

# 散发性结直肠癌中 hMSH2 和 nm23 的表达及临床意义

吴红卫, 高立冬, 卫广辉  
(营口市中心医院, 辽宁 营口 115003)

**摘要:** [目的] 研究错配修复蛋白 hMSH2 和 nm23 在散发性结直肠癌中的表达及两者之间的关系, 并探讨其临床意义。[方法] 采用 SP 免疫组织化学法检测 87 例结直肠癌组织中 hMSH2 和 nm23 蛋白的表达, 分析两者的相关性, 并结合随访资料进行生存分析。[结果] 在散发性结直肠癌组织中, nm23 蛋白表达与组织学类型无关 ( $P>0.05$ ), 与浸润深度、淋巴结转移相关 ( $P<0.05$ )。hMSH2 蛋白表达与组织学类型、浸润深度、淋巴结转移未见明显相关 ( $P>0.05$ )。hMSH2 与 nm23 蛋白表达在散发性结直肠癌中呈正相关 ( $r_s=0.635, P<0.05$ )。两者联合表达与散发性结直肠癌浸润深度、淋巴结转移及预后相关 ( $P$  均  $<0.05$ )。[结论] nm23 蛋白水平与散发性结直肠癌恶性程度有关, 可作为预测浸润转移潜能的一项指标。hMSH2 与 nm23 蛋白表达呈正相关, 两者联合检测对散发性结直肠癌预后的预测有一定指导意义。

**关键词:** 结直肠肿瘤; hMSH2; nm23; 预后; 免疫组织化学

**中图分类号:** R735.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2013)05-0382-04

## Expression of hMSH2 and nm23 Proteins in Sporadic Colorectal Carcinoma and Their Clinical Significances

WU Hong-wei, GAO Li-dong, WEI Guang-hui  
(Yingkou Central Hospital, Yingkou 115003, China)

**Abstract:** [Purpose] To investigate the expression levels of mismatch repair protein hMSH2 and nm23 in sporadic colorectal cancer, and their clinical significance. [Methods] The expressions of hMSH2 and nm23 protein in 87 cases of colorectal cancer tissues were detected by immunohistochemistry SP method. The correlation between expression of hMSH2 and nm23 was analyzed, also the follow-up data was used for survival analysis. [Results] The expression of nm23 protein in sporadic colorectal cancer tissues had no relationship with histological type ( $P>0.05$ ), but correlated with depth of invasion and lymph node metastasis ( $P<0.05$ ). No significant correlation was observed between hMSH2 protein expression and pathological features ( $P>0.05$ ). There was a positive correlation between the hMSH2 and nm23 protein expression in sporadic colorectal cancer ( $r_s=0.635, P<0.05$ ). The combined expression of hMSH2 and nm23 in sporadic colorectal cancer correlated with depth of invasion, lymph node metastasis and prognosis ( $P<0.05$ ). [Conclusions] nm23 protein expression level correlates with degree of malignancy of sporadic colorectal cancer, may be used as an indicator of invasive and metastatic potential. hMSH2 and nm23 protein expression are positively correlated, the combined expression has certain guiding significance for the prognosis of sporadic colorectal cancer.

**Subject words:** colorectal neoplasms; hMSH2; nm23; prognosis; immunohistochemistry

结直肠癌近年来发病率逐年上升, 已成为导致死亡的主要疾病之一。目前研究表明, 结直肠癌的发生、发展、转移及预后与基因及蛋白表达的差异密切相关, 因此, 寻找相关敏感指标可以更好地指导临床筛选出高危患者, 进而加强治疗, 密切随访, 以提高患者的生存率。近来多项试验研究表明 DNA 错配修复 (mismatch repair, MMR) 及肿瘤转移抑制基因 (nm23) 的失活在结直肠癌的发生、发展中起重要作用。本研究应用免疫组织化学 SP 法<sup>[1]</sup>, 检测错配修

复蛋白 (hMSH2) 及肿瘤转移抑制蛋白 (nm23) 在散发性结直肠癌组织中的表达, 并结合生存资料探讨其与结直肠癌预后的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

收集营口市中心医院 2004~2006 年间手术治疗的结直肠癌标本 87 例, 均为 I~III 期结直肠癌患者, 无家族遗传病史, 术前未接受放化疗。其中男性 56

收稿日期: 2012-10-24; 修回日期: 2013-04-15

例,女性 31 例,年龄 35~82 岁,平均 59 岁,有淋巴结转移者 45 例,无淋巴结转移者 42 例。所有患者术后均给予观察或规范治疗(依据 NCCN 指南),随访 5 年,随访时间截止至 2012 年 1 月。

hMSH2 兔抗人多克隆抗体、nm23 鼠抗人单克隆抗体、SP 免疫组化超敏试剂盒均购于福州迈新生物技术开发公司。

## 1.2 方法

所有组织均经 10% 甲醛固定,常规组织处理,石蜡包埋,4 $\mu$ m 厚连续切片,按试剂盒说明书进行免疫组化染色。以 PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照,已知阳性组织切片作阳性对照。

## 1.3 免疫组化阳性结果判定

hMSH2 蛋白定位于细胞核,细胞核无染色或染色 <1% 为(-),细胞核染色 >1% 为(+);nm23 蛋白定位于细胞质,无细胞染色为(-),细胞染色面积 >1% 为(+)

## 1.4 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件进行数据处理。计数资料用  $\chi^2$  检验;生存分析采用 Kaplan-Meier 生存曲线,Log-Rank 检验对各组的生存率进行比较。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

# 2 结果

## 2.1 散发性结直肠癌组织 hMSH2、nm23 蛋白表达

87 例结直肠癌标本中,54 例标本 hMSH2 蛋白表达阳性,53 例标本 nm23 蛋白表达阳性。显微镜下,可见 hMSH2 表达方式主要位于结直肠癌腺上皮细胞的细胞核上(Figure 1);而 nm23 表达主要位于

结直肠癌腺上皮细胞的细胞质上(Figure 2)。

## 2.2 散发性结直肠癌组织中 hMSH2、nm23 蛋白表达与临床病理因素的关系

hMSH2、nm23 蛋白失表达与散发性结直肠癌组织学类型无关( $P > 0.05$ ),其中 nm23 蛋白失表达与肿瘤的浸润深度、淋巴结转移相关( $P < 0.05$ )。在肿瘤浸润到浆膜层、有淋巴结转移的癌组织中,nm23 蛋白失表达率分别为 48.1%(25/52)、51.1%(23/45);而在肿瘤浸润到肌层、无淋巴结转移的癌组织中,nm23 蛋白失表达率为 29.0%(9/31)、26.2%(11/42)。在肿瘤浸润深度增加和出现淋巴结转移的癌组织中,nm23 蛋白失表达更明显(Table 1)。

## 2.3 散发性结直肠癌组织中 hMSH2 与 nm23 蛋白表达的关系

54 例 hMSH2 蛋白表达阳性的散发性结直肠癌标本中 nm23 蛋白表达阳性为 42 例,阴性为 12 例,阳性符合率为 77.8%(42/54);33 例 hMSH2 蛋白表达阴性的散发性结直肠癌标本中 nm23 蛋白表达阳性为 11 例,阴性为 22 例,阴性符合率为 66.7%(22/33)。在总的 87 例标本中,hMSH2、nm23 蛋白表达一致者共 64 例,占 73.6%(64/87),统计学分析表明 hMSH2 与 nm23 蛋白表达呈正相关( $r_s = 0.635, P < 0.05$ )。

## 2.4 hMSH2、nm23 蛋白联合表达与散发性结直肠癌分期的关系

hMSH2、nm23 蛋白联合表达与散发性结直肠癌的肿瘤浸润深度和淋巴结转移均相关( $P < 0.05$ )。在肿瘤浸润到浆膜层、有淋巴结转移的癌组织中,hMSH2 与 nm23 蛋白联合失表达率分别为 46.2%(18/39)、45.0%(18/40);而在肿瘤浸润到肌层、无淋巴结转移

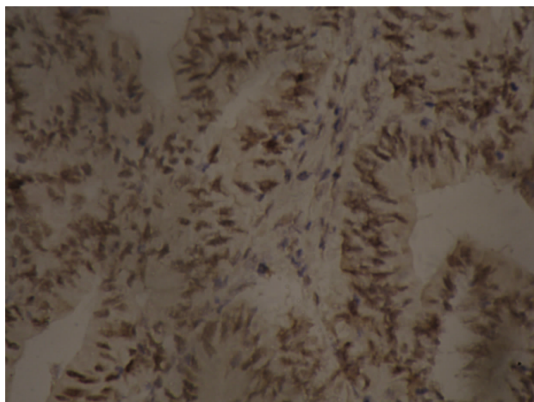


Figure 1 hMSH2 expression in colorectal tumor cells

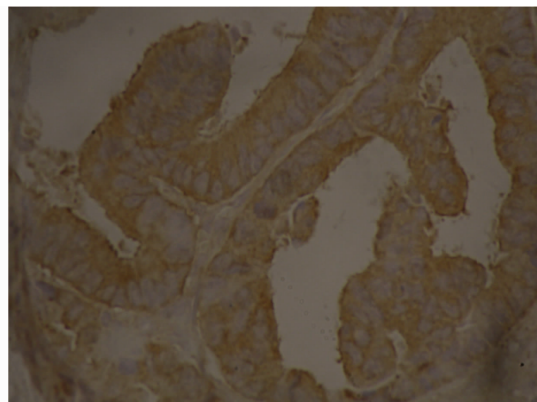


Figure 2 nm23 expression in colorectal tumor cells

**Table 1 Relationship between the expression of hMSH2 and nm23 proteins and clinicopathologic factors in sporadic colorectal cancer**

Factors	hMSH2				nm23			
	+	-	$\chi^2$	P	+	-	$\chi^2$	P
Histological type								
Well differentiated adenocarcinoma	11	7	0.34	>0.05	13	5	3.35	>0.05
Moderately differentiated adenocarcinoma	24	15			25	14		
Poorly differentiated adenocarcinoma	14	8			12	10		
Mucinous adenocarcinoma	5	3			3	5		
Invasion depth								
Strata submucosa	2	2	0.30	>0.05	4	0	7.46	<0.05
Muscle layer	19	12			22	9		
Serosa and outside the serosa	33	19			27	25		
Lymphatic metastasia								
-	29	13	1.68	>0.05	31	11	5.67	<0.05
+	25	20			22	23		

**Table 2 Relationship between combined expressions of hMSH2 and nm23 proteins and pathological factors**

Combined expression of hMSH2 and nm23 proteins	Invasion depth				Lymphatic metastasia				
	Strata submucosa	Muscle layer	Serosa and outside the serosa	$\chi^2$	P	-	+	$\chi^2$	P
+	2	19	21	6.39	<0.05	20	22	5.34	<0.05
-	0	4	18			4	18		

的癌组织中,hMSH2 与 nm23 蛋白联合表达率为 17.4%(4/23)、16.7%(4/24)(Table 2)。在肿瘤浸润深度增加和出现淋巴结转移的癌组织中,hMSH2、nm23 蛋白联合表达更明显。

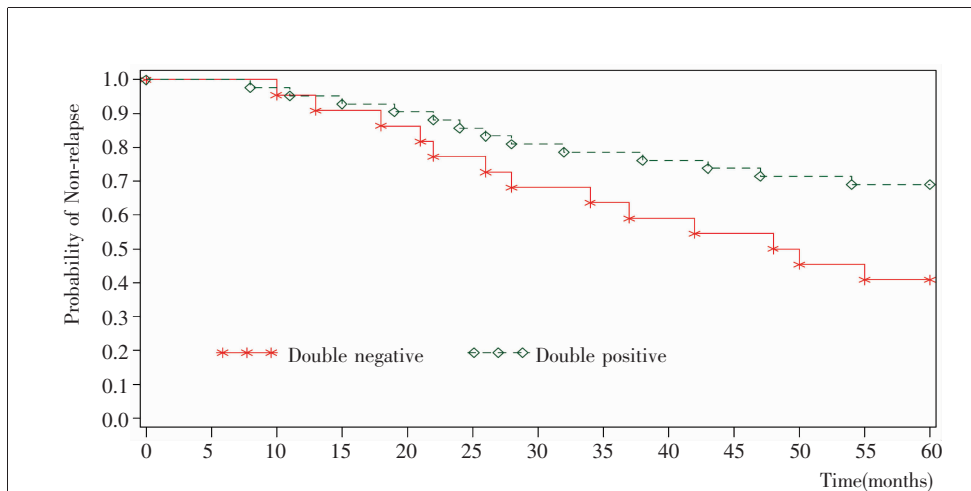
**2.5 hMSH2、nm23 蛋白联合表达与散发性结直肠癌生存的关系**

采用 Kaplan-Meier 生存分析法对 hMSH2、nm23 蛋白联合表达水平与散发性结直肠癌的患者预后关系进行比较,随访时间为 60 个月,hMSH2、nm23 蛋白联合表达组与失表达组患者数分别为 42 例和 22 例,其中 26 例患者出现疾病进展,表达组与失表达组分别为 13 例和 13 例。hMSH2、nm23 蛋白联合表达组 5 年无复发生存率为 69.0%,而 hMSH2、nm23 蛋白联合失表达组 5 年无复发生存率为 40.9%,两组有统计学差异 ( $P<0.05$ ) (Figure 3)。对于散发性

结直肠癌患者,hMSH2、nm23 蛋白联合表达者,术后 5 年生存率更高。

**3 讨论**

人类 DNA 错配修复 (mismatch repair,MMR)主要涉及 6 个修复蛋白,即 hMSH2、hMSH3、hMSH6、hMLH1、hMLH3、hPMS1<sup>[2]</sup>。其作用机制可能为 MMR 基因编码的错配修复蛋白形成异二聚体,参与错配



**Figure 3 Kaplan-Meier estimates for probability of non-relapse during follow-up**

修复<sup>[3]</sup>。hMSH2 蛋白与 hMSH6、hMSH3 形成 hMhuts $\alpha$  和 hMhuts $\beta$  两种异二聚体<sup>[4]</sup>, 分别识别单个及 2~4 个以上碱基缺失/插入错配。hMSH2 蛋白在识别错配基因过程中具有必需性<sup>[5,6]</sup>。hMLH1 和 hPMS1 蛋白结合形成 hMutL $\alpha$  二聚体, 与结合到 DNA 链上的 hMhuts 形成复合物, 从而启动错配修复, 切除含错配碱基的 DNA 片段, 并合成新的片段, 进而完成修复过程<sup>[7]</sup>。MMR 基因缺陷将导致错配修复功能丧失, 增加细胞突变频率, 并使突变事件不断放大、积累, 使错误信息遍布整个基因组, 最终导致肿瘤发生发展<sup>[8]</sup>。本研究结果表明, 在 87 例散发性结直肠癌病例中, 有 33 例 hMSH2 失表达, 占 37.9%, 此结果与 Gafa 等<sup>[9]</sup>研究结果相近。结直肠癌组织中 hMSH2 蛋白的表达与肿瘤组织分化程度、浸润深度及淋巴结转移未见明显相关, 差异无统计学意义。

nm23 基因是应用差示克隆杂交技术从 K-1735 鼠的黑色素瘤细胞中分离得到的一种肿瘤转移抑制基因<sup>[10]</sup>。已知人类 nm23 基因家族有 8 个成员, 仅 nm23 H1 和 nm23 H2 被证实有抑制肿瘤转移的能力<sup>[11]</sup>。nm23 等位基因的突变、缺失、失表达与多种恶性肿瘤的转移密切相关<sup>[12,13]</sup>。本研究结果表明, nm23 基因在结直肠癌中的表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移呈负相关, 与文献报道一致<sup>[14]</sup>, 随着 nm23 基因表达的降低, 结直肠癌组织向深处浸润、淋巴结转移的概率增大。nm23 基因作为肿瘤转移抑制基因, 可限制癌细胞的浸润转移, 当 nm23 基因表达降低, 机体对癌细胞的制约力下降, 使其更易向周围组织侵袭, 以及远处转移。

同时, 本研究结果显示: hMSH2 与 nm23 在散发性结直肠癌的表达呈正相关, 提示两者在细胞增殖调控可能存在正反馈调节机制, hMSH2 错配修复基因的突变, 可引起广泛的体细胞突变和 DNA 复制错误, 导致抑癌基因突变率的增加<sup>[15]</sup>, 推测可能存在相关因素使 nm23 基因表达下调。本研究的生存分析结果显示, hMSH2 联合 nm23 蛋白失表达的患者术后发生复发转移的概率远远高于高表达的患者。因此, hMSH2 联合 nm23 蛋白表达可作为一个独立的标志物, 来识别具有高侵袭性和转移潜能的结直肠癌患者, 从而客观准确地评价预后。

综上所述, 在散发性结直肠癌进展过程中, nm23 蛋白水平与恶性程度有关, 可作为预测肿瘤浸

润转移潜能的一项指标。hMSH2 与 nm23 蛋白表达呈正相关, 两者联合检测可作为判断肿瘤恶性程度与预后的重要指标, 对病情预后判断有重要意义。hMSH2 蛋白及 nm23 蛋白在结直肠癌中表达降低的具体机制有待进一步研究。

## 参考文献:

- [1] Overbeek, Ligtenberg LI, Willems MJ, et al. Interpretation of immunohistochemistry for mismatch repair proteins is only reliable in a specialized setting[J]. Am J Surg Pathol, 2008, 32(8): 1246-1251.
- [2] Iyer AN, Plucienik A, Burdeet V, et al. DNA mismatch repair: functions and mechanisms[J]. Chem Rev, 2006, 106(2): 302-320.
- [3] Marsischky GT, Filosi N, Kane MF, et al. Redundancy of *Saccharomyces cerevisiae* MSH3 and MSH6 in MSH2-dependent mismatch repair[J]. Genes Dev, 1996, 10(4): 407-420.
- [4] Gradia S, Acharya S, Fishel R. The human mismatch recognition complex hMSH2-hMSH6 functions as a novel molecular switch[J]. Cell, 1997, 91(7): 995-1005.
- [5] Duncop MG, Farrington SM, Nicholl I, et al. Population carrier frequency of hMSH2 and hMLH1 mutation[J]. Br J Cancer, 2000, 83(12): 1643-1645.
- [6] Lipkin SM, Wang V, Jacoby R, et al. Collins FS. MLH3: a DNA mismatch repair gene associated with mammalian microsatellite instability[J]. Nat Genet, 2000, 24(1): 27-35.
- [7] Sarasin A, Stary A. Human cancer and DNA repair-deficient diseases[J]. Cancer Detect Prev, 1997, 21(5): 406-411.
- [8] Hsieh P, Yamane K. DNA mismatch repair: molecular mechanism, cancer, and ageing[J]. Mech Ageing Dev, 2008, 129(7-8): 391-407.
- [9] Gafa R, Maestri I, Matteuzzi M, et al. Sporadic colorectal adenocarcinomas with high-frequency microsatellite instability[J]. Cancer, 2000, 89(10): 2025-2037.
- [10] Steeg PS, Bevilacqua G, Kopper L, et al. Evidence for a novel gene associated with low tumor metastatic potential [J]. J Natl Cancer Inst, 1988, 80(3): 200-204.
- [11] Leone A, Flatow U, King CR, et al. Reduced tumor incidence, metastatic potential, and cytokine responsiveness of nm23-transfected melanoma cells[J]. Cell, 1991, 65(1): 25-35.
- [12] Dursun A, Akyorek N, Gonel N, et al. Prognostic implication of nm23-H1 expression in colorectal carcinomas [J]. Pathology, 2002, 34(5): 427-432.
- [13] Suzuki E, Ota T, Tsukuda K, et al. nm23-H1 reduces in vitro cell migration and the liver metastatic potential of colon cancer cells by regulation myosin light chain phosphorylation[J]. Int J Cancer, 2004, 108(2): 207-211.
- [14] Chen WC, Lin MS, Zhang BF, et al. Survey of molecular profiling during human colon cancer development and progression by immunohistochemical staining on tissue microarray[J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(5): 699-708.
- [15] Gryfe R, Gallinger S. Microsatellite instability, mismatch repair deficiency, and colorectal cancer[J]. Surgery, 2001, 130(11): 17-20.