

例,女 13 例,年龄 35~78 岁,中位年龄 56 岁。组织学类型分别为高分化腺癌 2 例、中分化腺癌 11 例、低分化腺癌 17 例。按照国际 UICC 新 TNM 分期,Ⅰ期 A 2 例,Ⅰ期 B 3 例,Ⅱ期 6 例,Ⅲ期 A 8 例,Ⅲ期 B 5 例,Ⅳ期 6 例。有淋巴结转移 24 例,无淋巴结转移 6 例,同时取距癌边缘 >6cm 胃黏膜组织。

1.2 试剂 S-P 免疫组化试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司,KAI1 单克隆抗体购自 Phar Mingen 公司,其他试剂均由我院病理科提供。

1.3 方法 所有病理标本分为胃癌组织与胃正常黏膜组织 2 组;胃癌组织根据病理类型、临床分期、有无淋巴结转移再进行分组。所有标本均经福尔马林固定、脱水、常规石蜡包埋,并经常规 HE 染色病理检查。再行 KAI1 单克隆抗体免疫组化染色(S-P 法)检查。

1.4 免疫组化染色结果判断 细胞膜上及胞浆中出现棕黄褐色颗粒为阳性细胞,PBS 替代一抗作为阴性对照。× 200 高倍镜下随机计数 10 个视野,首先按细胞染色强度评分,无染色计 0 分,棕黄色计 2 分,棕褐色计 3 分。再按阳性细胞所占百分比评分,无阳性细胞计 0 分,阳性细胞 ≤ 10% 计 1 分,11%~50% 计 2 分,51%~75% 计 3 分,>75% 计 4 分。染色强度计分与阳性细胞百分比计分乘积 >3 者为免疫组化阳性^[1]。

1.5 统计处理 采用 χ^2 检验,数据用 SPSS11.0 软件包处理, $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

2 结果

2.1 胃癌、胃正常组织中 KAI1 表达情况 免疫组化检测结果显示,KAI1 阳性表达的细胞呈现黄棕褐色,KAI1 表达阴性的细胞呈现蓝紫色。胃正常组织中 KAI1 阳性率(93.3%,28/30)高于胃癌组织(20.0%,6/30),差异有非常显著性($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 KAI1 蛋白在胃癌组织与胃正常黏膜表达 例

组别	KAI1(+)	KAI1(-)	χ^2	P 值
胃癌组织	6	24	32.8	<0.01
胃正常黏膜组织	28	2		

2.2 KAI1 蛋白表达与胃癌病理类型、临床分期、淋巴结的关系 高、中分化腺癌 KAI1 阳性率(30.8%,4/13)高于低分化腺癌(11.8%,2/17),差异有显著性($P < 0.05$)。临床分期Ⅰ、Ⅱ期胃癌 KAI1 阳性率(45.4,5/11)高于Ⅲ、Ⅳ期胃癌(5.3%,1/19),差异有显著性($P < 0.05$)。有淋巴结转移的胃癌中 KAI1 阳性率(8.3%,2/24)明显低于无淋巴结转移者(66.7%,4/6),差异有显著性($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 KAI1 蛋白表达与胃癌病理类型、临床分期、淋巴结转移关系 例

	KAI1(+)	KAI1(-)	χ^2	P 值
病理类型	高、中分化	4	4.66	<0.05
	低分化	2		
临床分期	Ⅰ、Ⅱ期	5	7.03	<0.05
	Ⅲ、Ⅳ期	1		
淋巴结转移	有	2	10.2	<0.05
	无	4		

2.3 结论 KAI1 蛋白在胃正常黏膜组织中的阳性表达明显高于在胃癌组织中的阳性表达,KAI1 蛋白表达与胃癌的病理类型、临床分期、淋巴结转移呈负相关,提示 KAI1 基因具有抑制胃癌浸润和转移作用。

3 讨论

KAI1 基因是 1995 年由 Dong 等^[2]在实验中用 ALU-PCR

法从人前列腺癌中发现的特异性抑制肿瘤转移基因,其位于人第 11 号染色体 P11·2 区^[3],长约 80kb,结构基因由 10 个外显子和 9 个内含子组成。KAI1 是一种高糖基化的细胞膜蛋白,与 CD82 结构相同,属于四次跨膜区(TM1-TM4)和一个大的包括 3 个潜在氨基末端糖基化位点的细胞外亲水区,在细胞黏附及细胞与细胞外基质相互作用中发挥一定作用,这对肿瘤的浸润和转移具有重要作用^[4]。

目前研究发现 KAI1 可能通过以下几个机制抑制肿瘤的浸润和转移:(1)与整合素结合在细胞表面形成大的复合体,抑制整合素的黏附功能,通过改变细胞与细胞、细胞与基质的相互作用从而抑制肿瘤细胞的浸润和转移^[5]。(2)有研究发现 Src 激酶介导了 KAI1 蛋白诱导的同质性黏附的细胞内信号传导途径^[6],KAI1 蛋白通过 Src 激酶介导的细胞内信号传导途径促进细胞的同质性黏附,抑制肿瘤的转移。(3)在肿瘤转移后肿瘤细胞局部新生血管的形成中,细胞因子发挥重要作用;其中表皮生长因子(EGF)具有促进血管内皮细胞、上皮细胞等许多细胞有丝分裂,调节细胞发育、分化等多种作用。研究表明 KAI1 可与 GEF 受体相互作用,下调 GEF 与相应受体的结合,致使 GEF 受体诱导的信号传导迅速衰减,从而抑制血管的形成,最终抑制肿瘤的转移^[7]。(4)T 细胞与抗原提呈细胞(APC)在清除肿瘤细胞中发挥着重要的抗癌免疫作用,KAI1 能加强 T 细胞与 T 细胞间、T 细胞与 APC 细胞间相互作用^[8],抑制肿瘤细胞转移。(5)Takaoka 等^[9]在 KAI1cDNA 转染高转移的鼠黑色素瘤细胞系 B16-BL6 中,建立高、中和无 KAI1 表达的稳定转染克隆,结果发现表达 KAI1 的克隆细胞聚集能力较不表达组高,而且这种能力不受 Ca^{2+} 存在与否的影响;表达 KAI1 的克隆吞噬能力及侵袭能力均下降,而且这些改变均呈现剂量效应关系。静脉注入这些细胞也发现,表达 KAI1 的细胞在裸鼠肺内形成的转移克隆数也较亲代明显减少,说明 KAI1 基因具有直接抑制肿瘤转移作用。

现国内外研究表明:KAI1 基因对前列腺癌^[10]、肺癌^[11]、肝癌^[12]、乳腺癌^[13]、胰腺癌^[14]、结肠癌^[15]、膀胱癌^[16]等均有抑制肿瘤浸润和转移作用。但对胃癌转移的作用尚存在争论。Miyazaki 等^[17]与 Hinoda 等^[18]分别用 Northern blot、免疫组织化学及原位杂交技术等分析方法研究发现,随着胃癌肿瘤转移灶的形成与发展,KAI1 基因表达逐渐下降甚至缺失,表示 KAI1 基因可抑制胃癌的转移。但 Guo 等^[19]的研究结果却认为 KAI1 基因的表达与胃癌的转移无关。国内李珊珊等^[20]应用原位杂交法分析 KAI1 基因在有和无淋巴结转移的胃癌组织中的表达,亦得出与 Guo 等相似结果。本研究结果显示:KAI1 蛋白在胃低分化腺癌中表达明显低于胃高、中分化腺癌中的表达;Ⅲ、Ⅳ期胃癌中 KAI1 蛋白表达低于Ⅰ、Ⅱ期胃癌中的表达;有淋巴结转移胃癌中 KAI1 蛋白的表达低于无淋巴结转移 KAI1 蛋白表达。表明 KAI1 与胃癌的组织分化、临床分期及淋巴结转移有关,有抑制胃癌浸润和转移作用。

本研究结果中胃癌组织中 KAI1 蛋白阳性表达低,而胃正常黏膜组织中 KAI1 蛋白阳性表达高,有显著差异,提示 KAI1 有抑制胃癌的作用。有研究发现 KAI1 基因在肿瘤发生早期呈高表达,而在肿瘤进展期或发生转移时呈低表达^[21],说

明早期 KAI1 基因的高表达具有抑制肿瘤的作用, 而一旦无法保持 KAI1 基因的高表达, 则肿瘤进入进展期并开始发生侵袭和转移, 说明 KAI1 基因有抑制胃癌的作用, 并对胃癌的浸润和转移有抑制作用。有研究发现 KAI1 在 TNM I、III 期大肠癌组织中表达高于 II、IV 期, 呈双峰改变^[22]。本实验显示未出现此改变, 随着肿瘤的发展, KAI1 蛋白表达逐渐下降。在胃癌组织中 KAI1 蛋白表达越低提示肿瘤分期越晚, KAI1 这种变化也出现在其他肿瘤中, 说明 KAI1 具有普遍抑制肿瘤浸润及转移作用。

KAI1 具有抑制肿瘤浸润及转移作用得到国内外学者一致公认, 但另有研究证实当宿主细胞 NK 细胞毒作用抑制时, KAI1 基因的表达对肿瘤转移并未起到抑制作用^[23]。说明 KAI1 蛋白抑制肿瘤转移的过程中还有许多未知的调控因素。KAI1 基因的表达受哪些因子影响还不清楚, 它的结构提示其可能受多种机制的调控, 其中 P⁵³ 对 KAI1 基因的调控研究较多。Mashimo 等^[24]从 KAI1 基因启动子的结构入手, 分析了 P⁵³ 与 KAI1 基因表达关系, 认为 P⁵³ 对 KAI1 基因表达有调控作用; 并确定了 KAI1 基因调控区与 P⁵³ 结合的位点和其核心序列, 他们同时还证实了在前列腺癌中 KAI1 阳性与 P⁵³ 阳性存在一致性。Mashimo 等^[25]后来又证实鬼臼乙叉苷 (etoposide) 对 KAI1 基因的活化作用是通过 P⁵³ 和 C-jun 基因实现的。然而 Duriez 等^[26]的研究却得出与之相反的结论, 他们在实验中发现 KAI1 基因表达与 P⁵³ 的表达不平行, 认为 P⁵³ 并非是 KAI1 基因的直接调控者或唯一调控者。Miyazaki 等^[27]研究了 KAI1 基因表达与 P⁵³ 表达的关系, 亦未发现二者存在一致性。国内周涛等^[27]在研究 P⁵³ 和 KAI1 在胃癌中的表达时亦没有发现二者存在相关性。可见 P⁵³ 或其他因子对 KAI1 基因的调控尚未明确。

总之, KAI1 蛋白在抑制胃癌的浸润和转移中具有重要生物学作用, KAI1 蛋白表达水平可作为评估胃癌浸润和转移潜能、判断预后的一个指标, 为控制胃癌扩散的治疗提供了新的思路。但由于 KAI1 基因结构特殊、调控位点较多, 对其在胃癌中的表达调节机制、生物学功能及抑制肿瘤的具体机制尚未阐明, 仍有待于从多个角度作进一步研究。

参考文献

- [1] 许良中, 杨文涛. 免疫组化反应结果的判断标准[J]. 中国癌症杂志, 1996, 6(4): 229
- [2] Dong JT, Lamb PW, Rinker-schaeffer CW, et al. KAI1, a metastasis suppressor gene for prostate cancer on human chromosome 11p11.2 [J]. Science, 1995, 268(5212): 884~886
- [3] Dong JT, Isaacs WB, Barrett JC, et al. Genomic organization of the human KAI1 metastasis-suppressor gene [J]. Genomics, 1997, 41(1): 25~32
- [4] Guo X, Friess H, Graber HU, et al. KAI1 expression is up-regulated in early pancreatic cancer and decreased in the presence of 5. Tagawak, Arihiro, Takeshimay, metastases [J]. Cancer Res, 1996, 56(19): 4 876~4 880
- [5] Tagawak, Arihiro, Takeshimay, et al. Down-regulation of KAI1 messenger RNA expression is not associated with loss of heter-oxy gosity of the KAI1 gene region in long adero carcinoma [J]. Jpn J Cancer Res, 1999, 90: 970~976
- [6] Jee B, Jin K, Hahn JH, et al. Metastasis-suppressor KAI1/CD82 induces homotypic aggregation of human prostate cancer cells through Src-dependent pathway[J]. Exp Mol Med, 2003, 35(1): 30
- [7] Odintsova E, Sugiura T, Berditchevski F. Attenuation of EGF receptor signaling by a metastasis suppressor, the tetraspanin CD82/KAI1-1[J]. Curr Biol, 2000, 10(16): 1 009
- [8] Shibagaki N, Hnanda KI, Yamashita H, et al. Overexpression of CD82 on human T cells enhances LFA-1/ICAM-1 mediated cell-cell adhesion: functional association between CD82 and LFA-1 in T cell activation [J]. Eur J Immunol, 1999, 29(12): 4 081~4 091
- [9] Takaoka A, Hinoda Y, Sato S, et al. Reduced invasive and metastatic potentials of KAI1-transfected melanoma cells [J]. Jpn J Cancer Res, 1998, 89: 397~404
- [10] Bouras T, Frauman AG. Expression of the prostate cancer metastasis suppressor gene KAI1 in primary prostate cancer: a biphasic relationship with tumor grade [J]. J Pathol, 1999, 188(4): 382~388
- [11] Adachi M, Taki T, Leke Y, et al. Correlation of KAI1/CD82 gene expression with good prognosis in patients with non-small cell lung cancer[J]. Cancer Res, 1996, 56(8): 1 751~1 755
- [12] Guo XZ, Friess H, Di Mola FF, et al. KAI1, a new metastasis suppressor gene, is reduced in metastasis hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 1998, 28(6): 1 481~1 488
- [13] Yang X, Welch DR, Phillips KK, et al. KAI1, a putative marker for metastasis potential in human breast cancer[J]. Cancer Lett, 1997, 119: 149~155
- [14] Guo XZ, Friess H, Graber HU, et al. KAI1 expression is upregulation in early pancreatic cancer and decreased in the presence of metastasis[J]. Cancer Res, 1996, 56(21): 4 876~4 880
- [15] 杨景, 柳凤轩, 阎晓初, 等. 肿瘤转移抑制基因 KAI1 在大肠癌进展中的作用[J]. 癌症, 2003, 22(5): 533
- [16] 刘莉, 李祖国, 杨光之, 等. 抑癌基因 KAI1 对大肠癌细胞生物学特性的影响[J]. 第一军医大学学报, 2003, 23(6): 587
- [17] 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
- [18] Hinoda Y, Adachi Y, Takaoka A, et al. Decreased expression of the metastasis suppressor gene KAI1 in gastric cancer [J]. Cancer Lett, 1998, 129(2): 229~234
- [19] Guo XZ, Friess H, Maurer C, et al. KAI1 is unchanged in metastatic and nonmetastatic esophageal and gastric cancers [J]. Cancer Res, 1998, 58(3): 753~758
- [20] 李珊珊, 方伟岗, 晏梅, 等. 转移性和非转移性食管癌组织中 KAI1 基的表达[J]. 河南医科大学学报, 2000, 35(2): 103~104
- [21] Higashiyama M, Kodama K, Yokouchi H, et al. KAI1/CD82 expression in non-small cell lung carcinoma is a novel, favorable prognostic factor: an immunohistochemical analysis [J]. Cancer, 1998, 83: 466
- [22] Lombardi DP, Graber HU, 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
- [23] Shinohara T, Nishimura N, Hanibuchi M, et al. Transduction of KAI1/CD82 cDNA Promotes hematogenous spread of human lung-cancer cells in natural killer cell-depleted SCID mice [J]. Int J Cancer, 2001, 94(1): 16
- [24] Mashimo T, Watabe M, Hirota S, et al. The expression of the KAI1 gene, a tumor metastasis suppressor, is directly activated by p53[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(19): 11 307~11 311
- [25] Mashimo T, Bandyopadhyay S, Goodarzi G, et al. Activation of the tumor metastasis suppressor gene, KAI1, by etoposide is mediated by p53 and c-Jun genes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 274(2): 370~376
- [26] Duriez C, Falette N, Cortes U, et al. Absence of p53-dependent induction of the metastatic suppressor KAI1 gene after DNA damage [J]. Oncogene, 2000, 19(20): 2 461~2 464
- [27] 周涛, 罗宪文, 高友兵, 等. P53 和 KAI1 在胃癌中的表达及临床意义 [J]. 中国肿瘤临床与康复, 2004, 11(2): 117~120