89(5): 955－962.

(编辑 薛国文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net