

胃癌组织中生长抑素及其受体的表达及与Ki67的相关性

李秋萍, 李红梅, 王全红

李秋萍, 李红梅, 山西医科大学汾阳学院护理系 山西省汾阳市 032200
王全红, 山西省肿瘤医院病理科 山西省太原市 030001
李秋萍, 女, 1966-11-1 生, 山西省霍州市人, 汉族. 1994 年山西医科大学
硕士, 副教授. 主要从事胃肠激素与消化系统疾病关系的研究.
山西省青年科技基金资助课题, No. 20011033
山西省留学回国人员资助课题, No. 2002
项目负责人: 李秋萍, 032200, 山西省汾阳市, 山西医科大学汾阳学院护理
系. liqp@163.com
电话: 0358-7237201 传真: 0358-7237170
收稿日期: 2004-08-16 接受日期: 2004-09-24

Expression of somatostatin and its receptor and their relationship with Ki67 in gastric carcinoma

Qiu-Ping Li, Hong-Mei Li, Quan-Hong Wang

Qiu-Ping Li, Hong-Mei Li, Nursing Department of Fenyang College, Shanxi
Medical University, Fenyang 032200, Shanxi Province, China
Quan-Hong Wang, Department of Pathology, Shanxi Provincial Tumor
Hospital, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Supported by Youth Science and Technology Foundation of Shanxi
Province, No. 20011033; and Returned Scholarship of Shanxi
Province, No. 2002
Correspondence to: Qiu-Ping Li, Nursing Department, Fenyang Col-
lege of Shanxi Medical University, 16 Yingxiongbei Road, Fenyang
032200, Shanxi Province, China. liqp@163.com
Received: 2004-08-16 Accepted: 2004-09-24

Abstract

AIM: To study the role of somatostatin (SS), its receptors (SSTR-1, SSTR-2) and Ki67 in the process of gastric carcinogenesis and their relationship.

METHODS: Two-step immunohistochemical staining was used to examine the expression of SS, SSTR-1, SSTR-2 and Ki67 in 100 cases of gastric specimens, of which there were 60 gastric carcinoma (GC) tissues, 12 gastric severe atypical hyperplasia (GSAH) tissues, and 28 normal gastric (NG) tissues. The expression was scored according to the percentage of pigmented cell. Kruskal Wallis test, rank sum test and rank correlation analysis were used to examine the significance.

RESULTS: There were significant differences of SSTR-1, SSTR-2 and Ki67 expression among three different gastric specimens (SSTR-1: $\chi^2 = 9.11$, $P = 0.011 < 0.05$; SSTR-2: $\chi^2 = 9.99$, $P = 0.007 < 0.05$; Ki67: $\chi^2 = 35.76$, $P = 0.000 < 0.05$); SS expression in GC group had a decreased tendency when compared to those in any other two groups; in GSAH group, SSTR1 expression significantly increased than those in GC group and NG group (average rank = 25.37, 23.47 respectively, $P < 0.05$); SSTR-2 expression in GC group was significantly higher than that in NC group (average rank = 11.96, $P < 0.05$); Ki67 expression increased significantly in both GC and GSAT group when compared with that in NG group (average rank = 37.65,

23.68; $P < 0.01$, $P < 0.05$ respectively). In GC group, the expression of SS, SSTR-1, SSTR-2 and Ki67 was not related to differential degree, UICC stage, local lymph node metastasis, and depth of invasion; however, the poorer the differential degree, the lower the SS expression. There were positive correlations among the expression of Ki67 with that of SS, SSTR-1 and SSTR-2 in different groups ($P < 0.01$).

CONCLUSION: SS, SSTR-1, SSTR-2 and Ki67 correlates with each other in the process of gastric carcinogenesis and may serve as useful markers for assessing the biological behavior of gastric carcinoma.

Li QP, Li HM, Wang QH. Expression of somatostatin and its receptor and their relationship with Ki67 in gastric carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2004;12(11):2547-2550

摘要

目的: 探讨生长抑素(SS)及其受体(SSTR-1, SSTR-2)和 Ki67 在胃癌发生、发展中的作用及其相关性。

方法: 对病理确诊的 100 例胃组织标本, 其中胃良性组织 (NG, 28 例)、重度不典型增生 (GSAH, 12 例) 及胃癌 (GC, 60 例), 采用免疫组化二步法进行 SS、SSTR-1、SSTR-2 和 Ki67 染色. 染色后按着色细胞百分数进行评分判定. 用 Kruskal Wallis 检验、秩和检验及等级相关分析进行统计学处理。

结果: SSTR-1, SSTR-2 和 Ki67 在三种组织中的表达存在显著性差异 (SSTR-1: $\chi^2 = 9.11$, $P = 0.011$, SSTR-2: $\chi^2 = 9.99$, $P = 0.007$, Ki67: $\chi^2 = 35.76$, $P = 0.000$); SS 在胃癌组织中的表达较其余两组有降低趋势; SSTR-1 在胃重度不典型增生组织中的表达与其余两组间存在显著性差异 (GSAH vs GC, 平均秩 = 25.37, $P < 0.05$, GASH vs NG, 平均秩 = 23.47, $P < 0.05$); SSTR-2 在胃癌组织与胃良性组织中存在显著性差异 (平均秩 = 11.96, $P < 0.05$); Ki67 在胃良性组织中的表达与胃癌组织和胃重度不典型增生组织比较均存在显著性差异 (GC vs NG, 平均秩 = 37.65, $P < 0.01$, GASH vs NG, 平均秩 = 23.68, $P < 0.05$). 胃癌 SS, SSTR-1, SSTR-2 和 Ki67 的表达与胃癌分化类型、胃癌分期、是否伴有浆膜浸润及淋巴结转移不同组间均无显著性差异; 但 SS 胃癌分化差者, SS 表达降低. 除在胃重度不典型增生组织中 Ki67 与 SS 无相关外, Ki67 与各指标间在各种组织中的表达均存在显著正相关 ($P < 0.01$).

结论: SS, SSTR-1, SSTR-2 和 Ki67 在胃癌的发生、发

展中相互作用,可作为胃癌的生物学行为指标。

李秋萍, 李红梅, 王全红. 胃癌组织中生长抑素及其受体的表达及与Ki67的相关性. 世界华人消化杂志 2004;12(11):2547-2550

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2547.asp>

0 引言

胃癌是严重危害人类健康最常见的癌症之一, 占我国癌发病和死亡率之首, 且有逐年上升趋势, 因而探讨胃癌的发生发展机制具有重要的意义. 研究表明, 生长抑素(somatostatin, SS)对胃肠肿瘤细胞的生长具有抑制作用^[1-3], 胃癌组织中存在SS受体(SSTR)^[4-5]. 但SS及其SSTR在胃癌组织中表达的意义、以及与其他具有调节细胞生长作用的因子如Ki67的相互关系尚不十分清楚. 我们采用免疫组化二步法, 在同一切片上显示SS, SSTR-1, SSTR-2和Ki67, 探讨了各指标的表达与胃癌部位、分化、分期、淋巴结转移和浆膜浸润等的关系如下.

1 材料和方法

1.1 材料 胃组织石蜡包埋组织100例取自山西省肿瘤医院病理科, 其中胃癌组织(男39例, 女21例, 年龄31-80(平均59岁)60例, 胃良性组织(男19例, 女9例, 年龄31-73(平均56岁)28例, 胃重度非典型增生组织(男7例, 女5例, 年龄44-72(平均57岁)12例. 良性组织取自距肿瘤5 cm以外. 所有的组织均行病理组织学检查确诊. 胃癌分化好组36例(乳头状腺癌4例、管状腺癌32例); 分化差组24例(低分化腺癌11例, 黏液腺癌9例, 印戒细胞癌3例, 未分化癌1例); I b期4例, II期18例, III a期28例, III b期6例, IV期4例. 兔抗人SS多抗, 兔抗人SSTR-1多抗, 鼠抗人Ki67单抗均购自福州迈新生物技术开发有限公司. 兔抗人

SSTR-2多抗购自武汉博士德生物工程有限公司.

1.2 方法 采用免疫组化二步法在同一切片上进行SS, SSTR-1 SSTR-2和Ki67染色. 将100例标本按13×8制作成组织芯片. 常规切成4 μm的石蜡切片. 脱蜡、水化组织切片; 30 mL/L过氧化氢孵育5 min, 以阻断内源性过氧化物酶; 根据所应用的一抗的特殊要求, 对组织切片进行预处理; 滴加小鼠(或兔)来源的一抗, 室温30-60 min, PBS或TBS冲洗, 2 min×3; 滴加山羊抗小鼠(或兔)IgG抗体-HRP多聚体, 20 min, PBS或TBS冲洗, 2 min×3; 应用DAB溶液染色; 蒸馏水冲洗、复染、脱水、封片. SS, SSTR-1, SSTR-2, Ki67染色阳性均呈棕黄色, SS阳性位于胞质和核膜上. SSTR-1, SSTR-2阳性主要在胞质中, 呈颗粒状. 评分按着色细胞百分数判定, Ki67: 0分: 阴性(-)阳性细胞数<10%, 1分: 弱阳性(+)阳性细胞数10-25%, 2分: 中等阳性(++)阳性细胞数25-70%, 3分: 强阳性(+++)阳性细胞数>70%. 其余各项指标评分标准为: 0分: 阴性(-)未见阳性细胞, 1分: 弱阳性(+)阳性细胞数<25%, 2分: 中等阳性(++)阳性细胞数25-50%, 3分: 强阳性(+++)阳性细胞数>50%.

统计学处理 Kruskal Wallis 检验、秩和检验及等级相关分析. $P<0.05$ 为差异有显著意义.

2 结果

2.1 胃癌SS, SSTR-1, SSTR-2和Ki67的表达 除SS外, SSTR-1, SSTR-2和Ki67在3种组织中的表达存在显著性差异($P<0.01$, 表1). 若以1, 2, 3为阳性合并计算则可发现, SS在胃癌组织、胃重度不典型增生组织、胃良性组织的阳性表达率分别为33.3%, 58.3%, 57.1%, 即SS在胃癌组织中的表达较其余两组有降低趋势. 对SSTR-1, SSTR-2和Ki67在3种组织中的两两比较结果显示(表2): SSTR-1在胃重度不典型增生组织

表1 SS, SSTR-1, SSTR-2和GAS在胃癌组织中的表达

分组	n	SS					SSTR-1					SSTR-2					Ki67				
		0	1	2	3	X	0	1	2	3	X	0	1	2	3	X	0	1	2	3	X
N1	60	40	9	8	3	46.3	33	12	9	6	46.9	42	8	8	2	55.7	12	20	18	10	62.7
N2	28	12	10	2	4	57.5	16	2	6	4	48.8	26	2	0	0	43.7	24	4	0	0	25.1
N3	12	5	6	0	1	55.1	2	1	5	4	72.3	12	0	0	0	40.5	3	8	1	0	48.8

N1: 胃癌组织; N2: 胃良性组织; N3: 胃重度不典型增生组织; X: 平均秩.

表2 SSTR-1, SSTR-2和Ki67表达中的两两比较

分组比	SSTR-1		SSTR-2		Ki67	
	平均秩	P	平均秩	P	平均秩	P
N1与N2	1.9	>0.05	11.96	<0.05	37.65	<0.01
N1与N3	25.37	<0.05	15.17	>0.05	13.97	>0.05
N2与N3	23.47	<0.05	3.21	>0.05	23.68	<0.05

N1: 胃癌组织; N2: 胃良性组织; N3: 胃重度不典型增生组织

表3 胃癌部位与 SS, SSTR-1, SSTR-2 和 Ki67 的表达

部位	<i>n</i>	SS				SSTR-1				SSTR-2				Ki67			
		0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
胃窦	9	5	2	1	1	7	1	0	1	6	1	1	1	2	2	5	0
胃体	15	10	5	0	0	5	6	4	0 ^b	10	3	2	0	5	2	5	3
贲门	36	25	2	7	2	21	5	5	5	26	4	5	1	5	16	8	7

^b $P < 0.01$ vs 其余两部位, 秩和检验.

表4 SS, SSTR-1, SSTR-2 和 Ki67 表达与胃癌临床病理参数的关系

组别	<i>n</i>	SS				SSTR-1				SSTR-2				Ki67			
		0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
分化类型: 差	24	14	5	4	1	12	6	4	2	17	4	3	0	6	9	5	4
好	36	26	4	4	2	21	6	5	4	25	4	5	2	6	11	13	6
胃癌分期: I+II	22	16	2	2	2	11	3	3	5	13	3	5	1	3	9	8	2
III+IV	38	24	7	6	1	22	9	6	1	29	5	3	1	9	11	10	8
浆膜浸润: 有	15	10	2	2	1	8	4	3	0	12	2	1	0	5	5	3	2
无	45	30	7	6	2	25	8	6	6	30	6	7	2	7	15	15	8
淋巴结转移: 有	50	33	9	6	2	27	10	8	5	37	6	6	1	12	16	14	8
无	10	7	0	2	1	6	2	1	1	5	2	2	1	0	4	4	2

表5 Ki67 与 SS, SSTR-1, SSTR-2 的相关分析

两两相关	胃癌组织		胃良性组织		重度不典型增生	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
Ki67-SS	0.793	0.000	0.649	0.000	-	-
Ki67-SSTR-1	0.903	0.000	0.768	0.000	0.772	0.003
Ki67-SSTR-2	0.766	0.000	0.679	0.000	0.821	0.001

中的表达与其余两组间存在显著性差异($P < 0.05$); SSTR-2在胃癌组织与胃良性组织中存在显著性差异($P < 0.05$); Ki67在胃良性组织中的表达与其余两组间均存在显著性差异, 与胃癌组织比较 $P < 0.01$, 与胃重度不典型增生组织比较 $P < 0.05$.

2.2 胃癌部位与 SS, SSTR-1, SSTR-2 和 Ki67 表达 SSTR-1在胃体胃癌明显高于其余两组($P < 0.01$). 若以1, 2, 3为阳性合并计算则可发现, SS在胃窦、胃体和胃底贲门的阳性表达率分别为44.4%, 33.3%, 30.5%(表3).

2.3 SS, SSTR-1, SSTR-2 和 Ki67 表达与胃癌临床病理参数的关系 各指标在胃癌分化类型、胃癌分期、是否伴有浆膜浸润及淋巴结转移不同组间均无显著性差异. 但若以1, 2, 3为阳性合并计算则可发现, SS在胃癌分化好组和分化差组的阳性表达率分别为41.6%, 27.7%, 也即分化差者, SS表达率低(表4).

2.4 Ki67 与 SS, SSTR-1, SSTR-2 的相关分析 除在胃重度不典型增生组织中 Ki67 与 SS 无相关外, Ki67 与各指标间在各种组织中的表达均存在显著正相关($P < 0.01$, 表5).

3 讨论

生长抑素(SS)分布广泛, 作用多样, 消化道是其主要的的作用部位之一. SS的生物学作用主要是通过与其细胞表面的 SS 受体(SSTR)结合, 继而活化受体后信号转导通路而产生的. 目前已发现并克隆、鉴定出5种亚型^[6-9], 按发现的顺序分别命名为 SSTR1-5. 研究表明, SSTR-1 和 SSTR-2 介导 SS-14 和其类似物 RC160 对细胞生长的抑制作用, 且该作用可能与酪氨酸磷酸酶活性增高有关. SSTR-2 与胃酸分泌、组织胺及胃泌素的释放等关系密切^[9]. 胃癌组织不仅分泌 SS, 而且表达 SSTR, 这在许多的基础和临床实验中得到证实^[1-4]. 本结果显示, 胃癌组织 SS 表达较胃良性组织和胃重度不典型增生组织有降低趋势; 分化差的胃癌组较分化好组的 SS 表达有降低趋势. 以上结果虽无统计学差异, 但亦可提示胃癌组织的分化程度与 SS 水平有一定的关联: 即胃癌分化程度越差, SS 表达水平越低. 推测可能与 SS 的抑制肿瘤作用有关. 我们还发现 SS 表达在胃底贲门癌较胃窦癌和胃体癌有降低趋势, 这可能是贲门癌患者手术后容易复发, 生存期短的原因之一, 因 SS 低表达可导致 SS 对

肿瘤演进过程中调控作用减弱. SS表达与胃癌分期、浆膜浸润、淋巴结转移等无关.

我们发现,胃重度不典型增生组织SSTR-1表达升高,胃癌组织SSTR-2的表达升高.由于SSTR-1和SSTR-2介导SS-14和其类似物RC160对细胞生长的抑制作用,因而推测在胃癌进展中两种受体均对胃癌的发生、发展有调控作用,只是在病变早期可能是SSTR-1介导为主,而在晚期则以SSTR-2介导为主.

Ki67是应用最广泛的增生细胞标记之一.研究发现,Ki67有可能作为确定癌前人群高危个体的生物标志物^[10].目前对Ki67与胃癌关系的研究报道较少,且对其意义尚存在争议^[11-12].我们的研究表明,Ki67表达在胃癌及胃重度不典型增生时的表达均显著高于胃良性组织,因而检测Ki67表达有助于胃癌的早期诊断.但进一步分析表明,Ki67表达与胃癌部位、胃癌分化程度、分期、浆膜浸润、淋巴结转移等无关,这与的结果相一致.细胞癌变是多基因多步骤的复杂过程,涉及许多调控生长因子,包括癌基因、抑癌基因、生长因子以及肿瘤病毒等细胞本身或外来因素的作用.Ki67是与肿瘤增生活性密切相关的重要因素,而SS及受体则主要有抑制肿瘤生长的作用.国内外尚未发现有对Ki67与SS,SSTR-1,SSTR-2等在胃癌时同时研究,并进行相关分析的报道.研究结果显示,Ki67与SS,SSTR-1,SSTR-2间存在明显正相关关系,由于Ki67在胃重度不典型增生组织中即有显著增加,因而推测SS,SSTR-1,SSTR-2的变化可能与Ki67的高表达有关,SSTR-1,SSTR-2在胃重度不典型增生和胃癌组织中的高表达有可能代偿性地增加SS对细胞生长的抑制作用.有关二者在胃癌发生、发展中的确切关系和生物化学机制,还有待进一步探讨.

致谢: 山西省肿瘤医院病理科全体同仁的帮助;山西医科大学汾阳学院统计学教研室张兴教授、高淑红老师,护理学系杨黑女老师的支持.

4 参考文献

- 1 王消冰,王绪,张南征.生长抑素与胃癌.世界华人消化杂志 2001;9:1185-1189
- 2 Kwekkeboom DJ, Krenning EP. Somatostatin receptor imaging. *Semin Nucl Med* 2002;32:84-91
- 3 Hofland LJ, Lamberts SW. Somatostatin receptor subtype expression in human tumors. *Ann Oncol* 2001;12(Suppl 2):S31-36
- 4 Breeman WA, de Jong M, Kwekkeboom DJ, Valkema R, Bakker WH, Kooij PP, Visser TJ, Krenning EP. Somatostatin receptor-mediated imaging and therapy: basic science, current knowledge, limitations and future perspectives. *Eur J Nucl Med* 2001;28:1421-1429
- 5 林静,王超,景燕,庞有成,杨红,乔进朋,陈勃,姚希贤.胃癌组织中内分泌细胞的表达及与细胞凋亡的关系.世界华人消化杂志 2000;8:1054-1055
- 6 de Herder WW, Lamberts SW. Somatostatin and somatostatin analogues: diagnostic and therapeutic uses. *Curr Opin Oncol* 2002;14:53-57
- 7 Culler MD, Taylor JE, Moreau JP. Somatostatin receptor subtypes: targeting functional and therapeutic specificity. *Ann Endocrinol (Paris)* 2002;63(2 Pt 3):2S5-12
- 8 Janecka A, Zubrzycka M, Janecki T. Somatostatin analogs. *J Pept Res* 2001;58:91-107
- 9 Hofslie E. The somatostatin receptor family-a window against new diagnosis and therapy of cancer. *Tidsskr Nor Laegeforen* 2002;122:487-491
- 10 江学良,傅丽娜. Ki67在大肠肿瘤研究中的应用. 复旦学报(医学科学版) 2001;28:372-374
- 11 Zolota V, Batistatou A, Tsamandas AC, Iliopoulos G, Scopa CD, Bonikos DS. Immunohistochemical expression of TGF-beta1, p21WAF1, p53, Ki67, and angiogenesis in gastric carcinomas: a clinicopathologic study. *Int J Gastrointest Cancer* 2002;32:83-89
- 12 Fricke E, Keller G, Becker I, Rosivatz E, Schott C, Plaschke S, Rudelius M, Hermannstadter C, Busch R, Hofler H, Becker KF, Luber B. Relationship between E-cadherin gene mutation and p53 gene mutation, p53 accumulation, Bcl-2 expression and Ki-67 staining in diffuse-type gastric carcinoma. *Int J Cancer* 2003;104:60-65
- 13 Testino G, Gada D, De Iaco F, Cornaggia M. p53 and Ki-67 expression in epithelial gastric dysplasia and in gastric cancer. *Panminerva Med* 2002;44:369-371
- 14 Nagasako Y, Misawa K, Kohashi S, Hasegawa K, Okawa Y, Sano H, Takada A, Sato H. Evaluation of malignancy using Ki-67 labeling index for gastric stromal tumor. *Gastric Cancer* 2003;6:168-172
- 15 Kim KM, Oh YL, Ko JS, Choe YH, Seo JK. Histopathology and expression of Ki-67 and cyclooxygenase-2 in childhood *Helicobacter pylori* gastritis. *J Gastroenterol* 2004;39:231-237