

Kiss-1 及 MVD 在非小细胞肺癌中检测的临床意义及其相关性研究

赵丽敏¹ 薄永青² 郭莉¹ 赵玲¹ 赵腾¹ 王晓红^{2△}

(1 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院 黑龙江 哈尔滨 150081 2 日照市东港区涛雒镇医院 山东 日照 276805)

摘要 目的:测定 NSCLC 组织中 kiss-1 基因表达、MVD 分布,探讨其临床意义及其相关性。方法:应用免疫组化 SP 法检测 56 例 NSCLC 组织中 Kiss-1 表达及 MVD 分布情况,分析其与 NSCLC 的临床病理参数的关系及其相关性。结果:kiss-1 在 NSCLC 表达低于对照组($P<0.05$) MVD 在 NSCLC 分布明显高于对照组($P<0.05$)。Kiss-1 与 NSCLC 的临床分期、淋巴结转移、肿瘤大小有关 ($P<0.05$)。MVD 与 NSCLC 分化程度、临床分期及淋巴结转移、肿瘤大小有关 ($P<0.05$)。Kiss-1 阳性组 MVD 分布明显低于 Kiss-1 阴性表达组,二者呈负相关($P<0.05$ $r=-0.363$)。结论:Kiss-1 及 MVD 在非小细胞肺癌发生、发展中发挥重要作用,二者存在相关性,联合检测可帮助预测 NSCLC 的侵袭、转移,判断预后。

关键词 kiss-1 MVD 非小细胞肺癌;免疫组化

中图分类号 R734.2 文献标识码 A 文章编号:1673-6273(2011)14-2677-04

Detections of Kiss-1 and MVD in Non Small Cell Lung Cancer and Their Clinical Significance

ZHAO Li-min, BO Yong-qing, GUO Li, ZHAO Ling, ZHAO Teng, WANG Xiao-hong[△]

(The affiliated tumor hospital of Ha Er Bin Medical University, Haerbin, 150081, China)

ABSTRACT Objective: To detect the expressions of kiss-1 and distribution of MVD in non small cell lung cancer, to investigate their clinical significance and associativity. **Methods:** The expressions of kiss-1 and distribution of MVD were detected in 56 non small cell lung cancer by immunohistochemical SP method. **Results:** In non small cell lung cancer, express of kiss-1 is lower than control group ($P<0.05$). Distribution of MVD is super than control group ($P<0.05$). Kiss-1 is concerned with clinical stage and metastasis of lymph nodes in NSCLC ($P<0.05$), and MVD is concerned with differentiated level and clinical stage and metastasis of lymph nodes in NSCLC ($P<0.05$). Distribution of MVD in the expression positive rate of kiss-1 is higher than that in the expression negative rate of kiss-1 in the tissue of NSCLC, they have negative correlation ($P<0.05$, $r=-0.363$). **Conclusions:** Kiss-1 and MVD have important role in occurrence and progress of NSCLC. We can predict invasion, metastasis and prognosis of NSCLC by uniting detection kiss-1 and MVD.

Key words: NSCLC; Kiss-1; MVD; Immunohistochemistry

Chinese Library Classification(CLC): R734.2 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2011)14-2677-04

众所周知,肺癌是严重威胁人类健康和生命的恶性肿瘤之一。而且无论从发病还是死亡病例来看均为全球首位,并呈逐年上升的趋势。其中非小细胞肺癌占肺癌约 84%,病因复杂。侵袭和转移无疑是影响恶性肿瘤预后的重要因素。目前,肿瘤转移抑制基因在肿瘤侵袭和转移中的作用受到研究者的普遍关注,但关于 NSCLC 中转移抑制基因的相关研究尚少。Kiss-1 是近年新发现的一种肿瘤转移抑制基因,在多种肿瘤的浸润转移中起着重要作用,发生机制复杂、目前尚不十分清楚。大量研究已证实肿瘤的生长与转移均依赖于微血管的生成,所以 MVD 被确认为是一个可靠的预后指标。有文献报道在非小细胞肺癌中 kiss-1 与 MMP-9 呈负相关^[1],MMP-9 通过降解 ECM、促进新生血管生成,从而促进肺癌侵袭转移,MVD 与 MMP-9 呈正相关^[2]。基于此,本研究探讨 NSCLC 组织中 Kiss-1 的表达及 MVD 的分布情况及其与临床病理参数的关系和相关性,以期

联合检测能更好的判断预后。

1 资料和方法

1.1 一般资料

随机选取哈医大附属肿瘤医院 2009 年 6 月-2010 年 5 月手术切除并经病理确诊的 56 份 NSCLC 组织标本(NSCLC 组)及 20 份癌旁正常肺组织标本(对照组)。NSCLC 组患者中,男 33 例,女 23 例;年龄 17~81 岁,大于 55 岁 40 例,小于 55 岁 16 例;鳞癌 27 例,腺癌 29 例;高中分化 24 例,低分化 32 例;有淋巴结转移者 21 例,无淋巴结转移 35 例。I、II 期 40 例,III、IV 期 16 例。肿瘤大小 T1+T2 38 例,T3+T4 18 例。

1.2 方法及结果判定标准

采用免疫组织化学 SP 法。兔抗人 KISS-1、CD34 多克隆抗体均购自武汉博士德生物工程有限公司。标本经 10% 福尔马林溶液固定,常规石蜡包埋,4 μ m 连续切片。根据细胞染色强度和染色细胞所占面积判断结果。染色强度:不染色为 0 分,轻度染色为 1 分,中度染色为 2 分,强染色为 3 分;染色面积:无细胞染色为 0 分,<25% 为 1 分,25%-50% 为 2 分,>50% 为 3 分。两种记分相加之和 >2 分者为阳性表达,≤2 者为阴性表

作者简介 赵丽敏(1979-)女,硕士研究生,主要研究方向 肺癌化疗与靶向治疗

△通讯作者 王晓红,电话:0451-86298258,13895762079,

E-mail:zhao_limin@126.net

(收稿日期 2010-12-23 接受日期 2011-01-17)

达。MVD 计数的方法及结果判定参照 Weidner^[3]等报道的方法。MVD 计数时先用低倍物镜(4x10)观察 ,寻找微血管最多的区域 ,再用中倍物镜(20x10)计数 3 个视野 ,取其平均值作为 MVD。MVD 阈值确定参照文献报道 ^[4] ≥ MVD 阈值为 MVD 阳性 ,<MVD 阈值为 MVD 阴性 (阈值一般与 MVD 平均值基本一致)。凡血管直径 >8 个红细胞或血管壁带有明显肌层以及纤维硬化、炎症及坏死区的微血管均不计在总数中。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 17.0 统计分析软件 , 计量资料以均数± 标准差表示 ,计量统计采用 t 检验 ,计数资料采用 χ^2 检验等方法 ,相关性采用 Spearman 等级相关分析。检验水准 $\alpha=0.05,P<0.05$ 有统

计学意义。

2 结果

2.1 Kiss-1 表达及 MVD 分布情况

Kiss-1 在 NSCLC 中阳性表达率 35.7%(20/56) ,在癌旁组织阳性率为 65%(13/20),主要染色在细胞浆。差异有统计学意义($P<0.05$)。MVD 在 NSCLC 中的分布明显高于癌旁组织 ,分别为 36.28± 4.83 和 18.41± 2.06($P<0.05$)。见表 1。免疫组化 : MVD 主要染色在细胞浆 ,癌组织中染色密度明显高于癌旁组织。Kiss-1 主要于细胞浆染成棕黄色 ,在肺癌组织中表达缺失。见图 1。

表 1 NSCLC 中 kiss-1 表达及 MVD 分布情况

Table 1 Expression of kiss-1 and distribution of MVD in NSCLC and tumor-surrounding normal tissue

Groups	n	Kiss-1			MVD($\bar{x}\pm s$)
		+	-	+ %	
NSCLC	56	20	36	35.7	36.28± 4.83
Normal tissue	20	13	7	65	18.41± 2.06

Note: $P<0.05$

2.2 kiss-1 的表达与临床病理特征的关系

kiss-1 的表达水平与患者性别、年龄、吸烟史、病理类型及分化程度无关($P>0.05$)。在 I、 期 NSCLC 的表达显著高于 、 期($P<0.05$)。有淋巴结转移 NSCLC 的表达显著低于无淋巴结转移($P<0.01$) ,T3+T4 表达低于 T1+T2 表达($P<0.05$)。kiss-1 在

原发灶的表达强于淋巴结转移灶。见表二

2.3 MVD 的分布与临床病理特征的关系

MVD 分布与患者性别、年龄、吸烟史及病理类型无关 ($P>0.05$)。与临床分期、淋巴结转移、肿瘤大小及分化程度有关 ($P<0.05$)。见表 2。

表 2 Nsclc 组织中 kiss-1 表达及 MVD 分布与临床病理特征的关系

Table 2 Relationship between kiss-1 expression, MVD distruction and clinicopathological characteristics of Nsclc patients

Characteristics case	n	Kiss-1		P	MVD($\bar{x}\pm s$)	P
		+	+%			
Sec	27	13	48.1	0.772	36.0± 5.89	0.772
Adc	29	7	24.1		37.33± 7.45	
I、II	40	11	27.5	0.043	34.00± 4.24	0.041
III、IV	16	9	56.3		44.71± 8.26	
LN (+)	21	5	22.7	0.01	38.5± 5.80	
LN(-)	35	15	42.9		30.2± 4.09	0.039
G ₁ +G ₂	24	12	50	0.053	26.75± 4.27	0.014
G ₃	32	8	25		37.5± 5.89	
T ₁ +T ₂	38	17	44.7	0.041	30.10± 4.04	0.017
T ₃ +T ₄	18	3	16.7		36.44± 5.59	
Male	33	10	30.3	0.311	35.25± 4.99	0.731
Female	21	10	43.5		36.50± 5.68	
≥ 55	40	14	35	0.86	43.29± 6.95	0.116
<55	21	6	37.5		36.75± 3.40	
Smoking	28	9	32.1	0.44	36.50± 3.42	0.932
No smoking	26	42.3	42.3		46.14± 7.54	

Note: Histology(Scc:Squamous cell carcinoma,Adc:Adenocarcinoma), Clinical stage(I, II, III, IV), Lymph node state(LN +,-), Pathological grae(G1+G2, G3), Tumor(T1+T2, T3+T4),Gender(Male, Femal), Age(≥ 55, <55), smoking histories(smoking,no smoking).

2.4 kiss-1 与 MVD 相关性

在 kiss-1 阳性表达结果中 MVD 分布明显低于阴性组，二者呈负相关。见表 3。
Kiss-1 阳性组 MVD 阳性表达为 7 个，阴性组 MVD 阳性表达

表 3 kiss-1 与 MVD 相关性
Table 3 Correspondence between kiss-1 and MVD

Kiss-1	MVD		Sumer
	Positive	Negative	
Positive	7	13	20
Negative	26	10	36
sumer	33	23	56

Note: P=0.006, r=-0.363

3 讨论

Kiss-1 基因是 1996 年 Lee 等^[5]运用微细胞介导转移法和消减杂交技术分离出的一个新的 cDNA 片段。Northern Blot 试验证实人在正常的心、脑、肝、肺、肾、胰腺和骨骼肌等组织中可检测到该基因的表达，以胎盘组织中表达最高^[6]。定位于染色体 1g32-q41，能调节癌细胞的生长信号和肿瘤的生物行为，在部分肿瘤中表达缺失并与侵袭转移密切相关^[7,8]。国外大量研究表明 kiss-1 与甲状腺癌^[9]、食管癌^[10]、胃癌^[11]、膀胱癌^[12]、卵巢癌^[13,14]、胰腺癌^[15]、乳腺癌^[16,17]、肾癌^[18]等多种人体恶性肿瘤的转移相关，对以上肿瘤的浸润、转移有潜在的抑制作用。Kiss-1 对肿瘤转移侵袭抑制作用机制多而复杂。Yan 等^[19]发现 Kiss-1 可能通过 NF-K B 相关途径，抑制其与 MMP-9 启动子相结合，使 MMP-9 合成下降，降低细胞的浸润能力，实现抗转移作用。研

究发现，MMP-9 不仅能够降解和破坏细胞外基质及血管基底膜，促进肿瘤转移^[20-22]。而且可以维持肿瘤微环境，促进新生血管的形成^[23]。血管新生与实体瘤的发生、转移密切相关^[24]。当今，许多学者将肿瘤微血管密度(microvessel density, MVD)作为肿瘤微血管形成的重要标志。随着肿瘤 MVD 的增加，肿瘤侵袭转移等恶性潜能也明显增加。但肿瘤血管生成和血管浸润在肺癌的侵袭、转移以及预后中的作用国内外报道不一^[25-27]。本研究试验结果证实，MVD 与 NSCLC 的临床分期、肿瘤大小、淋巴结转移及分化程度有关，这与黄礼年^[28-29]等文献报道一致。kiss-1 与 NSCLC 的淋巴结转移、临床分期及肿瘤大小相关。这可能为临床估计 NSCLC 的预后提供依据。而且研究表明 MVD 与 kiss-1 在 NSCLC 转移及临床分期中是呈负相关性，所以 kiss-1 和 MVD 联合检测可能更有利于判断预后。

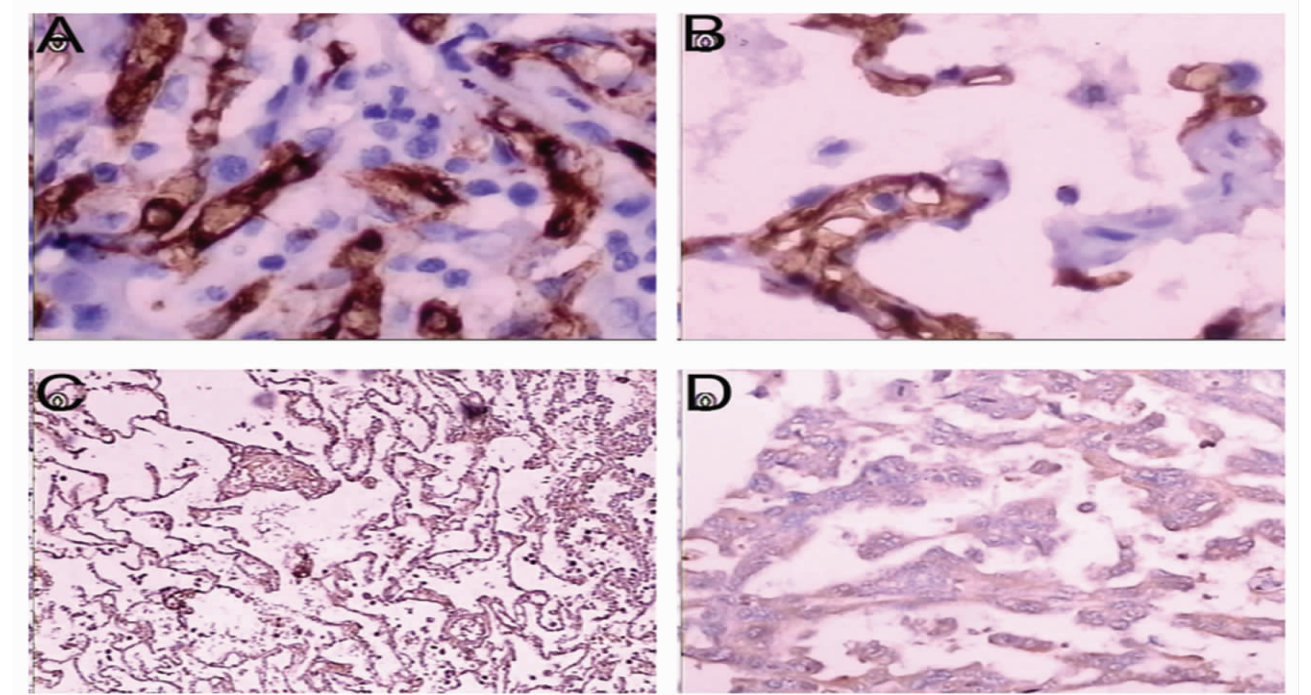


图 1 应用免疫组化的方法检测不同组织中 MVD 和 Kiss-1 的分布和表达(x200)

Fig.1 Immunohistochemical analysis of kiss-1 expression and MVD distribution in different tissue.(x200)

A: MVD distribution in tissue of lung caner(MVD 在肺癌组织中的分布)B: MVD distribution in para-cancerous tissue (MVD 在癌旁组织的分布) C: Kiss-1 strongly positive expression in para-cancerous tissue (kiss-1 在癌旁组织的强阳性表达)D: Kiss-1 negative expression in lung cancer tissue.(kiss-1 在肺癌组织的阴性表达)

参考文献(References)

- [1] Changyanhe, Zhangyanmin, Lijiong, et al. Expression of Kiss-1 and MMP-9 in non small cell lung cancer and their correlation with metastasis and prognosis [J]. Practical Journal of medicine, 2008,24 (18):3129-3131
- [2] LuoBin, Qinzhen, Wangxudong, et al. The relationship of mmp-9 and TIMP-1 expression with microvascular density in lung carcinoma and its significant[J]. Clin Exp Pathol, 2009,25(5):510-512
- [3] Weidner N, Semple JP, Welch WR, et al. Tumor angiogenesis and metastasis correlation in invasive breast carcinoma [J]. N Engl J Med, 1991,324(1): 1-8
- [4] Gasparini G, Harris AL. Clinical importance of the determination of tumor angiogenesis in breast carcinoma: Much more than a new prognostic tool[J]. J Clin Oncol, 1995,13(3):765-782
- [5] Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, et al. Kiss-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene [J]. J Natl Cancer Inst, 1996,88 (23):1731-1737
- [6] Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, et al. Metastasis suppressor gene KISS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor [J]. Nature, 2001,411(6837):613-617
- [7] West A, Vojta PJ, Welch DR, et al. Chromosome localization and genomic structure of the Kiss-1 metastasis suppressor gene (Kiss-1)[J]. Genomics, 1998,54(1):145-148
- [8] Martin TA, Watkins G, Jiang WG. Kiss-1 expression in human breast cancer[J]. Clin Exp Metastasis, 2005,22(6):503-511
- [9] Ringel MD, Hardy E, Bernet VJ, et al. Metastatin receptor is overexpressed in papillary thyroid cancer and activates MAP kinase in thyroid cancer cells [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2002,87(5): 2399-2411
- [10] Ikeguchi M, Yamaguchi K, Kaibara N. Clinical significance of the loss of kiss-1 and orphan G protein coupled receptor (hOT7T175) gene expression in esophageal squamous cell carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2004,10(4): 1379-1383
- [11] Dhar DK, Naora H, Kubota H, et al. Down regulation of Kiss-1 expression is responsible for tumor invasion and worse prognosis in gastric carcinoma[J]. Int J Cancer, 2004,111(6):868-872
- [12] Sanchez Carbayo M, Capodice P, Cordon Cardo C. Tumor suppressor role of Kiss-1 in bladder cancer: loss of Kiss-1 expression is associated with bladder cancer progression and clinical outcome[J]. Am J Pathol, 2003,162(2):609-617
- [13] Jiang Y, Berk M, Singh IS, et al. KiSS-1 suppresses metastasis in human ovarian cancer via inhibition of protein kinase C alpha [J]. Clin Exp Metastasis, 2005,22(5):369-371
- [14] Gao GL, Liu LD, XS, et al. Expression of KiSS-1, matrix metalloproteinase-9, nuclear factor-kappaB p65 in ovarian tumor. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi, 2007,42(1):34-38
- [15] Masui T, Doi R, Mori T, et al. Metastatin and its variant forms suppress migration of pancreatic cancer cells [J]. Biochem Biochem Biophys Res Commun, 2004,315:85-92
- [16] Stark AM, Tongers K, Maass N, et al. Reduced metastasis-suppressor gene mRNA-expression in breast cancer brain metastases[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2005,131(3):191-198
- [17] Kostadima L, Pentheroudakis G, Pavlidis N. The missing kiss of life: transcriptional activity of the metastasis suppressor gene Kiss-1 in early breast cancer[J]. Anticancer Res, 2007,27(4B): 2499-2504
- [18] Yoshioka K, Ohno Y, Horiguchi Y, et al. Effects of a KiSS-1 peptide, a metastasis suppressor gene, on the invasive ability of renal cell carcinoma cells through a modulation of a matrix metalloproteinase 2 expression[J]. Life Sci, 2008,83 (9-10): 332-338
- [19] Yan C, Wang H, Boyd D. KiSS-1 represses 92-kDa type IV collagen expression down stream NF-KB binding to the promoter sequence of IKK β -induced block of p65/p50 nuclear translocation [J]. Biol Chem, 2001,276(2):1164
- [20] John A, Tuszynski G. The role of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis and tumor metastasis[J]. Pathol Oncol Res, 2001,7(1): 14-23
- [21] Baba Y, Lyama K, Ikeda K, et al. Differential expression of basement membrane type IV collagen chains in gastric intramucosal neoplastic lesions[J]. J Gastroenterol, 2007,42(11):874-880
- [22] Baba Y, Iyama K, Ikeda K, et al. The expression of type IV collagen $\alpha 6$ chains is related to the prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. Ann Surg Oncol, 2008,15(2):555-565
- [23] Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression[J]. Nat Rev Cancer, 2002,2(3): 161-174
- [24] Zhu Jing, Wan Yuanlian, Liu Yucun, et al. Vessels with the growth generated and tumor[J]. Modern Oncology, 2007,15(3):428-430
- [25] Laack E, Scheffler A, Burkholder I, et al. Pretreatment vascular endothelial growth factor (VEGF) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) serum levels in patients with metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. Lung Cancer, 2005,50(1):51-58
- [26] Tinotheadou E, Skarlos DV, Samantas E, et al. Evaluation of the prognostic role of a panel of biomarkers in stage IB-III non-small cell lung cancer patients[J]. Anticancer Res, 2007,27(6):4481-4489
- [27] Chakra M, Pujol JL, Lamy PJ, et al. Circulating serum vascular endothelial growth factor is not a prognostic factor of non-small cell lung cancer[J]. J Thorac Oncol, 2008,3(10):1119-1126
- [28] Huang Linian, Xiaowei, Chenyuqing. Relationship between angiogenesis of non small cell lung cancer[J]. Gerontology Journal of China, 2009,9:2566-2568
- [29] Mu Haiyu, Sen Chunyan, Tao Meng. Effect of VEGF on the progression and prognosis in non-small cell lung cancer[J]. Modern Oncology, 2009,17(7):1259-1261