

的独立预测因素之一。研究表明,血清 Hs-CRP 可能直接引起心肌细胞肥大,从而参与了 AMI 后心室重构,CysC 则通过参与调控血管壁、细胞外基质胶原蛋白合成和分解的动态平衡,导致胶原蛋白代谢紊乱,终致心室重构^[7]。

综上所述,血清 Hs-CRP 及 CysC 对 AMI 后心室重构有重要的影响,其水平变化可以成为评估 AMI 后心室重构严重程度的可靠指标,是对 AMI 后预后评估的理想标记物,同时也为干预 AMI 后心室重构提供了新的治疗方法。本研究也存在一些不足之处,样本量较少,未排除一些混杂因素,并且血清 Hs-CRP 及 CysC 参与 AMI 后心室重构的确切机制目前尚未清楚,仍需要我们今后更大样本、更深入的研究去探讨。

【参考文献】

[1] 尚少红,张红,李湘.血清 Cystatin C、MMP-2 及 hs-CRP/

PAB 对急性心肌梗死患者 PCI 术后并发心衰的预测价值[J].河北医药,2019,41(3):343~346.

[2] Fourth universal definition of myocardial infarction, 2018.
[3] 边娟,孙红梅,李飞. 早发冠心病的相关血清学标志物研究进展[J].山东医药,2019,59(21):112~114.
[4] 徐林,高敏 C 反应蛋白与冠心病的相关性分析[J].中国医药指南,2018,16(9):131~132.
[5] 赵一品,汤建民,季莹莹,等.急性 ST 段抬高型心肌梗死患者入院血清白蛋白水平与梗死相关动脉自发再通的关系[J].郑州大学学报(医学版),2019,54(1):68~72.
[6] 李正.血清 CysC、RLX、Periostin、Copeptin 水平对 AMI 患者 PCI 术后预后的预测价值[J].心血管康复医学杂志,2018,(4),406~410.
[7] 王萍,苏增锋,张颖.血清胱抑素 C 与心力衰竭的相关性研究[J].中华全科医师杂志,2017,16(6):481~483.

【文章编号】1006-6233(2019)12-2049-05

肾透明细胞癌中 KIF2A LSD1 蛋白表达的相关性研究

殷凤朝¹, 李芳², 刘丽辉¹, 曹赫然¹, 李坤¹, 孙超¹

(1.河北省石家庄市第一医院泌尿外科, 河北 石家庄 050011

2.河北医科大学第四医院病理科, 河北 石家庄 050011)

【摘要】目的:通过检测 KIF2A、LSD1 在肾透明细胞癌(RCCC)组织及癌旁非肿瘤组织中的蛋白表达情况探讨其与 RCCC 发生、发展及生物学行为相关性。方法:运用免疫组织化学方法检测 120 例肾透明细胞癌组织和 40 例癌旁非肿瘤组织 KIF2A、LSD1 蛋白表达情况,分析两者与肾透明细胞癌患者临床病理参数关系。结果:KIF2A 蛋白在肾透明细胞癌中的表达(60.83%)显著高于癌旁非肿瘤组织(32.5%),差异有统计学意义(P<0.05),LSD1 蛋白在肾透明细胞癌中的表达(55.0%)显著高于癌旁非肿瘤组织(30.0%),差异有统计学意义(P<0.05),KIF2A 蛋白在 RCCC 中的表达与 WHO/ISUP 病理分级及临床分期相关(P<0.05);LSD1 蛋白在 RCCC 中的表达与 WHO/ISUP 病理分级相关(P<0.05),与临床分期无关(P>0.05);KIF2A、LSD1 蛋白表达与性别、年龄均无关(P>0.05)。相关性检验结果显示:KIF2A、LSD1 蛋白表达呈正相关(rs=0.235,P=0.010)。结论:KIF2A 和 LSD1 可能参与了 RCCC 的发生、发展,并具有协同作用。

【关键词】肾透明细胞癌; KIF2A; LSD1; 免疫组织化学

【文献标识码】A 【doi】10.3969/j.issn.1006-6233.2019.12.032

Study on the Expression of KIF2A and LSD1 in Renal Clear Cell Carcinoma

YIN Fengchao, et al

(Shijiazhuang First Hospital, Hebei Shijiazhuang 050011, China)

【Abstract】Objective: To explore the relationship KIF2A LDS and the occurrence, development and biological behavior of RCCC by detecting the protein expression of KIF2A and LSD1 in renal clear cell carcinoma (RCCC) and adjacent non tumor tissues, . Methods: The expression of KIF2A and LSD1 in 120 cases of renal clear cell carcinoma and 40 cases of adjacent non-tumor tissues to renal clear cell carcinoma were detected by immunohistochemistry. Results: The expression of KIF2A in renal clear cell carcinoma (60.83%) was significantly higher than that in non-tumor tissues (32.5%). The difference was statistically significant (P<0.

【基金项目】河北省医学科学研究重点课题指导计划,(编号:20160798)

【通讯作者】李坤

05). The expression of LSD1 in renal clear cell carcinoma (55.0%) was significantly higher than that in non-tumor tissues (30.0%). The difference was statistically significant ($P < 0.05$). The expression of KIF2A in RCCC was significantly higher than that in who / ISUP pathological grade and clinical significance. The expression of LSD1 protein in RCCC was correlated with WHO / ISUP pathological grade ($P < 0.05$), but not with clinical stage ($P > 0.05$). The expression of KIF2A and LSD1 protein was not correlated with gender and age ($P > 0.05$). The results of correlation test showed that the expression of KIF2A and LSD1 was positively correlated ($r_s = 0.235, P = 0.010$). **Conclusion:** KIF2A and LSD1 may be involved in the occurrence and development of RCCC and have synergistic effect.

【Key words】 RCCC; KIF2A; LSD1; Immunohistochemical

肾癌是泌尿系最常见的恶性肿瘤之一,其中透明细胞癌占到组织学亚型的80-90%。近年来由于超声、CT及磁共振的广泛应用,更多的肾肿瘤被早期发现,具有转移症状的肿瘤患者逐渐下降。研究表明一些分子标记物可以预测肾透明细胞癌的预后,但这些标记物还没有应用到临床。Kinesin-13家族包括KIF2A、KIF2B和KIF2C/MCAK,是微管解聚酶,在有丝分裂活动中发挥重要作用。驱动蛋白超家族成员2A(KIF2A)具有微管解聚酶的功能,参与了细胞的生长、有丝分裂、染色体的移动及胞膜的运输等过程。这些蛋白调控细胞分裂、有丝分裂纺锤体形成和细胞分裂。其中,KIF2A在有丝分裂过程中定位于中心体,对染色体运动和双极纺锤体形成至关重要^[1]。LSD1 (lysine specific demethylase 1),即组蛋白赖氨酸特异性去甲基化酶1,又称KDM1A,不仅催化组蛋白H3上单甲基化和二甲基化K4或K9的去甲基化,而且还去甲基化许多其他非组蛋白底物,如p53、DNMT1、STAT3和E2F1,完成对组蛋白的修饰,从而参与基因的激活和抑制过程,在染色质调节过程中具有许多作用。越来越多的证据表明,LSD1在许多癌症中异常表达,导致恶性进展,并与预后较差相关。本研究通过免疫组织化学方法检测KIF2A、LSD1在RCCC组织中的表达情况,探讨其在RCCC发生及进展过程中的作用机制,从分子水平预测肾癌的病因,为肾癌的诊治和预后提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 标本来源:选取石家庄市第一医院泌尿外科手术切除RCCC标本120例,标本均经10%中性福尔马林溶液固定后,石蜡包埋,经4 μ m连续切片4张备用HE染色及免疫组化检测。所有标本均经病理证实为RCCC组织,其中男79例,女41例,年龄21~82岁,平均年龄56岁。根据2016版WHO肾脏肿瘤新分类解读,肾细胞癌采用WHO/ISUP(WHO/国际泌尿病理学会)分级:G1 10例,G2 56例,G3 40例,G4 14例。根据2010年AJCC肾癌TNM分期,I期53例,II期34例,III期25例,IV期8例。患者术前无其他肿瘤病史,

且均未行放、化疗及生物免疫治疗。取40例癌旁肾组织(距离肿瘤边缘>2cm,且病理证实无肿瘤侵犯)作对照。

1.2 主要试剂:KIF2A、LSD1多克隆抗体购自上海吉泰生物科技有限公司,SP免疫组化检测试剂盒购自北京中杉生物技术有限公司,DAB显色试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司。

1.3 实验方法:采用链霉菌蛋白-过氧化物复合物(SP)法,具体操作按试剂盒说明书进行,选用已知阳性组织做阳性对照,PBS代替一抗做为阴性对照,每次染色均应设置阴性及阳性对照。

1.4 免疫组化结果判读标准:KIF2A主要定位于细胞质,少量表达于细胞核;LSD1定位于细胞核;阳性均呈棕黄色颗粒。随机选取10个高倍视野(40X),每高倍视野计数100个肿瘤细胞。计算阳性细胞所占肿瘤细胞的百分比和染色强度。KIF2A的判读标准:①阳性细胞数所占肿瘤细胞百分比记分,无着色或<5%=0分,5%~30%=1分;31%~60%=2分;>60%=3分。②染色强度:未着色=0分,淡黄色=1分,棕黄色=2分,棕褐色=3分。上述两项得分相加,0分为阴性,1~2分为低表达,3~6分为高表达。LSD1判读标准:①阳性细胞所占百分比记分: $\leq 5\% = 0$ 分;6%~25%=1分;26%~50%=2分;51%~75%=3分;>75%=4分。②染色强度:未着色=0分,淡黄色=1分,棕黄色=2分,棕褐色=3分。最后两者计分相加:0~1分记阴性,2~7分记为阳性。

1.5 统计学分析:采用SPSS19.0统计软件进行数据分析。计数资料采用 χ^2 检验和Fisher确切概率法,Spearman相关分析进行相关性检验,均行双侧检验, $P < 0.05$ 视为具有统计学意义。

2 结果

2.1 KIF2A和LSD1蛋白在RCCC组织、癌旁非肿瘤组织中的表达:KIF2A蛋白在RCCC组织阳性表达率分别为60.83%(73/120)明显高于癌旁非肿瘤组织32.5%(13/40),差异有统计学意义($P = 0.002$);LSD1蛋白在RCCC组织阳性表达率55.0%(66/120)明显高于

癌旁非肿瘤组织的 30.0%(12/40), 差异有统计学意义 (P=0.006), 见图 1、图 2、表 1。

表 1 KIF2A 和 LSD1 蛋白在 RCCC 组织癌旁非肿瘤组织中的表达

组织类型	例数	KIF2A		χ^2	P	LSD1		χ^2	P
		+	-			+	-		
RCCC	120	73	47	9.688	0.002	66	54	7.505	0.006
癌旁非肿瘤组织	40	13	27			12	28		

注:KIF2A 为驱动蛋白 2a,LSD1 为赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 1,RCCC 为肾透明细胞癌

2.2 KIF2A 蛋白在 RCCC 中的表达与 WHO/ISUP 分级及临床分期相关(P<0.05);LSD1 蛋白在 RCCC 中的表达与 WHO/ISUP 分级相关(P<0.05),与临床分期无关(P>0.05);KIF2A、LSD1 蛋白表达与性别、年龄均无关(P>0.05),见表 2。

表 2 KIF2A 和 LSD1 在 RCCC 组织的表达及与临床病理参数之间的关系

临床病理参数	例数	KIF2A		χ^2	P	LSD1		χ^2	P
		+	-			+	-		
性别									
男	79	51	28	1.346	0.246	45	34	0.360	0.549
女	41	22	19			21	20		
年龄(岁)									
≤56	55	35	20	0.335	0.561	30	25	0.008	0.927
>56	65	38	27			36	29		
WHO/ISUP 分级									
1 级	10	3	7	11.132	0.011	1	9	9.120	0.028
2 级	56	29	27			33	23		
3 级	40	30	10			23	17		
4 级	14	11	3			9	5		
分期									
I + II	87	47	40	6.158	0.013	48	39	0.004	0.951
III + IV	33	26	7			18	15		

A:肾透明细胞癌 B:癌旁非肿瘤组织

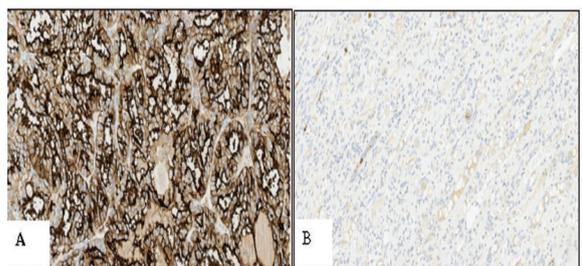


图 1 KIF2A 在肾透明细胞癌及癌旁非肿瘤组织中的表达情况(SP200 倍)

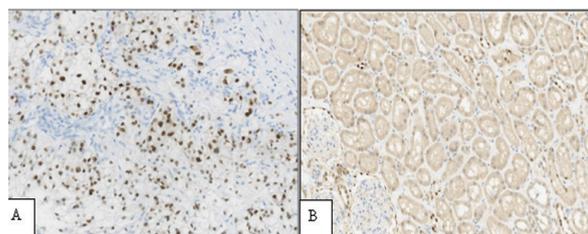


图 2 LSD1 在肾透明细胞癌及癌旁非肿瘤组织中的表达

情况(SP200 倍)

A:肾透明细胞癌 B:癌旁非肿瘤组织

2.3 KIF2A 和 LSD1 表达的相关性分析:120 例 RCCC 标本中,KIF2A 和 LSD1 两者表达均阳性的有 47 例,均表达阴性的为 28 例。KIF2A 表达阳性而 LSD1 表达阴性的为 26 例,LSD1 表达阳性而 KIF2A 表达阴性的有 19 例,经 Spearman 相关性检验分析结果显示:KIF2A 及 LSD1 在 RCCC 组织中的表达呈正相关,Spearman 相关系数(rs=0.235,P=0.010),见表 3。

表 3 KIF2A 和 LSD1 蛋白表达相关性分析

RCCC	KIF2A		rs	P
	+	-		
LSD1				
+	47	19	0.235	0.010
-	26	28		

3 讨 论

近年来肾透明细胞癌在我国发病率仍呈逐年上升趋势,仅次于膀胱癌,且呈现年轻化趋势。虽然肾细胞癌的发病机制被认为与吸烟、饮酒及基因因素有关,但发病机制至今尚不明确。其早期多无症状,大多数患者通过体检发现,随着我国医疗技术的发展,手术治疗已取得较好效果,但该病致死率仍居高不下,这是由于患者自身健康意识不强不能定期作常规体检,因此寻找到能够准确判断肾癌恶性程度的生物指标是目前研究的热点。近年来通过对肿瘤的深入研究,表观遗传学修饰(DNA 甲基化、组蛋白乙酰化、组蛋白甲基化等),对肿瘤基因调控发挥着重要作用^[2]。

肌动蛋白 13 家族成员,包括肌动蛋白超家族蛋白 2A(KIF2A)和有丝分裂中心体相关的肌动蛋白 KIF2B(MCAK),是 m 型非运动性微管解聚酶,在有丝分裂过程中调控微管动力学中发挥中心作用。目前越来越多的证据表明,KIF2A 在胃癌、口腔鳞癌、乳腺癌、人胶质瘤、肝癌等多种肿瘤中均有异常表达,并参与增殖、凋亡、迁移、侵袭等多种细胞过程^[3]。赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 1(LSD1)也称为 KDM1A 和 AOF2,是黄素依赖性的去甲基化酶于 2004 年被首次发现。LSD1 主要包括 3 部分:SWIRM 结构域、胺氧化酶结构域、Tower 结构域,参与调节多种典型的生物过程,包括上皮-间质转化(EMT),并通过 H3K4me2/1 或 H3K9me2/1 去甲基化来抑制或激活其转录过程,LSD1 还使一些非组蛋白去甲基化并介导癌症的过程。目前的研究现状显示,KIF2A 和 LSD1 在肾癌中的研究尚

少,在肾癌发生中的作用、两者表达的相关性及其作为肿瘤标志物的可能性尚不清楚。

管文华等^[3]研究显示:KIF2A 在卵巢癌组织中呈高表达,明显高于卵巢良性上皮肿瘤及正常卵巢组织,可能参与了卵巢癌的发生、发展过程。并且发现在卵巢癌分期较晚的癌组织中 KIF2A 的呈高表达推测可能与肿瘤周围的局部浸润和远处转移相关,KIF2A 的高表达状态可能导致微管解聚增加,造成细胞骨架不稳定,从而促进卵巢癌的局部浸润和转移过程。任艳艳^[4]等研究显示:KIF2A 在肺鳞癌中的阳性表达率明显高于正常肺组织,且与肺癌的临床分期相关,与本实验研究一致。罗洞波等^[5]研究:KIF2A 在食管胃结合部癌组织表达显著高于癌旁组织,并与 TNM 分期、淋巴结转移、分化程度、浸润深度和远处转移有关。Tian Xie^[6]等的研究显示,KIF2A 在肺腺癌组织中呈过表达情况,且 KIF2A 表达与肿瘤 TNM 分期、淋巴结转移密切相关,而与年龄、性别、吸烟、组织学分化无关。多因素分析显示,KIF2A 在肺腺癌中的高表达是肺腺癌患者总生存率降低的独立危险因素。在体细胞学实验显示,沉默 KIF2A 的表达显著降低了上皮-间质转化和肺腺癌细胞 A549 的迁移。沉默 KIF2A 可抑制肺腺癌细胞增殖,诱导细胞凋亡。提示 KIF2A 可作为判断肺腺癌预后和治疗靶点的指标。

LSD1 参与调节多种典型的生物过程,包括上皮-间质转化(EMT),并通过 H3K4me2/1 或 H3K9me2/1 去甲基化来抑制或激活其转录过程,LSD1 还使一些非组蛋白去甲基化并介导癌症的过程。研究发现 LSD1 在一系列实体瘤和急性髓细胞中异常过表达,在白血病(AML),它抑制细胞分化,增强肿瘤细胞的增殖及侵袭能力从而使预后变差,因此 LSD1 抑制是潜在的抗癌治疗策略。LSD1 在前列腺、肺、结直肠、膀胱、胰腺、肝脏和乳腺癌细胞中均有异常表达。此外,过表达 LSD1 可导致侵袭性肿瘤生物学^[7]。Wu LW^[8]等的研究发现,肝细胞癌患者中也发现了高水平的 LSD1,并且预测预后较差。有学者研究 LSD1 水平的上调促进乳腺导管原位癌进化为浸润性导管癌,也加速了乳腺癌的发生,增殖和转移。当暴露于致癌物时,LSD1 将被上调并可能促进早期乳腺癌的发生。Yang C 研究发现:肿瘤细胞中表现出来的甲基化的富集和缺失表明了 LSD1 与前列腺癌、乳腺癌等的发生和发展密切相关^[9]。Liu 等^[10]研究发现,LSD1 的异常高表达促进宫颈癌细胞的侵袭和转移,同时可以降低钙黏蛋白的表达,诱导间充质标记物波形蛋白的表达,从而促进上皮-间质转化(EMT)。王洁等^[11]研究:LSD1 在卵巢癌中表达显著高于正常卵巢组织。LSD1 的表达定位于细胞核,在胃癌细胞中的阳性显著高于健康胃组织,而在

胃癌细胞中 E-钙黏蛋白的阳性表达显著低于健康胃组织。且 LSD1 与 E-钙黏蛋白在胃癌中的表达呈负相关^[12]。陈辉星^[13]等研究:胰腺癌组织中 LSD1 表达升高, P16 表达降低; LSD1 可能通过组蛋白泛素化和去甲基化调控 P16 的表达, 从而影响胰腺癌预后。顾晨文等研究发现^[14], 35 例直肠腺癌中 LSD1 mRNA 及蛋白表达均显著高于癌旁组织, LSD1 蛋白表达与肿瘤分化程度、浸润深度、淋巴结转移、TNM 分期相关, LSD1 蛋白阳性组 5 年生存率及平均生存时间明显低于阴性组; 提示 LSD1 可能参与了直肠癌的发生及发展, 开发 LSD1 的抑制剂有望成为直肠癌靶向治疗的潜在分子靶点。崔彭华等^[15]通过研究 60 例子宫内膜癌患者中 LSD1 表达情况发现, 子宫内膜癌中 LSD1 蛋白阳性率 (81.67%) 明显高于对照组 (3.33%), 其阳性表达对子宫内膜癌进展有重要的提示作用, 可用于预测疾病的恶性程度。

本研究应用免疫组织化学方法检测 120 例 RCCC 组织及 40 例癌旁非肿瘤组织中 KIF2A 和 LSD1 的表达情况, 发现 KIF2A 和 LSD1 蛋白在 RCCC 组织中的阳性率明显高于癌旁非肿瘤组织, 预测两者的高表达可能参与了 RCCC 的发生及进展。KIF2A 蛋白表达与临床分期和病理分级相关, 提示 KIF2A 蛋白表达可能与肿瘤的浸润及转移有关, 有望成为预测患者预后情况的指标。LSD1 蛋白表达和病理分级相关而与临床分期无关, 提示其可能与肾癌恶性行为有关。KIF2A 和 LSD1 蛋白表达的相关性检测结果显示两指标表达呈正相关, 提示二者可能在促进 RCCC 发生过程中起到了协同作用。本研究提示, KIF2A 和 LSD1 有望作为预测及判断 RCCC 预后的分子标记物, 但需进行大量样本验证, 并进一步研究两者在 RCCC 发生发展中的分子机制, 为临床靶向药物的开发提供前瞻性研究。KIF2A 和 LSD1 蛋白的表达的缺失及其基因多态性参与了肿瘤的发生, 因此本研究通过对 KIF2A/LSD1 与肾癌的发生、发展进行研究, 有望为肾癌的检测、预防以及治疗提供新的途径。

【参考文献】

[1] 朱燕, 刘宏斌, 杨其昌, 等. 组织芯片检测 Kif2a 在乳腺癌中的表达及与预后的相关性[J]. 南京医科大学学报, 2017, 37(2): 217~219.
[2] Kelly AD, Issa JJ. The promise of epigenetic therapy: reprogramming the cancer epigenome[J]. Curr Opin Genet Dev, 2017, 42: 68~77.

[3] 管文华, 项锋钢. RhoA 蛋白及驱动蛋白 KIF2A 与卵巢癌临床病理特征的相关性研究[J]. 中国现代医学杂志, 2019, 29(5): 29~34.
[4] 任艳艳, 徐沙沙, 张丽, 等. 肺鳞癌组织 Kif2a 与 MMP-2 的表达及其相关性[J]. 齐鲁医学杂志, 2016, 31(3): 285~293.
[5] 罗洞波, 高云飞, 吕红博, 等. 食管胃结合部癌组织 KIF2A 和 MTI-MMP 表达相关性与临床意义[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2017, 24(13): 894~900.
[6] Tian Xie, Xingyu Li, Fei Ye, et al. High KIF2A expression promotes proliferation, migration and predicts poor prognosis in lung adenocarcinoma[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2018, 20(2): 65~72.
[7] Li X, Li T, Chen D, et al. Overexpression of lysine-specific demethylase 1 promotes androgen-independent transition of human prostate cancer LNCaP cells through activation of the AR signaling pathway and suppression of the p53 signaling pathway[J]. Oncol Rep, 2016, 35(1): 584~592.
[8] Lin-wen Wu, Dong-mei Zhou, Zuo-yan Zhang, et al. Suppression of LSD1 enhances the cytotoxic and apoptotic effects of regorafenib in hepatocellular carcinoma cells[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2019, 54(3): 852~858.
[9] Yang C, Wang W, Liang JX, et al. A rhodium(III)-based inhibitor of lysine-specific histone demethylase 1 as an epigenetic modulator in prostate cancer cells[J]. Med Chem, 2017, 60(6): 2597~2603.
[10] Liu Y, Wang Y, Chen C, et al. LSD1 binds to HPV16 E7 and promotes the epithelial-mesenchymal transition in cervical cancer by demethylating histones at the Vimentin promoter[J]. Oncotarget, 2017, 8(7): 11329~11342.
[11] 王洁, 汪明云, 魏荣富. LSD1 在卵巢癌中的表达及临床价值[J]. 现代肿瘤医学, 2018, 26(3): 346~350.
[12] 吴红梅, 杨洋, 等. LSD1 与 E-钙黏蛋白在胃癌中的表达及预后意义[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(8): 1122~1125.
[13] 陈辉星, 陈实, 李小燕, 等. 胰腺癌中 Ring1B、LSD1 及 P16 表达及其与预后的关系[J]. 中国普通外科杂志, 2017, 26(9): 1148~1154.
[14] 顾晨文, 刘现立. LSD1 在人直肠腺癌组织中高表达[J]. 基础医学与临床, 2019, 39(1): 7~10.
[15] 崔彭华, 张玉娟, 邵雪斋. 子宫内膜癌组织 LSD1、HE4、CA125 及 CA19-9 变化及临床意义[J]. 临床误诊误治, 2019, 32(1): 19~22.