

文章编号:1005-6947(2006)01-0063-03

· 简要论著 ·

# KAI-1 基因在肝细胞癌中的表达及其临床意义

易石坚<sup>1</sup>, 余思忠<sup>1</sup>, 钟德珩<sup>2</sup>, 杨竹林<sup>2</sup>

(1. 广东省深圳市福永人民医院 外三科, 广东 深圳 518103; 2. 中南大学湘雅二医院 肝胆外科, 湖南 长沙 410013)

**摘要:**为研究 KAI-1 在肝细胞癌(HCC)中的表达及其与临床病理特征的关系,笔者对 48 例 HCC 手术切除的新鲜标本和 10 例正常肝组织经常规方法应用 SABC 免疫组化法,以 KAI-1 单克隆抗体对切片进行染色。检测 KAI-1 在 HCC 中的表达及其与临床病理特征的关系。结果显示 KAI-1 在 HCC 癌组织中的阳性率为 58.33%,明显低于癌旁及正常肝组织( $P < 0.05$ ),KAI-1 在有转移与无转移 HCC 中的评分分别是  $1.76 \pm 1.51$  和  $2.90 \pm 1.82$ ,前者明显低于后者( $P < 0.05$ ),而与其他临床病理特征无显著关系。提示 KAI-1 在 HCC 中的表达明显降低,且转移者明显低于不伴转移者。提示 KAI-1 可能抑制了 HCC 的发生发展和转移。

**关键词:**癌,肝细胞/病理学;肝肿瘤/病理学;KAI-1 基因

**中图分类号:**R735.7; R730.261

**文献标识码:**B

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的转移复发是治疗中的棘手问题,研究表明肿瘤转移的过程包括肿瘤细胞脱离原发病灶,黏附于细胞外基质,同时分泌蛋白水解酶降解基质,进入血管和淋巴管,通过黏附于内皮细胞在适宜部位驻留,诱导血管生成,逃避机体免疫系统的攻击,在远隔部位形成转移灶<sup>[1]</sup>。整个过程复杂,受机体的转移基因及转移抑制基因的调控,KAI-1 基因主要参与细胞的黏附,使肿瘤细胞不易从原发灶脱落,阻断转移黏附环节而抑制转移,故 KAI-1 基因是一种肿瘤转移抑制基因,其与肿瘤转移有密切关系。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 标本来源 收集中南大学湘雅二医院肝胆胰外科 2003 年元月-2004 年 8 月手术切除的 HCC 标本 48 例,其中男 44 例,女 4 例;年龄 23~73(平均  $42.5 \pm 16.3$ )岁。48 例病理切片均证实为 HCC,包括高分化癌 6 例,中分化癌 22 例,低分化癌 20 例。肿瘤直径  $\leq 5$  cm 者 5 例, $\geq 10$  cm 3 例,

5~10 cm 40 例。伴肝硬化 28 例;有转移 28 例,有癌栓 16 例;甲胎蛋白阳性 37 例。所有病例术前均未接受任何治疗。切除的标本取癌和癌旁非癌组织(距瘤缘 2 cm),另取正常肝组织 10 例(均为肝血管瘤患者,其中男 6 例,女 4 例;年龄 24~72 岁)作对照。

1.1.2 实验材料 兔抗人 KAI-1(1:100)单克隆抗体购于美国三泰公司,SABC(兔 IgG)免疫组织化学试剂盒购自武汉博士德生物工程公司。

### 1.2 方法

所有标本均用 10% 福尔马林固定,常规行石蜡包埋连续切片,厚  $4 \mu\text{m}$ ;采用 SABC 免疫组化染色法,染色结果由 2 名病理科医师采用双盲原则评定。凡细胞浆中出现明显的棕黄色颗粒者为阳性细胞。免疫组化着色强度评分:0 分为无;1 分为弱;2 分为中;3 分为强。阳性细胞评分按百分率递增:0 分为  $< 5\%$ ;1 分为  $5\% \sim 10\%$ ;2 分为  $10\% \sim 20\%$ ;3 分为  $20\% \sim 50\%$ ;4 分为  $> 50\%$ ;染色强度计分与阳性细胞率计分之和为该病例评分值,设定评分值 0~2 分为阴性; $\geq 3$  分为阳性<sup>[2]</sup>。

### 1.3 统计学处理

采用  $\chi^2$  检验,  $t$  检验和 Fisher 确切概率法。检验水准  $\alpha = 0.05$ 。统计处理由 SPSS11.5 统计软件包完成。

收稿日期:2005-03-13; 修订日期:2005-11-16。

**作者简介:**易石坚,男,湖南常德人,广东省深圳市福永人民医院副主任医师,主要从事肝胆胰外科基础与临床方面的研究。

**通讯作者:**易石坚 电话:0755-27393126-8013(O), 13688804611(手机); E-mail: yishijian1969@hotmail.com。

## 2 结果

### 2.1 KAI-1 在 HCC 组织、癌旁及正常肝组织中的表达

KAI-1 阳性表达主要均匀分布于胞浆,少量位于胞核,光镜下呈棕黄色(图 1-3)。癌组织中 KAI-1 表达阳性率及评分明显低于癌旁和正常肝组织,差异均有显著性或高度显著性( $P < 0.01$  或  $P$

$< 0.05$ ),但癌旁组织与正常肝组织比较差异无显著性( $P > 0.05$ )(表 1)。

### 2.2 KAI-1 在 HCC 中的表达与临床病理因素的关系

KAI-1 在癌组织中的表达与评分,伴有转移者明显低于不伴转移者,差异有显著性( $P < 0.05$ ); KAI-1 与 AFP 及肿瘤直径、分化程度、癌栓、肝硬化均无明显关系( $P > 0.05$ )(表 2)。

图 1 KAI-1 在高分化 HCC 组织中的阳性表达,评分 5 分(SABC × 200)

图 2 KAI-1 在癌旁肝组织中的阳性表达,评分 5 分(SABC × 200)

图 3 KAI-1 在正常肝组织中的阳性表达,评分 6 分(SABC × 200)

表 1 KAI-1 在 3 种组织中的表达

| 肝组织 | 例数 | 阳性数(%)    | 评分( $\bar{x} \pm s$ )     |
|-----|----|-----------|---------------------------|
| HCC | 48 | 28(58.33) | 2.42 ± 1.80               |
| 癌旁  | 48 | 40(83.33) | 3.75 ± 1.44 <sup>1)</sup> |
| 正常  | 10 | 10(100.0) | 4.50 ± 0.85 <sup>2)</sup> |

注:1)与 HCC 组织比较,  $P < 0.01$ ; 2)与 HCC 组织比较,  $P < 0.05$

表 2 KAI-1 在 HCC 中的表达与临床病理因素的关系

| 特征       | <i>n</i> | 评分( $\bar{x} \pm s$ ) |
|----------|----------|-----------------------|
| 分化       |          |                       |
| 高        | 6        | 3.17 ± 1.60           |
| 中        | 22       | 2.27 ± 1.83           |
| 低        | 20       | 2.35 ± 1.84           |
| 肝硬化      |          |                       |
| 无        | 20       | 2.75 ± 1.21           |
| 有        | 28       | 2.18 ± 1.85           |
| AFP      |          |                       |
| (-)      | 11       | 2.64 ± 1.80           |
| (+)      | 37       | 2.35 ± 1.81           |
| 转移       |          |                       |
| 无        | 20       | 2.90 ± 1.82 †         |
| 有        | 28       | 1.76 ± 1.51           |
| 癌栓       |          |                       |
| 无        | 32       | 2.56 ± 1.74           |
| 有        | 16       | 2.13 ± 1.93           |
| 肿瘤直径(cm) |          |                       |
| ≤5       | 5        | 1.80 ± 1.63           |
| 5~10     | 40       | 2.83 ± 1.82           |
| ≥10      | 3        | 4.00 ± 1.00           |

注:† 与有转移比较,  $P < 0.05$ 。

## 3 讨论

KAI-1 基因位于人第 11 号染色体 P11.2 区<sup>[3]</sup>,是由 Dong 等<sup>[4]</sup>应用人特异 ALU 元素多聚酶链反应(PCR)方法,于 1995 年从人前列腺癌中发现的肿瘤转移抑制基因。它与已发现的 CD82 结构相同,是 TM4SF (fransmember 4 super family) 家族成员<sup>[5]</sup>。由此推测 KAI-1 基因抑制肿瘤转移的作用可能与细胞-细胞间或细胞-细胞基质的相互作用,细胞与间质之间的黏附机制有关。CD82 分布极其广泛,机体大多数组织均有表达,其氨基酸序列相当保守,提示 CD82 具有重要的生物学功能<sup>[6]</sup>。近年来的研究证实 KAI-1 基因表达下降或缺失与人类胰腺癌<sup>[7-8]</sup>、胃癌及食管癌<sup>[9-10]</sup>、前列腺癌<sup>[11-13]</sup>、乳腺癌<sup>[14-15]</sup> 的转移和预后密切相关;随着肿瘤转移灶的形成与发展,其表达逐渐下降或缺失。表明 KAI-1 基因可以抑制肿瘤转移。Friess 等<sup>[16]</sup> 比较了未转移与已发生转移的胰腺癌及淋巴结,肝转移癌 4 组中 KAI-1 基因的表达情况,发现未转移者 KAI-1 基因表达高于其他 3 组,而淋巴结转移癌低于已经发生转移的原发癌;肝转移癌中 KAI-1 基因表达几乎缺失。本研究采用

免疫组化 SABC 法, KAI-1 单克隆抗体测定 48 例肝癌和癌旁组织及 10 例正常肝组织中 KAI-1 基因表达情况。发现在 48 例 HCC 中 KAI-1 表达阳性率明显低于癌旁组织的及正常肝组织中 KAI-1 的表达性率(均  $P < 0.05$ ), 不伴转移的 HCC 组织中的评分明显高于伴有转移者 ( $P < 0.05$ )。说明 KAI-1 的表达与肿瘤转移有关, 与 Gung<sup>[17]</sup> 和 Sung<sup>[18]</sup> 的研究结果一致, 因此有理由推测, KAI-1 基因表达下降或缺失是肝癌发生发展中较常见的分子事件, 其表达下降或缺失也是肝癌细胞中具有转移潜能的细胞克隆的遗传表型; KAI-1 基因在抑制肝癌的转移过程中起重要作用, 可作为判断肝癌转移与否的重要指标。本资料未能证实 KAI-1 基因表达与分化程度、APF、癌栓、肿瘤大小等临床病理特征有关(均  $P > 0.05$ )。此结果可能与研究时间短、病例数少有关。目前对 KAI-1 基因抑制肿瘤转移的机制以及调控机制尚不明确, 有待深入研究。

#### 参考文献:

- [1] 李春海, 李克勤. 肿瘤微血管生成的机制与肿瘤侵袭和转移[J]. 中华肿瘤杂志, 2000, 22(5): 3-5.
- [2] 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(8): 229-230.
- [3] Dong JT, Isaacs WB, Barrett JC, *et al.* Genomic organization of the human KAI-1 metastasis-suppressor gene [J] *Genomics*, 1997, 41(1): 25-32.
- [4] Dong JT, Lamb PW, Rinker-Schaeffer CW, *et al.* KAI-1, a metastasis suppressor gene for prostate cancer on human chromosome 11 P11. 2 [J]. *Science*, 1995, 268(5212): 884-886.
- [5] Hashida H, Takabayashi A, Tokuhara T, *et al.* Clinical significance of transmembrane-4-superfamily in colon cancer [J]. *BrJ Cancer*, 2003, 89(1): 158-167.
- [6] Wright MD, Tomlinson MG. The ins and outs of the transmembrane 4 superfamily [J]. *Immunol Today*, 1994, 15(12): 588-594.
- [7] Guo XZ, Friess H, Graber HU, *et al.* KAI-1 expression is up-regulated in early pancreatic cancer and decreased in the presence of metastasis [J]. *Cancer Res*, 1996, 56(21): 4876-4880.
- [8] Sho M, Adachi M, Taki T, *et al.* Transmembrane 4 superfamily as a prognostic factor in pancreatic cancer [J]. *Int J Cancer*, 1998, 79(5): 509-516.
- [9] Miyazaki T, Kato H, Shitara Y, *et al.* Mutation and expression of the metastasis suppressor gene KAI-1 in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Cancer*, 2000, 89(5): 955-962.
- [10] Hinoda Y, Aachi Y, Takaoka A, *et al.* Decreased expression of the metastasis suppressor gene KAI-1 in gastric cancer [J]. *Cancer Lett*, 1998, 129(2): 229-234.
- [11] Dong JT, Suzuki H, Pin SS, *et al.* Down-regulation of the KAI-1 metastatic cancer infrequently involves gene mutation or allelic loss [J]. *Cancer Res*, 1996, 56(19): 4387-4390.
- [12] Ward JM, Konishi N, Ohshima M, *et al.* Expression of KAI-1 in paraffin embedded normal, hyperplastic and neoplastic prostate and prostate carcinoma cell line S [J]. *Pathol Int*, 1998, 48(9): 87-92.
- [13] Ueda T, Ichikawa T, Tamaru J, *et al.* Expression of the KAI-1 protein in benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. [J]. *AmJ Pathol*, 1996, 149(5): 1435-1440.
- [14] Yang X, Welch DR, Phillips KK, *et al.* KAI-1, a putative marker for metastatic potential in human breast cancer [J]. *Cancer Lett*, 1997, 119(2): 149-155.
- [15] Huang CI, Kohno N, Ogawa E, *et al.* Correlation of reduction in MRP1/CD9 and KAI-1/CD82 expression with recurrences in breast cancer patients [J]. *Am J Pathol*, 1998, 153(3): 973-983.
- [16] Friess H, Guo XZ, Berberat P, *et al.* Reduced KAI-1 expression in pancreatic cancer is associated with lymph node and distant metastasis [J]. *Int J Cancer*, 1998, 79(4): 349-351.
- [17] Gung XZ, Friess H, Di Mola FF, *et al.* KAI-1, a new metastasis suppressor gene, is reduced in metastatic hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 1998, 28(6): 1481-1488.
- [18] Sung HC, Tang ZY, Zhou G, *et al.* KAI-1 gene expression in hepatocellular carcinoma and its relationship with intrahepatic metastases [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 1998, 17(3): 307-311.