



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.07.027
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract3970.shtml

· 简要论著 ·

MsrA 在胃癌组织中的表达及意义

潘曙光^{1,2}, 汤恢煊¹, 龚学军¹, 何群¹

(1. 中南大学湘雅医院 普通外科, 湖南长沙 410008; 2. 湖南省肿瘤医院 胃十二指肠胰腺外科, 湖南长沙 410013)

摘要

目的: 探讨 MsrA 在胃癌组织及癌旁正常胃黏膜组织中的表达及意义。

方法: 采用免疫组织化学法和实时荧光定量 RT-PCR 法检测 57 例胃癌组织与癌旁正常胃黏膜组织中 MsrA 的表达。

结果: 胃癌组织中 MsrA 的表达率及表达强度均低于癌旁正常胃黏膜组织 ($P < 0.001$); 胃癌组织 MsrA mRNA 相对量的中位数为 3.757, 癌旁正常胃黏膜组织中 MsrA mRNA 相对量的中位数为 5.240, 胃癌组织中 MsrA mRNA 的表达水平低于癌旁正常胃黏膜组织 ($P = 0.016$)。

结论: 胃癌组织中 MsrA 的表达水平较正常组织下调。

[中国普通外科杂志, 2014, 23(7):993-995]

关键词

胃肿瘤 / 病理学; MsrA; 实时定量 RT-PCR; 免疫组化

中图分类号: R735.2

基因丢失是细胞癌变的重要原因, 包括胃癌在内的多种肿瘤细胞中存在 8p22~p23.2 和

8p12~p21 两个区段高频率丢失^[1-2]。甲硫氨酸亚砷还原酶 (methionine sulfoxide reductase A, MsrA) 基因定位于人染色体 8p22~23 区带, MsrA 基因在多种肿瘤细胞中表达较低^[3]。本研究通过检测 MsrA 在胃癌组织中的表达, 探讨 MsrA 与胃癌发生发展之间的关系。

收稿日期: 2014-02-04; 修订日期: 2014-06-08。

作者简介: 潘曙光, 湖南省肿瘤医院主治医师 / 中南大学湘雅医院硕士研究生, 主要从事消化道肿瘤外科治疗方面的研究。

通信作者: 汤恢煊, Email: tanghuihuan@yahoo.com.cn

radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: analysis of risk factors and prognostic factors[J]. Ann Surg Oncol, 2008, 15(3):782-790.

[21] 骆抗先. 乙型肝炎基础和临床[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997:56-57.

[22] Yang T, Lu JH, Zhai J, et al. High viral load is associated with poor overall and recurrence-free survival of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma after curative resection: a prospective cohort study[J]. Eur J Surg Oncol, 2012, 38(8):683-691.

[23] 王建国, 刘继斌. HBV-DNA 阳性肝癌患者血清 HBeAg 检测与肝癌术后预后关系的研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2010, 17(6):353-355.

[24] Ruzzenente A, Capra F, Pachera S, et al. Is liver resection justified in advanced hepatocellular carcinoma? Results of an observational study in 464 patients[J]. J Gastrointest Surg, 2009, 13(7):1313-1320.

[25] Kurokohchi K, Masaki T, Watanabe S, et al. Time-lag performance of radiofrequency ablation after percutaneous ethanol injection for the treatment of hepatocellular carcinoma[J]. Int J Oncol, 2006, 28(4):971-976.

[26] Zhang YJ, Liang HH, Chen MS, et al. Hepatocellular carcinoma

treated with radiofrequency ablation with or without ethanol injection: a prospective randomized trial[J]. Radiology, 2007, 244(2):599-607.

[27] 杜俊东, 刘荣, 焦华波, 等. 射频消融联合瘤体边缘无水乙醇注射治疗大血管旁肝癌的疗效分析[J]. 中华肝脏病杂志, 2011, 19(5):352-355.

[28] 杨倩, 何光彬, 刘卫辉, 等. 超声引导经皮无水酒精注射增效射频消融治疗肝癌的近期疗效[J]. 中华消化外科杂志, 2012, 11(2):155-158.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 林满洲, 周华东, 陈念平, 等. BCLC-B 期肝癌患者经皮射频消融生存期相关单因素分析[J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(7):989-993. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.07.026

Cite this article as: LIN MZ, ZHOU HD, CHEN NP, et al. Factors related to survival time of patients after percutaneous radiofrequency ablation therapy for BCLC-B stage hepatic carcinoma[J]. Chin J Gen Surg, 2014, 23(7):989-993. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.07.026

1 资料与方法

1.1 临床资料

所有标本均来源于中南大学湘雅医院手术切除的 57 例胃癌患者, 其中男 34 例, 女性 23 例; 年龄 21~80 岁。按 TNM 分期: I 期 16 例, II 期 16 例, III 期 25 例。取 20 例正常胃黏膜作为对照。

1.2 免疫组织化学染色及结果判断

标本蜡块行 4 μm 厚度连续切片 3 张, 0.01 M 枸橼酸液缓冲液行抗原修复, 采用 SP 二步法行免疫组化染色, 操作按试剂盒说明进行, 以 DAB 显色。以阳性肾脏切片作为阳性对照, 用 PBS 液替代一抗作为阴性对照。

免疫组化结果由 2 名医师阅片报告。以细胞质内出现棕黄色颗粒为阳性表达。每片随机取 10 个高倍视野进行阳性细胞计数。参照 Nakajima 法^[4]从两方面计分评价: (1) 阳性细胞数百分比, 未见阳性细胞为 0 分, 阳性细胞数 <10% 为 1 分, 10%~50% 为 2 分, 51%~80% 为 3 分, >80% 为 4 分; (2) 染色度, 无染色为 0 分, 淡黄色 1 分, 棕黄色 2 分。将两者相乘, 总分取 2 位医师评分的平均值, 0~1 分为 (-), 2~5 分为 (+), 5~8 分为 (++)。

1.3 实时荧光定量 RT-PCR

1.3.1 总 RNA 的提取 采用天根 RNA 抽提试剂盒 (离心柱型) 提取总 RNA。操作按试剂盒说明进行。

1.3.2 mRNA 逆转录 MsrA 引物序列上游: 5'-CTG AGT GAA GAT AGC AGG GAT-3', 下游: 5'-GAT TTG GTA AAG CGA AGG AT-3'。 β -肌动蛋白 (β -actin) 引物序列上游: 5'-TGA CGT GGA CAT CCG CAA AG -3', 下游: 5'-CTG GAA GGT GGA CAG CGA GG-3'。在 Microtube 管中配制模板 RNA/引物混合液, 全量 <15 μL 。70 $^{\circ}\text{C}$ 保温 5 min 后迅速在冰上急冷 2 min 以上。离心数秒钟使模板 RNA/引物的变性溶液聚集于 Microtube 管底部。在上述 Microtube 管中配制反转录反应液。42 $^{\circ}\text{C}$ 保温 1 h。然后在 70 $^{\circ}\text{C}$ 下保温 15 min 后冰上冷却, 得到 cDNA 溶液于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.3.3 实时荧光定量 PCR 反应 采用 Line-gene 荧光定量 PCR 检测系统实时监测 PCR 反应过程的荧光信号, 以 β -actin 为内参对照。

1.4 统计学处理

免疫组化结果比较采用 Mann-Whitney U 检验。胃癌与癌旁组织的 MsrA mRNA 表达的比较用配对样本 Wilcoxon 符号秩检验。以 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组织化学法结果

阳性染色部位为胞浆。20 例正常胃黏膜中, 17 例有 MsrA 表达, 其中 7 例为 (++) , 10 例为 (+) , 阳性率为 85.0%。胃癌组织中 36 例有 MsrA 表达, 其中 4 例为 (++) , 32 例为 (+) , 阳性率为 63.2%。癌旁正常胃黏膜组织中 50 例有 MsrA 表达, 其中 19 例为 (++) , 31 例为 (+) , 阳性率为 87.7%。MsrA 在胃癌组织中的表达低于癌旁正常胃黏膜组织 ($P < 0.001$) , 正常胃黏膜与癌旁正常胃黏膜组织中 MsrA 的表达无统计学差异 ($P > 0.05$) (表 1)。

表 1 免疫组化检测 MsrA 在胃癌组织与癌旁正常黏膜组织中的表达 [n=57, n (%)]

组别	MsrA			P
	(-)	(+)	(++)	
胃癌组织	21 (36.8)	32 (56.2)	4 (7.0)	<0.001
癌旁组织	7 (12.3)	31 (54.4)	19 (33.3)	

2.2 实时荧光定量 RT-PCR 结果

MsrA mRNA 在胃癌组织中表达的中位数为 3.757 ($2^{-\Delta\text{CT}} \times 100\,000$) , 在癌旁正常胃黏膜组织中的中位数为 5.240 ($2^{-\Delta\text{CT}} \times 100\,000$) , 癌旁组织的表达水平明显高于胃癌组织 ($P = 0.016$) (图 1)。

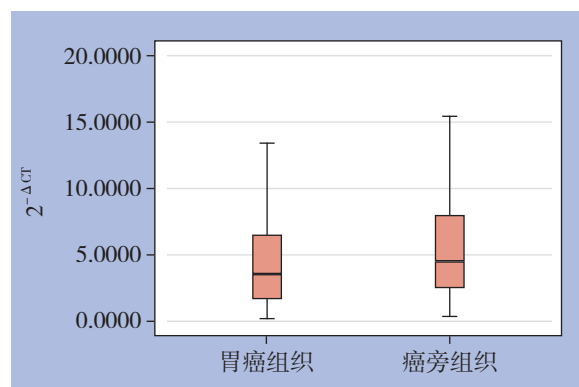


图 1 胃癌组织与癌旁正常胃黏膜组织 MsrA mRNA 表达水平比较 ($P = 0.016$)

3 讨论

甲硫氨酸亚砷还原酶 A(methionine sulfoxide reductase A, MsrA) 是一种重要细胞的抗氧化酶,其主要功能是清除机体内的活性氧^[5]。MsrA 基因位于 8p22~8p23 区带^[3],在多种肿瘤中发现 MsrA 基因所在染色体区段存在高频率丢失^[1-2]。在结直肠癌、前列腺癌等多种肿瘤细胞中发现 MsrA 基因的表达较低^[3]。本研究通过免疫组织化学法及实时荧光定量 RT-PCR 法检测,发现胃癌组织中 MsrA 的表达显著低于癌旁正常胃黏膜组织,提示胃癌组织中存在 MsrA 基因的失活。

MsrA 基因失活,将导致细胞内的活性氧(ROS)清除障碍。活性氧的清除障碍与肿瘤的发生发展有着密切的关系。活性氧(ROS)通过激活转录因子 NF- κ B^[6]、活化蛋白酪氨酸激酶(PTK)^[7]及诱发 DNA 点突变^[8],引起细胞癌变。胃黏膜幽门螺杆菌感染后,活性氧自由基增加,引起黏膜细胞过氧化损伤,导致细胞癌变的机会增加。通过降低细胞中活性氧(ROS)水平,可抑制细胞的癌变^[9]。Goh 等^[10]将抗氧化酶导入癌细胞中,发现肿瘤细胞生长受到明显抑制。P53 通过减少细胞内活性氧的水平可抑制细胞癌变^[11]。Lei 等^[12]发现, MsrA 基因在肝癌细胞中表达下调,在体外实验中,他们证实 MsrA 可以抑制肝细胞的癌变。MsrA 通过清除细胞内的活性氧(ROS),防止细胞的过氧化损伤,从而降低细胞癌变的几率。因此胃癌组织中 MsrA 基因的失活可能与胃癌的发生有关。

参考文献

- [1] Baffa R, Santoro R, Bullrich F, et al. Definition and refinement of chromosome 8p regions of loss of heterozygosity in gastric cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(4):1372-1377.
- [2] Cooke SL, Pole JC, Chin SF, et al. High-resolution array CGH clarifies events occurring on 8p in carcinogenesis[J]. *BMC Cancer*,

2008, 8:288-302. doi: 10.1186/1471-2407-8-288.

- [3] 胡培蓉,余龙,张民,等. 人类肽-甲硫氨酸亚砷还原酶的 cDNA 克隆、组织表达谱特征及染色体定位[J]. *科学通报*, 2000, 45(12):1289-1296.
- [4] Nakajima S, Doi R, Toyoda E, et al. N-cadherin expression and epithelial-mesenchymal transition in pancreatic carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(12 pt 1):4125-4133.
- [5] Galaris D, Barbouti A, Korantzopoulos P. Oxidative stress in hepatic ischemia-reperfusion injury: the role of antioxidants and iron chelating compounds[J]. *Curr Pharm Des*, 2006, 12(23):2875-2890.
- [6] Takada Y, Mukhopadhyay A, Kundu GC, et al. Hydrogen peroxide activates NF-kappa B through tyrosine phosphorylation of I kappa B alpha and serine phosphorylation of p65: evidence for the involvement of I kappa B alpha kinase and Syk protein-tyrosine kinase[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(26):24233-24241.
- [7] Tonks NK. Redox redux: revisiting PTPs and the control of cell signaling[J]. *Cell* 2005, 121(5):667-670.
- [8] Hirano T. Repair system of 7,8-dihydro-8-oxoguanine as a defense line against carcinogenesis[J]. *J Radiat Res*, 2008, 49(4):329-340.
- [9] Min JY, Lim SO, Jung G. Downregulation of catalase by reactive oxygen species via hypermethylation of CpG island II on the catalase promoter[J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(11):2427-2432.
- [10] Goh J, Enns L, Fatemie S, et al. Mitochondrial targeted catalase suppresses invasive breast cancer in mice[J]. *BMC Cancer*, 2011, 11:191. doi: 10.1186/1471-2407-11-191.
- [11] Sablina AA, Budanov AV, Ilyinskaya GV, et al. The antioxidant function of the P53 tumor suppressor[J]. *Nat Med*, 2005, 11(12):1306-1313.
- [12] Lei KF, Wang YF, Zhu XQ, et al. Identification of MSRA gene on chromosome 8p as a candidate metastasis suppressor for human hepatitis B virus-positive hepatocellular carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2007, 7:172-181.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式:潘曙光,汤恢焕,龚学军,等. MsrA 在胃癌组织中的表达及意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2014, 23(7):993-995. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.07.027

Cite this article as: PAN SG, TANG HH, GONG XJ, et al. Expression and significance of MsrA in gastric cancer tissues[J]. *Chin J Gen Surg*, 2014, 23(7):993-995. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.07.027