

人胃癌及癌前病变中 NF- KappaB 和 c-myc 蛋白的表达与意义

王 维,罗和生,余保平

摘要:目的 探讨胃癌及癌前病变中 NF- B 亚单位 p65 蛋白和 c-myc 蛋白的表达及相互关系。方法 用免疫组化法检测 41 例胃癌及 25 例相应非癌组织的 p65 和 c-myc 蛋白。结果 (1)正常胃粘膜 肠型 化生 不典型增生 胃癌中,两种蛋白的阳性表达率渐次升高,且增生组、胃癌组与正常组相比差异分别有显著性,肠化与胃癌组间也有显著性差异($P < 0.05$);(2)胃癌中,两种蛋白的表达在低未分化、进展期、有淋巴结转移和浸润至浆膜层的肿瘤中显著增高($P < 0.05$);(3)肠化、增生和胃癌中,两者的表达分别具有中到强正相关($r_s = 0.612 \sim 0.845, P < 0.01$)。结论 NF- Bp65 蛋白活性表达的增加是胃癌发生中的早期事件,c-myc 基因产物可能作为其效应子,在胃癌的发生发展中发挥重要作用。

关键词:胃癌;胃癌前病变;NF- b 蛋白;c-myc 蛋白

中图分类号:R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-8578(2002)04-0285-03

Expression of NF- KappaB and c-myc protein in gastric carcinoma genesis

WANG Wei, LUO He-sheng, YU Bao-ping

The Digestion Department of Renmin g

Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

Abstract: Objective To investigate the variant expression of NF- Bp65 and c-myc protein and their relationships in gastric carcinoma genesis. **Methods** A total of 41 primary gastric tumors and 24 corresponding non-cancer specimens were reexamined. Expression of activated NF- B and c-myc protein were determined by immunohistochemistry. **Results** (1) In normal mucosa-intestinal metaplasia-dysplasia-neoplasia, p65 expression were 0, 34.78%, 53.33%, 60.98%, while c-myc protein were 0, 30.43%, 53.33%, 58.54%, respectively. The two parameters were significantly increased in dysplasia and carcinoma, compared to normal mucosa, while the expression level were also significantly higher in carcinoma than in intestinal metaplasia ($P < 0.05$). (2) The expression of NF- Bp65 and c-myc protein were significantly increased in the poorly differentiated group, advanced gastric carcinoma, lymph node metastasis and those which had invaded to serosa ($P < 0.05$). (3) There were moderate or intense relationships between p65 and c-myc protein ($r_s = 0.621 \sim 0.845, P < 0.01$). **Conclusion** The expression of NF- Bp65 and c-myc protein are up-regulated data near the origin of the gastric carcinoma genesis. NF- B may contribute to the overexpression of c-myc protein which may play an important role as the downstream response factor in the gastric carcinoma genesis.

Keywords: Gastric cancer; Precancerous condition; NF- B protein; c-myc protein

核因子-KappaB (NF- B), 通常指 p65/ p50 异源二聚体, 可在转录水平调控许多基因的表达。过去对其的研究多集中于炎症和免疫反应, 近来发现它也参与凋亡调控及细胞转化^[1]。已知 c-myc 蛋白表达异常增加可诱发恶性转化和肿瘤形成^[2]。有研究显示小鼠 c-myc 基因启动子上存在 NF- B 的作用位点, 并能一定条件下被后者转录激活^[3]。胃癌的

发生发展中两者的动态变化及相互关系尚未见明确报道。为此, 本文通过免疫组化法观察和研究 NF- Bp65 和 c-myc 蛋白在胃癌及癌前病变组织中的表达及相互关系。

1 材料与方法

1.1 病例 取自武汉大学人民医院病理科 2000 年归档蜡块, 为手术切除的胃癌组织 41 例及相应非癌组织 25 例, 均有病理检查证实, 包括胃癌 41 例(部分胃癌组织粘膜层兼有肠化改变 23 例), 不典型增生 15 例, 正常胃粘膜 10 例。按全国胃癌协作病理组

收稿日期: 2001-11-06; 修回日期: 2002-04-04

作者单位: 430060 武汉大学人民医院消化内科

(1978 年)制定的方案^[4]将胃癌分为早期和进展期;高中分化和低未分化。

1.2 试剂 即用型 c-myc 蛋白鼠单克隆抗体及即用型 SP 试剂盒(Maxim 公司),购自福州迈新生物技术开发公司;浓缩型 NF- Bp65 蛋白鼠单克隆抗体(SantaCruz 公司),购自北京中山生物技术公司。

1.3 方法 组织连续切片厚 4.5 μm,玻片经多聚赖氨酸(Sigma 公司)预处理以防脱片;采用 SP 法免疫组化染色,按试剂盒说明书进行;微波抗原修复,p65 蛋白一抗工作浓度为 4μg/ml;加一抗后 4 过夜,DAB 显色,苏木素复染;PBS 代替一抗作阴性对照,已知阳性标本作阳性对照。

1.4 结果判定 c-myc 及 p65 阳性细胞为胞核或胞浆中出现棕黄色颗粒状沉淀。阳性细胞数 <5% 为阴性(-);5% ~ 25% 弱阳性(+);26% ~ 50% 中等阳性(++);>50% 为强阳性(+++)。

1.5 统计学处理 ²检验(包括 Yates 连续性校正²检验)和四格表确切概率法,Spearman 秩相关分析, P (双侧) < 0.05 为统计学显著水平。

2 结果

2.1 阳性细胞定位 p65 蛋白阳性染色位于胞核和胞浆(因为活化的 p65 蛋白只有进入细胞核才能发挥转录调控作用,故阳性细胞计数以核染色为准),c-myc 蛋白阳性染色主要位于肿瘤细胞胞浆和少数肠化、不典型增生腺体的胞核,阳性细胞呈散在或局限分布;正常胃粘膜腺体颈部区域及部分固有层腺体中均可见两种指标的弱表达,浸润的炎性细胞中亦有中等强度表达,而粘膜表层细胞均为阴性。

2.2 正常粘膜—肠化—异型增生—胃癌过程中,p65 和 c-myc 蛋白的阳性表达逐渐上升,异型增生和胃癌组织与正常组织相比分别有显著性差异,且肠化与胃癌组相比差异亦有显著性($P < 0.05$),见表 1。

表 1 p65 与 c-myc 蛋白在胃癌及癌前病变中的表达

组织	例数	p65 蛋白			c-myc 蛋白		
		+++	++	合计(%)	+++	++	合计(%)
正常	10	0	0	0(0)	0	0	0(0)
肠化	23	7	1	8(34.78) ^b	5	2	7(30.43) ^b
异型增生	15	7	1	8(53.33) ^a	2	5	7(53.33) ^a
胃癌	41	4	14	25(60.98) ^a	8	12	24(58.54) ^a

a: 与正常组相比, $P < 0.05$ b: 与胃癌组相比 $P < 0.05$

2.3 胃癌中 p65 和 c-myc 蛋白表达,在低未分化、进展期、有淋巴结转移和浸润至浆膜层的肿瘤中显著增高($P < 0.01 \sim 0.05$),且 p65 还与肿瘤大小有关,见表 2。

2.4 Spearman 秩相关分析发现 NF- Bp65 蛋白和 c-myc 蛋白在胃癌($r_s = 0.845$, 强相关)、不典型增生

($r_s = 0.80$, 中度相关)及肠化($r_s = 0.612$, 中度相关)中的表达呈正相关(P 值均小于 0.01)。

表 2 P65 蛋白、c-myc 蛋白的表达与胃癌临床病理特征的关系

因素	例数	p65 蛋白		c-myc 蛋白	
		阳性例数(%)	阳性例数(%)	阳性例数(%)	阳性例数(%)
性别	男	30	16(53.33)	18	60.00
	女	11	9(81.82)	6	54.55
年龄	<60 y	24	14(58.33)	24	66.67
	60y	17	11(64.71)	8	47.06
组织学	管状/乳头状腺癌	6	3(50.00)	2	33.33
	粘液腺癌	10	4(40.00)	4	40.00
	低分化腺癌	14	10(71.43)	9	64.29
分化	粘液细胞/未分化癌	11	8(72.73)	9	81.82
	高中分化	13	3(23.08) ⁺	3	23.08) ⁺
	低未分化	28	22(78.57)	21	75.00
淋巴结	无	16	4(25.00) ⁺	4	25.00) ⁺
	有	25	21(84.00)	20	80.00
分期	早期	12	2(16.67) ⁺	1	8.33) ⁺
	进展期	29	23(79.31)	23	79.21
肿瘤	<5 cm	19	6(31.58) ⁺	7	36.84
	5cm	22	19(86.36)	17	77.27
大小	m,sm	10	2(20.00) [*]	1	10.00) [*]
	浸润	mp,ss	17	11(64.71)	11
深度	se,is	14	12(85.71)	12	85.71

*: $P < 0.05$ +: $P < 0.01$;m 粘膜层;sm 粘膜下层;m p 肌层;ss 浆膜下;se 突破浆膜;si 远处转移

3 讨论

静息状态下,NF- B 与特异性抑制物 I B 结合,以非活性形式存在于胞浆中,在内毒素,活性氧,细胞因子等作用下,两者解离后 B 转位入核,与靶基因启动子结合,迅速诱导其 mRNA 的合成^[1]。本研究中 p65 蛋白阳性信号位于胞核和胞浆,与 p65 具有失活和活化两种状态一致,据此将核染色的细胞判为阳性细胞。已知 B 可诱导 IL-8 等炎症因子的表达^[1],在本实验中也发现粘膜层浸润的炎性细胞有活化的 p65 表达。

近来的研究倾向于 NF- B 可拮抗细胞凋亡,并在晚 G1 期抑制细胞周期的进程^[5],促进细胞增殖;而原癌基因 c-myc 的编码蛋白可与靶基因启动子结合,参与细胞增殖和凋亡的调控并去分化,在生长因子的作用下呈现刺激细胞增生和促进细胞凋亡的双重作用^[2,6]。本实验观察到正常粘膜—肠化—异型增生—胃癌中,p65 和 c-myc 蛋白的阳性表达逐渐上升,且两者在低未分化、进展期、有淋巴结转移和浸润至浆膜层的胃癌中显著增高($P < 0.05$),提示两者的表达上调是胃癌的早期事件,并随着本病恶化程度的

增加而增加,其表达水平对评价胃癌的恶性程度可能有一定的参考价值。目前文献报道普遍认为肿瘤细胞中 c-myc 蛋白为胞浆表达,而非肿瘤细胞为核表达,与本文的结果基本一致,确切机制有待于进一步探讨。

已发现小鼠 c-myc 基因启动子上存在 NF- κ Bp65 的作用位点,后者可转录激活 c-myc 基因^[3]。本实验发现两者在肠化、不典型增生和胃癌中的表达呈中度到强相关($P < 0.01$),提示两者在人组织中也可能具有协同作用,也许是胃癌复杂的信号传导通路中的一环;NF- κ B 将细胞外的各种信号传入核内,而 c-myc 作为 NF- κ B 的下游效应子,发挥促进增殖、去分化的作用,NF- κ B 诱导 c-myc 基因的表达似与生长因子关系密切。Romashkova 等^[7]发现血小板源性生长因子通过活化 Ras 蛋白及磷脂酰肌醇激酶-3/Akt/IKK 途径激活 NF- κ B, NF- κ B 传导两种信号:一是 c-myc 表达和细胞增殖;二是抗凋亡信号,以抵消 c-myc 的促凋亡作用。已知胃癌中有多种生长因子(如 EGF 和 TGF)的过表达,NF- κ B、c-myc 基因与生长因子之间的相互作用及效应事件在胃癌发生发展中的作用值得进一步研究。

参考文献:

[1] deMartin R, Schmid JA, Hofer - Warbinek R. The NF - κ B/Rel family of transcription factors in oncogenic transformation and apoptosis[J]. *Mutat Res*, 1999, 437 (3): 231 - 243.

[2] Ninomiya I, Yonemura Y, Matsumoto H, et al. Expression of c-myc gene product in gastric carcinoma[J]. *Oncology*, 1991, 48 (1): 149 - 151.

[3] La Rosa FA, Pierce JW and Sonenshein GE. Differential regulation of the c-myc oncogene promoter by the NF - κ B family of transcription factors[J]. *Mol Cell Biol*, 1994, 14 (2): 1039 - 1044.

[4] 张佩范. 胃癌[A]. 张荫昌. 胃癌病理及胃粘膜活检[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1988. 75 - 98.

[5] Grumont RJ, Rourke IJ, Strasser A, et al. B lymphocytes differentially use the Rel and nuclear factor κ B1 (NF - κ B1) transcription factor to regulate cell cycle progression and apoptosis in quiescent and mitogen-activated cells[J]. *J Exp Med*, 1998, 187 (5): 663 - 674.

[6] Willins GT, Smith CA. Molecular regulation of apoptosis: genetic control of cell death[J]. *Cell*, 1993, 74 (5): 777 - 779.

[7] Romashkova JA and Makarov SS. NF - κ B is a target of Akt in anti-apoptotic PDGF signaling[J]. *Nature*, 1999, 401 (6748): 86 - 90.

(熊 静校对)

《中国肿瘤》杂志、《肿瘤学杂志》联合征订启事

《中国肿瘤》杂志系卫生部主管,全国肿瘤防治研究办公室主办的综合类科技月刊,大 16 开,64 页,邮发代号:32-100。该刊以交流肿瘤防治经验、推广肿瘤科技成果,促进肿瘤防治事业的发展为宗旨,是社会各方了解我国肿瘤防治研究工作进展动态的重要途径,也是肿瘤防治研究理论与实践的重要论坛。主要刊载国家癌症控制动态和工作研究报告,肿瘤学术研究成果及进展等。好稿一个月内刊出。

《肿瘤学杂志》是面向全国学术类科技双月刊,大 16 开,64 页,邮发代号:32-37。该刊由浙江省肿瘤医院和中国癌症研究基金会、全国肿瘤防治研究办公室共同主办,将及时反映我国肿瘤学术研究新领域的新技术、新成果和新进展,以指导科研和临床实践。该刊公平公正,择优录用稿件,力求高质量,好稿快发,1~2 个月内见刊。

以上两刊均为国内外公开发行,均已加入“中国期刊网”、“万方数据库”、“中文生物医学期刊文献数据库”,并专递中国肿瘤网站。

读者可在当地邮局订阅,漏订者可直接向本刊编辑部订阅。

联系地址:浙江省杭州市半山桥广济路 38 号浙江省肿瘤医院内

《中国肿瘤》编辑部

《肿瘤学杂志》编辑部

电话:0571-88147297

0571-88144401-261

传真:0571-88147297

E-mail: zgzl@mail.hz.zj.cn