

文章编号:1005-6947(2007)04-0378-04

· 简要论著 ·

# 胃癌组织中 $\beta$ -Catenin 与 NF- $\kappa$ B 的表达及其对预后的影响

李恒平, 殷明, 李晨旭, 赵旭, 王俊

(湖北省襄樊市第一人民医院 普通外科, 湖北 襄樊 441000)

**摘要:**采用 S-P 免疫组织化学方法检测 56 例胃癌组织(胃癌组)及 22 例良性病变胃组织(对照组)中  $\beta$ -Cat 和 NF- $\kappa$ B 的表达情况,分析其与胃癌的临床特征和预后的关系。结果显示, $\beta$ -Cat 和 NF- $\kappa$ B 在胃癌组中的表达阳性率明显高于对照组 ( $P < 0.05$ ),分别为 69.64% 和 66.07%。 $\beta$ -Cat 的表达与肿瘤病理分化程度、有无淋巴结转移、病理分型及浸润深度有关 ( $P < 0.05$ )。NF- $\kappa$ B 的表达与肿瘤大小、有无淋巴结转移、病理分型及浸润深度有关 ( $P < 0.05$ )。 $\beta$ -Cat, NF- $\kappa$ B 在胃癌组织中的表达密切相关 ( $r_s = 0.541, P < 0.01$ )。 $\beta$ -Cat 和 NF- $\kappa$ B 的过表达与胃癌患者的 5 年生存率有关。它们是患者预后的独立影响因素。提示: $\beta$ -Cat 和 NF- $\kappa$ B 有可能在胃癌的发生、发展中发挥重要作用。

[中国普通外科杂志, 2007, 16(4): 378-381]

**关键词:** 胃肿瘤;  $\beta$ -连环蛋白; 核转录因子- $\kappa$ B

**中图分类号:** R735.2      **文献标识码:** B

$\beta$ -连环蛋白 ( $\beta$ -Cat) 和核转录因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 分别作为 Wnt 信号系统和以 NF- $\kappa$ B 为中心的 Rel/NF- $\kappa$ B/IKK 信号系统的关键调控点,其在细胞的增殖,凋亡的关键作用,日益受到重视。研究发现其在结肠癌、乳腺癌<sup>[1]</sup>、肝癌等肿瘤的发生、发展、转移等中起重要作用。本研究检测了 56 例胃癌组织中  $\beta$ -Cat 和 NF- $\kappa$ B 的表达状况,分析其与胃癌临床病理特征和预后的关系。

## 1 材料方法

### 1.1 标本及其一般资料

1.1.1 胃癌组 收集 1996 年 10 月—2000 年 8 月本院普外科手术切除并经病理组织学证实的胃癌标本 56 例,男 38 例,年龄 34~72, (平均 51.3) 岁。女性 18 例年龄 36~68, (平均 53.1) 岁。病理类型:黏液腺癌 21 例,管状腺癌 18 例,印戒细胞癌 17 例;其中高分化 9 例,中分化 18 例,低分化 29 例。有淋巴转移 31 例。TNM 分期, I 期 11 例, II 期 23 例, III 期 17 例, IV 期 5 例。术前均未

进行化疗或放疗,无长期服用非甾体类抗炎药或皮质激素药物史。入选病例皆具备完整的临床病理资料和随访资料(随访截止日期为 2005 年 8 月。生存期的计算从手术日期开始,至随访截止日期或由于复发、转移而死亡的日期为止)。

1.1.2 对照组 取胃镜下活检浅表性胃炎标本(均经病理组织学证实)22 例,男 15 例,女 7 例,年龄 33~42 岁。

### 1.2 方法

1.2.1 试剂 鼠抗人单克隆抗体 Catenin- $\beta$  和 NF- $\kappa$ B/p65 免疫人多克隆抗体以及 S-P 免疫组化试剂盒均购自福州迈新生物技术公司。

1.2.2 检测方法 石蜡标本经 4  $\mu$ m 厚度连续切片,用于免疫组织化学检查。加 Catenin- $\beta$  抗体的组织抗原修复用微波抗原修复。加 NF- $\kappa$ B 抗体的组织用高温高压抗原修复。采用 S-P 法进行染色,按试剂盒说明操作。用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为阴性对照,已知阳性片为阳性对照。在光镜下观察阳性反应为棕黄色。

1.2.3 染色结果判断 根据染色度及细胞染色百分比进行测定。运用全自动图像分析仪,将病

收稿日期:2006-05-19; 修订日期:2006-12-18。

作者简介:李恒平,男,湖北襄樊人,现襄樊市第一人民医院主治医师,主要从事胃肠外科方面的研究。

通讯作者:李晨旭 E-mail:licx@126.com

理图像输入计算机,经同济千屏影像工程公司 HPIAS2000 型图像分析软件分析阳性细胞比率及染色度,显色阳性细胞百分比  $\leq 5\%$  为 0 分,  $6\% \sim 25\%$  为 1 分,  $26\% \sim 50\%$  为 2 分,  $\geq 51\%$  为 3 分,基本不着色为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄为 2 分,棕褐色为 3 分。将上述两项积分的乘积为最后得分:  $0 \sim 1$  分为阴性,  $1 \sim 2$  分为阳性(+),  $2 \sim 6$  分为(++),  $>6$  分为(+++)。

### 1.3 统计学处理

应用 SPSS13.0 统计软件包对所得数据进行分析。用检验同一指标(因素)的组间的差异,间接反映表达与临床病理因素的关系。等级相关用 Spearman 等级相关分析。根据患者生存状况绘制 Kaplan-Meier 生存曲线,并进行个 Log Rank 检验。检验标准  $P = 0.05$ ;  $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 $\beta$ -Cat 的表达

胃癌组中  $\beta$ -Cat 阳性 39 例,阳性率 69.64%,  $\beta$ -Cat 表达阳性率与肿瘤大小无关( $P > 0.05$ );与浸润深度、分化程度、淋巴结转移及 TNM 分期有关(均  $P < 0.05$ )。对照组中  $\beta$ -Cat 阳性率为 22.73%,与胃癌组  $\beta$ -Cat 表达率差异有显著性( $P < 0.05$ )(附表)。

### 2.2 NF- $\kappa$ B 的表达

胃癌组中 NF- $\kappa$ B 阳性表达 37 例,阳性率 66.07%。NF- $\kappa$ B 表达与分化程度无关( $P > 0.05$ ),与肿瘤大小、浸润深度、淋巴结转移及 TNM 分期有关(均  $P < 0.05$ )。对照组阳性表达为 22.22%,与胃癌组 NF- $\kappa$ B 表达率差异有显著性( $P < 0.05$ )(附表)。

附表 胃癌组织中  $\beta$ -Cat 和 NF- $\kappa$ B 的表达及其与临床病理因素的关系

| 病理因素     | 例数 | $\beta$ -Cat |    | $\chi^2$ 值 | P 值   | NF- $\kappa$ B |    | $\chi^2$ 值 | P 值   |
|----------|----|--------------|----|------------|-------|----------------|----|------------|-------|
|          |    | 阳性           | 阴性 |            |       | 阳性             | 阴性 |            |       |
| 组织类型     |    |              |    |            |       |                |    |            |       |
| 良性胃组织    | 22 | 5            | 17 | 14.139     | <0.05 | 4              | 18 | 14.528     | <0.05 |
| 胃癌       | 56 | 39           | 17 |            |       | 37             | 19 |            |       |
| 肿瘤大小(cm) |    |              |    |            |       |                |    |            |       |
| <5       | 31 | 22           | 9  | 1.278      | >0.05 | 17             | 14 | 3.908      | <0.05 |
| $\geq 5$ | 25 | 17           | 8  |            |       | 20             | 5  |            |       |
| 肿瘤分化     |    |              |    |            |       |                |    |            |       |
| 高中分化     | 27 | 15           | 12 | 4.894      | <0.05 | 20             | 7  | 1.489      | >0.05 |
| 低分化      | 29 | 24           | 5  |            |       | 17             | 12 |            |       |
| 浸润深度     |    |              |    |            |       |                |    |            |       |
| 黏膜或浅肌层   | 21 | 11           | 10 | 4.736      | <0.05 | 10             | 11 | 5.103      | <0.05 |
| 深肌层或全层   | 35 | 28           | 7  |            |       | 27             | 8  |            |       |
| 转移情况     |    |              |    |            |       |                |    |            |       |
| 无淋巴结转移   | 25 | 14           | 11 | 3.976      | <0.05 | 13             | 12 | 3.989      | <0.05 |
| 有淋巴结转移   | 31 | 25           | 6  |            |       | 24             | 7  |            |       |
| 肿瘤分期     |    |              |    |            |       |                |    |            |       |
| I+II 期   | 34 | 19           | 15 | 7.751      | <0.05 | 18             | 16 | 6.656      | <0.05 |
| III+IV 期 | 22 | 20           | 2  |            |       | 19             | 3  |            |       |

### 2.3 $\beta$ -Cat 与 NF- $\kappa$ B 表达的关系

胃癌组中  $\beta$ -Cat 和 NF- $\kappa$ B 表达相关性分析的结果: $\beta$ -Cat 表达阳性的 37 例胃 Ca 中,33 例 NF- $\kappa$ B 表达阳性。 $\beta$ -Cat 表达阴性的 17 例中,13 例 NF- $\kappa$ B 表达阴性, $\beta$ -Cat 与 NF- $\kappa$ B 表达呈显著正相关( $r_s = 0.541, P < 0.01$ )。

### 2.4 $\beta$ -Cat 和 NF- $\kappa$ B 表达与胃癌预后关系

胃癌组 56 例患者中累计死亡 41 例,1,3,5 年生存率分别为 71.43% (40/56),44.64% (25/56) 和 26.78% (15/56)。

2.4.1 5 年生存率的相关因素 应用卡方检验单因素分析发现与 5 年生存率显著相关的因素包括 TNM 分期 ( $P < 0.05$ )、淋巴结转移 ( $P < 0.05$ )、 $\beta$ -Cat 过表达 ( $P < 0.01$ )、NF- $\kappa$ B 表达 ( $P < 0.01$ )。而与病理分化程度、肿瘤的大小、浸润深度无关(均  $P > 0.05$ )。

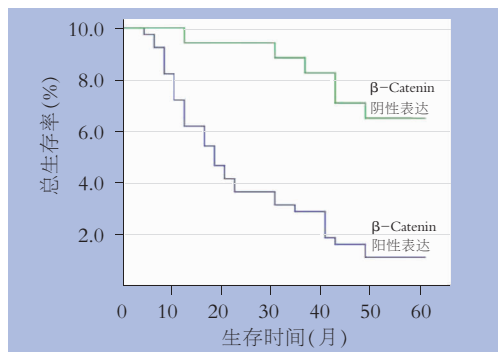


图1 根据  $\beta$ -Cat 表达状况绘制的 Kaplan-Meier 生存曲线

2.4.2 5 年生存率的独立危险因素 将上述相关因素与胃癌患者 5 年生存情况进行两分类模型多因素回归分析。结果显示 TNM 分期 ( $P = 0.006$ )、 $\beta$ -Cat 过表达 ( $P = 0.028$ ) 及 NF- $\kappa$ B 表达 ( $P = 0.036$ ) 是胃癌 5 年生存率的独立危险因素。

2.4.3 生存曲线  $\beta$ -Cat 阳性表达的 39 例胃癌患者 5 年生存率为 10.3%,明显低于  $\beta$ -Cat 阴性表达的 17 例胃癌患者 64.7% 的 5 年生存率。根据  $\beta$ -Cat 表达状况绘制 Kaplan-Meier 生存曲线(图1),经 Log Rank 检验,两者差异具统计学意义 ( $P = 0.001$ )。NF- $\kappa$ B 阳性表达的 37 例胃癌患者 5 年生存率为 13.5%,明显低于 NF- $\kappa$ B 阴性表达的 19 例胃癌患者 52.6% 的 5 年生存率。根据 NF- $\kappa$ B 表达状况绘制 Kaplan-Meier 生存曲线(图2),经 Log Rank 检验,两者差异具统计学意义 ( $P = 0.002$ )。

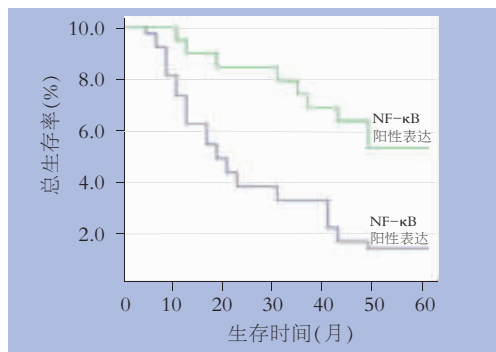


图2 根据 NF- $\kappa$ B 表达状况绘制的 Kaplan-Meier 生存曲线

## 3 讨论

$\beta$ -Cat 是连环蛋白 (catenin Cats),同时具有参与上皮细胞黏附和 Wnt 信号传导的双重功能。当各种因素促使过剩的  $\beta$ -Cat 避开泛酸依赖性蛋白水解酶的水解,在细胞内积聚并进入胞核与 Tcf/lef 结合成  $\beta$ -Cat-Tcf/lef 复合物时,激活靶基因包括 C-mg-c 基因<sup>[2]</sup>、C-jun 基因和 fru-1<sup>[3]</sup> 基因等原癌基因及 CyclinD1<sup>[4]</sup> 基因。同时,因  $\beta$ -Cat 基因变异或  $\beta$ -Cat 的异位磷酸化致使 E-Cad/Cat 复合体和细胞骨架脱离,细胞粘连松散,两种作用共同导致了肿瘤细胞的浸润转移。本研究发现  $\beta$ -Cat 的表达与肿瘤的浸润深度、TNM 分期、分化程度及有无淋巴结转有关。

NF- $\kappa$ B 的异常激活,一方面可通过诱导抗凋亡基因 CBcL2,凋亡抑制因子 (IAPs),肿瘤坏死因子 (TNF) 受体结合因子 1 和 2 (TRAF1 和 TRAF2)

等而增强抗凋亡作用;另一方面 NF- $\kappa$ B 还可通过激活其靶基因 C-myc 及 cyclinD1 直接刺激细胞增生。二者共同作用导致细胞增生和凋亡的生理平衡失常,成为肿瘤细胞得以异常增生。近来有研究表明 NF- $\kappa$ B 通过对细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 和环氧化酶-2 (COX-2) 的转录调控在胃癌的发生发展中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。本研究表明: NF- $\kappa$ B 在胃癌的表达与良性病变组织相比,差异有显著性。且其表达与胃癌组织学分化无关,与肿瘤大小及淋巴转移、浸润深度有关。这与 Sasaki 等<sup>[6]</sup> 的研究相符。

Lamberti C 等<sup>[7]</sup> 研究表明, Ikk $\alpha$  和 Ikk $\beta$  缺乏的鼠胚胎纤维母细胞展示不同的  $\beta$ -Cat 细胞定位, Ikk $\beta$  能降低  $\beta$ -Cat 依赖的转录活性,而 Ikk $\alpha$  增加  $\beta$ -Cat 依赖的转录活性, Ikk $\alpha$ 、Ikk $\beta$  调节 Wnt 信号系统和 NF- $\kappa$ B 信号系统的整合,本实验证实  $\beta$ -Cat 与 NF- $\kappa$ B 在胃癌组织中的表达有关。

文章编号:1005-6947(2007)04-0381-03

· 简要论著 ·

# EPO-R 在结肠癌组织中的表达及 MVD 测定的意义

刘卫平, 蒲永东, 何建苗, 宋晶莹

(解放军总医院第二附属医院 普通外科, 北京 100091)

**摘要:** 为探讨促红细胞生成素(EPO-R)的表达及微血管密度(MVD)与结肠癌组织中血管生成、侵袭和转移的关系。笔者应用免疫组化方法检测32例结肠癌组织及13例正常结肠组织中EPO-R的表达,并对血管进行CD34相关抗原的免疫组化染色,计数MVD。结果显示,EPO-R表达及MVD值与肿瘤分化、Dukes分期、淋巴结转移有关( $P < 0.05$ )。EPO-R表达阳性组织中,MVD计数显著高于EPO-R表达阴性者( $P < 0.05$ )。提示EPO-R表达及MVD值与结肠癌侵袭转移有密切关系,可能成为结肠癌治疗的标靶和预后指标。

[中国普通外科杂志,2007,16(4):381-383]

**关键词:** 结肠肿瘤; EPO-R; MVD

**中图分类号:** R735.35

**文献标识码:** B

癌细胞的侵袭、转移与肿瘤的促血管生成能力密切相关。最新研究表明:促红细胞生成素(EPO-R)在人类肿瘤细胞中表达具有重要作用,可以调节肿瘤细胞的生长发育,引起恶性肿瘤新

生血管的生长。肿瘤微血管密度(MVD)是衡量肿瘤血管生成程度的标志,可以反映肿瘤血管生成的活跃程度。我们采用免疫组织化学染色方法,通过检测结肠癌组织中EPO-R的表达及计算MVD值,探讨其在肿瘤血管形成、侵袭和转移的作用及它们之间的关系,从而对结肠癌的浸润、转移和预后判断以及寻求新的治疗途径提供依据。

**收稿日期:**2006-12-15; **修订日期:**2007-03-19。

**作者简介:**刘卫平,男,北京人,解放军总医院第二附属医院硕士,主要从事胃肠道肿瘤方面的研究。

**通讯作者:**刘卫平 E-mail:doctor301301@sohu.com

本研究发现 $\beta$ -Cat与NF- $\kappa$ B在胃癌中高表达与胃癌患者5年生存率有关。多因素分析表明 $\beta$ -Cat与NF- $\kappa$ B的过表达以及TNM分期是患者预后的独立危险因素。它们可能作为胃癌患者预后的指标。

综上所述,NF- $\kappa$ B和 $\beta$ -Cat参与了胃癌的发生,发展转移的整个过程。此结果为胃癌早期诊断和临床判断预后提供理论依据,并可能为临床治疗提供新的依据。目前用腺病毒做载体将I $\kappa$ B $\alpha$ 超级抑制因子导入小鼠的模型中,显示降低了肿瘤对化疗的拮抗作用。这些研究的进一步深入和发展,有可能会为治疗肿瘤带来新的希望。

## 参考文献:

[1] 涂刚,姚榛祥,董蒲江.核因子在人乳腺癌组织中的表达及其意义[J].中国普通外科杂志,2003,12(5):348-350.  
[2] He TC, Sparks AB, Rago C, et al. Identification of c-myc

as a target of the APC pathway [J]. Science, 1998, 281(5328):1509-1512.  
[3] Mann B, Geles M, Siedow A, et al. Target genes of  $\beta$ -catenin-T cell-factor/lymphoid-enhance-factors signal in human colorectal carcinomas [J]. Proc Natl Acad sci. USA, 1999, 96(4):1603-1608.  
[4] Anton Novak, Shu Chi Hsu, Chungyee Leung-Hagesteijn, et al. Cell adhesion and the integrin-linked kinase regulated the Lef-1 and  $\beta$ -catenin signaling pathway [J]. Pro Natl Acad Sci USA, 1998, 95(8):4374-4379.  
[5] 童强,王国斌,卢晓明,等.胃癌组织中核因子- $\kappa$ B, ICAM-1和COX-2的表达及其临床意义[J].中国普通外科杂志,2005,14(10):736-739.  
[6] Sasaki N, Morisaki T, Hashizume K, et al. Nuclear factor-kappaB p65 (RelA) transcription factor is constitutively activated in human gastric carcinoma tissue [J]. Clin Cancer Res, 2001, 7(12):4136-4142.  
[7] Lamberti C, Lin KM, Yamamoto Y, et al. Regulation of beta-catenin function by the I $\kappa$ B kinases [J]. Biol Chem, 2001, 276(45):42276-42286.