

癌基因 c-fos 和 c-jun 与非小细胞肺癌临床病理特征的相关性研究

王志强,黄杰,林慧庆,王旭广

关键词:肺癌;c-fos,c-jun;固定化蛋白质印迹;免疫组织化学

中图分类号:R734.2 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2004)05-0284-02

0 引言

肺癌是常见的恶性肿瘤,其发病机制和早期诊断一直困扰着临床医师。c-fos 和 c-jun 蛋白是核内癌基因产物,参与多个基因的转录调节,控制着细胞的增殖和分化。本文旨在通过研究 c-fos 和 c-jun 与非小细胞肺癌临床病理特征的相关性来探讨它们在非小细胞肺癌发生、发展中的意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集武汉大学人民医院 2003 年 1 月~2003 年 4 月肺癌根治术切除的标本 52 例,其中男性 29 例,女性 23 例,中位年龄 52 岁(36~70 岁)。采取 1997 年国际抗癌联盟肺癌病理分期标准,期 14 例,期 7 例,期 28 例,期 3 例;鳞癌 27 例,腺癌 23 例,大细胞癌 2 例。每例标本取癌组织及癌旁正常组织(距肿瘤边缘 >5cm),所有标本均经病理证实。

1.2 研究方法

1.2.1 固定化蛋白质印迹法 应用 RIPA 组织裂解液分别裂解肺癌与正常肺组织,提取组织总蛋白;蛋白定量试剂盒测定组织提取液的蛋白浓度。每例标本取蛋白 50 微克电泳,经 10% 聚丙烯酰胺电泳分离后电转移至 PVDF 膜上,封闭后,加一抗(兔抗人 c-fos 及 c-jun 多克隆抗体),二抗(辣根过氧化物酶结合羊抗兔多克隆抗体)进行杂交。ECL 化学发光试剂盒检测杂交信号,发光显影于感光胶片上。

1.2.2 免疫组织化学法(SABC 法) 石蜡包埋,厚 5 μ m 连续切片,脱蜡水化后,3% H_2O_2 灭活内源性酶。然后分别与一抗(兔抗人 c-fos 及 c-jun 多克隆抗体),二抗(生物素标记羊抗兔 IgG)及辣根过氧化物酶标记的链霉素亲和素复合物孵育。DAB 显色,苏木素复染,封片观察。

1.2.3 光密度(OD 值)测定 HPIAS2000 型图像

分析软件测定条带的 OD 值,以 OD 值代表 c-fos 及 c-jun 蛋白的相对表达量。计算每例标本中肿瘤与正常肺组织 OD 值的比值,以此值反映各病例之间 c-fos 及 c-jun 蛋白表达水平的差异。

1.3 统计学处理 应用 SPSS11.0 统计学软件,进行样本 *t* 检验,Pearson 相关性分析。

2 结果

2.1 肺癌组织中 c-fos 及 c-jun 蛋白的表达 41 例(78.8%)标本肺癌组织中 c-fos 蛋白的表达水平高于癌旁正常组织,39 例(75%)中 c-jun 表达水平高于癌旁组织,分别为癌旁组织的 2.3 和 2.5 倍。差异均有显著统计学意义($P < 0.01$),见表 1。

表 1 c-fos 和 c-jun 在人非小细胞肺癌中的表达情况($n=52, \bar{x} \pm s$)

	组织来源	光密度值(OD 值)	<i>P</i>
c-fos	肺癌组织	175 \pm 134.87	0.01
	癌旁组织	70 \pm 57.96	
c-jun	肺癌组织	166 \pm 125.44	0.01
	癌旁组织	72 \pm 49.35	

2.2 c-fos 和 c-jun 蛋白与肺癌临床病理特征之间的关系 c-fos 及 c-jun 蛋白表达水平与肺癌的分型、肿瘤直径大小、淋巴结转移及 TNM 分期均无关,见表 2。

2.3 c-fos 和 c-jun 蛋白之间的相关性 Pearson 相关性检验提示 c-fos 和 c-jun 蛋白成正线性相关($r = 0.57, P < 0.01$)。

2.4 c-fos 和 c-jun 蛋白在肺癌组织中的分布 免疫组织化学染色表明,c-fos 和 c-jun 蛋白在肺癌组织胞浆和胞核内均有表达,肺癌组织染色较深,正常组织染色较浅。

3 讨论

癌基因 c-fos 和 c-jun 属于即刻早期应答基因,参与多个基因的转录调节,多种细胞外信号可引起其转录激活。Van 等^[1]将突变的 ras 基因转染于正

收稿日期:2003-09-05;修回日期:2003-11-19
作者单位:430060 武汉大学人民医院胸心外科

表 2 c-fos 和 c-jun 的表达与人非小细胞肺癌临床病理特征的关系 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	c-fos		c-jun	
		平均倍数	P	平均倍数	P
病理分型					
鳞癌	27	2.4 ±1.4	>0.05	2.7 ±1.7	>0.05
腺癌	23	2.2 ±1.5		2.3 ±1.4	
TNM 分期					
+	21	2.0 ±1.6	>0.05	2.5 ±1.8	>0.05
+	31	2.5 ±1.1		2.5 ±1.3	
肿瘤直径					
<5 cm	22	2.3 ±1.7	>0.05	2.4 ±1.6	>0.05
>5cm	30	2.3 ±1.4		2.6 ±1.7	
淋巴结转移					
有	37	2.5 ±1.4	>0.05	2.6 ±1.6	>0.05
无	15	1.9 ±1.6		2.2 ±1.5	

注：*平均倍数为每例标本肺癌与癌旁组织蛋白表达量比值的平均值

常肺组织中,结果引起肺组织恶变。进一步研究发现突变的 ras 基因是通过激活 JNK 和 ERK 通路来增加 cPLA (2) 的表达实现的。Bost 等^[2]认为 c-jun 通路的激活是 EGF 诱导 A549 细胞增殖的重要原因。此外还有 c-jun 通路介导癌基因 ras 诱导人肺癌 NCL-H82 细胞恶变的报道^[3]。

我们的实验结果表明肺癌组织中 c-fos 和 c-jun 蛋白的表达水平明显高于癌旁正常组织 ($P < 0.01$),分别为癌旁组织的 2.3 和 2.5 倍。c-fos 和 c-

jun 蛋白的表达水平在鳞癌、腺癌组织中无明显差异,与肺癌肿瘤直径大小、淋巴结转移及 TNM 分期无关。由此我们可以认为 c-fos 和 c-jun 蛋白的过表达与非小细胞肺癌的发生密切相关。癌基因 c-fos 和 c-jun 的过表达可使细胞脱离正常的增生调控,影响基因表达,使细胞最终增殖失控,发生癌变。而 c-fos 和 c-jun 是癌变早期的分子事件,有望成为非小细胞肺癌早期诊断的指标,并为非小细胞肺癌的治疗提供新的思路和方法。

参考文献:

[1] VanPuttenV,RefaatZ,DessevC,etal.Inductionofc ytosolic phospholipaseA2b yonco genicRasimediatedthrou ghtheJNK andERK pathwa ysinrate pithelialcells[J].TheJournalofbiologicalchemistr y,2001,276 (2):1226-1232.

[2] BostF,McKa yR,DeanN,etal.TheJUNkinase/stress -activated proteinkinase pathwa yisre quiredfore pidermal growthfactor stimulationof growthofhumanA549lun gcarcinomacells[J].TheJournalofbiolo gicalchemistr y,1997,272 (52):33422 - 33429.

[3] XiaoL,Lan gW.Adominantroleforthec -JunNH2 -terminalki naseinonco genicras -inducedmor phologictransformationofhu -manlun gcarinomacells[J].Cancerresearch,2000,60 (2):400-408.

[编辑:周永红;校对:安 凤]

(上接第 283 页)

殊能力,是抗癌机理的一个重要方面。这一结果与国外的研究结果相一致。如何利用紫杉醇的这一作用机制发挥其在抗肿瘤血管生成治疗中的作用以及抗血管形成的具体机制,仍有待进一步探讨。

参考文献:

[1] 周际昌.实用肿瘤内科学[M].北京:人民卫生出版社,1999.298-300.

[2] SchimmingR,HunterNR,MasonKA,et,al.Inhibitionoftu - morneo - angiogenesisandinductionofa poptosis propertiesof docetaxel (taxotere) [J].MundKieferGesichtschir,1999,3 (4):210-218.

[3] 韩锐.抗癌药物研究和实用技术[M].北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1997.284 -286.

[4] 陈龙邦,臧静,王靖华,等.榄香烯与顺铂及阿霉素对人胃癌细胞株细胞毒作用的协同效应[J].肿瘤防治研究,1997,24

(3):189-191.

[5] 付生法.检测血管形成因子作用的鸡胚尿囊膜技术[J].军事医学科学院院刊,1993,17 (4):294-296.

[6] NguyenM,Shin gY,FolkmanJ.Quantitationofan giogenesisand antian giogenesisinthechickembr yochorioallantoicmembrane [J].MicrovascRes,1994,47 (1):31-40.

[7] VaccaA,IurlaroM,RibattiD,etal.Antian giogenesisis pro - ducedb ynonotoxicdosesofvinblastine[J].Blood,1999,94 (12):4143-4155.

[8] TimothyBowder,CatherineE,Butterfield.Antian giogenic schedulingofchemothera pyim proveefficac ya gainstex perimental drug - resistantcancer[J].CancerRes,2000,60 (7):1878-1888.

[9] RibattiD,VaccaA.Thechickembr yochorioallantoicmembrane asamodelforinvivoresearchonan giogenesis[J].IntJDevelBi - ol,40:1189 -1896.

[编辑校对:安 凤]