

KIN17 在 28 例肺癌标本中的表达分析*

曾涛¹, 陆光明² (1. 广东医学院医学检验学院, 广东东莞 523808; 2. 广州医学院第二附属医院, 广东广州 510260)

【关键词】 KIN17; 肺癌; 表达

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.12.084 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2013)12-1619-02

明确肿瘤发病机制与分子机制, 发现理想的早期筛查指标与治疗靶标对肿瘤诊断及治疗极为重要。肺癌细胞具有持续的 DNA 复制潜能和蓄积的 DNA 损伤, 而 KIN17 蛋白与 DNA 复制及修复有关^[1-2], 因此考虑 KIN17 可能与肺癌细胞功能有关。本文通过免疫组化技术分析 KIN17 在肺癌组织中的表达情况, 以期深入探讨 KIN17 在肺癌发病机制与治疗中的作用奠定基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 广州医学院第二附属医院病理科于 2010 年 1 月至 2012 年 7 月经手术切除并病理确诊的肺癌标本 28 例, 每例标本同时包括肿瘤组织与癌旁组织, 石蜡包埋封存; 腺癌 7 例, 鳞癌 9 例, 大细胞癌 5 例, 小细胞癌 7 例。

1.2 试剂 鼠抗人 KIN17 单抗(美国 Santa Cruz), ChemMate™ EnVision 鼠兔通用型免疫组化检测试剂盒(日本 Dako), 其他试剂均为国产或进口分析纯。

1.3 方法 所有石蜡切片均行免疫组化染色, 阴性对照以磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗。石蜡切片脱蜡至水后, 3% H₂O₂ 孵育 10 min, 0.01 mol/L 柠檬酸缓冲液修复抗原; 加入 KIN17 一抗(1:100 稀释), 4℃ 过夜; 加 ChemMate™ EnVision 二抗室温孵育 1 h, PBS 洗净; DAB 工作液显色, 苏木素复染, 脱水透明, 中性树脂封存。全部切片由两位病理医生采用双盲法根据染色强度与阳性细胞百分率进行评分, ≤100 分判为低表达, >100 分判为高表达^[3]。

1.4 统计学处理 计数资料以百分率表示, 组间比较采用 SPSS13.0 软件进行 χ^2 检验, 显著性检验水准为 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结果

阴性对照均无特异性染色; 肺癌组织标本染色较强, 92.9%(26/28) 肺癌组织为 KIN17 高表达, 且基本为核定位(图 1); 3.6%(1/28) 肺癌癌旁组织为 KIN17 高表达, 染色普遍较浅; 癌组织与癌旁组织 KIN17 表达率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。



左: 阴性对照(×100); 中: 癌组织(×100); 右: 癌组织(×400)。

图 1 KIN17 在肺癌组织中的阳性表达(标尺为 30 μ m)

3 讨论

KIN17 蛋白在物种进化过程中较为保守, 说明其很可能在细胞中具有“管家功能”^[4]。KIN17 蛋白与 DNA 复制有关, 是多种蛋白 DNA 复制复合物的成分之一。以 KIN17 抗体作用细胞, 可抑制 DNA 复制^[1]。紫外线或离子辐射可诱导 KIN17 蛋白表达上调及定位改变。KIN17 作为 DNA 维持蛋白, 参与晚期 DNA 修复, 可对尚未修复的 DNA 损伤进行再次修复, 使未修复病灶组织细胞 DNA 得以复制^[2]。

有研究显示 KIN17 在各种正常组织中普遍低表达^[4]。本课题组也曾证实 KIN17 在乳腺正常上皮细胞 Hs-578Bst 中表达极低, 而在乳腺癌细胞系与肿瘤组织中明显高表达^[5]。沉默 KIN17 表达能抑制乳腺癌细胞 DNA 复制, 加剧 DNA 损伤, 抑制肿瘤细胞增殖与克隆形成, 而 KIN17 表达上调可维持肿瘤细胞 DNA 复制及 DNA 损伤修复功能, 促进乳腺癌细胞增殖; 沉默 KIN17 表达也可增强乳腺癌细胞对化疗药物的敏感性。因此, KIN17 很可能是潜在的肿瘤治疗靶点^[5]。本研究显示, 肺癌组织 KIN17 表达强度明显高于癌旁组织, 为进一步探讨该蛋白在肺癌细胞中的功能及分子调控机制奠定了基础。

参考文献

- [1] Miccoli L, Frouin I, Novac O, et al. The human stress-activated protein kin17 belongs to the multiprotein DNA replication complex and associates in vivo with mammalian replication origins [J]. Mol Cell Biol, 2005, 25(9): 3814-3830.
- [2] Biard DS, Saintigny Y, Maratrat M, et al. Enhanced expression of the Kin17 protein immediately after low doses of ionizing radiation [J]. Radiat Res, 1997, 147(4): 442-450.
- [3] Merritt WM, Lin YG, Han LY, et al. Dicer, Drosha, and outcomes in patients with ovarian cancer [J]. N Engl J Med, 2008, 359(25): 2641-2650.
- [4] Kannouche P, Mauffrey P, Pinon-Lataillade G, et al. Molecular cloning and characterization of the human KIN17 cDNA encoding a component of the UVC response that is conserved among metazoans [J]. Carcinogenesis, 2000, 21(9): 1701-1710.
- [5] Zeng T, Gao H, Yu P, et al. Up-regulation of kin17 is es-

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(项目编号: 81201831); 广东省自然科学基金项目(项目编号: S2012040006310); 广东省医学科学技术研究基金项目(项目编号: B2012266); 广东医学院科研基金项目(项目编号: B2011021)。

sential for proliferation of breast cancer [J/OL]. PLoS One, 2011-09-29 [2013-01-12], <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3183049/>.

(收稿日期:2012-11-21 修回日期:2012-12-12)

1 例以食管外症状为主要表现的胃食管反流病循证治疗

喻朝宁¹, 何继东² (1. 四川邛崃市医疗中心医院, 四川邛崃 611530; 2. 四川雅安市第二人民医院, 四川雅安 625000)

【关键词】 胃食管反流病; 治疗; 循证医学

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.12.085 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2013)12-1620-02

胃食管反流病(GERD)发病率高,且 GERD 食管外症状复杂,易延误诊治。本文结合 1 例以食管外症状为主要表现的 GERD 患者,运用循证医学的方法进行探讨。

1 临床资料

患者,男,40 岁;反复咳嗽 5⁺ 年,多为干咳,伴咽部发痒,好发于每年 8~9 月,以夜间发作剧烈,偶有胃灼热、反酸、胸痛。胃灼热和反酸多在餐后出现,平卧及弯腰时明显。出现胸痛时不伴有胸闷、晕厥。无吞咽困难、腹痛、腹泻及黑便。否认食物及药物过敏史。既往无吸烟史,饮酒 10 年,每日约 25 g 白酒,未戒。平时少锻炼,高脂饮食为主。查体:身高 172 cm,体质量 85 kg,体质量指数(BMI)28.7 kg/m²,血压 115/80 mm Hg,心肺腹无阳性发现。实验室及器械检查:血常规、肝功能、肾功能、血糖、血脂无明显异常。胸部 X 线片未见异常。过敏原检查阴性。肺功能检查示通气功能和弥散功能均正常。胃镜检查示:反流性食管炎,A 级。食管 pH 值监测示:共记录 24 h,发现总反流次数约 215 次,长于 5 min 的反流次数约 8 次,最长反流时间约 28 min,总反流时间 158 min。食管测压示:食管下段括约肌静息压力 5.5 mm Hg,松弛压力 -12 mm Hg,松弛率为 55%。诊断:胃食管反流病合并食管外表现;反流性食管炎,A 级。

2 临床问题

针对患者临床特点,采用 PICO 原则,将临床问题转化为可进行电子检索的临床问题:(1)有哪些导致反流加重的危险因素?(2)如何指导患者改善生活方式、调整饮食及减肥治疗?(3)基于目前临床证据,制定经济合理的药物治疗方案;(4)病情控制后是否需要及如何维持治疗?

3 证据检索

3.1 检索资源 检索 Cochrane 图书馆(2011 年第 1 期)、EMBASE(2000~2011 年)、CNKI(2000~2011 年)、MEDLINE(2000~2011 年)及 <http://www.guideline.org>(2004~2011 年)。

3.2 检索策略及结果 按照目前公认的证据强度高,首先查找有关的临床指南、系统评价、Meta 分析、多中心大样本随机对照试验。若没有则逐级降低查找单个大样本随机对照试验(RCT)研究、有对照但未用随机方法分组的研究、无对照的系列病例观察和单个病例等,最后检索有无专家意见。研究对象限制为人类。系统评价首选 Cochrane 系统评价并参考疗效评价文献库(DARE)对系统评价的整理评价。检索关键词为:gastroesophageal reflux disease, drug, treatment, extraesophageal manifestations, cough, obesity, diet, lifestyle, RCT, meta-analysis, systematic review。最终纳入 6 个临床指南,11 个系统

评价/Meta 分析和 3 个 RCT。

4 证据适用性评价

4.1 导致 GERD 患者反流加重的危险因素 Yaghoobi 等^[1]认为在消化不良患者中,幽门螺杆菌的根除与新发 GERD 病例无相关性。然而队列研究显示,消化性溃疡患者糜烂性食管炎发病风险可能提高 2 倍。Corley 等^[2]的系统评价结果显示,BMI 增加和 GERD 发病呈正相关,且相关性与 BMI 水平均呈阶梯状,支持体质量减少是治疗 GERD 的评估标准之一,但尚需进一步评估。Cook 等^[3]的系统评价认为,体质量增加是 GERD 引起 Barrett 食管的间接因素之一,但 BMI 对 GERD 及渐进性 Barrett 食管病变没有预测价值。

4.2 如何指导患者改善生活方式、调整饮食及减肥治疗 美国胃肠病学学会指南认为,尽管单纯依靠改善生活方式及调整饮食未必能够控制多数患者的症状,但生活习惯的改变对多数 GERD 患者是有益的^[4]。Kaltenbach 等^[5]的系统评价结果显示,减肥能够显著改善 GERD 患者内镜检查结果。目前无证据支持戒烟、禁酒及其他饮食干预可改善 GERD。Bujanda 等^[6]的研究认为,肥胖、平卧、进食过快、烟草、酒精及锻炼可以引起反流症状(包括胃灼烧和反酸),巧克力、酸味果汁、碳酸饮料和洋葱可能会增加反流症状,而压力及均衡脂肪饮食与反流无关,但尚缺乏前瞻性研究证据;饭后咀嚼口香糖、保持站立和睡前 4 h 禁食可改善 GERD 患者反流症状。2008 年美国胃肠病学学会指南指出,生活方式改善可能有助于改善某些 GERD 患者反流症状,但目前尚无证据支持或不支持推荐所有 GERD 患者改善生活方式^[4]。

4.3 制订经济合理的治疗方案 美国胃肠病学学会指南指出,抑酸药物治疗 GERD 方面,质子泵抑制剂(PPI)优于组胺受体拮抗剂(H2RA),H2RA 优于安慰剂^[5]。美国胸科医师协会指南指出,对无 GERD 症状但考虑慢性咳嗽与 GERD 相关或慢性咳嗽且有 GERD 明显症状的患者,推荐抗反流治疗;GERD 相关慢性咳嗽的治疗推荐:饮食和生活方式改善;抑酸治疗;在初始治疗或前两项治疗疗效差时应加用促动力药^[7]。亚太地区 GERD 处理共识意见指出,GERD 患者需接受至少连续 4~8 周的初始 PPI 治疗;在排除非 GERD 病因后,具有慢性咳嗽、喉炎及典型 GERD 症状的患者应予每天 2 次 PPI 治疗^[8]。Khan 等^[9]发现,PPI 标准剂量与安慰剂疗效相比,标准剂量 PPI 治疗可显著提高食管炎愈合度,且 PPI 治疗效果优于 H2RA 或 H2RA 和促胃动力药物联合使用。Chang 等^[10]发现,PPI 治疗 GERD 相关慢性咳嗽在症状改善及咳嗽积分改善方面优于安慰剂。Szucs 等^[11]的多中心 RCT 结果显示,埃索