

肿瘤转移抑制基因 KISS-1 蛋白、基质金属蛋白酶-2 和血管内皮生长因子在结肠癌组织中的表达及临床意义

王文辉 齐元玲 徐谦 任海朋

261042 山东省潍坊市人民医院肿瘤内科

通信作者:王文辉, Email: dzqiyuanlin@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.03.026

【摘要】 目的 检测结肠癌组织中肿瘤转移抑制基因 KISS-1 蛋白(KISS-1)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)和血管内皮生长因子(VEGF)的表达,分析其与结肠癌病理特征的相关性。方法 收集2009年1月至2010年6月在潍坊市人民医院60例行结肠癌切除术患者的癌组织标本作为观察组,60例良性结肠疾病手术患者的切除组织作为对照组。采用免疫组织化学法检测 KISS-1、MMP-2 和 VEGF 的表达。结果 观察组 KISS-1、MMP-2 和 VEGF 阳性表达率分别为 31.7%、58.3% 和 78.3%, 对照组分别为 73.3%、16.7% 和 33.3%; 观察组 KISS-1 阳性表达率明显低于对照组, 差异有统计学意义($\chi^2=23.489, P<0.001$); 观察组 MMP-2 和 VEGF 的阳性表达率明显高于对照组, 差异有统计学意义($\chi^2=27.469, P<0.001$; $\chi^2=25.817, P<0.001$)。KISS-1、MMP-2 和 VEGF 的表达与结肠癌组织学分型和 TNM 分期均有明显关系, 差异有统计学意义($\chi^2=8.997, P=0.011$; $\chi^2=6.163, P=0.013$; $\chi^2=8.519, P=0.014$; $\chi^2=9.160, P=0.002$; $\chi^2=16.577, P<0.001$; $\chi^2=10.523, P=0.001$)。结论 KISS-1、MMP-2 和 VEGF 检测有助于了解结肠癌分化程度和临床分期, 并为判断预后和个体化治疗提供参考依据。

【关键词】 结肠肿瘤; 肿瘤转移抑制基因 KISS-1 蛋白; 基质金属蛋白酶-2; 血管内皮生长因子

Expression and clinical significance of kisspeptin-1, matrix metalloproteinase-2 and vascular endothelial growth factor in tissue of colon cancer Wang Wenhui, Qi Yuanling, Xu Qian, Ren Hai-peng

Department of Oncology, Weifang People's Hospital of Shandong Province, Weifang 261042, China

Corresponding author: Wang Wenhui, Email: dzqiyuanlin@163.com

【Abstract】 Objective To detect the expression of kisspeptin-1 (KISS-1), matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in the tissue of colon cancer, and analyze the relativity between KISS-1, MMP-2, VEGF and pathological characteristics of colon cancer. **Methods** A total of 60 colon cancer patients and 60 patients with benign colorectal disease who received surgical treatment in our hospital from January 2009 to June 2010 were selected as observation group and control group respectively. The cancer tissue samples and excision samples collected from them were used to detect KISS-1, MMP-2 and VEGF with immunohistochemistry. **Results** The positive rates of KISS-1, MMP-2 and VEGF were 31.7%, 58.3% and 78.3% in observation group, and 73.3%, 16.7% and 33.3% in control group. The positive rate of KISS-1 in observation group was lower than that in control group ($\chi^2=23.489, P<0.001$), and the positive rates of MMP-2 and VEGF in observation group were higher than those in control group ($\chi^2=27.469, P<0.001$; $\chi^2=25.817, P<0.001$). The expressions of KISS-1, MMP-2 and VEGF were significantly related with the histological grade and TNM stage of colon cancer ($\chi^2=8.997, P=0.011$; $\chi^2=6.163, P=0.013$; $\chi^2=8.519, P=0.014$; $\chi^2=9.160, P=0.002$; $\chi^2=16.577, P<0.001$; $\chi^2=10.523, P=0.001$). **Conclusion** It is helpful to understand the differentiation and clinical stage of colon cancer and provide evidence for clinical diagnosis and prognosis prediction by detecting KISS-1, MMP-2 and VEGF.

【Key words】 Colon neoplasm; Kisspeptin-1; Matrix metalloproteinase-2; Vascular endothelial growth factor

结肠癌发病率及死亡率在我国有上升趋势,绝大多数患者被临床诊断时已为中晚期^[1]。临床上对中早期结肠癌患者多采用根治术结合放化疗,然而对晚期结肠癌的治疗效果不明确。因此早期诊断对结肠癌患者的预后具有重要意义^[2]。研究表明^[3-4],肿瘤转移抑制基因 KISS-1 蛋白(KISS-1)对肿瘤细胞的迁移和蠕动有抑制作用,基质金属蛋白酶-2(MMP-2)在肿瘤细胞侵袭转移过程中有促进作用,血管内皮生长因子(VEGF)低水平表达可维持血管密度和渗透功能,与肿瘤的发展、转移和分期明显相关。为此本研究采用免疫组织化学法(SP法)检测结肠癌肿瘤组织中 KISS-1、MMP-2 和 VEGF 的表达,并分析其与病理特征的相关性,为临床早期诊断和预后提供实验基础。

资料与方法

1. 临床资料:选择 2009 年 1 月至 2010 年 6 月在潍坊市人民医院行结肠癌切除术,病理学证实为结肠癌且术前未接受放化疗的患者 60 例作为观察组。其中男性 39 例,女性 21 例;年龄 38~67 岁,平均(55.8±8.7)岁;高分化腺癌 10 例,中分化腺癌 36 例,低分化腺癌 14 例;I 期 5 例,II 期 22 例,III 期 27 例,IV 期 6 例;淋巴结转移 27 例。另选择 60 例良性结肠疾病手术患者切除组织作为对照组,其中男性 35 例,女性 25 例,平均年龄(56.4±9.4)岁。两组患者性别和年龄构成等差异无统计学意义($P < 0.05$)。

2. 免疫组织化学法(SP法):SP法严格按照试剂盒配套操作说明进行,经脱蜡-修复(兔抗人 KISS-1 多克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司,鼠抗人 MMP-2 单克隆抗体和鼠抗人 VEGF 单克隆抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司),阴性对照采用 PBS 缓冲液。结果判定:采用双评分半定量法评价,分为着色强度评分(0 分:未着色,1 分:淡黄色,2 分:棕黄色,3 分:棕褐色)和染色评分(取×400 倍显微镜下随机选取 5 个视野,阳性细胞比例;1 分:阳性率≤25%,2 分:阳性率为 26%~50%,3 分:阳性率为 51%~75%,4 分:阳性率为 76%~100%),最终评分取着色强度评分×染色评分,≥6 分为阳性,<6 分为阴性。

3. 质控控制:入组患者外科手术均由同一外科手术团队完成,KISS-1、MMP-2、VEGF 的检测采用同一仪器,由同一检验团队完成,结果判读由 2 名以上经验丰富的医师同时进行,并取平均分作为检测结果。数据录入由专人负责,且安排 1 人核对。

4. 统计学分析:研究数据采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,KISS-1、MMP-2 和 VEGF 与临床病理特征的关系采用 χ^2 检验;KISS-1、MMP-2 和 VEGF 三者间的表达相关性采用 Spearman 等级相关检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. KISS-1、MMP-2 和 VEGF 表达:观察组 KISS-1 阳性表达率(31.7%)明显低于对照组(73.3%),差异有统计学意义($\chi^2 = 23.416, P < 0.001$);观察组 MMP-2 和 VEGF 的阳性表达率(58.3%和 78.3%)明显高于对照组(16.7%和 33.3%),差异有统计学意义($\chi^2 = 27.469, P < 0.001$; $\chi^2 = 25.817, P < 0.001$)。见表 1。

表 1 两组患者 KISS-1、MMP-2 和 VEGF 表达对比分析

指标	观察组(n=60)		对照组(n=60)		χ^2 值	P 值
	阳性	阴性	阳性	阴性		
KISS-1	19	41	44	16	23.416	<0.001
MMP-2	35	25	10	50	27.469	<0.001
VEGF	47	13	20	40	25.817	<0.001

2. KISS-1、MMP-2 和 VEGF 的表达与结肠癌患者临床病理特征的关系:结肠癌组织中 KISS-1 的表达与患者性别、年龄无明显关系,差异无统计学意义($P > 0.05$);其与癌组织学分型和 TNM 分期有明显关系,差异有统计学意义($\chi^2 = 8.997, P = 0.011$; $\chi^2 = 6.163, P = 0.013$),见表 2。癌组织学分型和 TNM 分期引入多因素回归方程,结果显示,KISS-1 表达与组织学分型和 TNM 分期呈正相关。

结肠癌组织中 MMP-2 的表达与患者性别、年龄无明显关系,差异无统计学意义($P > 0.05$);其与癌组织学分型和 TNM 分期有明显关系,差异有统计学意义($\chi^2 = 8.519, P = 0.014$; $\chi^2 = 9.160, P = 0.002$),见表 2。癌组织学分型和 TNM 分期引入多因素回归方程,结果显示,MMP-2 表达与组织学分型和 TNM 分期呈负相关。

结肠癌组织中 VEGF 的表达与患者性别、年龄无明显关系,差异无统计学意义($P > 0.05$);其与癌组织学分型和 TNM 分期有明显关系,差异有统计学意义($\chi^2 = 16.577, P < 0.001$; $\chi^2 = 10.523, P = 0.001$),见表 2。癌组织学分型和 TNM 分期引入多因素回归方程,结果显示,VEGF 表达与组织学分型和 TNM 分期呈负相关。

3. 结肠癌组织中 KISS-1、MMP-2 和 VEGF 的关系:KISS-1 与 MMP-2 和 VEGF 在结肠癌组织中

表2 KISS-1、MMP-2和VEGF的表达与结肠癌患者临床病理特征的关系

特征	例数	KISS-1		χ^2 值	P值	MMP-2		χ^2 值	P值	VEGF		χ^2 值	P值
		阳性	阴性			阳性	阴性			阳性	阴性		
性别				0.617	0.432			0.170	0.681			0.131	0.718
男	39	11	28			22	17			30	9		
女	21	8	13			13	8			17	4		
年龄组(岁)				1.164	0.281			0.096	0.757			1.013	0.314
≤65	25	6	19			14	11			18	7		
>65	35	13	22			21	14			29	6		
组织学分型				8.997	0.011			8.519	0.014			16.577	<0.001
高	10	7	3			2	8			3	7		
中	36	10	26			22	14			32	4		
低	14	2	12			11	3			12	2		
TNM分期				6.163	0.013			9.160	0.002			10.523	0.001
I+II	27	13	14			10	17			16	11		
III+IV	33	6	27			25	8			31	2		

的表达呈负相关($r=-0.345, P=0.009; r=-0.428, P<0.001$), MMP-2与VEGF在结肠癌组织中的表达呈正相关($r=0.311, P=0.013$)。

讨 论

近年来,国内外已有相关文献报道了KISS-1、MMP-2、VEGF与多种恶性肿瘤的侵袭和转移密切相关,KISS-1对非小细胞肺癌进展起抑制作用,MMP-2和VEGF参与非小细胞肺癌进展,与其呈正相关;少见其与结肠癌浸润转移关系的研究报道^[5]。

KISS-1为转移抑制基因,其表达的产物为人孤儿G-蛋白耦联受体的内源性配体,其与受体结合可使细胞内磷脂酶-C介导的ERK等信号传导途径激活,从而影响细胞增殖和转移,对肿瘤细胞迁移和蠕动功能^[6]。临床研究报道^[6],KISS-1在正常组织的表达明显高于肿瘤组织,提示其可作为肿瘤筛查及其预后判断的指标。MMP-2为基质金属蛋白酶中的明胶酶类,其可降解细胞外基质和基底膜结构蛋白胶原,使细胞外基质松散和破坏基底膜,从而有利于肿瘤细胞通过松散的细胞外基质和破坏的基底膜,引起肿瘤细胞扩散和浸润,导致肿瘤侵袭和转移^[7]。VEGF是血管内皮细胞特异性的肝素结合生长因子,可在体内诱导血管新生,是被证实了的有促进血管内皮细胞增生的作用。本组研究显示,正常组织中KISS-1表达明显高于肿瘤组织,肿瘤组织中MMP-2和VEGF表达明显高于正常组织^[8]。KISS-1与结肠癌组织学分型和临床分期明显相关,组织学分型越低,其表达越低;随临床分期的增加,其表达降低。MMP-2、VEGF与结肠癌组织学分型和临床分期明显相关,组织学分型越低,其表达越高;随临床分期的增加,其表达上升。说明KISS-1可抑制肿瘤的进展,MMP-2和VEGF的高表达,可促进结肠

癌组织的进展和转移。KISS-1与MMP-2和VEGF呈负相关,MMP-2与VEGF呈正相关。

综上所述,KISS-1、MMP-2和VEGF在结肠癌组织的表达与结肠癌的分化程度和临床分期具有明显相关性,随肿瘤分化程度升高,KISS-1表达增加,MMP-2和VEGF表达减少;随肿瘤分期的增加,KISS-1

表达减少,MMP-2和VEGF表达增加。由此可见,KISS-1、MMP-2和VEGF可作为结肠癌临床诊断、病理分期和预后判断的参考指标。

参 考 文 献

- [1] 陈文超,韩斌,庞志刚,等. WEE1在结肠癌组织中的表达及临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32(4): 727-728. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2015.04.021.
- [2] Zheng WC, Han B, Pang ZG, et al. The clinical significance of WEE1 expression in colon cancer[J]. Chin J Exp Surg, 2015, 32(4): 727-728. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2015.04.021.
- [3] Zheng SQ, Chang YH, Hodges KB, et al. Expression of KISS1 and MMP-9 in non-small cell lung cancer and their relations to metastasis and survival[J]. Anticancer Res, 2010, 30(3): 713-718.
- [4] 陈沛林. EZH2, KISS-1, MMP-9、VEGF在肾细胞癌中的表达和意义[D]. 石家庄:河北医科大学, 2010: 1-10. DOI: 10.7666/d.y1920258.
- [5] Chen PL. The expression and clinical significance of EZH2, KISS-1, MMP-9, VEGF in renal cell carcinoma [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2010: 1-10. DOI: 10.7666/d.y1920258.
- [6] 韩雪,黄晨曦,赵佳,等. 上海市杨浦区2002-2012年户籍人口结直肠癌发病和生存分析[J]. 中华流行病学杂志, 2014, 35(3): 289-294. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2014.03.016.
- [7] Han X, Huang CX, Zhao J, et al. Incidence and survival of colorectal carcinoma among permanent residents in Yangpu district of Shanghai, from 2002 to 2012 [J]. Chin J Epidemiol, 2014, 35(3): 289-294. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2014.03.016.
- [8] Sørensen CS, Syljuåsen RG. Safeguarding genome integrity: the checkpoint kinases ATR, CHK1 and WEE1 restrain CDK activity during normal DNA replication[J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40(2): 477-486. DOI: 10.1093/nar/gkr697.
- [9] 秦琼,应建明,吕宁,等. DNA错配修复状态与结肠癌患者临床病理特征及预后的相关性[J]. 中华肿瘤杂志, 2015, 37(8): 591-596. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2015.08.006.
- [10] Qin Q, Ying JM, Lyu N, et al. Analysis of the relationship of DNA mismatch repair with clinicopathologic features and prognosis of colon cancer [J]. Chin J Oncol, 2015, 37(8): 591-596. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2015.08.006.
- [11] Stenvold H, Donnem T, Andersen S, et al. Over expression of matrix metalloproteinase-7 and -9 in NSCLC tumor and stromal cells: Correlation with a favorable clinical outcome [J]. Lung Cancer, 2012, 75(2): 235-241. DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.06.010.
- [12] 温机智,韩晓燕,魏波,等. PSF1在结肠癌组织中的表达及其对结肠癌细胞增殖的影响[J]. 中华胃肠外科杂志, 2013, 16(1): 70-74. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2013.01.019.
- [13] Wen JZ, Han XY, Wei B, et al. Expression of PSF1 in colon cancer tissues and its effect on the proliferation of colon cancer cells [J]. Chin J Gastrointest Surg, 2013, 16(1): 70-74. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2013.01.019.

(收稿日期:2015-10-20)

(本文编辑:张林东)