

# NF- $\kappa$ B 与蛋白激酶 C $\beta$ II 在胃癌中的表达及意义

朱莉 邹赛英 唐新萍 张培谊 赵海华 马莉

**【摘要】** 目的 检测 143 例胃癌组织中 NF- $\kappa$ B 和 PKC $\beta$  II 的表达情况,探讨二者在胃癌组织中表达的相关性,以及与胃癌临床病理的关系。方法 采用免疫组化(SP)法,检测 143 例手术切除胃癌及癌旁正常胃组织中 NF- $\kappa$ B、PKC $\beta$  II 的表达情况,并与临床病理特征结合进行综合分析。结果 NF- $\kappa$ B 在胃癌组织中表达率(67.1%)高于癌旁正常组织(21.6%),二者之间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );PKC $\beta$  II 在胃癌组织中表达率(58.4%)高于癌旁正常组织(30.8%),二者之间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );二者表达呈正相关,与胃癌的组织学类型、浸润深度及淋巴结转移具有相关性。结论 NF- $\kappa$ B 与 PKC $\beta$  II 在胃癌组织中高表达,并且与胃癌的发生、恶性程度、浸润深度、淋巴结转移和 TNM 分期有一定的关系,二者在胃癌的发生发展中可能具有协同作用。联合检测两种指标有望对胃癌发生发展的研究、判断预后及靶向治疗提供依据。

**【关键词】** 胃肿瘤; NF- $\kappa$ B; 蛋白激酶 C

**Expression and significance of NF- $\kappa$ B and PKC $\beta$  II receptor in gastric carcinoma** ZHU Li, ZOU Sai-ying, TANG Xin-ping, ZHANG Pei-yi, ZHAO Hai-hua, MA Li. School of Basic Medical Science, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

Corresponding author: ZOU Sai-ying, Email: zousaiying@163.com

**【Abstract】 Objective** To detect the expression of NF- $\kappa$ B and PKC $\beta$  II in gastric carcinoma, discuss their correlation in gastric carcinoma tissues and the relationship with clinicopathological parameters.

**Methods** The expression of NF- $\kappa$ B and PKC $\beta$  II was examined in 143 cases of gastric carcinoma and normal gastric mucosa tissue with immunohistochemical technique. The datum were analyzed with  $\chi^2$  tests.

**Results** The expression rate of NF- $\kappa$ B in carcinoma tissues was 67.1%, which was significantly higher than that in normal tissues (21.6%,  $P < 0.05$ ). The expression rate of PKC $\beta$  II in carcinoma tissues was 58.4%, which was significantly higher than that in normal tissues (30.8%,  $P < 0.05$ ). Both of them were positively related to the histological type, depth of tumor invasion and lymph node metastasis.

**Conclusions** NF- $\kappa$ B and PKC $\beta$  II are overexpressed in gastric carcinoma and related to the histological type, depth of tumor invasion, lymph node and TNM stage. Both of them may cooperate with the development and progression of gastric carcinoma. Joint detection of the two types of indicators may play an important role in studying the development and progression, prognosis and targeted therapy of gastric carcinoma.

**【Key words】** Stomach neoplasms; NF- $\kappa$ B; Protein kinase C

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一,每年世界死亡人数达 60 余万;我国是胃癌的高发地区,死亡率列为恶性肿瘤死亡的第一位。在近年关于胃癌的研究中发现, NF- $\kappa$ B 具有调节多种相关基因转录的功能,与胃癌的发生发展密切相关;并发现细胞内信号转导的重要递质蛋白激酶 C $\beta$  II (PKC $\beta$  II) 在 NF- $\kappa$ B 活化过程中具有一定的作用。本研究应用免疫组化(SP)法联合检测胃癌组织中 NF- $\kappa$ B 与 PKC $\beta$  II 的表达情况,探讨二者与胃癌发生发展的关系,为肿瘤治疗提供一定的理论依据。

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2011.15.007

作者单位: 830011 乌鲁木齐,新疆医科大学基础医学院(朱莉);兰州军区乌鲁木齐总医院病理科(邹赛英、唐新萍、张培谊、赵海华、马莉)

通讯作者: 邹赛英, Email: zousaiying@163.com

## 材料与方法

### 一、材料

收集2008~2010年兰州军区乌鲁木齐总医院病理科胃癌手术切除石蜡包埋标本143例,其中男103例,女40例;年龄从31~88岁,平均年龄62.12岁。患者术前未经任何化疗、放疗,采用WHO 2010版胃癌的组织学分类以及TNM分期;胃腺癌的组织学类型分为:乳头状腺癌、管状腺癌、黏液腺癌和印戒细胞癌;TNM分期为0~IV期,I~II期85例,III~IV期58例,其中IV期27例。

### 二、试剂

一抗NF- $\kappa$ B多克隆抗体购于福州迈新生物技术开发公司,抗体滴度1:50;PKC $\beta$  II多克隆抗体购于Santa Cruz公司,抗体滴度1:200。即用型免疫组化Ultra Sensitive TMS-P超敏试剂盒,对二甲氨基偶氮苯(DAB)显色剂及阳性对照片均购自福州迈新生物技术开发公司。

### 三、方法

1. 分组:胃癌组织143例,同例癌旁正常胃组织作为对照组(距离相应病灶区边缘3~5 cm)。标本用10%中性甲醛固定、脱水、石蜡包埋,3  $\mu$ m连续切片3张,HE染色。NF- $\kappa$ B和PKC $\beta$  II免疫组化SP法检测。采用已知阳性切片做阳性对照,以PBS代替一抗做阴性对照。

2. 结果判定:Nf- $\kappa$ B和PKC $\beta$  II阳性染色呈棕黄色或棕褐色,均位于细胞质。采用半定量计分法结合Berry的分级法,按染色程度计分确定表达水平:染色与阴性对照相同者计0分,染色呈淡黄者计1分,染色呈棕黄色者计2分,呈棕褐色者计3分。根据阳性细胞在观察细胞中所占比例分为:阳性细胞数 $\leq$ 10%为1分,11%~50%为2分,51%~75%为3分,>75%为4分。两项分数乘积0~3分(-),4~5分为(+),6~7分为(++),8分以上为(+++), $\leq$ 3分为阴性,>3分为阳性。

3. 统计学处理:所有数据采用SPSS 17.0统计软件进行处理,计数资料采用 $\chi^2$ 检验。NF- $\kappa$ B、PKC $\beta$  II二者表达相关性的检验采用Pearson法的 $\chi^2$ 检验和列联系数分析。

## 结 果

### 一、NF- $\kappa$ B、PKC $\beta$ II在胃癌组织与癌旁组织中的表达

143例胃癌组织中NF- $\kappa$ B阳性位于细胞质(图1,2),表达率为67.1%(96/143),癌旁正常组织阳性表达率21.6%(31/143),二者差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );PKC $\beta$  II阳性位于细胞质(图3,4),阳性表达率为58.4%(83/143),癌旁正常组织阳性表达率30.8%(44/143),二者差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(表1)。

### 二、NF- $\kappa$ B、PKC $\beta$ II的表达与临床病理的关系

NF- $\kappa$ B、PKC $\beta$  II的表达与患者性别、年龄、肿瘤大小无明显关系,其差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),与肿瘤淋巴结转移、浸润深度、TNM分期有关,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(表2)。

### 三、NF- $\kappa$ B与PKC $\beta$ II在不同组织学类型胃癌中的表达

143例胃癌标本中,NF- $\kappa$ B在黏液腺癌、乳头状腺癌、管状腺癌、印戒细胞癌中的阳性表达率分别为88.24%、56.00%、57.81%和81.08%;四组之间表达率比较:NF- $\kappa$ B在黏液腺癌与印戒细胞癌中表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),在乳头状腺癌与管状腺癌中的表达差异亦无统计学意义( $P > 0.05$ );而在黏液腺癌和印戒细胞癌表达与乳头状腺癌和管状腺癌表达之间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );提示NF- $\kappa$ B与胃黏液腺癌和印戒细胞癌关系密切。PKC $\beta$  II在黏液腺癌、乳头状腺癌、管状腺癌、印戒细胞癌中的阳性表达率分别为23.53%、60.00%、54.68%和78.37%;四组之间表达率进行比较:PKC $\beta$  II在乳头状腺癌与管状腺癌、印戒细胞癌之间表达差异无统计学意义,其余各组之间表达差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示PKC $\beta$  II在不同类型胃癌中的表达具有差异(表3)。

### 四、胃癌组织中NF- $\kappa$ B与PKC $\beta$ II表达的相关性

143例胃癌组织中NF- $\kappa$ B与PKC $\beta$  II均呈阳性者65例,均呈阴性者29例,NF- $\kappa$ B呈阳性而PKC $\beta$  II阴性者31例,NF- $\kappa$ B阴性PKC $\beta$  II阳性者18例,统计检验:NF- $\kappa$ B与PKC $\beta$  II表达具有相关性并呈正相关( $\chi^2 =$

11.21,  $r=0.269, P=0.001$ ) (表4)。

表1 NF- $\kappa$ B、PKC $\beta$  II在胃癌组织与癌旁组织中表达率比较[例, (%) ]

组别	例数	NF- $\kappa$ B	PKC $\beta$ II
胃癌组织	143	96(67.1)	83(58.4)
癌旁组织	143	31(21.6)	44(30.8)
P值		0.00	0.00

表2 NF- $\kappa$ B、PKC $\beta$  II的表达与临床病理参数的关系

临床病理参数	例数	NF- $\kappa$ B( + )			PKC $\beta$ II( + )		
		例, (%)	$\chi^2$ 值	P 值	例, (%)	$\chi^2$ 值	P 值
性别			0.725	0.434		0.087	0.851
男	103	67(65.05)			59(57.28)		
女	40	29(72.50)			24(60.00)		
年龄			0.676	0.472		0.557	0.495
<60岁	60	38(63.33)			37(61.67)		
$\geq$ 60岁	83	58(69.88)			46(55.42)		
肿瘤大小			1.019	0.361		0.053	0.862
<5 cm	89	57(64.04)			51(57.30)		
>5 cm	54	39(74.22)			32(59.2)		
浸润			4.782	0.041		6.400	0.014
黏膜及黏膜肌层	52	29(55.77)			23(44.23)		
浆膜及浆膜外	91	67(73.63)			60(65.93)		
淋巴结转移			9.182	0.003		6.587	0.014
有	89	68(76.40)			59(66.29)		
无	54	28(51.85)			24(44.44)		
TNM分期			6.558	0.012		10.381	0.002
I ~ II	85	50(58.82)			40(47.06)		
III ~ IV	58	46(79.31)			43(74.14)		

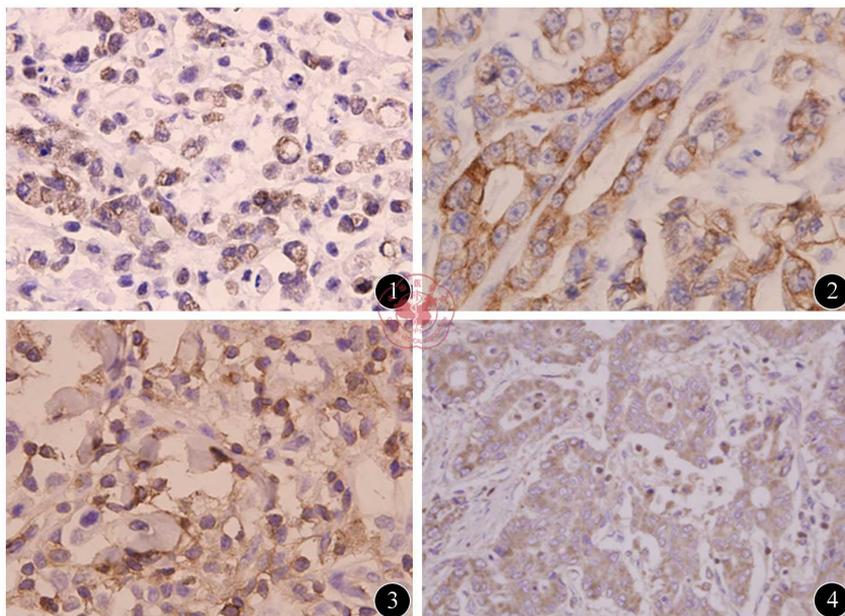


图1 NF- $\kappa$ B在胃印戒细胞癌阳性表达 (SP  $\times$ 400) 图2 NF- $\kappa$ B在胃管状腺癌中阳性表达 (SP  $\times$ 400) 图3 PKC $\beta$  II在胃印戒细胞癌阳性表达 (SP  $\times$ 1000) 图4 PKC $\beta$  II在胃管状腺癌中阳性表达 (SP  $\times$ 200)

表3 NF- $\kappa$ B 与 PKC $\beta$  II 在不同组织学类型的胃癌中的表达[例, (%) ]

组别	例数	NF- $\kappa$ B( + )	PKC $\beta$ II ( + )
黏液腺癌(M)	17	15(88.24)	4(23.53)
乳头状腺癌(P)	25	14(56.00)	15(60.00)
管状腺癌(T)	64	37(57.81)	35(54.68)
印戒细胞癌(S)	37	30(81.08)	29(78.37)

注: NF- $\kappa$ B: M 与 P:  $\chi^2 = 4.920, P = 0.041$ ; M 与 T:  $\chi^2 = 5.409, P = 0.023$ ; M 与 S:  $\chi^2 = 0.429, P = 0.703$ ; P 与 T:  $\chi^2 = 0.024, P = 1.000$ ; P 与 S:  $\chi^2 = 4.555, P = 0.047$ ; T 与 S:  $\chi^2 = 5.684, P = 0.028$ . PKC $\beta$  II: M 与 P:  $\chi^2 = 5.433, P = 0.029$ ; M 与 T:  $\chi^2 = 5.223, P = 0.029$ ; M 与 S:  $\chi^2 = 14.745, P = 0.000$ ; P 与 T:  $\chi^2 = 0.206, P = 0.813$ ; P 与 S:  $\chi^2 = 2.446, P = 0.157$ ; T 与 S:  $\chi^2 = 5.669, P = 0.020$

表4 胃癌组织 NF- $\kappa$ B 与 PKC $\beta$  II 表达关系(例)

NF- $\kappa$ B	例数	PKC $\beta$ II		$\chi^2$ 值	r 值	P 值
		+	-			
+	96	65	31	11.21	0.269	0.001
-	47	18	29			

## 讨 论

胃癌的发生、发展、浸润及转移是多基因、多环节、多步骤的过程,在近年研究中关于 NF- $\kappa$ B 以及信号传导系统在胃癌的发生发展中的作用成为研究的热点。

NF- $\kappa$ B 是一种广泛存在于细胞中的一种重要的多向性核转录因子,能够调节多种肿瘤相关基因转录,有多种亚单位,其中以 p50/Rel 同源二聚体活性最强,激活后参与多种基因的表达和调控<sup>[1-3]</sup>。在静息状态时, NF- $\kappa$ B 与其抑制物(I $\kappa$ B)结合形成无活性复合物形式存在于细胞质,当细胞受到胞外信号刺激时,可通过一个或多个信号转导途径使 NF- $\kappa$ B 活化从而调控相关基因表达,参与细胞分化生长、调节凋亡以及参与多种疾病的发生发展、肿瘤转归等<sup>[4-5]</sup>。近年研究发现 NF- $\kappa$ B 具有抗凋亡、促细胞增殖和免疫激活的功能,是导致正常细胞恶变的潜在因素;大多数肿瘤都表现出 NF- $\kappa$ B 活性水平的持续增高及 I $\kappa$ B 的突变、失活或降解异常;目前已证明在胰腺癌、甲状腺癌、T 或 B 淋巴细胞白血病、结肠癌等肿瘤中均存在 NF- $\kappa$ B 高表达活性<sup>[6-7]</sup>, NF- $\kappa$ B 的活化与胃癌的发生、浸润深度、淋巴转移亦密切相关<sup>[8-9]</sup>,同时在本研究结果中亦发现 NF- $\kappa$ B 阳性表达率随胃癌的恶性程度的增加而提高,提示 NF- $\kappa$ B 是促进胃癌的发生发展的重要环节之一。

PKC 是真核细胞跨膜信号传递中具有重要作用的一类多基因家族编码的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,参与细胞增殖、分化和转化等过程<sup>[10]</sup>,通常根据对钙和甘油二酯(DG)的依赖性不同分为:钙依赖型 PKC、新型 PKC、非典型 PKC 三类;PKC $\beta$  II 是第一类代表性标志物。在研究 PKC 与 NF- $\kappa$ B 的关系中发现: NF- $\kappa$ B 的活化可受多种因素影响,其中促有丝分裂原活化的蛋白激酶(MAPK)是重要的因素之一,而在 MAPK 激活 IKK 亚单位 I $\kappa$ B 信号通路<sup>[11]</sup>中, PKC 作为 MAPK 上游激酶<sup>[12]</sup>发挥作用;蛋白激酶磷酸化可激活多种调节途径,其中之一即:激活抑制蛋白 I $\kappa$ B 释放基因调控蛋白 NF- $\kappa$ B 进入细胞核参与特定基因转录的表达调控;在 NF- $\kappa$ B 活化的脂多糖(LPS)途径中, LPS 可通过诱导胞膜中磷脂酰胆碱特异性磷脂酶水解磷脂酰胆碱(PC)生成 DG,进而激活 PKC,在 Ca<sup>2+</sup> 的协助下导致 I $\kappa$ B 磷酸化从而激活 NF- $\kappa$ B<sup>[13]</sup>;显示 PKC 与 NF- $\kappa$ B 之间存在复杂且多样的密切关系。

本研究在胃癌组织中联合检测 NF- $\kappa$ B 与 PKC $\beta$  II 表达情况,结果显示: NF- $\kappa$ B 与 PKC $\beta$  II 在胃癌中均呈高表达,其表达程度与肿瘤淋巴结转移、浸润深度、组织学分型、TNM 分期呈正相关。并且发现 NF- $\kappa$ B 在黏液腺癌和印戒细胞癌中高表达,与乳头状腺癌和管状腺癌的表达率之间有差异,进一步证实 NF- $\kappa$ B 在胃癌组织中存在高活化状态,与胃癌的发生发展具有关系,尤其与胃癌细胞黏液分化关系更为密切,提示 NF- $\kappa$ B 高活化可能导致胃癌细胞向黏液分化方向发展。在 NF- $\kappa$ B 与 PKC $\beta$  II 的关系中二者表达具有相关性,进而提示核因子与细胞信号传导系统在胃癌调控基因活化机制和表达过程中可能具有一定的协同作用;PKC $\beta$  II

可能在 NF- $\kappa$ B 活化的 LPS 途径中作为上游激酶存在,直接和间接地调控 NF- $\kappa$ B 的活化,促进胃癌的发生发展。但 PKC $\beta$  II 的活化是否必然导致 NF- $\kappa$ B 的活化,以及抑制 PKC $\beta$  II 的活化是否能有效阻止 NF- $\kappa$ B 的活化进而抑制胃癌的发生发展有待于进一步研究。联合检测两种指标,进一步深入探讨 PKC 激活与 NF- $\kappa$ B 活化关系的研究,有望对胃癌发生发展的研究、判断预后及靶向治疗提供依据。

### 参 考 文 献

- [1] Sethi G, Sung B, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappaB activation from bench to bedside. *Exp Biol Med* (Maywood), 2008, 233:21-31.
- [2] Ng CS, Novick AC, Tannenbaum CS, et al. Mechanisms of immune evasion by renal cell carcinoma: tumor-induced T-lymphocyte apoptosis and NF-kappaB suppression. *Urology*, 2002, 59:9-14.
- [3] 陈远能, 曹骥, 苏建家, 等. Rel mRNA 和 NF- $\kappa$ B-mRNA 在人肝细胞癌中的表达及其临床意义. *中山大学学报: 医学科学版*, 2006, 27: 677-680.
- [4] Perkins ND. The Rel/NF-kappa B family: friend and foe. *Trends Biochem Sci*, 2000, 9:434-440.
- [5] Yamazaki S, Muta T, Takeshige K. A novel IkappaB protein, IkappaB-zeta, induced by proinflammatory stimuli, negatively regulates nuclear factor-kappaB in the nuclei. *J Biol Chem*, 2001, 276:27657-27662.
- [6] Suh J, Rabson AB. NF-kappaB activation in human prostate cancer: important mediator or epiphenomenon. *J Cell Biochem*, 2004, 91: 100-117.
- [7] Wang W, Abbruzzese JL, Evans DB, et al. The nuclear factor-kB RelA transcription factor is constitutively activated in human pancreatic adenocarcinoma cells. *Clin Can Res*, 1999, 5:119-127.
- [8] Sasaki N, Morisaki T, Hashizume K, et al. Nuclear factor-kappaB p65 (RelA) transcription factor is constitutively activated in human gastric carcinoma tissue. *Clin Can Res*, 2001, 7:4136-4142.
- [9] 唐涛, 费素娟. NF- $\kappa$ B 与胃癌关系的研究进展. *国际消化病杂志*, 2006, 5:296-299.
- [10] Manning G, Whyte DB, Martine R, et al. The protein kinase complement of the human genome. *Science*, 2002, 298:1912-1934.
- [11] Bancroft CC, Chen Z, Dong G, et al. Coexpression of proangiogenic factors IL-8 and VEGF by human head and neck squamous cell carcinoma involves coactivation by MEK-MAPK and IKK-NF-kappaB signal pathways. *Clin Cancer Res*, 2001, 7:435-442.
- [12] Johnson AL, Goode GD, Mtshali C, et al. Protein Kinase C- alpha/betaII, delta, and zeta/lambda involvement in ethanol-induced MAPK expression in vascular smooth muscle cells. *Cell Mol Biol(Noisy-le-grand)*, 2007, 53:38-44.
- [13] Steffan NM, Bren GD, Frantz B, et al. Regulation of I $\kappa$ B alpha phosphorylation by PKC- and Ca<sup>2+</sup>-dependent signal transduction pathways. *J Immunol*, 1995, 155:4685-4691.

(收稿日期:2011-05-10)

(本文编辑: 戚红丹)

朱莉, 邹赛英, 唐新萍, 等. NF- $\kappa$ B 与蛋白激酶 C $\beta$  II 在胃癌中的表达及意义[J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2011, 5(15):4340-4344.