

hMSH2 和 nm23 在肠癌中的表达及临床意义

沈 冬¹, 张 瑜^{2△} (1. 江苏省苏州市中医医院检验科 215000; 2. 江苏省苏州市立医院北区检验科 215008)

【摘要】 目的 探讨人 MutS 同源蛋白 2(hMSH2)和转移抑制基因 nm23 在肠癌中的表达、相互关系及其临床意义。**方法** 选取未经过术前放、化疗的肠癌标本 48 例及癌旁正常黏膜组织 15 例,XP 免疫组织化学法检测 hMSH2 和 nm23 蛋白的表达,分析 hMSH2 和 nm23 蛋白的表达与肠癌临床病理特征的关系及其相互关系。**结果** 肠癌组织 hMSH2 和 nm23 蛋白阳性表达率分别为 35.4%、62.5%,均显著低于正常肠黏膜组织(93.3%),差异有统计学意义($P<0.05$);nm23 表达与患者性别、年龄及肿瘤分化程度无关,但与肿瘤浆膜浸润、肠癌淋巴结转移密切相关($P<0.05$);hMSH2 与临床病理参数无相关性;nm23 与 hMSH2 蛋白的表达呈正相关($P<0.05$)。**结论** nm23 蛋白质水平与恶性程度相关,可作为预测入侵和转移的评判指标。hMSH2 蛋白的表达与 nm23 蛋白合并后的表达对肠癌预后有一定指导意义。

【关键词】 nm23; hMSH2; 肠癌; 肿瘤转移

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.24.017 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)24-3655-02

The expression of hMSH2 and nm23 in intestinal cancer and its clinical significance SHEN Dong¹, ZHANG Yu^{2△} (1. Department of Clinical Laboratory, Suzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Suzhou, Jiangsu 215000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, North Branch of Suzhou Municipal Hospital, Suzhou, Jiangsu 215008, China)

【Abstract】 Objective To study the expression of hMSH2 and nm23 in intestinal cancer, and to explore their inter-relationship and clinical significance. **Methods** XP immunohistochemistry was used to detect the expression levels of hMSH2 and nm23 in samples including 48 cases of intestinal cancer tissues without radiotherapy or chemotherapy and 15 cases of adjacent normal colon tissues. The relevance of the expression levels of nm23 and hMSH2 and their correlations to the clinicopathologic features of intestinal cancer were analyzed. **Results** The positive rates of hMSH2 and nm23 were respectively 35.4% and 62.5% in intestinal cancer tissues, which were significantly lower than those in adjacent normal colon tissues(93.3%), with statistical difference ($P<0.05$). The expression level of nm23 was not significantly associated with the genders, ages or differentiation of the patients, however, it was closely associated with serous coat infiltration and lymphatic metastasis of intestinal cancer ($P<0.05$). The expression level of hMSH2 was not significantly correlated with these clinicopathologic features. There was a positive correlation between the expression of nm23 and hMSH2 in intestinal cancer ($P<0.05$). **Conclusion** The expression level of nm23 was related with the degree of malignancy, which could be used as a potential index to predict the invasion and metastasis. The expression of hMSH2 and nm23 had certain guiding significance for the prognosis of intestinal cancer.

【Key words】 nm23; hMSH2; intestinal cancer; tumor metastasis

肠癌是消化道最常见的恶性肿瘤,最近几年肠癌的发病率和病死率逐年增加,占有癌症相关死亡原因的第三位^[1]。目前,肠癌发生、发展的确切机制尚不清楚,被视为是多因素、多步骤的复杂过程。例如,癌基因的活化、抑癌基因的失活和错配修复基因的突变等。研究表明,肠癌的发生、发展、转移和预后与不同基因和蛋白的表达密切相关,相关的敏感指标可以更好地指导临床筛查高危患者,从而加强治疗,密切随访,并提高患者的生存期。最近,许多实验研究表明,DNA 错配修复(MMR)和转移抑制基因 nm23 的失活在肿瘤的发生和发展中扮演一个重要的角色^[2-6]。本研究利用 XP 免疫组织化学法检测错配修复基因:人 MutS 同源蛋白 2(hMSH2)和肿瘤转移抑制基因 nm23 在肠癌组织中的表达,并探讨其与肠癌临床参数的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选用肠癌组织 48 例,为苏州市立医院病理科

2010~2012 年的存档蜡块,为手术切除肠癌标本、正常肠黏膜组织(据肿瘤 5 cm 以上)15 例,均有详细临床资料,年龄 26~86 岁,中位年龄 62.2 岁。全部患者术前均未接受放疗或化疗,所有标本均经 2 位病理专家进行组织病理证实。

1.2 仪器与试剂 nm23 一抗为鼠抗人多克隆(基因公司,工作液);hMSH2 一抗为兔抗人多克隆(基因公司,工作液);二抗选用福州迈新公司产品。

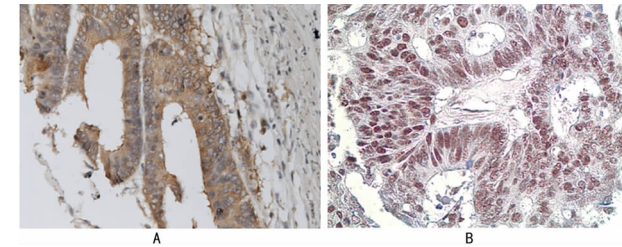
1.3 方法 按照传统的方法石蜡包埋组织 4 μ m 切片,采用 XP 免疫组织化学法,试验中以磷酸盐缓冲液代替一抗作为阴性对照;以试剂公司提供的阳性对照片作为阳性对照。nm23 和 hMSH2 的阳性判定标准按照参考文献[1]标准读片:hMSH2 蛋白表达位于细胞核,无着色或小于 1%的细胞核着色视为(-), $>1\%$ 为(+);nm23 蛋白表达位于胞浆,无着色为(-), $>1\%$ 着色为(+).

1.4 统计学处理 统计学分析采用 SPSS18.0 分析软件,计

数资料比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 nm23 和 hMSH2 在正常肠黏组织及肠癌组织中的表达 15例正常肠黏膜组织中表达 nm23 和 hMSH2 均为 14 例(93.3%);nm23 在 48 例肠癌中的阳性表达率为 62.5%(30/48)(图 1A);hMSH2 在肠癌中的阳性表达为 35.4%(17/48)(图 1B)。肠癌组织 nm23、hMSH2 蛋白的阳性表达均显著低于癌旁正常肠黏组织,差异均有统计学意义($P<0.05$)。



注:A 表示 nm23 肠癌细胞浆阳性;B 表示 hMSH2 肠癌细胞核阳性(XP 免疫组织化学法高倍放大)。

图 1 nm23 和 hMSH2 在肠癌中的阳性表达

2.2 nm23 和 hMSH2 的表达与临床病理特征的关系 见表 1。统计学相关性分析表明,nm23 蛋白表达与患者的性别、肿瘤分化程度、年龄无明显相关性($P>0.05$),但与肿瘤浆膜是否浸润、肠癌淋巴结有无转移密切相关($P<0.05$)。hMSH2 蛋白的表达与肠癌临床病理参数之间无相关性($P>0.05$)。

表 1 nm23 和 hMSH2 蛋白表达与肠癌临床病理特征的关系

临床病理 参数		n	nm23 阳性			hMSH2 阳性		
			n	χ^2	P	n	χ^2	P
年龄(岁)	60	16	13	3.600	0.058	7	0.729	0.393
	≥ 60	32	17			10		
性别	男	26	14	1.813	0.178	10	0.230	0.632
	女	22	16			7		
分化程度	高、中分化	41	25	0.279	0.598	15	0.168	0.682
	低分化	7	5			2		
淋巴结转移	无	18	15	5.333	0.021	9	2.678	0.102
	有	30	15			8		
浸润深度	未达浆膜	37	26	4.159	0.041	12	0.629	0.428
	浆膜及外	11	4			5		

2.3 肠癌组织中 nm23 和 hMSH2 蛋白表达相关性分析 见表 2。Spearman 等级相关分析结果显示,48 例肠癌 nm23 阳性者 hMSH2 亦阳性为 14 例,nm23 和 hHMSH2 蛋白在肠癌中的表达呈正相关($r=0.304$, $P=0.037$)。

表 2 肠癌组织中 nm23 和 hMSH2 蛋白表达的相关性

nm23	hMSH2		合计
	阳性	阴性	
阳性	14	16	30
阴性	3	15	18
合计	17	31	48

3 讨 论

人类 DNA 错配修复基因包括 hMSH2、人 MutS 同源蛋白 3(hMSH3)、人 MutS 同源蛋白 6(hMSH6)、人 MutL 同源蛋白 1(hMLH1)、人 MutL 同源蛋白 3(hMLH3)和人减数分裂后分离增加蛋白 1(hPMS1)6 种^[7]。其作用机制可能是由错配修复蛋白编码 MMR 基因构成异二聚体参与错配修复。修复单个

碱基错配及单个碱基缺失/插入错配,维持基因组的稳定性^[8-10]。MMR 基因缺陷会导致错配修复功能损失,增加细胞突变频率,不断扩大和积累突变事件,这样的错误信息通过整个基因组,并最终导致肿瘤的发生和发展^[11]。本研究发现,48 例肠癌中 hMSH2 蛋白阴性表达者 31 例(64%),与 Wu 等^[1]的研究相比较略高,可能与本组标本例数较少有关,但肠癌与周围正常肠黏膜 hMSH2 蛋白表达差异有统计学意义($P<0.05$),肠癌中 hMSH2 缺失,表明 DNA 修复能力减弱;同时与 Wu 等^[1]的研究相一致:hMSH2 蛋白表达与临床病理参数之间无相关性,但通过 Spearman 等级相关统计分析显示,hHMSH2 和 nm23 蛋白在肠癌中的表达呈正相关($r=0.304$, $P=0.037$)。表明这二者可能有积极反馈调控机制。

nm23 基因是肿瘤转移抑癌基因,其家族包括 8 个成员中,只有 nm23 H1 和 nm23 H2 被证明有能力抑制肿瘤转移^[12],是美国国立癌症研究所的 Steeg 等^[13]1988 年从 7 个转移潜力不同的 K-1735 鼠黑色素瘤细胞株中用消减杂交分离克隆成功的,nm23 等位基因的突变、缺失和失表达与许多恶性肿瘤的转移密切相关^[14-15]。Steeg 等^[13]的研究表明,nm23 在低转移细胞株中的表达强度是高转移细胞株内的 10 倍,表明 nm23 基因在高转移肿瘤中表达降低,这一结果与本研究结果相一致,本研究中 nm23 蛋白的表达在淋巴结转移组表达率为 50.0%(15/30),而在淋巴结未转移组其表达率为 83.3%(15/18),说明 nm23 基因在转移组中表达降低,同时,nm23 蛋白在肿瘤浸润达浆膜及浆膜外者的表达率为 36.4%(4/11)而在肿瘤浸润深度未达浆膜者中 nm23 蛋白的表达率为 70.2%(26/37),由此表明肿瘤浸润越深其表达强度降低,与文献^[1]报道一致。进一步说明 nm23 基因失表达时,机体对癌细胞约束力下降,从而极大地促进周围组织的侵犯和远处转移。

综上所述,hMSH2 错配修复基因的突变会导致广泛的体细胞突变和 DNA 复制错误,导致因癌基因突变率增加,从而推动相关因素,如下调 nm23 基因表达。总之,nm23 蛋白质水平与恶性程度有关,可以作为一项指标来预测入侵和转移潜能^[16]。hMSH2 蛋白的表达与 nm23 蛋白呈正相关,二者合并后的表达对肠癌预后有一定指导意义。

参考文献

- [1] Wu HW,Gao LD,Wei GH. hMSH2 and nm23 expression in sporadic colorectal cancer and its clinical significance [J]. Asian Pac J Cancer Prev,2013,14(3):1995-1998.
 - [2] Luey N,Toon CW,Sioson L,et al. A further investigation of combined mismatch repair and BRAFV600E mutation specific immunohistochemistry as a predictor of overall survival in colorectal carcinoma[J]. PLoS One, 2014, 9 (8):e106105.
 - [3] Guillotin D,Martin SA. Exploiting DNA mismatch repair deficiency as a therapeutic strategy[J]. Exp Cell Res, 2014,329(1):110-115.
 - [4] Radovic S,Doric M,Hukic A. Immunohistochemical expression and significance of NM23 suppressor protein in primary gastric adenocarcinoma[J]. Bosn J Basic Med Sci,2013,13(2):72-77.
 - [5] Tripkovic A,Tripkovic I,Tomic S,et al. The role of nm23 gene in colorectal carcinogenesis[J]. Acta Clin Croat, 2012,51(1):43-49.
- (下转第 3659 页)

SA、UA、AMI 患者中逐渐升高, SAA 检测能预测心血管疾病发病危险程度, 对 CHD 病情判断、治疗或预后评估具有指导意义。

参考文献

[1] 孙佳艺. 2007 至 2009 年北京市 25 岁以上居民急性心脏病事件发病率的监测[J]. 中华心血管病杂志, 2012, 40(3):194-198.

[2] 罗小平, 郑春华, 范剑峰. 64 层螺旋 CT 冠状动脉造影对无症状型冠心病的诊断价值[J]. 中国全科医学, 2011, 14(11):3881.

[3] Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update[J]. J Clin Invest, 2003, 111(12):1805-1812.

[4] Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease[J]. N Engl J Med, 1999, 340(2):115-126.

[5] 赵水平, 胡大一. 心血管病诊疗指南解读[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004:36-38.

[6] European Society of Hypertension-European Society of Cardiology Guidelines Committee. 2003 European Society of Hypertension-European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension[J]. J Hypertens, 2003, 21(6):1011-1053.

[7] Katayama T, Nakashima H, Takagi C, et al. Serum amyloid A protein as a predictor of cardiac rupture in acute myocardial infarction patients following primary coronary angioplasty[J]. Circ J, 2006, 70(5):530-535.

[8] 柴广军. 冠心病患者高敏 C-反应蛋白、低密度脂蛋白检测的意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2012, 19(1):47-48.

[9] 杨大浩, 谭宁, 何鹏程, 等. 血小板-白细胞聚集体与急性冠状动脉综合征的相关性[J]. 中华心血管病杂志, 2012, 40(6):482-486.

[10] 陈长强, 顾志东, 樊绮诗. 血清淀粉样蛋白 A 在疾病应用中的研究进展[J]. 检验医学, 2012, 27(9):776-779.

[11] Kevin D, Thomas OM, Vidya K, et al. Serum amyloid A and lipoprotein retention in murine models of atherosclerosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005, 25(4):785-792.

[12] O'Brien KD, Chait A. Serum amyloid A; the "other" inflammatory protein[J]. Curt Atheroscler Rep, 2006, 8(1):62-68.

[13] Kosuge M, Ebina T, Ishikawa T, et al. Serum amyloid A is a better predictor of clinical outcomes than C-reactive protein in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes[J]. Circ J, 2007, 71(2):186-190.

[14] Keaney JF Jr, Vita JA. The value of inflammation for predicting unstable angina[J]. N Engl J Med, 2002, 347(1):55-57.

[15] 周育平, 安成, 张振鹏. 超敏 C 反应蛋白与冠心病慢性心力衰竭患者预后指标的关系[J]. 临床心血管病杂志, 2010, 26(7):501-503.

[16] Song C, Shen Y, Yamen E, et al. Serum amyloid A may potentiate prothrombotic and proinflammatory events in acute coronary syndromes[J]. Atherosclerosis, 2009, 202(2):596-604.

(收稿日期:2015-03-04 修回日期:2015-06-08)

(上接第 3656 页)

[6] Overbeek LI, Ligtenberg MJ, Willems RW, et al. Interpretation of immunohistochemistry for mismatch repair proteins is only reliable in a specialized setting[J]. Am J Surg Pathol, 2008, 32(8):1246-1251.

[7] Iyer RR, Pluciennik A, Burdett V, et al. DNA mismatch repair: functions and mechanisms[J]. Chem Rev, 2006, 106(6):302-320.

[8] Ting S, Mairinger FD, Hager T. ERCC1, MLH1, MSH2, MSH6, and β III-tubulin: resistance proteins associated with response and outcome to platinum-based chemotherapy in malignant pleural mesothelioma[J]. Clin Lung Cancer, 2013, 14(5):558-567.

[9] Belcheva A, Irrazabal T, Robertson SJ. Gut microbial metabolism drives transformation of MSH2-deficient colon epithelial cells[J]. Cell, 2014, 158(2):288-299.

[10] Hsu T, Huang KM, Tsai HT, et al. Cadmium (Cd)-induced oxidative stress down-regulates the gene expression of DNA mismatch recognition proteins MutS homolog 2 (MSH2) and MSH6 in zebrafish (Danio rerio) embryos[J]. Aquat Toxicol, 2013, 126(1):9-16.

[11] Hsieh P, Yamane K. DNA mismatch repair: molecular mechanism, cancer, and ageing[J]. Mech Ageing Dev, 2008, 129(7/8):391-407.

[12] Leone A, Flatow U, Richter KC, et al. Reduced tumor incidence, metastatic potential, and cytokine responsiveness of nm23-transfected melanoma cells[J]. Cell, 1991, 65(1):25-35.

[13] Steeg PS, Bevilacqua G, Kopper L, et al. Evidence for a novel gene associated with low tumor metastatic potential[J]. Nat Cancer Inst, 1998, 80(2):200-204.

[14] Dursun A, Akyürek N, Günel N, et al. Prognostic implication of nm23-H1 expression in colorectal carcinomas[J]. Pathology, 2002, 34(6):427-432.

[15] Suzuki E, Ota T, Tsukuda K, et al. nm23-H1 reduces in vitro cell migration and the liver metastatic potential of colon cancer cells by regulation myosin light chain phosphorylation[J]. Cancer, 2004, 108(3):207-211.

[16] Hsu T, Steeg PS, Zollo M, et al. Progress on Nme (NDP kinase/Nm23/Awd) gene family-related functions derived from animal model systems; studies on development, cardiovascular disease, and cancer metastasis exemplified. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol[J]. 2015, 388(2):109-117.

(收稿日期:2015-04-21 修回日期:2015-06-17)