

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.03.008

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.03.008>

KISS1 与 KAI1 在结肠癌中的表达及临床意义

王哲彦¹, 孟玉秋², 刘春玲¹, 孟令超¹, 马小兵¹, 王志鹏³

(1. 唐山市人民医院病理科, 河北 唐山 063000; 2. 唐山市丰南区中医院病理科, 河北 唐山 063300;
3. 唐山市人民医院普外科, 河北 唐山 063000)

[摘要] 目的: 探讨KISS1与KAI1在结肠癌组织中的表达及临床意义。方法: 收集80例行结肠癌根治术患者的术后病理标本, 采用免疫组织化学检测其中KISS1与KAI1蛋白表达, 分析结肠癌组织中KISS1和KAI1蛋白表达与患者临床参数的关系, 及两者表达的相互关系。结果: KISS1与KAI1在结肠癌组织中表达较癌旁组织明显下降($P<0.05$); KISS1和KAI1表达与患者年龄、性别、肿瘤大小均无明显相关性($P>0.05$), KISS1和KAI1表达与患者肿瘤分化程度、淋巴转移及侵犯浆膜均有明显相关性; 结肠癌组织中KISS1表达和KAI1表达呈正相关($P<0.05$); KISS1和KAI1阴性表达患者的5年生存率均明显低于阳性表达患者($P<0.05$)。结论: KISS1和KAI1在结肠癌中低表达, 与结肠癌恶性生物学行为有关, 对评价结肠癌患者预后具有一定的提示意义。

[关键词] 结肠癌; 转移; 预后; KISS1; KAI1

Expression and clinical significance of KISS1 and KAI1 in colon cancer

WANG Zheyuan¹, MENG Yuqiu², LIU Chunling¹, MENG Lingchao¹, MA Xiaobing¹, WANG Zhipeng³

(1. Department of Pathology, Tangshan People's Hospital, Tangshan Hebei 063000;
2. Department of Pathology, Tangshan Fengnan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Tangshan Hebei 063300;
3. Department of General Surgery, Tangshan People's Hospital, Tangshan Hebei 063000, China)

Abstract **Objective:** To explore the expression and clinical significance of KISS1 and KAI1 in colon cancer tissues. **Methods:** The postoperative pathological specimens of 80 patients with colon cancer were collected, and all the specimens were detected for the expressions of KISS1 and KAI1 proteins by immunohistochemistry, and the relationship between the clinical parameters and the expressions of KISS1 and KAI1 proteins in colon cancer tissues was analyzed. **Results:** The expression of KISS1 and KAI1 in colon cancer tissues was significantly lower than that in adjacent tissues ($P<0.05$). The expression of KISS1 and KAI1 was significantly associated with tumor differentiation degree, lymphatic metastasis and invasion of serosa layer ($P<0.05$), while not significantly related with age, gender and tumor size ($P>0.05$). KISS1 expression was positively correlated with KAI1 expression in

收稿日期 (Date of reception): 2018-10-17

通信作者 (Corresponding author): 王哲彦, Email: 153874817@qq.com

基金项目 (Foundation item): 河北省医学科学研究重点课题 (20181235)。This work was supported by Health and Family Planning Commission of Hebei Province, China (20181235).

colon cancer tissues ($P<0.05$). The 5-year survival rate of patients with negative KISS1 and KAI1 expression was significantly lower than that of patients with positive expression ($P<0.05$). **Conclusion:** The low expression of KISS1 and KAI1 in colon cancer is related to the malignant biological behavior of colon cancer, which is of great significance to evaluate the prognosis of patients with colon cancer.

Keywords colon cancer; metastasis; prognosis; KISS1; KAI1

结肠癌是一种常见的消化道恶性肿瘤, 严重威胁人类健康。随着经济发展和生活条件改善, 近二十年来我国的结肠癌发病率不断上升, 且呈现年轻化趋势^[1]。虽然受益于手术、放射治疗(以下简称放疗)、化学药物治疗(以下简称化疗)及靶向治疗技术进步结肠癌患者预后有所改善, 然而多数患者最终仍死于肿瘤复发及转移^[2]。多基因参与、多阶段、多步骤相互作用的级联反应是结肠癌发生、发展的重要原因。KISS1和KAI1均为肿瘤转移抑制基因^[3-4], KISS1属于单纤丝蛋白, 能够抑制肿瘤细胞趋化性及侵袭性, 限制肿瘤细胞的迁移^[5]; KAI1具有4次跨膜糖蛋白结构, 能够抑制细胞的浸润、转移, 参与胚胎的植入和肿瘤的转移过程中^[6]。本研究应用免疫组织化学技术检测KISS1和KAI1在结肠癌中的表达, 并结合结肠癌患者临床病理特征和随访数据, 分析KISS1和KAI1对患者预后的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

搜集2010年8月至2011年3月期间唐山市人民医院结肠癌手术切除标本80例(患者均为中晚期, 术前均未接受任何化疗、放疗及其他抗肿瘤治疗)。本研究经过唐山市人民医院伦理委员会批准同意。

1.2 试剂

KISS1鼠抗人单克隆抗体(Abnova), KAI1鼠抗人单克隆抗体(Santa Cruz), SP免疫组织化学试剂盒均由赛默飞世尔科技(中国)有限公司生产。

1.3 方法

采用免疫组织化学技术检测结肠癌组织及癌旁组织中KISS1及KAI1的表达。主要操作步骤: 1)将结肠癌患者癌组织及癌旁组织标本经福尔马林溶液固定, 进行常规石蜡包埋, 连续切片, 组织切片厚

度为4 μm 。2)将切片脱蜡、酒精水化后, 进行抗原修复, 滴加3%过氧化氢在室温孵育后, 利用PBS缓冲液冲洗组织切片。3)滴加一抗, 采用PBS替代一抗作为空白对照。置于室温下孵育60 min。4)PBS缓冲液冲洗后滴加二抗, 置于室温孵育60 min。5)PBS缓冲液冲洗, 进行DAB显色, 用自来水充分冲洗, 复染, 脱水, 透明, 干燥后封片。6)在显微镜下观察染色后的切片, KISS1主要定位于细胞质, KAI1主要定位于细胞膜及细胞质, 阳性细胞呈现浅黄色、棕黄色或棕褐色颗粒; 随机选取10个高倍视野(400 \times)进行细胞计数。

染色结果判定标准: 依据染色强度, 未着色为0分, 浅黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分; 依据阳性细胞百分率, 阴性为0分, 阳性细胞百分率 $\leq 25\%$ 为1分, 阳性细胞百分率26%~50%为2分, 阳性细胞百分率51%~75%为3分, 阳性细胞百分率 $>75\%$ 为4分。将染色强度得分与阳性细胞百分率得分的乘积 >3 分为阳性^[7]。

本研究采用门诊随访、电话随访等方式对80例结肠癌中晚期患者预后进行追踪随访。

1.4 统计学处理

采用SPSS 23.0统计软件进行数据分析。采用卡方检验进行组间数据比较; 采用GraphPad Prism 5制作生存曲线, 组间差异采用Log-Rank检验。KISS1与KAI1表达的相互关系采用Spearman法进行分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KISS1 与 KAI1 在结肠癌中的表达

在结肠癌及癌旁组织中, KISS1蛋白阳性表达率分别为51.25%和88.75%, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 结肠癌及癌旁组织中KAI1蛋白阳性表达率分别为46.25%和86.25%, 差异具有统计学意义($P<0.05$, 图1, 表1)。

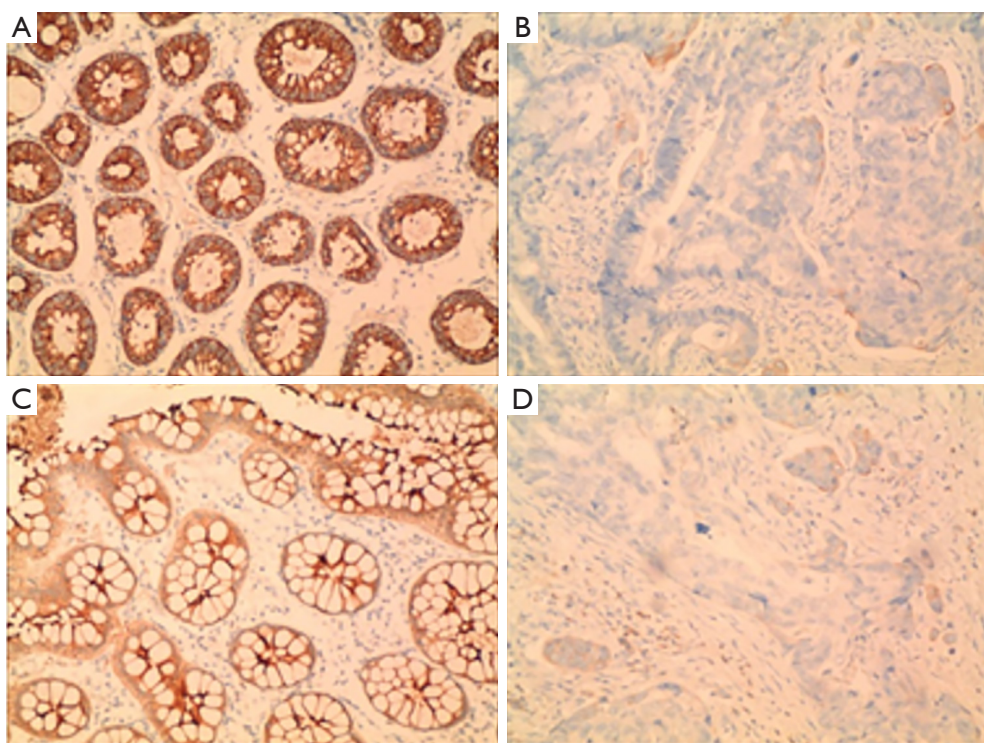


图1 KISS1与KAI1在结肠癌中的表达(SP, ×100)

Figure 1 Expression of KISS1 and KAI1 in colon cancer (SP, ×100)

(A)癌周组织中KAI1的表达; (B)癌组织中KAI1的表达; (C)癌周组织中KISS1的表达; (D)癌组织中KISS1的表达。

(A) KAI1 expression in pericancer tissues; (B) KAI1 expression in tumor tissues; (C) KISS1 expression in pericancer tissues; (D) KISS1 expression in tumor tissues.

表1 KISS1与KAI1在结肠癌中的表达

Table 1 Expression of KISS1 and KAI1 in colon cancer

| 组织类型 | KISS1阳性/[例(%)] | KAI1阳性/[例(%)] |
|----------|----------------|---------------|
| 结肠癌 | 41 (51.25) | 37 (46.25) |
| 癌旁组织 | 71 (88.75) | 69 (86.25) |
| <i>P</i> | <0.05 | <0.05 |

2.2 KISS1 与 KAI1 表达与结肠癌临床病理参数之间的关系

KISS1和KAI1表达与结肠癌患者年龄、性别及肿瘤大小均无明显关系($P>0.05$); KISS1和KAI1表达与结肠癌患者肿瘤分化程度、淋巴结转移及浆膜侵犯呈高度负相关($P<0.05$, 表2)。

2.3 KISS1 和 KAI1 在结肠癌中表达的相互关系

在80例结肠癌患者中, KISS1和KAI1表达均呈阳性患者为13例, 均呈阴性患者为15例; KISS1表达阳

性而KAI1表达阴性患者28例, KISS1表达阴性而KAI1表达阳性患者24例, 经统计学分析, 结肠癌组织中KISS1表达和KAI1表达呈正相关($r=0.431$, $P<0.05$)。

2.4 KISS1 和 KAI1 表达与结肠癌患者预后分析

80例结肠癌中晚期患者中, 本研究获得了73例患者的随访数据, 失访率为8.75%。Log-rank test分析显示: KISS1和KAI1阴性表达患者的无病生存率和总体生存率均明显低于阳性表达患者, 差异具有统计学意义($P<0.05$, 图2)。

表2 KISS1与KAI1表达与结肠癌临床病理参数之间的关系

Table 2 Relationship between clinical pathologic parameters and expression of KISS1 and KAI1

| 病理参数 | KISS1 | | KAI1 | |
|---------|------------|-------|------------|-------|
| | 阳性/[例(%)] | P | 阳性/[例(%)] | P |
| 年龄/岁 | | 0.26 | | 0.36 |
| ≤60 | 23 (28.75) | | 21 (26.25) | |
| >60 | 18 (22.50) | | 16 (20.00) | |
| 性别 | | 0.66 | | 0.38 |
| 男 | 22 (27.50) | | 17 (21.25) | |
| 女 | 19 (23.75) | | 20 (25.00) | |
| 肿瘤大小/cm | | 0.08 | | 0.34 |
| <5 | 26 (32.50) | | 22 (27.50) | |
| ≥5 | 15 (18.75) | | 15 (18.75) | |
| 肿瘤分化程度 | | <0.05 | | <0.05 |
| 高或中分化 | 31 (38.25) | | 26 (32.50) | |
| 低分化 | 10 (12.50) | | 11 (13.75) | |
| 淋巴结转移 | | <0.05 | | <0.05 |
| 有 | 12 (15.00) | | 15 (18.75) | |
| 无 | 29 (36.25) | | 22 (27.50) | |
| 浆膜侵犯 | | <0.05 | | <0.05 |
| 有 | 15 (18.75) | | 16 (20.00) | |
| 无 | 26 (32.5) | | 21 (26.25) | |

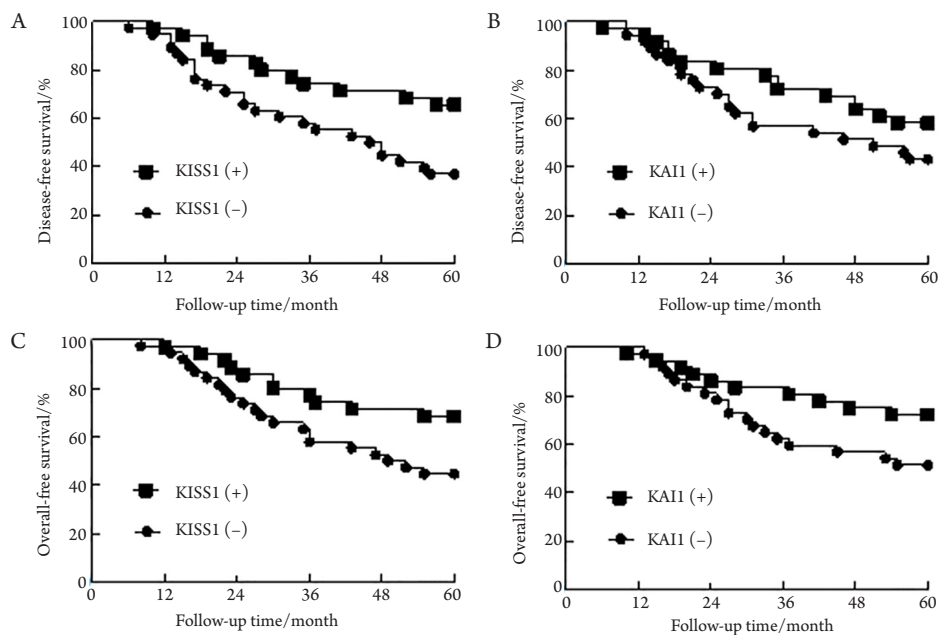


图2 KISS1, KAI1表达与结肠癌患者生存率的关系

Figure 2 Relationship between KISS1, KAI1 expression and survival rate of patients with colon cancer

(A) KISS1表达与无病生存率的关系; (B) KAI1表达与无病生存率的关系; (C) KISS1表达与总体生存率的关系; (D) KAI1表达与总体生存率的关系。

(A) Relationship between KISS1 expression and disease-free survival rate; (B) Relationship between KAI1 expression and disease-free survival rate; (C) Relationship between KISS1 expression and overall survival rate; (D) Relationship between KAI1 expression and overall survival rate.

3 讨论

肿瘤浸润、转移等恶性生物学行为是影响患者预后不良的重要因素^[8], 其中肿瘤转移机制非常复杂, 涉及众多转移促进基因和转移抑制基因^[9]。其中KISS1和KAI1是目前研究发现的较为确切的肿瘤转移抑制基因^[10-11]。然而, 目前KISS1和KAI1在结肠癌中的研究报道较少, 且结肠癌中KISS1和KAI1表达的相互关系未见研究报道。本研究采用免疫组织化学技术检测KISS1和KAI1在结肠癌组织中的表达, 并结合结肠癌患者临床病理特征和随访数据, 探讨KISS1和KAI1表达在肿瘤转移中的作用及对患者预后的影响。

KISS1是首先在恶性黑色素瘤细胞内发现的肿瘤抑制基因^[12], 位于染色体1q32~q41区, 由4个外显子和3个内含子构成, 编码产物为145个氨基酸构成的亲水性蛋白, 其能够与Src癌蛋白同源3号区(Src homology-3, SH-3)结合, 抑制肿瘤转移级联反应, 从而抑制肿瘤转移^[13]。另外, KISS1还可与细胞表面G蛋白偶联型受体结合, 通过磷脂酰肌醇信号通路, 激活质膜上的磷脂酶C(phospholipase C, PLC), 将4,5-二磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate, PIP2)水解为第二信使二酰基甘油(diacyl glycerol, DG)和1,4,5-三磷酸肌醇(inositol-1,4,5-triphosphate, IP3), 二者可分别促进PLC活化、细胞内钙离子增加^[14-15]。其中细胞内钙离子增加可以抑制肿瘤细胞增殖, 促进肿瘤细胞的分化与凋亡^[16]。乳腺癌^[17]、胃癌^[18]、肺癌^[19]等恶性肿瘤均可出现KISS1基因表达下降或缺失。本研究检测结肠癌组织及癌旁组织中KISS1表达, 结果发现KISS1在结肠癌组织中表达下降, KISS1表达与肿瘤分化程度、侵犯浆膜及淋巴转移密切相关, 结果支持KISS1具有转移抑制功能的观点。

KAI1是最初在前列腺癌组织中发现的肿瘤转移抑制基因, KAI1基因位于染色体11p11.2, 由12个外显子和11个内含子构成^[20]。KAI1蛋白与CD82结构相同, 属于4次跨膜糖蛋白超家族(transmembrane 4 superfamily, TM4SF), 其具有一个细胞外N端糖基化结构域和4个疏水跨膜结构域, 在正常组织中广泛表达, 其表达下调或缺失导致肿瘤细胞黏附力降低、移动性增强, 从而肿瘤侵袭力增加, 更容易发生血道、淋巴结转移^[21]。研究^[22]发现胃癌组织中KAI1蛋白低表达, 其表达下调加剧肿瘤侵袭性, 导致胃癌更容易发生转移; 肺癌组织中KAI1蛋白表达较正常肺细胞

膜中表达下降, 且KAI1蛋白表达与肺癌病理分级呈负相关, 肺癌组织中KAI1表达越低, 癌细胞越容易脱离组织发生转移^[23]; KAI1蛋白表达随乳腺肿瘤分化程度降低, 其阳性表达率也在降低, 且KAI1低表达的乳腺癌患者更易发生淋巴结转移^[24]。本研究发现: 结肠癌组织中KAI1表达较癌旁组织表达降低, KAI1与结肠癌分化程度、侵犯浆膜及淋巴结转移有关, 亦说明在结肠癌中KAI1具有肿瘤转移抑制功能。

本研究显示: 在结肠癌组织中, KISS1和KAI1表达呈正相关; KISS1低表达和KAI1低表达均会导致结肠癌患者的无病生存率和总体生存率下降, 影响患者的预后。

综上, KISS1和KAI1表达降低或缺失与结肠癌细胞的侵袭和转移等恶性生物学行为有关; KISS1和KAI1表达呈正相关, 两种蛋白可能在结肠癌的发生发展过程中具有协同作用, 共同影响患者的预后。然而, 其调控机制有待进一步研究。联合检测结肠癌肿瘤组织中KISS1和KAI1的表达, 对评估结肠癌患者预后和指导临床治疗具有一定的提示意义, 鉴于本课题样本量较少, 后续需进行大样本研究来验证本观点。

参考文献

1. Fu JF, Huang YQ, Yang J, et al. Clinical characteristics and prognosis of young patients with colorectal cancer in Eastern China[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(44): 8078-8084.
2. Lan YT, Chang SC, Yang SH, et al. Comparison of clinicopathological characteristics and prognosis between early and late recurrence after curative surgery for colorectal cancer[J]. *Am J Surg*, 2014, 207(6): 922-930.
3. Kostakis ID, Agrogiannis G, Vaiopoulos AG, et al. KISS1 and KISS1R expression in gastric cancer[J]. *J Buon*, 2018, 23(1): 79-84.
4. Zhu J, Liang C, Hua Y, et al. The metastasis suppressor CD82/KAI1 regulates cell migration and invasion via inhibiting TGF-beta 1/Smad signaling in renal cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(31): 51559-51568.
5. Ciaramella V, Della Corte CM, Ciardiello F, et al. Kisspeptin and cancer: molecular interaction, biological functions, and future perspectives[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018, 9: 115.
6. Zheng Z, Tian R, Wang P. Roles of KAI1 and nm23 in lymphangiogenesis and lymph metastasis of laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *World J Surg Oncol*, 2017, 15(1): 211.
7. 张超, 殷波. CK18、CK19在前列腺癌中的表达及其临床意

- 义[J]. 现代肿瘤医学, 2018, 26(5): 737-740.
- ZHANG Chao, YIN Bo. Expression and clinical significance of cytokeratin 18, 19 in prostate cancer[J]. Journal of Modern Oncology, 2018, 26(5): 737-740.
8. Riley RD, Hayden JA, Steyerberg EW, et al. Prognosis Research Strategy (PROGRESS) 2: prognostic factor research[J]. PLoS Med, 2013, 10(2): e1001380.
 9. Slattery ML, Herrick JS, Mullany LE, et al. The co-regulatory networks of tumor suppressor genes, oncogenes, and miRNAs in colorectal cancer[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2017, 56(11): 769-787.
 10. Platonov ME, Borovjagin AV, Kaverina N, et al. KISS1 tumor suppressor restricts angiogenesis of breast cancer brain metastases and sensitizes them to oncolytic virotherapy in vitro[J]. Cancer Lett, 2018, 417: 75-88.
 11. Miller J, Dreyer TF, Bacher AS, et al. Differential tumor biological role of the tumor suppressor KAI1 and its splice variant in human breast cancer cells[J]. Oncotarget, 2018, 9(5): 6369-6390.
 12. Fratangelo F, Carriero MV, Motti ML. Controversial role of kisspeptins/KISS-1R signaling system in tumor development[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2018, 9: 192.
 13. Teng Y, Liu M, Cowell JK. Functional interrelationship between the WASF3 and KISS1 metastasis-associated genes in breast cancer cells[J]. Int J Cancer, 2011, 129(12): 2825-2835.
 14. Beymer M, Negron AL, Yu G, et al. Kisspeptin cell-specific PI3K signaling regulates hypothalamic kisspeptin expression and participates in the regulation of female fertility[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2014, 307(11): E969-E982.
 15. Beck BH, Welch DR. The KISS1 metastasis suppressor: a good night kiss for disseminated cancer cells[J]. Eur J Cancer, 2010, 46(7): 1283-1289.
 16. Zhang C, Li H. Effects of calcium channel on ovarian cancer cells[J]. Oncol Lett, 2017, 14(6): 6341-6344.
 17. Mooez S, Malik FA, Kayani MA, et al. Expressional alterations and transcript isoforms of metastasis suppressor genes (KAI1 and KISS1) in breast cancer patients[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2011, 12(10): 2785-2791.
 18. Kussaibi H, Alkharsah KR, Altamimi D, et al. Alternative splicing is an important mechanism behind KAI1 loss of function in breast cancer patients from Saudi Arabia[J]. Breast Cancer Res Treat, 2018. [Epub ahead of print].
 19. Sun YB, Xu S. Expression of KISS1 and KISS1R (GPR54) may be used as favorable prognostic markers for patients with non-small cell lung cancer[J]. Int J Oncol, 2013, 43(2): 521-530.
 20. Dong JT, Lamb PW, Rinker-Schaeffer CW, et al. KAI1, a metastasis suppressor gene for prostate cancer on human chromosome 11p11.2[J]. Science, 1995, 268(5212): 884-886.
 21. Ci H, Xu Z, Xu J, et al. Expressions of KAI1 and E-cadherin in nonsmall cell lung cancer and their correlation with vasculogenic mimicry[J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(40): e12293.
 22. Tsutsumi S, Shimura T, Morinaga N, et al. Loss of KAI1 expression in gastric cancer[J]. Hepatogastroenterology, 2005, 52(61): 281-284.
 23. 武世伍, 俞岚, 周蕾, 等. β -半乳糖凝集素3和CD82 / KAI1蛋白在非小细胞肺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中华肿瘤杂志, 2013, 35(2): 124-128.
- WU Shiwu, YU Lan, ZHOU Lei, et al. Expression of Gal-3 and CD82/KAI1 proteins in non-small cell lung cancer and their clinical significance[J]. Chinese Journal of Oncology, 2013, 35(2): 124-128.

本文引用: 王哲彦, 孟玉秋, 刘春玲, 孟令超, 马小兵, 王志鹏. KISS1与KAI1在结肠癌中的表达及临床意义[J]. 临床与病理杂志, 2019, 39(3): 509-514. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.03.008

Cite this article as: WANG Zheyuan, MENG Yuqiu, LIU Chunling, MENG Lingchao, MA Xiaobing, WANG Zhipeng. Expression and clinical significance of KISS1 and KAI1 in colon cancer[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2019, 39(3): 509-514. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.03.008