

胃癌中 β -catenin、ki-67 和 Her-2/Neu 表达及对胃癌侵袭、转移的影响陈超¹,姚莉敏²

(1. 信阳职业技术学院医学院,河南信阳 464000;2. 信阳职业技术学院附属医院,河南信阳 464000)

[摘要] **目的** 探讨 β -连环蛋白(β -catenin)、增殖细胞核抗原 ki-67 和人表皮生长因子受体 2(Her-2)/Neu 在不同胃癌病理特征中的表达差异及在胃癌发生、发展和侵袭、转移中的作用。**方法** 分别采用免疫组化检测 150 份胃癌组织(观察组)和 70 份正常胃黏膜(经病理检测无癌变作为对照组)中 β -catenin、ki-67 及 Her-2/Neu 的表达,分析 β -catenin、ki-67 及 Her-2/Neu 与胃癌病理特征的关系。**结果** 观察组患者 β -catenin、ki-67、Her-2/Neu 阳性率明显高于对照组($\chi^2=30.51, 63.74, 11.38, P<0.01$);分化程度影响 β -catenin、ki-67、Her-2/Neu 表达($\chi^2=15.82, 8.61, 8.11, P<0.01$);淋巴结转移影响 β -catenin、ki-67 表达($\chi^2=6.26, P<0.05; \chi^2=7.36, P<0.01$);浸润深度影响 β -catenin、ki-67 表达(均 $\chi^2=11.34, P<0.01$);TMN 影响 ki-67、Her-2/Neu 表达($\chi^2=10.85, 14.24, P<0.01$); β -catenin 和 ki-67 表达呈正相关。**结论** β -catenin、ki-67 和 Her-2/Neu 可反映肿瘤细胞增殖、侵袭和转移的情况,有助于对患者预后的判断。

[关键词] β -连环蛋白;ki-67 抗原;基因;erbB-2;胃肿瘤**[中图分类号]** R735.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)18-2504-03Expression of β -catenin, ki-67 and Her-2/Neu in gastric carcinoma and their influence on infiltration and metastasis of gastric carcinomaChen Chao¹, Yao Limin²

(1. Medical College, Xinyang Vocational and Technical College, Xinyang, Henan 464000, China; 2. Affiliated Hospital of Xinyang Vocational and Technical College, Xinyang, Henan 464000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression differences of β -catenin, Her-2/Neu and ki-67 in different pathological features of gastric cancer and their role in the occurrence, progression, invasion and metastasis of gastric cancer invasion and metastasis. **Methods** The expression of β -catenin, ki-67 and Her-2/Neu in 150 gastric cancer tissue samples (observation group) and 70 normal gastric mucosal samples were detected by adopting the immunohistochemistry method, and the relationship between the expression of β -catenin, ki-67 and Her-2/Neu with the pathological features of gastric cancer was analyzed. **Results** The β -catenin, ki-67 and Her-2/Neu positive rate in the observation group was significantly higher than that in the control group ($\chi^2=30.51, 63.74, 11.38, P<0.01$); the differentiation degree affected the expression of β -catenin, ki-67 and Her-2/Neu expression ($\chi^2=15.82, 8.61, 8.11, P<0.01$); the lymph node metastasis affected the expression of ki-67 and β -catenin ($\chi^2=6.26, P<0.05; \chi^2=7.36, P<0.01$); the invasion depth affected the expression of β -catenin and ki-67 ($\chi^2=11.34, P<0.01$); TMN affected the expression of ki-67 and Her-2/Neu ($\chi^2=10.85, 14.24, P<0.01$); the β -catenin and ki-67 expression showed positive correlation. **Conclusion** β -catenin, ki-67 and Her-2/Neu may reflect the proliferation, invasion and metastasis situation of tumor cells and their detection concludes to the judgment of prognosis.

[Key words] β -catenin; ki-67 antigen; genes; erbB-2; stomach neoplasms

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一,全球每年新增病例约 100 万,将近 40% 病例发生在中国。侵袭和转移是影响胃癌预后的主要因素,是导致患者死亡重要原因。多种胃癌的标志物与胃癌的侵袭和转移有关。ki-67 是一种与细胞增殖特异相关的核抗原,主要用于判断癌细胞增殖活性。人表皮生长因子受体 2(Her-2)/Neu 是一个跨膜受体,其表达和活性与肿瘤的发生、发展密切相关^[1]。本研究采用免疫组化检测 β -连环蛋白(β -catenin)、增殖细胞核抗原 ki-67 和 Her-2/Neu 在正常胃黏膜与胃癌组织中的表达,分析 β -catenin、ki-67 和 Her-2/Neu 与胃癌病理特征的关系。

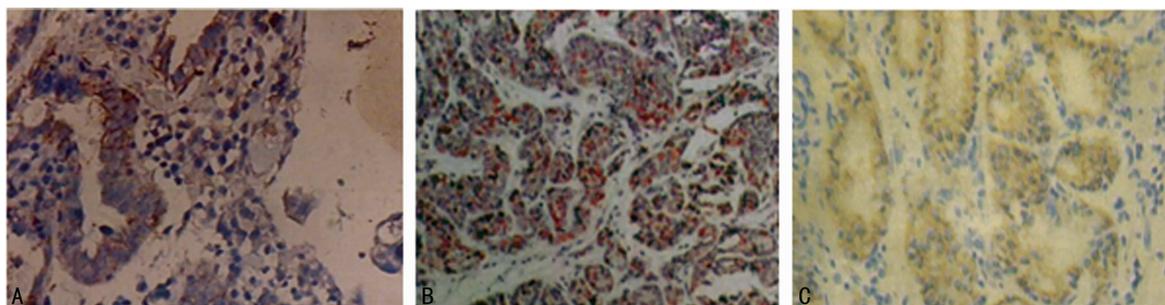
1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2011~2013 年实施手术切除并有完整随访资料的 150 例胃癌患者的存档石蜡块作为观察组,另取胃镜检查经病理证实无癌变的新鲜正常胃黏膜组织 70 份作为对照组。观察组:男 101 例,女 49 例;年龄 35~75 岁,平均(58.22±11.35)岁;黏液腺癌 60 例,管状腺癌 42 例,印戒细胞癌 48 例。对照组:男 55 例,女 15 例;年龄 36~77 岁,平均(57.34±10.86)岁。两组患者在性别、年龄等一般资料比较,

差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。**1.2 方法**

1.2.1 主要仪器和试剂 LEICA RM2135 切片机购自德国徕卡仪器有限公司;生物医学微波炉购自上海医疗器械厂;显微镜 CX-40 购自日本 Olympus 公司;4℃ 冰箱购自海尔冰箱厂;JD801 形态学图像分析仪购自江苏省捷达科技发展有限公司;Nikon eclipse E800 光学显微镜、酶标仪购自日本 Nikon 公司;鼠抗人 β -catenin 单克隆抗体、兔抗人 ki-67 多克隆抗体、兔抗人 Her-2/Neu 多克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司;SP 免疫组化试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2.2 免疫组化方法 石蜡块连续切片,每片 2.5 μ m,60℃ 烤片过夜,二甲苯脱蜡 2 次,梯度乙醇复水,3% 的过氧化氢溶液浸泡切 20 min,柠檬酸盐修复液高压抗原修复,血清封闭组织 45 min,ki-67(1:100)、 β -catenin(1:50)和 Her-2/Neu(1:100)一抗孵育过夜,二抗孵育 30 min,滴加有辣根酶标记的链霉卵白素液体孵育 30 min,DAB 显色,苏木素染液复染,封片观察。 β -catenin、ki-67 和 Her-2/Neu 免疫组化染色阳性表达,见图 1。



A:β-catenin; B:ki-67; C:Her-2/Neu。

图 1 β-catenin、ki-67 和 Her-2/Neu 免疫组化(SP×400)

1.2.3 评价标准 参照文献[2]的标准,β-catenin 阳性染色为细胞膜呈现棕褐色细小颗粒状着色,ki-67 阳性染色为细胞核内出现棕黄色颗粒,Her-2/Neu 阳性染色为细胞膜棕黄色染色。判断标准为阳性细胞打分+染色强度打分,0 分为“-”,1~2 分为“+”,3~4 分为“++”,5~6 分为“+++”。光镜下计算阳性细胞数,0~10%为 0 分,>10%~<50%为 1 分,50%~<75%为 2 分,75%~100%为 3 分;染色强度,无染色 0 分,浅棕黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。

1.3 统计学处理 所有数据采用 SPSS12.0 软件进行统计分析,计数资料用率表示,组间比较采用 χ^2 检验,采用 Spearman 相关系数检验分析指标之间的相关性。以 $P<0.05$ 有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者 β-catenin、ki-67 和 Her-2/Neu 阳性率比较 观察组 β-catenin、ki-67、Her-2/Neu 阳性率明显高于对照组 ($\chi^2 = 30.51, 63.74, 11.38, P<0.01$)。两组患者 β-catenin、ki-67 等阳性率比较见表 1;观察组患者中 β-catenin、ki-67、Her-2/Neu 阳性率分布见表 2。

2.2 观察组患者 β-catenin、ki-67 及 Her-2/Neu 与胃癌病理特征的关系 不同性别、年龄和瘤体大小患者的 β-catenin、ki-67 及 Her-2/Neu 比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$);不同分化程度患者 β-catenin、ki-67、Her-2/Neu 比较,差异均有统计学意

义 ($\chi^2 = 15.82, 8.61, 8.11, P<0.01$);有无淋巴结转移患者 β-catenin 和 ki-67 比较,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 6.26, P<0.05, \chi^2 = 7.36, P<0.01$);不同浸润深度患者 β-catenin 和 ki-67 比较,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 11.34, P<0.01$);不同 TMN 分期患者 ki-67 和 Her-2/Neu 比较,差异均有统计学意义 ($\chi^2 = 10.85, 14.24, P<0.01$),见表 3。

表 1 两组患者 β-catenin、ki-67 等阳性细胞比较[n(%)]

组别	n	β-catenin	ki-67	Her-2/Neu
对照组	70	26(37.4)	18(25.71)	1(1.43)
观察组	150	113(75.33)	122(81.33)	25(16.67)
χ^2		30.51	63.71	11.38
P		<0.01	<0.01	<0.01

表 2 观察组患者 β-catenin、ki-67 等阳性细胞分布[n(%),n=150]

指标	-	+	++	+++
β-catenin	37(24.67)	6(4.00)	43(28.67)	64(42.67)
ki-67	28(18.67)	36(24.00)	22(14.67)	64(42.67)
Her-2/Neu	125(83.33)	0	9(6.00)	16(10.67)

表 3 观察组患者 β-catenin、ki-67 及 Her-2/Neu 与胃癌病理特征的关系[n(%),n=150]

项目	n	β-catenin		ki-67		Her-2/Neu	
		阳性	P	阳性	P	阳性	P
性别							
男	78	56(71.79)	>0.05	66(84.61)	>0.05	14(17.94)	>0.05
女	72	57(79.17)		56(79.17)		11(15.28)	
年龄(岁)							
>50	60	44(73.33)	>0.05	46(76.77)	>0.05	8(13.33)	>0.05
≤50	90	69(76.67)		76(84.44)		17(18.89)	
瘤体大小(cm)							
≥5	104	76(73.08)	>0.05	86(82.69)	>0.05	18(23.69)	>0.05
<5	46	37(80.43)		36(78.26)		7(15.21)	
分化程度							
高中	75	46(61.33)	<0.01	54(72.00)	<0.01	6(8.00)	<0.05
低	75	67(89.33)		68(90.67)		19(25.33)	
淋巴结转移							
无	102	83(81.37)	<0.05	89(87.25)	<0.01	15(14.71)	>0.05
有	48	30(62.50)		33(68.75)		10(20.83)	
浸润深度							
未及浆膜层	86	56(65.12)	<0.01	62(72.09)	<0.01	12(13.95)	>0.05
浸及浆膜层	64	57(89.06)		60(93.75)		13(20.31)	
TMN 分期							
I 和 II	87	69(79.31)	>0.05	63(72.41)	<0.01	6(6.89)	<0.01
III 和 IV	63	44(69.84)		59(93.65)		19(30.16)	

2.3 β -catenin、ki-67 和 Her-2/Neu 相关性分析 β -catenin 和 ki-67 同时阳性患者为 105 例(70.00%),同时阴性患者 20 例(13.33%);通过 2×2 配对资料的关联性分析,发现 Pearson 列联系数 $r = 0.501 (P < 0.01)$, Pearson $\chi^2 = 40.511 (P < 0.01)$; β -catenin 和 ki-67 呈正相关,具有良好的 consistency。 β -catenin 和 Her-2/Neu 同时阳性患者为 3 例,同时阴性患者 3 例;通过 2×2 配对资料的关联性分析,发现 Pearson 列联系数 $r = 0.211 (P > 0.05)$, Pearson $\chi^2 = 3.21 (P > 0.05)$; β -catenin 和 Her-2/Neu 无相关性,见表 4、5。

表 4 观察组 β -catenin 和 ki-67 关联分析

指标	β -catenin (+)	β -catenin (-)	一致性分析		关联性分析	
			χ^2	P	χ^2	P
ki-67(+)	105	17	40.511	<0.01	0.501	<0.01
ki-67(-)	8	20				

表 5 观察组 β -catenin 和 Her-2/Neu 关联分析

指标	β -catenin (+)	β -catenin (-)	一致性分析		关联性分析	
			χ^2	P	χ^2	P
Her-2/Neu(+)	3	19	3.21	>0.05	0.211	>0.05
Her-2/Neu(-)	112	3				

3 讨论

胃癌是常见的消化道恶性肿瘤,在所有恶性肿瘤的病死率中高居第一或第二位,中国每年死于胃癌的人数约 16 万人。胃癌是一种具有高度侵袭特性的恶性肿瘤,其转移过程主要包括:肿瘤部位血管生成、黏附内皮细胞和基膜、细胞外基质和基膜、定位于继发器官、肿瘤细胞增殖和血管生成^[3]。肿瘤的转移机制一直是困扰医学界的难题,寻找提示转移的肿瘤标记物、并建立行之有效的检测方法和显得尤为重要。如果仅仅依靠某些传统的病理指标来评估患者的预后,并不能充分满足临床的需要,因此筛选和胃癌侵袭、转移的相关肿瘤因子具有重要的意义。

ki-67 主要表达在增殖细胞的细胞核中,它能够识别细胞周期中核抗原上的一个抗原决定簇,与细胞的合成代谢有关,能较客观地反映肿瘤的性质。ki-67 与胃癌的相关性研究报道并不一致,有研究证实 ki-67 与肿瘤的分化程度、Lauren 分型、淋巴转移明显相关^[4],但另一项研究中认为 ki-67 表达与肿瘤患者的年龄、性别、分期和预后等都无统计学差异^[5]。而在本研究中,不同分化程度、是否淋巴结转移、浸润深度和 TMN 分期患者 ki-67 的表达比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

Her-2/Neu 是目前已知的 60 余种肿瘤基因之一,Her-2/Neu 在正常情况下处于非激活状态,Her-2/Neu 受各种因素激活后,导致细胞无序生长,运动、浸润、转移,可抑制肿瘤细胞凋亡,促进肿瘤新生血管生成,增加肿瘤细胞的侵袭力^[6]。一般只在胎儿时期表达,成年后只能在极少数组织中发现其低水平表达。胃癌中 Her-2/Neu 阳性率各文献报道为 6%~43%^[7],在本研究中为 16.67%。在乳腺癌和胃癌的细胞中虽然高表达了 Her-2/Neu 蛋白,但未见 Her-2/Neu 基因的扩增,为此本文并未检测 Her-2/Neu 基因的表达水平。本研究中 TMN 分期患 Her-2/Neu 的表达差异有统计学意义($P < 0.05$)。

β -catenin 是在细胞质和细胞膜中的一种单链多肽,具有介导细胞黏附及信号转导双重活性,参与 Wnt 信号转导及酪氨酸蛋白激酶信号转导途径,在胚胎发育、细胞分化和增生及癌症的发生过程中发挥重要的功能^[8-9]。有研究报道,在结肠癌

中高表达 β -catenin 的癌细胞多集中于肿瘤边缘浸润性较强部分^[10-11],这样的表达模式有利于 β -catenin 参与癌细胞内信号的传导,从而增加癌细胞的侵袭能力。本研究中分化程度、淋巴结转移和浸润深度均可影响 β -catenin 的表达,说明 β -catenin 的异常可指示胃癌细胞的侵袭和转移能力。

综上所述, β -catenin、ki-67 及 Her-2/Neu 可反映肿瘤细胞增殖、侵袭和转移的情况,胃癌术后检测 β -catenin、ki-67 及 Her-2/Neu 表达水平,可一定程度反映胃癌的生物学特征,为临床治疗提供指导。

参考文献

- [1] Kundu J, Wahab SM, Kundu JK, et al. Tob1 induces apoptosis and inhibits proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells by activating Smad4 and inhibiting β catenin signaling[J]. Int J Oncol, 2012, 41(3): 839-848.
- [2] Huang J, Xiao D, Li G, et al. EphA2 promotes epithelial-mesenchymal transition through the Wnt/ β -catenin pathway in gastric cancer cells[J]. Oncogene, 2014, 33(21): 2737-2747.
- [3] Zhang YS, Xie JZ, Zhong JL, et al. Acetyl-11-keto- β -boswellic acid (AKBA) inhibits human gastric carcinoma growth through modulation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1830(6): 3604-3615.
- [4] He WL, Li YH, Yang DJ, et al. Combined evaluation of centromere protein H and ki-67 as prognostic biomarker for patients with gastric carcinoma[J]. Eur J Surg Oncol, 2013, 39(2): 141-149.
- [5] Giaginis C, Giagini A, Tsourouflis G, et al. MCM-2 and MCM-5 expression in gastric adenocarcinoma: clinical significance and comparison with ki-67 proliferative marker [J]. Dig Dis Sci, 2011, 56(3): 777-785.
- [6] Yan SY, Hu Y, Fan JG, et al. Clinicopathologic significance of HER-2/neu protein expression and gene amplification in gastric carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(11): 1501-1506.
- [7] Liu W, Zhong S, Chen J, et al. HER-2/neu overexpression is an independent prognostic factor for intestinal-type and early-stage gastric cancer patients [J]. J Clin Gastroenterol, 2012, 46(4): e31-37.
- [8] 陈斌, 罗荣城, 崔斐, 等. 胃癌 HER-2/neu 基因表达与预后的相关性 [J]. 南方医科大学学报, 2006, 26(3): 344-347.
- [9] Cai C, Zhu X. The Wnt/ β -catenin pathway regulates self-renewal of cancer stem-like cells in human gastric cancer [J]. Mol Med Rep, 2012, 5(5): 1191-1196.
- [10] Zhang YS, Xie JZ, Zhong JL, et al. Acetyl-11-keto- β -boswellic acid (AKBA) inhibits human gastric carcinoma growth through modulation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1830(6): 3604-3615.
- [11] Wu HW, Qin CY, Huang JL, et al. Correlations of β -catenin, ki-67 and Her-2/neu with gastric cancer [J]. Asian Pac J Trop Med, 2014, 7(4): 257-261.