



KAI1/CD82 表达水平与肾母细胞瘤转移的相关性研究

顾 涛 井 颖 王建林 刘润玟

【摘要】 目的 探讨 KAI1/CD82 与肾母细胞瘤转移的相关关系。 **方法** 选取 38 例确诊为肾母细胞瘤的组织蜡块标本,按有无转移分为两组,采用免疫组织化学的方法检测 KAI1/CD82 的表达。 **结果** 肾母细胞瘤中无转移组和有淋巴结或远处转移组的 KAI1/CD82 阳性表达率分别为 53.85%、33.33%,两者差异有统计学意义;I、II、III、IV 期肾母细胞瘤中, KAI1/CD82 阳性表达率分别为 62.50%、58.33%、33.33%、33.33%,各组间差异无统计学意义。无转移组和有淋巴结或远处转移组中,化疗组与未化疗组分别比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。 **结论** 肾母细胞瘤中 KAI1/CD82 的阳性表达率与肿瘤是否转移有关,与临床分期及术前是否化疗无关。

【关键词】 Wilms 瘤;免疫组织化学;生物医学研究

Relationship between KAI1/CD82 expression and metastasis of nephroblastoma. GU Tao, JING Ying, WANG Jian-lin, et al. Municipal Honggang Hospital, Dongying 257000, China.

【Abstract】 Objective To explore the relationship between KAI1/CD82 expression and metastasis of nephroblastoma. **Methods** The level of KAI1/CD82 was detected by immunohistochemistry in 38 cases of nephroblastoma. **Results** The positive expression rates of nephroblastoma with and without metastasis were 53.85% and 33.33% respectively. It was statistically significant between two groups. The positive rates of KAI1/CD82 in I, II, III and IV stages were 62.50%, 58.33%, 33.33% and 33.33% respectively. No statistical significance existed between two groups. The differences of groups with and without chemotherapy were insignificant ($P>0.05$). **Conclusions** The positive rate of KAI1/CD82 is correlated with metastasis in nephroblastoma while it has nothing to do with clinical stage or preoperative chemotherapy or not.

【Key words】 Wilms Tumor; Immunohistochemistry; Biomedical Research

肾母细胞瘤(nephroblastoma)或称肾胚胎瘤,又称 Wilms 瘤,是婴幼儿多见的恶性实体瘤之一,由肾源性间质及上皮组成。虽然随着医疗技术水平的不断进步,肾母细胞瘤的 2 年存活率已明显提高,但出现转移的病例预后仍很差。KAI1 基因是近年来发现的一种肿瘤抑制基因,对多种肿瘤的恶性进程有抑制作用。KAI1 基因的蛋白表达产物为 CD82,是四穿膜超家族(transmembrane 4 super-family, TM4SH)成员。本研究对有及无转移的肾母细胞瘤和正常肾组织进行免疫组织化学检测,观察 CD82 的表达水平,进而探讨 KAI1 基因的表达水平与肾母细胞瘤转移的关系。

材料与方法

一、临床资料

选择本院 2005 年 1 月至 2014 年 12 月确诊为肾母细胞瘤病例 38 例,收集病理科组织蜡块标本。38 例中,男性 30 例,女性 8 例;年龄为 4 个月至 10 岁,平均年龄 1.94 岁;按 NWTS 分期, I 期 8 例, II 期 12 例, III 期 12 例(包括 6 例肿瘤未完全切除, 6 例区域淋巴结浸润), IV 期 6 例(包括 4 例肝脏转移, 2 例肺部淋巴结转移),无 V 期病例。38 例中,有 6 例术前进行过化疗。9 例正常肾组织标本均取自非肾脏肿瘤病例肾组织。

二、主要试剂

浓缩型鼠抗人 KAI1/CD82 单克隆抗体购自美国 SantaCruz 公司。免疫组织化学 PV-9000 试剂盒和 DAB 显色试剂均购自北京中杉金桥生物技术有

限公司。

三、研究方法

将所有肾母细胞瘤患儿按有无转移分为两组,即无转移组(26 例)、有淋巴结或远处转移组(12 例),选择正常肾组织 9 例为对照组。

免疫组织化学检测 KAI1/CD82 表达:采用通用型 PV-9000 二抗检测系统。石蜡包埋的组织切片 4~6 μm,常规脱蜡水化,置 0.3% 双氧水的酒精溶液中(室温)浸泡 20 min,PBS 冲洗 3 次,5% 羊血清浸润切片(室温下)20 min 后加入 KAI1/CD82 的单克隆抗体(1:100 稀释),4℃ 浸泡切片溶液。PBS 洗 3 次,加入二抗(羊抗鼠的 IgM)。37℃ 孵育 15 min 后 DAB 显色,苏木素复染后,蒸馏水充分冲洗,梯度酒精脱色,二甲苯透明封片,以 PBS 取代一抗为阴性对照。

四、结果判定

KAI1 的蛋白阳性表达产物呈棕黄色,主要位于细胞膜,细胞质有时也有表达。光镜下观察切片,计数阳性肿瘤细胞数,以无阳性反应细胞和每张切片的阳性细胞数 <10% 为阴性,阳性细胞率 ≥10% 为阳性。

五、统计学处理

所有数据通过 SPSS10.0 统计软件包进行处理,采取 χ^2 检验,四格表精确算法。

结 果

一、KAI1/CD82 在正常肾组织及肾母细胞瘤中的表达

KAI1/CD82 在正常肾组织及肾母细胞瘤中的表达见表 1。由表 1 可以看出,无转移组 26 例中有 14 例呈阳性表达(图 1),阳性表达率为 53.85%;转移组 KAI1/CD82 的阳性表达率较无转移组低(图 2),甚至有的不表达(图 3),两者差异有统计学意义($P<0.05$);对照组则几乎不表达 KAI1/CD82,其与有转移组及无转移组之 7 间的差异均有统计学意义(P 值均 <0.05)。

表 1 KAI1/CD82 在正常肾组织、有或无转移肾母细胞瘤组织中的表达(n,%)

Table 1 Expression of KAI1/CD82 in normal renal tissue with or without metastasis of nephroblastoma (n,%)

分组	阳性	阴性	合计
无转移组	14(29.79%)	12(25.53%)	26(53.85%)
转移组	4(8.51%)	8(17.02%)	12(33.33%)
对照组	1(2.13%)	8(17.02%)	9(12.50%)
合计	25(53.19%)	22(46.81%)	47(100%)

注:经四格表精确检验, $P<0.05$,两组差异有统计学意义。

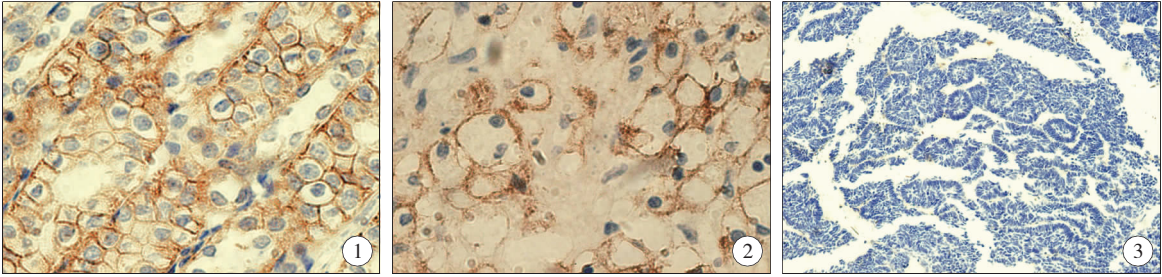


图 1 KAI1/CD82 在无转移肾母细胞瘤中强阳性表达(10×40); 图 2 KAI1/CD82 在有转移肾母细胞瘤中阳性表达(10×40); 图 3 KAI1/CD82 在有转移肾母细胞瘤中阴性表达(10×40)

Fig. 1 Strongly positive expression of KAI1/CD82 in non-transferred nephroblastoma (10×40); Fig. 2 Positive expression of KAI1/CD82 in transferred nephroblastoma(10×40); Fig. 3 Negative expression of KAI1/CD82 in transferred nephroblastoma (10×40)

二、不同临床分期间 KAI1/C82 的表达情况

不同临床分期间 KAI1/C82 的表达情况见表 2。由表 2 可以看出,临床各分期间 KAI1/CD82 的阳性表达率分别为 62.50%、58.33%、33.33%、33.33%,虽然 I 期和 II 期的表达水平较 III 期和 VI 期要高,但统计学分析并没有发现任意两组间差异存在统计学意义,即各临床分期间 KAI1/CD82 的阳性表达率没有差异。

三、术前化疗对 KAI1/CD82 表达的影响

表 2 KAI1/CD82 在不同分期肾母细胞瘤中的表达(例)

Table 2 Expression of KAI1/CD82 during different stages of nephroblastoma (n)

分组	阳性	阴性	合计
I 期	5	3	8(62.50%)
II 期	7	5	12(58.33%)
III 期	4	8	12(33.33%)
VI 期	2	4	6(33.33%)
合计	18(47.3%)	20(52.63%)	38(100%)

注:经四格表精确检验, $P>0.05$,两组间差异无统计学意义。

由于本实验所选病例中有 6 例术前进行过化疗,因此作者分别对有转移组和无转移组标本从有无术前化疗角度进行比较分析,见表 3、表 4。结果发现,化疗组阳性表达率较未化疗组稍高,但每组中两者间的差异均无统计学意义($P>0.05$),即术前化疗没有影响 KAI1/CD82 的表达。

表 3 无转移组 KAI1/CD82 的表达(n)
Table 3 Expression of KAI1/CD82 in non-transferred group (n)

分组	阳性	阴性	合计	阳性表达率(%)
化疗组	1	1	2	50.00
未化疗组	13	11	24	54.17
合计	14	12	26	53.84

注:经四格表精确检验, $P>0.05$,两组间差异无统计学意义。

表 4 有淋巴结及远处转移组中 KAI1/CD82 的表达(n)
Table 4 Expression of KAI1/CD82 in transferred group (n)

分组	阳性	阴性	合计	阳性表达率(%)
化疗组	1	3	4	25.00
未化疗组	3	5	8	37.50
合计	4	8	12	33.33

注:经四格表精确检验, $P>0.05$,两组间差异无统计学意义。

讨 论

肾母细胞瘤是小儿泌尿系最常见的恶性肿瘤,诊断时年龄多为 1~3 岁,其平均发病年龄为 3.5 岁。肾母细胞瘤可能起源于后肾胚基的不正常分化,其遗传因素并不多,仅 1%~2% 的患者有家族史,多为双侧肾母细胞瘤。虽然近些年来临床上采用了手术、放疗、化疗的综合治疗方案,使肾母细胞瘤的 2 年存活率由 50 年前的 20% 提高到现今的 80%,但易浸润转移仍是本病的难解之题。目前研究显示肾母细胞瘤转移的可能机制有:p53 缺失、血管内皮生长因子(VEGF)、转移相关转录因子(EIAF)、基质金属蛋白酶等^[1-4]。

KAI1 基因是 Dong 等^[5]于 1995 年在研究前列腺癌时发现的一种新的肿瘤抑制基因,能抑制多种肿瘤的恶性进程。该基因位于人染色体 11p11.2,大小 80 kb,编码一种白细胞膜糖蛋白,即 CD82。CD82 属于四穿膜超家族(transmembrane 4 superfamily, TM4SH)成员。目前认为 KAI1/CD82 抑制肿瘤转移的机制主要有:p53 失活、抑制血管表皮生长因子(VEGF)、影响整合素的功能等^[4-6]。

本实验对小儿肾母细胞瘤的 KAI1/CD82 表达水平进行了检测。我们在对 38 例确诊为肾母细胞

瘤的病例标本进行免疫组织化学试验后,发现无转移组 KAI1/CD82 表达很强,其阳性率也较高,而有转移组阳性率较低,为 33.33%,两者之间差异有统计学意义($P<0.05$);而对照组 KAI1/CD82 的阳性表达率更低,仅 12.50%,与有转移组和无转移组之间的差异都有统计学意义(P 值均 <0.05)。考虑其原因可能为:在肿瘤的早期(无转移时),KAI1/CD82 的强阳性表达可抑制肿瘤转移,一旦 KAI1/CD82 表达降低或缺失,则肿瘤进展,进而发生转移。由于所选病例中有 6 例术前进行过化疗,所以本实验又从有无化疗角度对标本进行了分析,结果发现不论是有转移组还是无转移组,化疗组与未化疗组之间差异均无统计学意义(P 值均 >0.05),即术前化疗虽然能杀死细胞使肿瘤变小,但不能改变肿瘤的转移能力。近年来,国内外学者在前列腺癌、消化道肿瘤、胰腺癌等中对 KAI1/CD82 的表达及作用机制进行了研究,发现 KAI1/CD82 的表达与转移潜能负相关,作用机制可能与其影响细胞的运动和穿透能力等有关^[9-11]。本实验的结果与之基本相吻合。

总之,KAI1/CD82 是肾母细胞瘤的转移抑制相关基因,与肾母细胞瘤的转移能力有关,不受临床分期及术前是否化疗的影响。

参 考 文 献

1 Huang J, Soffer SI, Kim ES, et al. p53 accumulation in favorable-histology Wilms tumor is associated with angiogenesis and clinically aggressive disease[J]. *Pediatr Surg*, 2012, 37(3):523-527.

2 Skoldenberg EG, Cheistiansson J, Sandstedy B, et al. Angiogenesis and angiogenic growth factors in Wilms tumor[J]. *Urol*, 2011, 165(6):2274-2279.

3 Li CM, Guo M, Borczuk A, et al. Gene expression in Wilm's tumor mimics the earliest committed stage in the metanephric mesenchymal-epithelial transition[J]. *Am J Pathol*, 2012, 160(6):2181-2190.

4 Alami J, Williams BR, Yeger H, et al. Derivation and characterization of a Wilm's tumor cell line, WiT49[J]. *Int J Cancer*, 2003, 107(3):365-374.

5 Dong JT, Lamb PW, Rinker Schaeffer CW, et al. KAI1 a metastasis suppressor gene for prostate cancer on human chromosome 11p11.2[J]. *Science*, 2005, 268:884-886.

6 Jackson P, Puisieux A. Is the KAI1 metastasis suppressor gene a cellular target of p53 A review of current evidence[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, (下转第 509 页)