

· 基础研究 ·

胃癌组织中肿瘤转移抑制基因 KISS-1 的表达水平及对细胞外基质作用的研究

乌力吉白乙¹, 汤媛宇², 王宏伟²

(1. 内蒙古民族大学医学院病理科, 内蒙古通辽 028000; 2. 内蒙古通辽市科尔沁区第一人民医院病理科 028000)

摘要:目的 观察胃癌组织中肿瘤转移抑制基因 KISS-1 的表达水平与胃癌浸润、转移的关系及其对细胞外基质的作用。方法 收集 2011 年 10 月至 2012 年 6 月在通辽市科尔沁区第一人民医院治疗的 38 例胃癌患者的胃癌组织与 38 例正常胃黏膜组织, 采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测两组标本中 KISS-1 表达情况, 同时检测不同 KISS-1 阳性水平下细胞外基质(ECM)的表达水平差异。结果 KISS-1 信使 RNA(mRNA)在胃癌组织中的阳性率为 56.2%, 在正常胃黏膜组织中的阳性率为 87.1%, 二者比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。且不同 KISS-1 阳性水平下, ECM 的主要成分: 层粘连蛋白(LN)、IV 型胶原及纤维连接蛋白(FN)表达水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 胃癌组织中肿瘤转移抑制基因 KISS-1 的表达水平与胃癌浸润、转移密切相关, 并通过 ECM 表达的影响间接作用于肿瘤的发生与发展过程。

关键词: 胃肿瘤; 细胞外基质; 肿瘤转移抑制基因 KISS-1; 作用

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.18.022

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)18-2120-02

Research of tumor metastasis suppressor genes KISS-1 expression in stomach cancer tissue and it's function to extracellular matrix

Wu Li Ji Baiyi¹, Tang Yuanyu², Wang Hongwei²

(1. Inner Mongolia National University School of Medicine, Tongliao, Inner Mongolia 028000, China;

2. the First People's Hospital of Inner Mongolia Tongliao City KeErQinOu, Tongliao, Inner Mongolia 028000, China)

Abstract: Objective To observe tumor metastasis suppressor genes KISS-1 expression in stomach cancer tissue and it's function to extracellular matrix. **Methods** Collect 38 cases of patient's stomach organizations with stomach cancer and 38 cases of normal gastric mucosa tissue from January 2010 to February 2012 in our hospital, use RT-PCR tested the specimens KISS-1 expression in two groups, and testing various KISS-1 under positive level, the extracellular matrix(ECM) differences in the level of expression. **Results** The positive rate of KISS-1 mRNA in stomach tissue is 56.2%, in normal gastric mucosa tissue of the positive rate was 87.1%, the differences between them are statistically significant($P < 0.01$). And according to the different expression level of KISS-1, ECM's main ingredients: laminin(LN), IV protein collagen type and fibronectin(FN) expressing a statistically significant difference($P < 0.05$). **Conclusion** KISS-1 and the occurrence and metastasis of cancer of the stomach is closely related, and through to the influence of the ECM expressed indirectly affects tumors and development process.

Key words: stomach neoplasms; extracellular matrix; tumor metastasis suppressor genes KISS-1; function

胃癌是临床上最常见的恶性肿瘤之一, 而癌细胞的浸润和转移则是其治疗的主要难点。近年有研究^[1]显示, 肿瘤转移抑制基因 KISS-1 与胃癌细胞的各种生物学行为具有显著的相关性, 同时可能影响细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的表达水平, 而后者也与癌细胞的分化、浸润和转移关系密切^[2]。本次研究选取 38 例胃癌患者的胃癌组织与 38 例正常胃黏膜组织, 观察胃癌组织中 KISS-1 的表达水平与胃癌浸润、转移的关系及其对细胞外基质的作用, 旨在探讨其对胃癌发生、发展和转归的影响, 为今后胃癌的靶向治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2011 年 10 月至 2012 年 6 月在通辽市科尔沁区第一人民医院进行胃癌根治术的 38 例胃癌患者手术后预留的新鲜胃癌组织标本, 手术前均未接受化学或放射治疗。其中, 男 23 例, 女 15 例, 年龄 34~79 岁, 平均(58.6±11.2)岁。分化程度: 分化型癌 14 例, 未分化癌 24 例; 浸润深度: T₁~T₂(未侵及肌层)27 例, T₃~T₄(侵及肌层)11 例; 无淋巴转移者 25 例, 有淋巴转移者 13 例。收集同期胃溃疡手术切除后经病理检查确认的正常胃黏膜组织 38 例。

1.2 KISS-1 检测 每份标本取 0.1 g 加入总 RNA 抽提试剂(TRIzol)中充分裂解, 分离核酸与核蛋白, 按 TRIzol RNA 提取试剂盒说明书进行后续步骤, 用分光光度计测定所得的总 RNA 的浓度及纯度。采用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)一步法进行基因检测, 以流式细胞术检测 KISS-1 蛋白表达量。TRIzol 和 RT-PCR 试剂盒均购自上海江莱生物科技有限公司。

1.3 ECM 检测 所有标本均以 10% 甲醛固定, 采用石蜡包埋切片。链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连接法即 SP 法(streptavidin peroxidase)染色按试剂说明书进行。以磷酸缓冲液(PBS)替代一抗作为阴性对照, 以已知阳性切片为阳性对照。层粘连蛋白(LN)及 IV 型胶原根据显色范围和腺体周边完整程度归为连续线状型、间断线状型、碎片型和完全缺失型。纤维连接蛋白(FN)则与阴性对照进行对比分析, 有阳性产物沉积则为阳性。胃癌细胞、基底膜和间质中 FN 表达分别记为细胞 FN、基膜 FN 及间质 FN。

2 结果

2.1 胃癌组织中 KISS-1 表达水平 KISS-1 mRNA 在胃癌组

织中的阳性率为 56.2%，表达水平为(0.57±0.06)，其在正常胃黏膜组织中的阳性率为 87.1%，表达水平为(0.83±0.02)。显示 KISS-1 在胃癌组织中的表达水平明显低于在正常胃黏膜组织中的表达水平，二者比较差异有统计学意义(P<0.01)。同时，KISS-1 在不同浸润深度及是否存在淋巴结转移患者中的表达量亦有显著性差异(P<0.05)，见表 1。

2.2 KISS-1 对 ECM 表达的作用 此外，在不同 KISS-1 阳性水平下，ECM 的主要成分：LN、Ⅳ型胶原及 FN 的表达情况也表现出明显差异，KISS-1 表达与 ECM 表达呈现正相关。不同 KISS-1 阳性水平下 ECM 表达水平比较差异有统计学意义(P<0.05)，见表 2。

表 2 不同 KISS-1 阳性水平下 ECM 的表达水平比较[n(%)]

病理学特征	n	KISS-1	LN	Ⅳ型胶原	细胞 FN	基膜 FN	间质 FN	
分化程度	分化癌	14	9(64.3)	9(64.3) [△]	10(71.4) [△]	10(71.4)	9(64.3) [△]	9(64.3)
	未分化癌	24	14(58.3)	7(29.2)	8(33.3)	9(37.5)	6(25.0)	17(70.8)
浸润深度	T ₁ ~T ₂	27	17(63.0)	17(63.0) [△]	19(70.4) [△]	14(51.9)	13(48.1)	18(66.7)
	T ₃ ~T ₄	11	5(45.5)	4(36.4)	4(36.4)	5(45.5)	4(36.4)	8(72.7)
淋巴转移	无	25	17(68.0)	17(68.0) [△]	17(68.0) [△]	17(68.0)	15(60.0) [△]	16(64.0)
	有	13	4(30.7)	4(30.8)	3(23.1)	4(30.8)	3(23.1)	10(76.9)

△: P<0.05, 与同一病理学特征组内比较。

3 讨 论

肿瘤转移抑制基因 KISS-1 是 Kostadima 等^[3] 在 1996 年从人黑色素瘤细胞株中率先发现的一种新的肿瘤转移抑制基因。KISS-1 在正常组织中有广泛表达，而其表达缺失被认为与乳腺癌、胰腺癌、肝癌、胃癌等恶性肿瘤细胞的局部浸润和远处转移等主要生物学行为具有显著相关性^[4]。

本研究显示，KISS-1 在胃癌组织中的表达水平明显低于在正常胃黏膜组织中的表达水平，表明 KISS-1 的表达水平可能与胃癌的发生、发展及癌细胞的生物学行为具有高度相关性，KISS-1 高表达时可抑制肿瘤的发生、发展，低表达时则促使肿瘤细胞的生长和转移^[5]。同时，在不同浸润深度和是否有淋巴结转移的胃癌组织中，KISS-1 的表达也显示出明显差异。KISS-1 表达的阳性率越低，胃癌细胞的侵犯越深，且 KISS-1 在存在淋巴结转移组中的阳性率明显低于无淋巴结转移组，显示 KISS-1 也影响了胃癌细胞的淋巴转移^[6]。其作用机制可能在于 KISS-1 基因通过降低细胞质内核转录因子(NF-κB)的活性，减少其与基质金属蛋白酶-9(MMP-9)启动子的结合，从而降低癌细胞的浸润性和机动性^[7-8]。

一般认为，肿瘤的实质对细胞外基质起决定作用，后者又反过来影响肿瘤细胞的形态、极性及运动，影响其局部浸润和远处转移等主要生物学行为^[9]。LN、Ⅳ型胶原及 FN 是 ECM 的主要成分。研究证实，正常胃组织中，LN 及Ⅳ型胶原表现为连续线型分布，在胃癌组织中则表现为断裂缺损。此外，在正常胃组织中各种基膜都存在完整的 FN 分布，而胃癌组织中细胞 FN 和基膜 FN 表达呈明显下降^[10-11]。本研究发现，不同 KISS-1 阳性水平下，LN、FN 和Ⅳ型胶原的表达水平具有明显差异，KISS-1 的表达水平越高，LN、FN 和Ⅳ型胶原的表达水平也相应提高。提示 KISS-1 可通过对 ECM 表达的影响间接作用于肿瘤的发生与发展过程^[12]。

参考文献:

[1] Mitchell DC, Abdelrahin M, Weng JS, et al. Regulation of KISS-1 metastasis suppressor gene expression in breast cancer cells by direct in teraction of t ranscription factors act ivator protein-2 alpha and specificity protein-1[J]. J

表 1 KISS-1 在不同病理学特征组中的表达水平比较

病理学特征	n	KISS-1 阳性	KISS-1 表达水平	
		[n(%)]	($\bar{x}\pm s$)	
分化程度	分化型癌	14	9(64.3)	0.84±0.13
	未分化型癌	24	14(58.3)	0.83±0.16
浸润深度	T ₁ ~T ₂	27	17(63.0)*	0.94±0.08
	T ₃ ~T ₄	11	5(45.5)	0.88±0.07
淋巴结转移	无	25	17(68.0)*	0.93±0.14*
	有	13	4(30.7)	0.72±0.09

*: P<0.05, 与同一病理学特征组内比较。

Biol Chem,2006,281(1):51-58.

[2] Hanna E, Quick J, Libutti SK. The tumourmicroenvironment:anovel target for cancer therapy[J]. Oral Dis,2009, 15(1):8-17.

[3] Kostadima L, Pentheroudak is G, Pavlidis N. The missing kiss of life;transcriptional activity of them etastas is sup-pressor gene KISS-1 in early breast cancer[J]. Anticancer Res,2007,27(14):2499-2504.

[4] 吕志强,丁厚中. KISS-1 基因与恶性肿瘤关系的研究进展[J]. 江苏大学学报:医学版,2007,17(5):457-460.

[5] 刘爱东. KISS-1 在胃癌中的表达及意义[J]. 现代中西医结合杂志,2011,20(19):2354-2355.

[6] 何新阳,梁伟,王志华,等. ECM-1 和 VEGF 在胃癌中的表达[J]. 安徽医科大学学报,2011,46(1):25-28.

[7] Lee KH, Kim JR. Kiss-I suppresses MMP-9 expression by activating p38 MAP kinase in human stomach cancer [J]. Oncol Res,2009,18(2):107-116.

[8] 杜华贞,张延新,李维山,等. KISS-1 与 TIMP-1 在胃癌中的表达及临床病理意义[J]. 临床与实验病理学杂志,2008,24(3):374-376.

[9] 黄海力,王孟薇. 肿瘤浸润转移分子机制的研究进展[J]. 生物技术通讯,2006,17(1):84-87.

[10] Rao JS, Bhoopathip, Chetty C, et al. MMP-9 short intef-fering RNA induced senescence resulting in inhibition of medulloblastoma growth via p16 (INK4a) and mitogen-activated proteinkinase pathway[J]. Cancer Res,2007,67 (10):4956-496.

[11] 姚宏亮,杨竹林,李永国,等. 转移抑制基因 KISS-1 和 KAI-1 在胃癌组织中表达的原位杂交研究[J]. 中华胃肠外科杂志,2007,10(3):274-277.

[12] Dhar DK, Naora H, Kubota H, et al. Downregulation of Kiss-1 expression is responsible for tumor invasion and worse prognosis in gastric carcinoma[J]. Int J Cancer, 2004,111(6):868-872.