

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2004)23-2165-02

免疫印迹法检测 IKK, I κ B 和 NF- κ B 在喉癌中的表达朱江¹ 胡国华¹ 孙余才²(¹ 重庆医科大学第一医院耳鼻喉科, 重庆 400016; ² 济宁医学院附属医院耳鼻喉科, 山东 济宁 272129)Expression of IKK, I κ B and NF- κ B in laryngeal carcinomas: A Western blot studyZHU Jiang¹, HU Guo-Hua¹, SUN Yu-Cai²¹Department of Otolaryngology, First Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China, ²Department of Otolaryngology, Affiliated Hospital, Jinin Medical College, Jinin 272129, China

【Abstract】 AIM: To detect the expression of IKK, I κ B and NF- κ B in laryngeal carcinomas and to explore its significance for the genesis and development of carcinomas. **METHODS:** The expression of IKK α , I κ B α and NF- κ B p65 in 20 cases of laryngeal carcinomas and 10 cases of normal laryngeal tissues was detected by Western blot technique. **RESULTS:** The expression of IKK α and NF- κ B p65 in laryngeal carcinoma tissues was higher compared with that in normal laryngeal tissues and the expression of I κ B α was lower ($P < 0.05$). **CONCLUSION:** The expression imbalance of IKK, I κ B and NF- κ B is closely associated with the genesis and development of laryngeal carcinomas.

【Keywords】 laryngeal neoplasms; immunoblotting; IKK; I κ B; NF- κ B

【摘要】目的 检测喉癌组织中 IKK, I κ B 和 NF- κ B 的表达, 并进而揭示其在肿瘤发生发展中的意义. 方法 采用免疫印迹法(Western blot)分析 20 例喉癌标本和 10 例正常喉黏膜标本中 IKK α , I κ B α , NF- κ B p65 的表达. 结果: 喉癌组织中 IKK α 和 NF- κ B p65 的表达水平明显高于正常组织, I κ B α 表达水平明显低于正常组织($P < 0.05$). 结论: IKK, I κ B 和 NF- κ B 表达失衡与喉癌的发生发展有着密切关系.

【关键词】 喉肿瘤, 免疫印迹法, I κ B 激酶, I κ B, 核因子 κ B

【中图分类号】 R739.65 **【文献标识码】** A

0 引言

核因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 是近年来研究的热点, 其激活参与炎症、细胞增殖、细胞凋亡等基因的调节. NF- κ B 和 NF- κ B 的抑制蛋白 I κ B 及 I κ B 激酶 IKK 与肿瘤的发生发展关系密切, 在多

种肿瘤中存在异常表达^[1]. IKK, I κ B 和 NF- κ B 在喉癌中的表达情况国内外尚未见报道. 我们应用免疫印迹法, 对 IKK α , I κ B α , NF- κ B p65 在喉癌中的表达进行了研究, 探讨 IKK, I κ B, NF- κ B p65 与喉癌发生发展的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 收集重庆医科大学第一医院耳鼻喉科 2001-07/2002-07 期中 20 例(全部为男性)手术切除的喉癌组织及 10 例正常喉组织标本, 肿瘤切除后 30 min 内采集喉癌组织, 同时切取距肿瘤 2 cm 以外的喉组织作正常对照组, 立即置于液氮保存. 所有病例均经病理证实为鳞状细胞癌, 并且未行放疗、化疗. 20 例喉癌组织按 UICC 1997 年标准分期: I 期 4 例、II 期 6 例、III 期 9 例、IV 期 1 例. 肿瘤分化程度: I 级 8 例、II 级 10 例、III 级 2 例; 颈部淋巴结转移 3 例. I κ B α 抗体购自北京中山公司, IKK α 抗体、NF- κ B p65 抗体和 Western blot 发光试剂购自美国 Satus Cruzs 公司.

1.2 方法 组织总蛋白的提取采用 Satus Cruzs 公司方案. RIPA 液裂解喉癌及正常喉组织, Bradford 法检测蛋白浓度, -70°C 冻存. 以每泳道 60 μg 上样, 经 SDS-PAGE 电泳后, 电转至硝酸纤维素膜, 先各加入 IKK α , I κ B α 和 NF- κ B p65 一抗, 再加入辣根过氧化物酶标记的二抗, 以 Western blot 发光试剂检测杂交信号. 凝胶成像分析系统进行密度扫描; Image Master VDS Software 软件分析蛋白区带; IKK α , I κ B α 和 NF- κ B p65 量用蛋白区带积分光密度值表示.

统计学处理: 采用 SPSS 10.0 统计学软件, 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t' 检验.

2 结果

2.1 IKK α 的表达 Western blot 检测结果显示喉癌组织 IKK α 积分光密度值为 1887.63 ± 328.34 , 正常喉组织 IKK α 积分光密度值为 698.56 ± 103.85 , 两样本的 t' 检验, 差异有显著性 ($P < 0.05$, Fig 1).

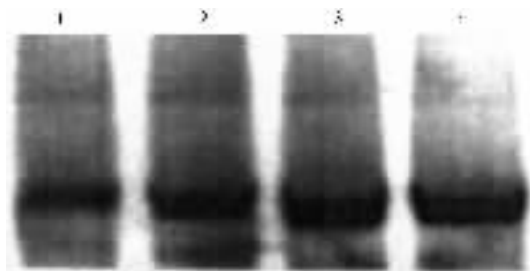
2.2 I κ B α 的表达 Western blot 检测结果显示喉癌

收稿日期 2004-06-18; 修回日期 2004-09-15

作者简介 朱江(1968-)男(汉族), 重庆市忠县人, 硕士, 主治医师.

Tel. (023) 66808032 Email. zhujiang6926@163.com

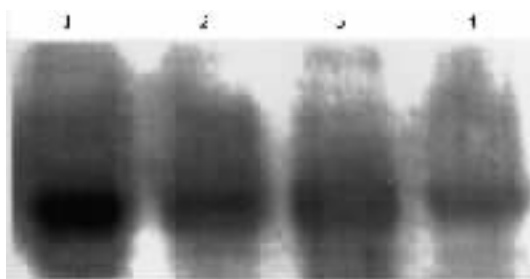
组织 I κ B α 积分光密度值为 491.54 ± 82.85 , 正常喉组织 I κ B α 积分光密度值为 2033.09 ± 170.17 , 两样本的 t' 检验, 差异有显著性 ($P < 0.05$, Fig 2).



1 Normal laryngeal tissue ; 2-4 Laryngeal carcinoma tissue.

Fig 1 Expression of IKK α in laryngeal carcinoma tissue and normal laryngeal tissue (Western blot)

图1 喉癌组织和正常喉组织 IKK α 的表达(Western blot)



1 Normal laryngeal tissue ; 2-4 Laryngeal carcinoma tissue.

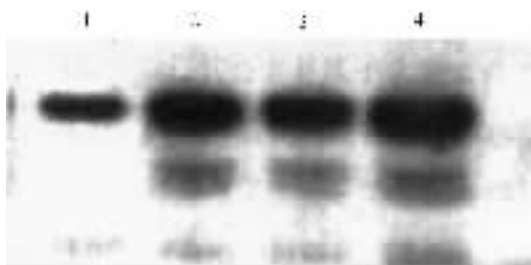
Fig 2 Expression of I κ B α in laryngeal carcinoma tissue and normal laryngeal tissue(Western blot)

图2 喉癌组织和正常喉组织 I κ B α 的表达(Western blot)

2.3 NF- κ B p65 的表达 Western blot 检测结果显示喉癌组织 NF- κ B p65 积分光密度值为 1775.87 ± 362.81 , 正常喉组织 NF- κ B p65 积分光密度值为 476.42 ± 53.00 , 两样本的 t' 检验, 差异有显著性 ($P < 0.05$, Fig 3).

3 讨论

IKK, I κ B 和 NF- κ B 是 NF- κ B 信号传导通路的组成成分, 在肿瘤的发生发展中起着关键作用, 其参与癌变的机制是其可调控与细胞分化和细胞凋亡相关基因的表达, 进而促进肿瘤细胞的分化, 抑制肿瘤细胞凋亡。在静息状态下, NF- κ B 和 I κ B 以无活性形式存在于细胞质中。当细胞受到某些细胞外信号刺激时, 通过信号传导激活 IKK 的上游激酶而促使 IKK 活化, 活化的 IKK 通过对 I κ B 的磷酸化而使 I κ B 与 NF- κ B 二聚体解离, 致使 NF- κ B 被激活并易位入核与靶基因的 κ B 位点结合, 启动下游基因转录。IKK, I κ B 和 NF- κ B 的表达失衡是一些疾病发生发展的重要原因之一, 肿瘤的发生发展与它们表达失衡存在着更为密切的关系。



1 Normal laryngeal tissue ; 2-4 Laryngeal carcinoma tissue.

Fig 3 Expression of NF- κ B p65 in laryngeal carcinoma tissue and normal laryngeal tissue(Western blot)

图3 喉癌组织和正常喉组织 NF- κ B p65 的表达(Western blot)

研究发现, 在人结肠腺癌组织中, NF- κ B 的亚单位 RelA(p65) 的表达较结肠腺瘤、正常结肠黏膜明显增强, 提示 NF- κ B p65 表达的增强在从低度结构不良的结肠腺瘤到结肠腺癌的转变中扮演了重要角色^[2]。Nair 等^[3]的实验证实, NF- κ B 的 DNA 结合活性随着宫颈癌的恶性程度的增加而增加, 而 I κ B α 在宫颈癌组织中不能检测到, 而在正常宫颈组织中能够检测到。Tamatani 等^[4]的研究表明, 在头颈部癌组织中, NF- κ B 的结合活性和 I κ B 激酶 IKK 的亚单位 IKK α 的表达较正常组织明显增强, 而 I κ B 明显减弱。以上实验说明, NF- κ B 信号传导通路在恶性肿瘤的发生发展中起到一定作用, 在致癌因素作用下, 活化的 IKK 促进 I κ B 的磷酸化、降解, 使与 I κ B 相结合的 NF- κ B 从二聚体解离, 从而促进了肿瘤的发生、发展。

在本研究中, 我们发现, 在喉癌组织中 IKK α 和 NF- κ B p65 的表达明显高于正常喉组织, I κ B α 的表达明显低于正常喉组织。我们的实验提示, IKK、I κ B 和 NF- κ B 在喉癌的发生发展中可能扮演着重要的角色, 其活化与喉癌的恶性潜能有着密切的关系, 它有望成为喉癌治疗的新靶点^[5]。

【参考文献】

- [1] Karin M, Cao Y, Greten FR, et al. NF-kappaB in cancer: From innocent bystander to major culprit[J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(4): 301-310.
- [2] Yu HG, Yu LL, Yang Y, et al. Increased expression of RelA/nuclear factor-kappa B protein correlates with colorectal tumorigenesis [J]. *Oncology*, 2003; 65(1): 37-45.
- [3] Nair A, Venkatraman M, Maliekal TT, et al. NF-kappaB is constitutively activated in high-grade squamous intraepithelial lesions and squamous cell carcinomas of the human uterine cervix[J]. *Oncogene*, 2003; 22(1) 50-58.
- [4] Tamatani T, Azuma M, Aota K, et al. Enhanced I kappa B kinase activity is responsible for the augmented activity of NF-kappaB in human head and neck carcinoma cells[J]. *Cancer Lett*, 2001; 171(2): 165-172.
- [5] Bharti AC, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappa B and cancer: Its role in prevention and therapy[J]. *Biochem Pharmacol*, 2002; 64(5-6): 883-888.