

转移力不同的肺癌克隆细胞中 nm23-H1 基因产物 NDPK 的表达

张 彬, 熊 敏, 韩安家, 梁英杰

(中山医科大学病理学教研室, 广东 广州 510089)

摘 要: 【目的】比较转移抑制基因 nm23-H1 表达产物核苷酸二磷酸激酶(nucleoside diphosphate kinase, NDPK)在转移力不同的肺癌克隆株中的表达。【方法】通过单细胞克隆技术及裸鼠接种筛选出高转移及低转移的人肺巨细胞癌克隆细胞株及高转移的人肺腺癌克隆细胞株,用 LSAB 免疫组化法检测 nm23-H1 基因产物 NDPK 的表达。【结果】NDPK 在高转移及低转移的人肺巨细胞癌克隆细胞移植瘤及转移瘤中均有表达,高转移株的阳性细胞数目及强度均高于低转移株和裸鼠正常肺组织;NDPK 在高转移的肺腺癌克隆细胞移植瘤中有表达,表达强度低于裸鼠正常肺组织。【结论】nm23-H1 基因对肺巨细胞癌并不具转移抑制基因的功能,而可能促进肿瘤的发生、发展和转移。

关键词: 肺肿瘤; 肿瘤转移; 核苷酸二磷酸激酶

中图分类号: R734.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-257X(2000)06-0448-03

The Expression of nm23-H1 Gene Protein NDPK in Human Lung Carcinoma Cloning Cells with Different Metastatic Potential

ZHANG Bin, XIONG Min, HAN An-jia, LIANG Ying-jie

(Department of Pathology, Sun Yat-sen University of Medical Sciences Guangzhou 510089, China)

Abstract: 【Objective】To compare the expression of nucleoside diphosphate kinase(NDPK), the protein of metastasis suppressor gene nm23-H1 in clonal cell subpopulations with different metastasis from human lung carcinoma. 【Methods】Four sub-lines with different metastatic potential were isolated from human lung giant cell carcinoma and adenocarcinoma cell lines by the single cell cloning technique and inoculated into nude mice. NDPK in the neoplastic cells of the transplanted tumors and metastatic tumors of the nude mice was detected by LSAB. 【Results】The expression of NDPK can be detected in clonal cell subpopulations from human lung large cell carcinoma, the higher metastatic potential, the stronger expression. The expression of NDPK can also be detected in human lung adenocarcinoma with high metastatic potential, but is lower than the normal lung tissue of the nude mice. 【Conclusions】nm23-H1 is not a metastasis suppressor gene in lung large cell carcinoma, and may be associated with its development, progression and metastasis.

Key words: lung neoplasms; neoplasm metastasis; nucleoside diphosphate kinase

nm23 基因是近年来发现的最重要的肿瘤转移抑制基因,位于人 17 号染色体长臂,分为 nm23-H1 及 nm23-H2 两个亚型,其产物为 17 ku 的核苷酸二磷酸激酶(nucleoside diphosphate kinase, NDPK)。

nm23-H1 在多种类型的肿瘤中都有抑制转移作用,在肺癌中的作用意见不一。我们比较了高转移、低转移肺巨细胞癌和肺腺癌的克隆细胞裸鼠移植瘤,以及转移瘤中 nm23-H1 基因蛋白 NDPK 表

收稿日期: 1999-12-08

基金项目: 中山医科大学科研基金资助项目(522301012)

作者简介: 张 彬(1969-),女,山东临沂人,在职博士生,讲师。

达,探讨 nm23-H1 基因在不同类型肺癌转移中的作用。

1 材料和方法

通过单细胞克隆技术及裸鼠接种,每株细胞接种9只裸鼠,从人肺巨细胞癌细胞系(HLAmp,简称J)和人肺腺癌细胞系(GLC-82,简称X)中筛选出肺巨细胞癌高转移克隆株J1、低转移克隆株J6,以及肺腺癌高转移克隆株X7^[1],用LSAB免疫组化法检测所有裸鼠移植瘤及转移瘤中NDPK表达。NDPK的单克隆抗体购自美国Santa Cruz公司。

2 结果

肺巨细胞癌高转移、低转移的克隆细胞移植瘤及转移瘤中均有NDPK表达,NDPK位于胞浆和胞核,同株克隆细胞移植瘤与转移瘤的表达没有明显差异;但高转移的克隆细胞移植瘤及转移瘤中NDPK的阳性细胞数目及表达强度均高于低转移的克隆细胞,且高于裸鼠正常肺组织(表1,图1)。

NDPK在高转移的肺腺癌克隆细胞移植瘤中有表达,但表达细胞数目及强度低于裸鼠正常肺组织,特别是明显低于其周围浸润的浆细胞(表1,图2);在移植瘤及转移瘤中的表达没有明显差异。

表1 NDPK在裸鼠正常组织、移植瘤及转移瘤中的表达

Table 1 Expression of NDPK in the normal tissue, transplanted tumors and metastatic tumors of nude mice

Cloning cells	Induced tumor	Metastatic tumor			Normal tissue				
		Lymph-node	Liver	Lung ¹⁾	Liver cell	Plasmacyte	Lymph-cell	Muscle cell	Squamous cell
J1	++++	++++	++++	++	++	++++	-	++	-
J6	++	++	++	++	++	++++	-	++	-
X7	+	+	+	++	++	++++	-	++	-

1) Means bronchial epithelium and lung epithelium; no positive cells is -; less than 25% positive cells is +; 25%~50% positive cells is ++; 50%~75% positive cells is +++; more than 75% positive cells is ++++

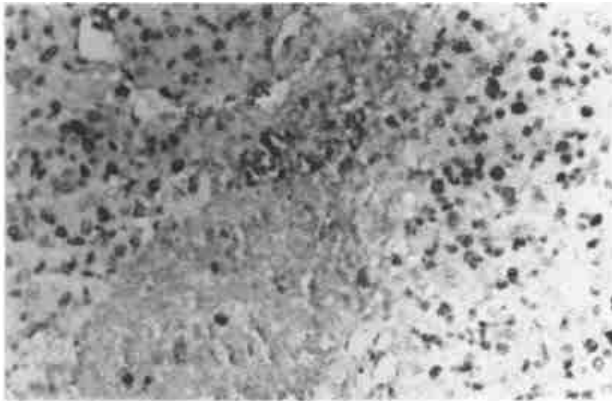


图1 J1裸鼠淋巴结转移瘤NDPK的表达

Fig. 1 J1 metastatic tumor in lymph node with NDPK positive expression (×200)

Majority of neoplastic cells showing NDPK positivity, the residual lymphocytes showing NDPK negativity

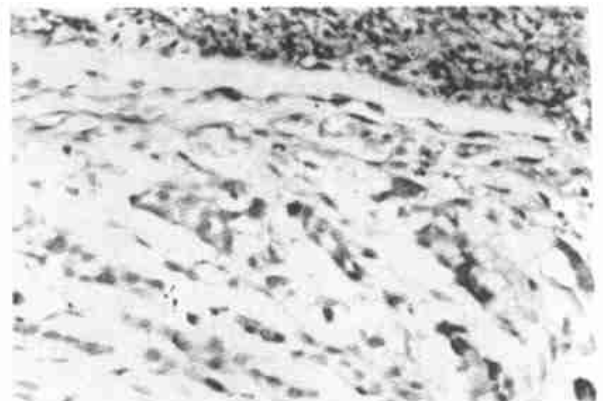


图2 X7裸鼠皮下移植瘤NDPK的表达

Fig. 2 X7 nude mice subcutaneous transplanted tumor with NDPK positive expression (×200)

A small proportion of neoplastic cells showing NDPK weak positivity, all the infiltrating plasmacytes showing NDPK strong positivity

3 讨论

nm23基因是近年来最受重视的肿瘤转移抑制

基因,但对肺癌转移的作用,目前还没有一致的意见。有些结果显示nm23基因参与肺癌转移过程的调控,可能在肺癌中起着转移抑制基因的作用。例如,Wang等^[2]发现有淋巴结转移的肺癌组织中

NDPK 的表达率明显低于无淋巴结转移的肺癌组织; Lai 等^[3]发现 NDPK 高表达的非小细胞肺癌以后发生远处转移的则较少见。有些作者则发现 nm23 基因表达增强与肺癌发生、发展及转移有关, nm23 基因在肺癌中并不起抑制转移的作用, 如 Volm 等^[4]发现非小细胞肺癌组织中 NDPK 的表达与有无淋巴结转移关系不大, Gazzeri 等^[5]发现大多数肺癌的癌细胞中 NDPK 的表达高于正常组织, Engel 等^[6]发现人肺鳞癌中 nm23-H1 及 nm23-H2 的高 mRNA 水平与肿瘤的低分化及进展有关。也有些实验结果显示, 在不同类型肺癌中 nm23 基因的表达和转移的关系不一致^[7]。上述结果都是对临床标本的检测。

我们通过高转移及低转移的克隆细胞株, 用 LSAB 免疫组化法检测 nm23-H1 基因产物 NDPK 的表达。在裸小鼠正常组织可见 NDPK 的表达, 以浆细胞的表达最强, 肺(包括支气管上皮及肺上皮细胞)、肝细胞、肌肉也有表达, 鳞状上皮及淋巴细胞未见表达。人肺巨细胞癌高转移、低转移的克隆细胞移植瘤和转移瘤中均有 NDPK 的表达, 但前者的移植瘤和转移瘤中 NDPK 的阳性细胞数目及表达强度均高于后者, 表明 NDPK 表达与人肺巨细胞癌的转移能力有关, 两者呈正相关, 即转移能力越强, NDPK 表达越高, 说明 nm23-H1 基因在肺巨细胞癌中并不起转移抑制基因的作用, 而可能参与肺巨细胞癌转移过程的调节; NDPK 在高转移的肺腺癌克隆细胞移植瘤及转移瘤中有表达, 但表达细胞数目及强度低于裸鼠正常肺组织, 其与肺癌转移能力的关系还需要进一步研究。

参考文献:

- [1] 张彬, 熊敏. 转移力不同的肺癌细胞株对表皮生长因子和受体的表达[J]. 中山医科大学学报, 1996, 17(3): 171.
- [2] Wang G L, Du C S, Lin Q D. The correlation between lung cancer lymph node metastasis and nm23-H1 gene mutation, mRNA expression[J]. Clin J Tuberc Respir Dis 1997, 20(6): 340.
- [3] Lai W W, Wu M H, Yan J J, *et al.* Immunohistochemical analysis of nm23-H1 in stage I non-small cell lung cancer; a useful marker in prediction of metastases[J]. Ann Thorac Surg 1996 62(5): 1500.
- [4] Volm M, Mattern J, Koomagi R. Association between nm23-H1 expression, proliferation and apoptosis in non-small cell lung carcinomas[J]. Clin Exp Metastasis 1998, 16(7): 595.
- [5] Gazzeri S, Brambilla E, Negoescu A, *et al.* Overexpression of nucleoside diphosphate kinase A/nm23-H1 protein in human lung tumors; association with tumor progression in squamous carcinoma[J]. Lab Invest, 1996, 74(1): 158.
- [6] Engel M, Theisinger B, Seib T, *et al.* High levels of nm23-H1 and nm23-H2 messenger RNA in human squamous cell lung carcinoma are associated with poor differentiation and advanced tumor stages[J]. Int J Cancer, 1993, 55(3): 375.
- [7] 雷文东, 张汝刚, 闫水忠, 等. nm23 基因在人肺癌中的表达及其与肺癌淋巴结转移的关系[J]. 中华肿瘤杂志, 1994, 16(4): 277.

(编辑 黄小延)

·简讯·

博士后陈罕探索防龋活疫苗的研究

龋病是一种多因素作用的细菌感染性疾病, 变形链球菌被公认为主要致龋细菌之一。该病是牙齿硬组织发生慢性进行性破坏, 在 12 岁以上人中患病率高达 45.81%~64.75%。龋病及其继发疾病严重影响人类的口腔以至全身健康。

中山医科大学光华口腔医院博士后陈罕, 为寻找有效的防龋方法, 在合作导师凌均谔教授指导下, 应用 PCR 相关分子生物学技术和免疫学研究方法, 构建携带变形链球菌 PAC 基因 A 区片段的减毒鼠伤寒沙门菌防龋活疫苗, 进行 BALB/c 鼠口服免疫研究。实验证明以减毒鼠伤寒沙门菌携带外源抗原免疫实验动物后, 能激发实验动物产生针对沙门载体菌和外源抗原的体液免疫, 细胞免疫和粘膜免疫。

陈博士的研究选用变形链球菌 PAC 基因上的 A 区序列作为目的基因片段构建表达质粒 PET-17b/A 在大肠杆菌中克隆后转化入减毒鼠伤寒沙门菌中表达, 用 Western blot 检测到转化后减毒鼠伤寒沙门菌中目的基因的表达并检测了表达产物的免疫学活性。口服后能有效刺激鼠血清、唾液中特异性抗 PACIgG, IgA 抗体水平的升高。该研究为减毒鼠伤寒沙门菌防龋活疫苗应用于人群龋病预防提供了重要的理论和实验依据, 为防龋活疫苗进一步研究打下良好基础。

(冯世容)