

## · 论著 ·

# 人核糖体蛋白 S15a 在大肠癌组织中的表达及其意义

孟存英, 袁东红, 王映梅, 王燕, 张欣, 刘杰

## 【摘要】

**目的** 研究人核糖体蛋白 S15a (RPS15a) 在大肠癌组织中的表达情况及其与大肠癌发生发展的关系。

**方法** 大肠癌及癌旁正常组织取自 82 例术前未经放疗、化疗患者的手术切除标本。利用 RPS15a 多克隆抗体进行免疫组织化学 SP 染色, 检测 RPS15a 在大肠癌及正常组织中的表达。

**结果** RPS15a 阳性表达率在大肠癌组织中为 72.0% (59/82), 在癌旁正常组织中为 40.2% (33/82), 二者间差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 17.76$ ,  $P < 0.05$ ); 在浆膜浸润大肠癌组织中为 80.8% (42/52), 在无浆膜浸润大肠癌组织中为 56.7% (17/30), 二者间差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 5.47$ ,  $P < 0.05$ ); 在无淋巴结转移者为 58.3% (21/36), 在有淋巴结转移者为 82.6% (38/46), 二者间差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 5.89$ ,  $P < 0.05$ )。

**结论** RPS15a 在大肠癌组织中呈高表达状态, RPS15a 基因可能在大肠癌的发生、发展中起重要作用。

**【关键词】** 结直肠肿瘤; 腺癌; 核糖体蛋白质类; 免疫组织化学

中国医药生物技术, 2007, 2(2):101-104  
www.cmbp.net.cn

人核糖体蛋白 (ribosomal protein) S15a (RPS15a) 基因位于 16p13<sup>[1]</sup>, 全长为 535 bp, 阅读框架编码 130 个氨基酸, 相对分子质量为 14 300。Lian 等<sup>[2]</sup> 在研究肝癌时发现 RPS15a 表达可被 HBV X 蛋白上调, 而上调 RPS15a 可加速人肝癌细胞株 HepG2 的生长及其在裸鼠体内的成瘤能力, 这提示 RPS15a 基因参与了肝癌的发生、发展。大肠癌是常见的恶性肿瘤, 近 20 多年来其发病率在多数国家呈上升趋势。其发病机制目前仍不明确。本研究利用 RPS15a 多克隆抗体进行免疫组织化学染色, 检测 RPS15a 在大肠癌组织中的表达, 以探讨 RPS15a 基因与大肠癌发生的关系。

## 1 材料和方法

### 1.1 标本来源

大肠癌及癌旁正常组织取自西京医院 2005 至

2006 年术前未经放疗、化疗的 82 例患者的手术切除标本。患者中男性 39 例, 女性 43 例; 年龄  $\leq 50$  岁者 21 例,  $> 50$  岁者 61 例; 瘤体直径  $\leq 5$  cm 者 51 例,  $> 5$  cm 者 31 例。组织病理学诊断: 高分化腺癌 29 例, 中分化腺癌 32 例, 低分化腺癌 21 例; 浆膜浸润 52 例, 无浸润 30 例; 淋巴结转移 46 例, 无转移 36 例。选无坏死的肿瘤组织和经病理证实无癌细胞浸润的癌旁正常组织, 经 40 g/L 甲醛固定, 脱水, 常规石蜡包埋, 制备 5  $\mu$ m 厚连续切片。

### 1.2 主要试剂

兔抗 RPS15a 多克隆抗体由美国费城 Thomas Jefferson 大学 Mark Feitelson 教授惠赠, 工作浓度 1:500。SP 试剂盒购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

### 1.3 RPS15a 表达的检测

采用常规免疫组织化学 SP 法检测, 操作步骤按照 SP 试剂盒说明书。用 4% 免疫前羊血清 (北京中杉金桥生物技术有限公司) 作阴性对照。

以细胞质或细胞核中出现清晰的黄色、棕黄色颗粒为 RPS15a 表达阳性。镜下观察染色广度和强度, 根据染色强度和广度的乘积判定各标本的染色得分。染色广度判断: 0 分, 阳性细胞比例  $< 1\%$ ; 1 分, 阳性细胞占 2%~25%; 2 分, 阳性细胞占 26%~50%; 3 分, 阳性细胞占 51%~75%; 4 分, 阳性细胞比例  $> 75\%$ 。染色强度判断: 0 分, 细胞无着色; 1 分, 着色颗粒呈黄色; 2 分, 着色颗粒呈棕色; 3 分, 着色颗粒呈深褐色。染色得分分级: 级, 0~1 分; 级, 2~4 分; 级, 5~8 分; 级, 9~12 分。级视为阴性表达, ~ 级视为阳性表达。

**基金项目:** 国家自然科学基金 (30371585, 30570835); 国家高技术发展研究计划 (863 计划) (2006AA02Z468)

**作者单位:** 710032 西安, 第四军医大学西京医院消化病研究所 国家肿瘤生物学重点实验室 (孟存英、刘杰); 延安大学附属医院消化内科 (孟存英、袁东红); 第四军医大学西京医院病理科 (王映梅); 解放军第三二三医院消化内科 (王燕); 西安市中心医院消化内科 (张欣)

**通讯作者:** 刘杰, 710032 西安, 第四军医大学西京医院消化病研究所 国家肿瘤生物学重点实验室, Email: jieliu@fmmu.edu.cn

**收稿日期:** 2007-03-15

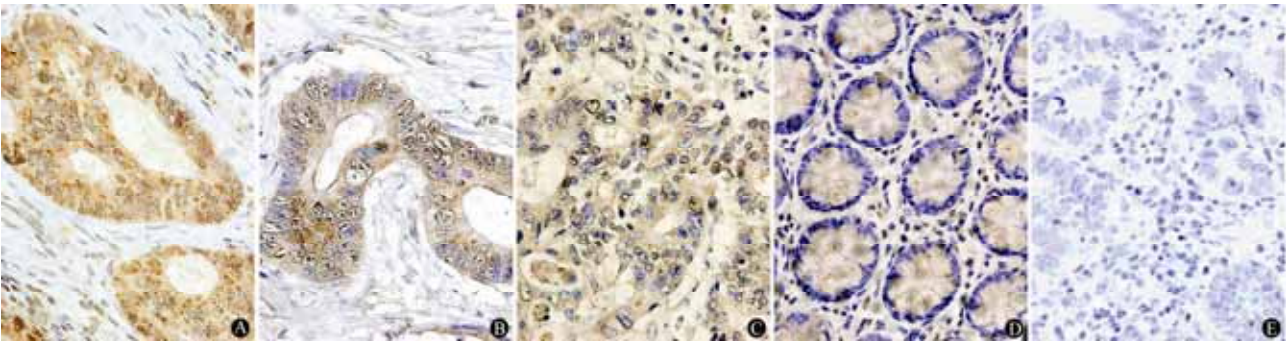


图 1 大肠癌及癌旁正常组织标本中 RPS15a 表达的免疫组织化学检测 SP ×400 (A: 高分化腺癌组织中 RPS15a 呈阳性表达; B: 中分化腺癌组织中 RPS15a 呈阳性表达; C: 低分化腺癌中 RPS15a 呈阳性表达; D: 正常组织中 RPS15a 呈阴性表达; E: 结肠中分化腺癌组织免疫前羊血清对照

Figure 1 Immunohistochemistry of the colorectal carcinoma and adjacent nonneoplastic tissues showing positive expression of RPS15a protein in the high- (A), moderate- (B), and low-differentiated (C) colorectal carcinoma tissues, and negative expression of RPS15a protein in the adjacent nonneoplastic tissues (D) or preimmune serum (E) (SP staining, original magnification×400) .

1.4 统计学方法

对 RPS15a 表达与性别、年龄、肿瘤大小、浆膜浸润、淋巴结转移关系的分析采用四格表资料  $\chi^2$  检验专用公式,对 RPS15a 表达与肿瘤分化程度关系的分析采用行 × 列的  $\chi^2$  检验。采用 SPSS 统计软件包进行数据分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RPS15a 在大肠癌及癌旁正常组织中的表达

RPS15a 在大肠癌组织中的阳性表达率为 72.0% (59/82),在癌旁正常组织中的阳性表达率为 40.2% (33/82),二者间差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 17.76, P < 0.05$ )。RPS15a 主要表达于大肠黏膜的腺体,多数位于细胞质,少数位于细胞核;阳性细胞以弥漫型分布为主 (图 1)。

2.2 RPS15a 表达与大肠癌临床病理特征的关系

将患者按性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤分化程度、有无浆膜浸润、有无淋巴结转移分组进行 RPS15a 表达阳性率比较 (表 1),结果显示 RPS15a 在大肠癌组织中的阳性表达与浆膜浸润、淋巴结转移显著相关 ( $P < 0.05$ )。

3 讨论

核糖体蛋白的主要功能是参与蛋白质的合成,此外还有核糖体外功能<sup>[3-7]</sup>,如参与复制、转录 (RPS1、RPS10 等)、翻译调控 (RPS4、RPS6、RPS14、RPL17 等)、正常细胞恶性转化 (RPL5) 等。核糖体蛋白基因表达异常将影响核糖体的功能,引发各种疾病,如肿瘤发生、免疫性疾病、代

表 1 RPS15a 表达与大肠癌临床病理特征的关系

Table 1 Relationship between cliopathological characteristics and expression of RPS15a protein in colorectal carcinoma

临床病理特征 Characteristics	例数 Cases	RPS15a 阳性例数 (%) Cases of positive expression of RPS15a (%)	$\chi^2$ 值 $\chi^2$ value
性别 Sex			
男性 Male	39	27 (69.2)	0.27
女性 Female	43	32 (74.4)	
年龄 Age			
≤ 50 岁	21	13 (61.9)	1.41
> 50 岁	61	46 (75.4)	
肿瘤大小 Tumor size			
≤ 5 cm	51	35 (68.6)	0.74
> 5 cm	31	24 (77.4)	
肿瘤分化程度 Tumor differentiation			
高 High	29	22 (75.9)	0.39
中 Moderate	32	22 (68.8)	
低 Low	21	15 (71.4)	
浆膜浸润 Serosal invasion			
有 Yes	52	42 (80.7)	5.47*
无 No	30	17 (56.7)	
淋巴结转移 Lymph node metastases			
有 Yes	46	38 (82.6)	5.89*
无 No	36	21 (58.3)	

\*  $P < 0.05$

谢性疾病等。多项研究发现,肿瘤组织中核糖体蛋白的表达出现改变。其中,在大肠癌组织表达增高的有 L5、L7a、L18、S3、S8、S6、S12、S13、S28<sup>[8]</sup>。相反,有 7 个核糖体蛋白 (S12、S18、S24、L13a、L28、L32 和 L35a) 在结肠癌组织中表达减少<sup>[9]</sup>。因此,核糖体蛋白在大肠肿瘤的发生、发展、转移和肿瘤抑制中可能发挥重要的作用。

RPS15a 是高保守的核糖体蛋白<sup>[10-12]</sup>, 在翻译的早期可促进 mRNA 帽结合蛋白与核糖体小亚基结合。细胞实验结果显示, RPS15a 可增强 HepG-2 细胞体外增殖能力, 促进 HepG2 细胞的周期由 G1 期向 S 期进展, 增强 HepG2 细胞在软琼脂中的非锚定生长能力, 与空载体转染的细胞相比, 正义转染的 HepG2 细胞在 SCID 小鼠体内成瘤能力增强, 荷瘤小鼠成活时间缩短<sup>[2]</sup>。RPS15a 在分裂活跃的组织如花蕾、嫩叶中含量丰富; 相反, 在成熟茎叶等组织含量低<sup>[13-14]</sup>; 高表达的 RPS15a 可促进携带热敏突变体 cdc33ts4-2 的酵母菌的生长<sup>[15-17]</sup>; 此外, RPS15a 还是转化生长因子  $\beta 1$  (TGF $\beta 1$ ) 敏感基因, TGF $\beta 1$  可促进人肺癌细胞系 A549 增殖<sup>[18]</sup>。这些均提示 RPS15a 可能在细胞中起着癌基因或癌基因激活剂的作用。

本研究结果表明, RPS15a 在大肠癌组织中的阳性表达率明显高于癌旁正常组织, 其表达上调可能与大肠癌的发生有关。随着大肠癌浸润深度的增加和转移, RPS15a 阳性表达率也逐渐升高, 提示 RPS15a 高表达与大肠癌肿瘤细胞的侵袭和转移能力相关。因此, 推测 RPS15a 基因可能在大肠癌的诊断和预测预后中具有潜在应用价值。

RPS15a 高表达可与真核起始因子 4F (eIF-4F) 相互作用<sup>[15]</sup>, 导致细胞恶性转化, 从而可能在蛋白翻译水平上介导肿瘤发生<sup>[19]</sup>, 这可能是大肠癌的发生机制之一。此外, p53 突变涉及核糖体的活性或调节功能<sup>[20]</sup>, 这也可能是 RPS15a 在大肠癌中表达增高的一种机制。总之, RPS15a 基因与大肠癌的生物行为有关, 有关 RPS15a 在大肠癌发生发展中的作用及具体机制尚在研究中。

#### 参考文献

- [1] Uechi T, Tanaka T, Kenmochi N. A complete map of the human ribosomal protein genes: assignment of 80 genes to the cytogenetic map and implications for human disorders. *Genomics*, 2001, 72(3):223-230.
- [2] Lian Z, Liu J, Li L, et al. Human S15a expression is upregulated by hepatitis B virus X protein. *Mol Carcinog*, 2004, 40(1):34-46.
- [3] Ogle JM, Carter AP, Ramakrishnan V. Insights into the decoding mechanism from recent ribosome structures. *Trends Biochem Sci*, 2003, 28(5):259-266.
- [4] Rodnina MV, Daviter T, Gromadski K, et al. Structural dynamics of ribosomal RNA during decoding on the ribosome. *Biochimie*, 2002, 84(8):745-754.
- [5] Wahl MC, Moller W. Structure and function of the acidic ribosomal stalk proteins. *Curr Protein Pept Sci*, 2002, 3(4):485-486.
- [6] Stoneley M, Willis AE. Cellular internal ribosome entry segments: structures, trans-acting factors and regulation of gene expression. *Oncogene*, 2004, 23(18):3200-3207.
- [7] Ramakrishnan V. Ribosome structure and the mechanism of translation. *Cell*, 2002, 108(4):557-572.
- [8] Wang Y, Cheong D, Chan S, et al. Ribosomal protein L7a gene is up-regulated but not fused to the tyrosine kinase receptor as chimeric trk oncogene in human colorectal carcinoma. *Int J Oncol*, 2000, 16(4):757-762.
- [9] Kasai H, Nadano D, Hidaka E, et al. Differential expression of ribosomal proteins in human normal and neoplastic colorectum. *J Histochem Cytochem*, 2003, 51(5):567-574.
- [10] Chan YL, Olvera J, Paz V, et al. The primary structure of rat ribosomal protein S15a. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, 200(3):1498-1504.
- [11] Schaap PJ, de Groot PW, Muller Y, et al. Molecular cloning and sequence of the cytoplasmic ribosomal protein S15a gene from *Agaricus bisporus*. *Exp Mycol*, 1995, 19(2):160-162.
- [12] Westermann P, Gross B, Bielka H. Neighbourhoods of proteins S2-S3, S3-S3a, S15-S15a, and S5-S25 within the small subunit of rat liver ribosomes. *Acta Biol Med Ger*, 1980, 39 (11-12):1147-1152.
- [13] Bonham-Smith PC, Moloney MM. Nucleotide and protein sequences of a cytoplasmic ribosomal protein S15a gene from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol*, 1994, 106 (1):401-402.
- [14] Bonham-Smith PC, Oancia TL, Moloney MM. Cytoplasmic ribosomal protein S15a from *Brassica napus*: molecular cloning and developmental expression in mitotically active tissues. *Plant Mol Biol*, 1992, 18(5):909-919.
- [15] Lavoie C, Tam R, Clark M, et al. Suppression of a temperature-sensitive cdc33 mutation of yeast by a multicopy plasmid expressing a *Drosophila* ribosomal protein. *J Biol Chem*, 1994, 269(20):14625-14630.
- [16] Reed SI. The selection of *S. cerevisiae* mutants defective in the start event of cell division. *Genetics*, 1980, 95(3):561-577.
- [17] Johnston GC, Pringle JR, Hartwell LH. Coordination of growth with cell division in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Exp Cell Res*, 1977, 105(1):79-98.
- [18] Akiyama N, Matsuo Y, Sai H, et al. Identification of a series of transforming growth factor betaresponsive genes by retrovirus-mediated gene trap screening. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(9):3266-3273.
- [19] Davide R, Pier PP. Does the ribosome translate cancer? *Cancer*, 2003, 3(3):179-192.
- [20] Loqing WT, Reisman D. Elevated expression of ribosomal protein genes L37, RPP-1, and S2 in the presence of mutant p53. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1999, 8(11):1011-1016.

## Expression and significance of ribosome protein S15a gene in colorectal carcinoma

MENG Cun-ying, YUAN Dong-hong, WANG Ying-mei, WANG Yan, ZHANG Xin, LIU Jie

#### 【Abstract】

**Objective** To study the expression and significance of ribosome protein s15a (RPS15a) gene in colorectal carcinoma tissues.

**Methods** SP immunohistochemistry was used to detect the expression of RPS15a protein in 82 samples of colorectal carcinoma

and adjacent nonneoplastic tissues.

**Results** In the 82 samples of colorectal carcinoma and adjacent normal tissues, the positive expression rate of RPS15a protein was 72.0% (59/82) and 40.2% (33/82), respectively. Statistical analysis suggested that the positive expression rate of RPS15a protein in the colorectal carcinoma tissues was significantly higher than that in the normal tissues ( $\chi^2=17.76$ ,  $P<0.05$ ). The expression of RPS15a protein was significantly correlated with the depth of invasion ( $\chi^2=5.47$ ,  $P<0.05$ ) and lymph node metastases ( $\chi^2=5.89$ ,  $P<0.05$ ).

**Conclusion** High expression of RPS15a protein may play an important role in the development of colorectal carcinoma tissues.

**【Keywords】** Colorectal neoplasms; Adenocarcinoma; Ribosomal proteins; Immunohistochemistry

**Author Affiliations:** Institute of Digestive Diseases of Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, State Key Laboratory of Tumor Biology, Xi'an 710032, China (MENG Cun-ying, LIU Jie); Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Yan'an University (MENG Cun-ying, YUAN Dong-hong); Department of Pathology of Xijing Hospital, Fourth Military Medical University (WANG Ying-mei); Department of Gastroenterology, No.321 of PLA Hospital (WANG Yan); Department of Gastroenterology, Yan'an Municipal Central Hospital (ZHANG Xin)

**Corresponding Author:** LIU Jie, Email: jieliu@fmmu.edu.cn

www.cmbp.net.cn

Chin Med Biotechnol, 2007, 2(2):101-104

## · 伦理与道德 ·

### 学术不端行为的界定

为了引导广大科技工作者自觉遵守科学道德规范,抵制学术不端行为,净化学术风气,中国科协技术协会在 2007 年 1 月发布的《科技工作者科学道德规范(试行)》(以下简称《规范》)中对学术不端行为做了明确的界定。学术不端行为是指在科学研究和学术活动中的各种造假、抄袭、剽窃和其他违背科学共同体惯例的行为,《规范》将之概括为以下 7 条。

1. 故意做出错误的陈述,捏造数据或结果,破坏原始数据的完整性,篡改实验记录和图片,在项目申请、成果申报、求职和提职申请中做虚假的陈述,提供虚假获奖证书、论文发表证明、文献引用证明等。
2. 侵犯或损害他人著作权,故意省略参考他人出版物,抄袭他人作品,篡改他人作品的内容;未经授权,利用被自己审阅的手稿或资助申请中的信息,将他人未公开的作品或研究计划发表或透露给他人或为己所用;把成就归功于对研究没有贡献的人,将对研究工作做出实质性贡献的人排除在作者名单之外,僭越或无理要求著者或合著者身份。
3. 成果发表时一稿多投。
4. 采用不正当手段干扰和妨碍他人研究活动,包括故意毁坏或扣压他人研究活动中必需的仪器设备、文献资料,以及其他与科研有关的财物;故意拖延对他人项目或成果的审查、评价时间,或提出无法证明的论断;对竞争项目或成果的审查设置障碍。
5. 参与或与他人合谋隐匿学术劣迹,包括参与他人的学术造假,与他人合谋隐藏其不端行为,监察失职,以及对投诉人打击报复。
6. 参加与自己专业无关的评审及审稿工作;在各类项目评审、机构评估、出版物或研究报告审阅、奖项评定时,出于直接、间接或潜在的利益冲突而作出违背客观、准确、公正的评价;绕过评审组织机构与评议对象直接接触,收取评审对象的馈赠。
7. 以学术团体、专家的名义参与商业广告宣传。