

CIAPIN1 基因在结肠癌组织的表达及其相关性研究

杨 静^{1,2)}, 龙庭凤¹⁾, 杨继岚¹⁾, 谢 琳¹⁾, 李 杨¹⁾, 沈丽达¹⁾

(1) 昆明医科大学第三附属医院, 云南省肿瘤医院内一科, 云南 昆明 650118; 2) 昆明市第一人民医院肿瘤科, 云南 昆明 650011)

[摘要] **目的** 检测 CIAPIN1 基因在结肠癌组织的表达水平与结肠癌患者临床特征的相关性, 研究 CIAPIN1 基因与结肠癌发生的相关性. **方法** 收集 28 例结肠癌患者手术后的癌组织及癌旁组织标本 (术前未行放疗化疗), 采用 Western blot 法检测 28 例结肠癌患者结肠癌组织、癌旁组织的 CIAPIN1 基因蛋白表达水平, 探讨 CIAPIN1 基因与结肠癌发生的相关性; 统计患者临床资料, 分析 CIAPIN1 基因表达与结肠癌患者临床特征及肿瘤标志蛋白的关系. **结果** Western blotting 法检测 28 例结肠癌患者结肠癌组织 CIAPIN1 的表达明显低于癌旁组织, 分别为 17.9% 与 85.7%, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$). CIAPIN1 基因的表达与患者肿瘤大小、肿瘤分期呈负相关 ($P = 0.020$); CIAPIN1 与结肠癌患者性别、肿瘤发生部位、CEA、CA50、CA199、CA242、CA724 的表达无相关性 ($P > 0.05$). **结论** CIAPIN1 在结肠癌组织的表达缺失或降低可能与结肠癌的发生密切相关, 与肿瘤大小、分期呈负相关. 与患者的性别、肿瘤发生部位、肿瘤标志蛋白 (CEA、CA50、CA199、CA242、CA724) 无相关性.

[关键词] 结肠癌; 细胞因子诱导的凋亡抑制分子 1; 临床特征; 肿瘤标志物

[中图分类号] R735.3*5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2015) 03-0075-04

Expression of CIAPIN1 and Its Relationship with Colon Cancer

YANG Jing^{1,2)}, LONG Ting-feng¹⁾, YANG Ji-lan¹⁾, XIE Lin¹⁾, LI Yang¹⁾, SHEN Li-da¹⁾

(1) *The 1st Department of Medical Oncology, The 3rd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Tumor Hospital of Yunnan Province, Kunming Yunnan 650118;* 2) *The 1st People's Hospital of Kunming City, Kunming Yunnan 650011, China*)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of CIAPIN1 and to analyze its relation with the progression of colon cancer. **Methods** 28 cases colon cancer tissues, tumor adjacent tissues and clinical data were collected, all cases were not given chemotherapy or radiotherapy. CIAPIN1 was examined by western blotting in 28 cases tumors tissue and adjacent tissues. **Results** The expression level of CIAPIN1 in tumor tissues was significantly lower than that in tumor adjacent tissues. The positive rate level of CIAPIN1 expressions in tumor tissues and tumor adjacent tissues was 17.9% and 85.7% respectively ($P = 0.000$). The expression of CIAPIN1 had a negative correlation with tumor size or tumor stage in colon cancer, but its relationship of CIAPIN1 to gender of patients, tumor location, and tumor-marker protein (CEA, CA50, CA199, CA242, CA724) was not found. **Conclusions** The down-regulation and deletion of the expression of CIAPIN1 may be associated with colon cancer. CIAPIN1 has a negative correlation with tumor size or tumor stage in colon cancer, but it is independent of gender of patients, tumor location, and tumor-marker protein.

[Key words] Colon cancer; Cytokine-induced apoptosis inhibitor 1; Clinical feature; Tumormarkers

肿瘤的发生发展是由一系列分子事件所构成, 生长因子分泌的异常, 原癌基因和抑癌基因的平衡失调以及基质金属蛋白酶的异常分泌等^[1]. 细胞包括信号传导的异常、生长因子受体失调、血管

[基金项目] 云南省卫生厅科技内设研究机构基金资助项目 (2010NS090)

[作者简介] 杨静 (1981~), 女, 云南施甸县人, 医学硕士, 住院医师, 主要从事消化道肿瘤的临床工作.

[通讯作者] 沈丽达. E-mail:shenlida2562@qq.com

因子诱导的凋亡抑制分子 1 (Cytokine-induced apoptosis inhibitor 1, CIAPIN1, 又名 Anamorsin、V62), 是一个近来被证实与肿瘤凋亡和多药耐药相关的基因, 是 Bcl-2 家族、凋亡酶家族或信号转导分子非同源的 RAS 信号转导通路的效应分子和重要调节因子^[2-4]. 本研究旨在通过检测 CIAPIN1 基因在结肠癌组织的蛋白表达水平, 研究 CIAPIN1 基因与结肠癌发生的相关性, 并为结肠癌的分子诊断和可能的靶向治疗提供理论依据.

1 资料与方法

1.1 资料收集

收集云南省肿瘤医院 2010 年 3 月至 2010 年 6 月结肠癌手术后 28 例肿瘤患者的肿瘤组织及相应的癌旁组织标本 (肉眼观距离癌组织边缘 5 ~ 10 cm), 所有患者术前均未行放化疗, 且术前经结肠镜取材活检确诊为结肠癌, 术后 30 min 内取材, 保存在液氮罐中备用 (取材符合伦理学标准并得到单位伦理委员会的批准, 取得受试对象的知情同意). 将癌组织与癌旁组织互为对照. 28 例患者中, 男性 15 例 (53.6%), 女性 13 例 (46.4%); 术后病理类型管状腺癌 23 例 (82.1%), 粘液腺癌 5 例 (17.9%); 根据国际抗癌联盟 (UICC) 制定的 TNM 分期标准, I 期 5 例 (17.9%), II 期 17 例 (60.7%), III 期 5 例 (17.9%), IV 期 1 例 (3.6%) 为肝转移行结肠癌姑息术的患者; 以结肠脾曲为界将结肠分为左半结肠和右半结肠, 28 例结肠癌患者中左半结肠有 12 例 (42.9%), 右半结肠 16 例 (57.1%).

1.2 Western blot 法

分别取结肠癌组织和癌旁组织, 匀浆器裂解组织, 离心后留取上清液, 测量总蛋白的含量. 以每孔 (组) 100 μ g 量加样, 在 12% 丙烯酰胺凝胶中进行 SDS 蛋白电泳后, 将蛋白转印在 PVDF 膜上. 用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 加山羊抗鼠 Anamorsin 多克隆抗体 (SANTA CRUZ) 37 $^{\circ}$ C 1 h 后 4 $^{\circ}$ C 摇床过夜, TBST 洗膜, 加入 HRP 标记二抗, 室温孵育 1 h, 洗膜 4 次; ECL 化学发光显色、显影、定影. 空白对照, 结果为阴性. β -actin 检测作为内对照.

1.3 统计学分析

应用 SPSS 统计软件包进行处理. 计数资料间比较采用 χ^2 检验, Spearman 等级相关检验

CIAPIN1 在结肠癌组织的表达与患者临床特征及血清肿瘤标记蛋白的相关性. 检验水准 $\alpha = 0.05$, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 Western blot 检测 CIAPIN1 蛋白在结肠癌组织与癌旁组织的表达

Western blot 法检测 28 例结肠癌患者结肠癌组织 CIAPIN1 的表达明显低于癌旁组织 (图 1), 分别为 17.9% 与 85.7% ($P = 0.000$), 差异有统计学意义 (表 1).

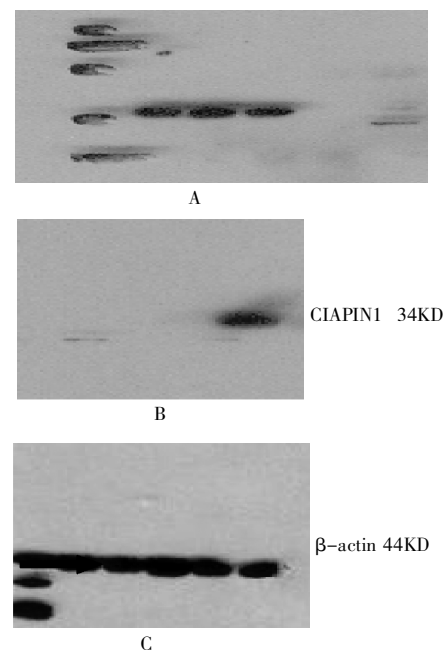


图 1 Western blot 法检测 CIAPIN1 在结肠癌组织 (A) 和癌旁组织 (B) 中的表达; C: 内参 β -actin

Fig. 1 The expression of CIAPIN1 in colon cancer and adjacent tissues by Western blot

表 1 Western blot 检测 CIAPIN1 蛋白在结肠癌组织及癌旁组织的表达 [n (%)]

Tab. 1 The expression of CIAPIN1 in colon cancer and adjacent tissue by Western blot [n (%)]

组别	CIAPIN1 蛋白		合计
	+	-	
癌组织	5(17.9)	23(82.1)	28
癌旁组织	24(85.7)**	4(14.3)	28
合计	29	27	56

与癌组织比较, ** $P < 0.01$.

2.2 CIAPIN1 在结肠癌组织的表达与患者临床特征的相关性分析

28 例结肠癌患者的病理类型以管状腺癌最常见, I 期、II 期结肠癌占 78.6%, 1 例为 IV 期(肝转移)患者, 因肠梗阻行结肠癌姑息手术, 39.3% 的患者在初诊时存在 CEA 升高. 采用 Spearman 等

级相关进行统计学分析, 结果显示, 结肠癌组织 CIAPIN1 基因的表达缺失与患者的肿瘤大小 ($P=0.045$) 及分期 ($P=0.012$) 呈负相关, 但与性别、肿瘤发生部位、血清 CEA、CA50、CA199、CA242、CA724 等无相关性 ($P>0.05$), 见表 2.

表 2 CIAPIN1 在结肠癌组织的表达与患者临床特征的相关性 [n (%)]

Tab. 2 Correlation between expression of CIAPIN1 and clinical features in colon cancer [n (%)]

临床特征	分类	[n(%)]	CIAPIN1+ (n)
性别	男	15(53.6)	3
	女	13(43.4)	2
肿瘤发生部位	升结肠	10(35.7)	2
	横结肠	2(7.1)	0
	降结肠	7(25.0)	2
	乙状结肠	9(32.1)	1
肿瘤大小 (cm)	≤2	2(7.1)*	1
	3~5	16(57.1)	4
	≥6	10(35.7)	0
病理类型	管状腺癌	23(82.1)	5
	粘液腺癌	5(17.9)	0
浸润深度	T1	0(0)	0
	T2	5(17.9)	3
	T3	17(60.7)	1
	T4	6(21.4)	1
淋巴结转移	无	22(78.6)	5
	1~3 个	3(10.7)	0
	4 个以上	3(10.7)	0
远处转移	无	27(96.4)	5
	M1	1(3.6)	0
分期	I 期	5(17.9)*	3
	II 期	17(60.7)	2
	III 期	5(17.9)	0
	IV 期	1(3.6)	0
CEA	正常	17(60.7)	2
	升高	11(39.3)	3
CA50	正常	25(89.3)	5
	升高	3(10.7)	0
CA199	正常	23(82.1)	5
	升高	5(17.9)	0
CA242	正常	26(92.9)	5
	升高	2(7.1)	0
CA724	正常	26(92.9)	5
	升高	2(7.1)	0

*CIAPIN1 基因表达与肿瘤大小、肿瘤分期呈负相关.

3 讨论

CIAPIN1 近来被证实与肿瘤凋亡和多药耐药相关, 定位于 16q13, 由 8 个外显子和 7 个内含子组成, 相对分子量为 39 000, N 端 60~99 氨基酸位点发现 Generic methyltransferase profile 结构域, C 端部分序列与保守的基因 COG5636 同源, 同时部分序列与保守的 DUF689 基因家族同源^[2].

目前, 国内外的研究发现 CIAPIN1 在不同组织来源的恶性肿瘤表达水平不一致, 在肿瘤发生过程中所起的作用有两种截然不同的研究结果. Wang 等^[9]收集了 51 例新鲜肺癌及其癌旁正常肺组织标本, 其中鳞癌 20 例, 腺癌 20 例, 小细胞肺癌 11 例, 结果 CIAPIN1 在肺癌组织的表达较癌旁正常肺组织明显降低或缺失 ($P < 0.05$). He 等^[9]在肾脏透明细胞癌 (CCRCC) 中发现 CIAPIN1 的阳性表达率为 38/102 (37.25%), 远低于癌旁正常组织的阳性表达 86/102 (84.3%). Zheng 等^[7]通过 Western blot 和反转录 PCR 检测 CIAPIN1 在食管正常组织的表达明显高于癌组织; 免疫组织化学法检测在正常食管上皮中间层和黏膜层 CIAPIN1 的染色程度明显高于基底层, CIAPIN1 在食管鳞癌组织阴性表达 (-) 为 31/112 (27.7%), 弱阳性表达 (+) 27/112 (24.1%), 阳性表达 (++) 为 30/112 (26.8%), 强阳性表达 (+++) 为 24/112 (21.4%); 在食管鳞癌组织中 CIAPIN1 的表达水平随着肿瘤浸润深度的增加而降低, 在低分化鳞癌和 T4、T3 期肿瘤中 CIAPIN1 表达水平显著低于高分化鳞癌和 T1、T2 期肿瘤 ($P < 0.001$), 有淋巴结转移者 CIAPIN1 表达显著低于无淋巴结转移者 ($P = 0.042$). Shi 等^[8]研究发现在结肠癌组织, CIAPIN1 的表达也与原发肿瘤 (pT)、UICC 分期及肿瘤分级相关, 采用 Kaplan-Meier 法进行总生存分析显示, CIAPIN1 高表达的患者预后较低表达者好; 诱导结肠癌细胞系 HT29 和 SW480 细胞分化后研究显示, 随着细胞的分化 CIAPIN1 的表达也增高, 表明 CIAPIN1 与结肠癌细胞的分化有关. 本研究亦发现, 在结肠癌患者结肠癌组织 CIAPIN1 的表达明显低于癌旁组织, 差异有统计学意义, 结肠癌组织 CIAPIN1 基因的表达缺失与患者的肿瘤大小 ($P = 0.045$) 及分期 ($P = 0.012$) 呈负相关.

但日本学者 Shizusawa 等^[9]研究发现 Anamorsin 在弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (diffuse large B cell lym-

phoma, DLBCL) 表达率高达 40%, 并且认为 Anamorsin 的表达是低 IPI (International Prognostic Index) 得分且未接受利妥昔单抗治疗的 DLBCL 患者不利生物标记. Li 等^[10]采用免疫组化检测 CIAPIN1 基因在原发性肝细胞癌 (hepatic cell carcinoma HCC) 组织的表达明显高于正常组织 ($P < 0.05$).

从目前的研究结果推测, CIAPIN1 基因在不同的组织器官其功能并不一致^[11]. 肿瘤的发生可能与 CIAPIN1 基因的表达较癌旁组织降低或缺失有关, 本课题及其他研究者的研究表明, CIAPIN1 在结肠癌的表达较癌旁组织降低, 因此推测 CIAPIN1 基因可能是一个新的抑癌基因.

[参考文献]

- [1] 詹启敏. 分子肿瘤学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005:40-43.
- [2] HAO Z, LI X, QIAO T, et al. Successful expression and purification of human CIAPIN1 in baculovirus-insect cell system and application of this system to investigation of its potential methyltransferase activity [J]. *Int J Biol Macromol*, 2008, 42(1):27-32.
- [3] SHIBAYAMA H, TAKAI E, MATSUMURA I, et al. Identification of a cytokine-induced antiapoptotic molecule anamorsin essential for definitive hematopoiesis [J]. *J Exp Med*, 2004, 199(4):581-592.
- [4] HAO Z, LI X, QIAO T, et al. Distribution of CIAPIN1 in Normal Fetal and Adult Human Tissues [J]. *J Histochem Cytochem*, 2006, 54(4):417-426.
- [5] WANG Y, QI H, LI X, et al. CIAPIN1 expression in human lung cancer tissues and inhibitory effects of the gene on human pulmonary carcinoma NCI-H446 cells [J]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 2008, 24(5):434-437.
- [6] HE L, WANG H, JIN H, et al. CIAPIN1 inhibits the growth and proliferation of clear cell renal cell carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2009, 276(1):88-94.
- [7] ZHENG X, ZHAO Y, WANG X, et al. Decreased expression of CIAPIN1 is correlated with poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Dig Dis Sci*, 2010, 55(12):3408-3414.
- [8] SHI H, ZHOU Y, LIU H, et al. Expression of CIAPIN1 in human colorectal cancer and its correlation with prognosis [J]. *BMC Cancer*, 2010, 10:477.
- [9] SHIZUSAWA T, SHIBAYAMA H, MURATA S, et al. The expression of anamorsin in diffuse large B cell lymphoma: possible prognostic biomarker for low IPI patients [J]. *Leuk Lymphoma*, 2008, 49(1):113-121.
- [10] LI X, PAN Y, FAN R, et al. Adenovirus-delivered CIAPIN1 small interfering RNA inhibits HCC growth in vitro and in vivo [J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(8):1587-1593.
- [11] YANG Z L, WANG W E, ZHANG Q. CIAPIN1 siRNA inhibits proliferation, migration and promotes apoptosis of VSMCs by regulating Bcl-2 and Bax [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2013, 10(1):4-10.

(2015-02-04 收稿)