

# 胃癌组织中 $\beta$ -catenin及nm23H<sub>1</sub>的表达及其临床意义

王轶淳, 孙明军, 傅宝玉

## ■背景资料

在恶性肿瘤中, 胃癌的发病率非常高, 而其侵袭及转移是影响患者预后的主要原因。本文通过对胃癌组织中 $\beta$ -catenin和nm23H<sub>1</sub>表达的研究, 探讨其在胃癌的侵袭及转移中的相互作用, 为以后的进一步研究打下基础。

王轶淳, 孙明军, 中国医科大学附属第一医院内镜中心 辽宁省沈阳市 110001

傅宝玉, 中国医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省沈阳市 110001

王轶淳, 2006年中国医科大学博士毕业, 主要从事内镜及胃癌方面的研究。

通讯作者: 王轶淳, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院内镜中心。

susanwyichun@yahoo.com

电话: 024-83282108 传真: 024-22703576

收稿日期: 2007-03-09 接受日期: 2007-04-21

## Clinicopathological significance of $\beta$ -catenin and nm23-H<sub>1</sub> expression in gastric carcinoma

Yi-Chun Wang, Ming-Jun Sun, Bao-Yu Fu

Yi-Chun Wang, Ming-Jun Sun, Endoscopic Center, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Bao-Yu Fu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Yi-Chun Wang, Endoscopic Center, the First Affiliated Hospital of China Medical University, 155 the north street, Heping Region Shenyang 110001, Liaoning Province, China. susanwyichun@yahoo.com

Received: 2007-03-09 Accepted: 2007-04-21

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of  $\beta$ -catenin and nm23-H<sub>1</sub> protein in gastric carcinoma, and to determine its clinicopathological significance in the invasion and metastasis of gastric carcinoma.

**METHODS:** Sixty-three paraffin-embedded specimens of gastric carcinoma and 30 of chronic superficial gastritis were investigated immunohistochemically.

**RESULTS:** The positive rate for  $\beta$ -catenin expression in gastric carcinoma was 49.2% while for nm23-H<sub>1</sub> it was 55.6%. Expression of both was markedly higher than that in chronic superficial gastritis. The expression of  $\beta$ -catenin was notably increased in gastric carcinoma with lymph node metastasis compared to that without lymph node metastasis (60.5% vs 32.0%,  $P <$

0.05), and the rate was markedly higher in low-differentiation regions of gastric carcinoma than in high-differentiation ones (63.3% vs 33.3%,  $P <$  0.05). The expression of nm23-H<sub>1</sub> in low-differentiation regions of gastric carcinoma or with lymph node metastasis was lower than that in high-differentiation regions of gastric carcinoma or without lymph node metastasis (40.0% vs 73.3%,  $P <$  0.01; and 42.1% vs 76.0%,  $P <$  0.01, respectively). Expression of  $\beta$ -catenin and nm23-H<sub>1</sub> had a negative correlation ( $r = -0.2698$ ,  $P <$  0.05).

**CONCLUSION:** The expression of  $\beta$ -catenin and nm23-H<sub>1</sub> is associated with the degree of differentiation and lymph node metastasis in gastric carcinoma. Both appear to have an important role in invasion and metastasis. nm23-H<sub>1</sub> may also have some inhibitory function for the Wnt signal pathway.

**Key Words:**  $\beta$ -catenin; nm23-H<sub>1</sub>; Gastric carcinoma, Immunohistochemistry

Wang YC, Sun MJ, Fu BY. Clinicopathological significance of  $\beta$ -catenin and nm23-H<sub>1</sub> expression in gastric carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2007;15(19):2144-2147

## 摘要

**目的:** 探讨 $\beta$ -catenin和nm23H<sub>1</sub>在胃癌组织中的表达及其与侵袭、转移的关系。

**方法:** 采用免疫组织化学方法检测63例胃癌及30例浅表性胃炎组织中 $\beta$ -catenin及nm23H<sub>1</sub>的表达情况。

**结果:** 胃癌组织中 $\beta$ -catenin阳性表达率为49.2%, nm23H<sub>1</sub>的阳性表达率为55.6%, 均明显高于浅表性胃炎, 而且低分化组及淋巴结转移阳性组 $\beta$ -catenin阳性率明显高于高分化组及淋巴结转移阴性组(63.3% vs 33.3%,  $P <$  0.05; 60.5% vs 32.0%,  $P <$  0.05), 低分化组及淋巴结转移阳性组nm23H<sub>1</sub>的阳性率明显低于高分化组及淋巴结转移阴性组(40.0% vs 73.3%,  $P <$  0.01; 42.1% vs 76.0%,  $P <$  0.01)。 $\beta$ -catenin的表达与nm23H<sub>1</sub>的表达呈负相关( $r = -0.2698$ ,

$P < 0.05$ ).

**结论:**  $\beta$ -catenin和nm23H<sub>1</sub>的表达与胃癌的分化程度及淋巴结转移有关, 二者在胃癌的侵袭和转移中发挥重要的作用, nm23H<sub>1</sub>的表达对于Wnt信号通路有一定的抑制作用.

**关键词:**  $\beta$ -catenin; nm23H<sub>1</sub>; 胃癌; 免疫组织化学

王铁淳, 孙明军, 傅宝玉. 胃癌组织中 $\beta$ -catenin及nm23H<sub>1</sub>的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2007;15(19):2144-2147  
http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2144.asp

## 0 引言

肿瘤转移是一个多步骤的复杂过程, 多种基因结构和功能的异常在这一过程中发挥重要作用.  $\beta$ -catenin是细胞中的一种多功能蛋白质, 与多种肿瘤有关. nm23是近年来研究较多的肿瘤转移抑制基因, 但是很多研究的结论却不一致. 我们应用免疫组织化学方法检测 $\beta$ -catenin及nm23H<sub>1</sub>, 探讨二者与胃癌的侵袭、转移的关系, 为临床胃癌转移的有效防治提供科学的依据.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2003/2005年中国医科大学附属第一医院肿瘤科术后大体标本, 共63例, 所有患者术前均未进行化疗或者放疗, 男40例, 女23例, 年龄范围26-78(均56)岁, 其中高分化腺癌30例, 低分化腺癌30例, 未分化癌3例, 全部病例均无临床辅助检查可见的其他脏器转移癌. 同时收集中国医科大学附属第一医院内镜中心活检标本, 慢性浅表性胃炎30例, 男20例, 女10例, 年龄范围25-68(平均46)岁. 标本常规40 g/L甲醛固定, 石蜡包埋, 制备4  $\mu$ m厚的连续切片.  $\beta$ -catenin鼠抗人mAb及nm23H<sub>1</sub> mAb工作液、PV-9000免疫组化二步法检测试剂盒购自北京中杉金桥生物技术公司. DAB显色试剂盒购自福州迈新试剂公司. 以已知阳性切片作为阳性对照, 阴性对照以PBS代替一抗, 所有标本均经常规苏木素-伊红染色, 由专业病理医生进行镜下诊断.

**1.2 方法** 采用PV-9000免疫组化二步法检测. 阳性结果判定: nm23H<sub>1</sub>主要位于癌细胞质内, 少数倍于细胞膜上, 为棕色颗粒,  $\beta$ -catenin为细胞质及细胞核中出现棕黄色颗粒, 每个标本随机观察10个高位视野, 每个视野计数100个肿瘤细胞, 着色细胞数大于10%为阳性, 全片未见着色或着色细胞数小于10%为阴性.

**统计学处理** 应用SPSS12.0软件, 采用 $\chi^2$ 检

表 1 胃癌组织 $\beta$ -catenin和nm23H<sub>1</sub>的阳性表达情况n(%)

	$\beta$ -catenin	nm23H <sub>1</sub>
分化程度		
高分化	10(33.3%) <sup>a</sup>	22(73.3%) <sup>b</sup>
低分化	19(63.3%)	12(40.0%)
未分化	2(73.3%)	1(33.3%)
淋巴结转移		
阳性	23(60.5%) <sup>c</sup>	16(42.1%) <sup>d</sup>
阴性	8(32.0%)	19(76.0%)

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 低分化组; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 阴性组.

验及Spearman等级相关分析.

## 2 结果

**2.1  $\beta$ -catenin的表达** 在30例慢性浅表性胃炎中,  $\beta$ -catenin均表达于细胞膜, 细胞质及细胞核均为阴性.  $\beta$ -catenin在63例胃癌组织中有32例为阴性, 22例表达在细胞质, 9例表达在细胞核, 阳性率为49.2%, 其中, 高分化组的阳性率为33.3%, 低分化组的阳性率为63.3%, 两组比较, 差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.4060$ ,  $P = 0.0201$ ), 未分化组的阳性率为73.3%, 因例数较少, 未进行统计学分析. 淋巴结转移阳性组的阳性率为60.5%, 淋巴结转移阴性组为32.0%, 两组比较, 差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.9060$ ,  $P = 0.0267$ )(表1).

**2.2 nm23H<sub>1</sub>的表达** nm23H<sub>1</sub>在30例慢性浅表性胃炎中均为阴性. 在63例胃癌组织中, 28例为阴性, 35例为阳性, 阳性率为55.6%, 其中, 高分化组的阳性率为73.3%, 低分化组的阳性率为40.0%, 两组比较, 差异有统计学意义( $\chi^2 = 6.7873$ ,  $P = 0.0092$ ), 未分化组的阳性率为33.3%, 因例数较少, 未进行统计学分析. 淋巴结转移阳性组的阳性率为42.1%, 淋巴结转移阴性组为76.0%. 两组比较, 差异有统计学意义( $\chi^2 = 7.0162$ ,  $P = 0.0081$ )(表1).

**2.3  $\beta$ -catenin与nm23H<sub>1</sub>表达的关系** 在nm23H<sub>1</sub>表达阳性的35例胃癌组织中,  $\beta$ -catenin阳性13例, 阴性22例, 在nm23H<sub>1</sub>表达阴性的28例胃癌组织中,  $\beta$ -catenin阳性18例, 阴性10例, 经统计学处理,  $\beta$ -catenin的表达与nm23H<sub>1</sub>的表达呈负相关( $r = -0.2698$ ,  $P = 0.0325$ )(表2).

## 3 讨论

$\beta$ -catenin具有细胞黏附和信号传导功能<sup>[1-2]</sup>, 细胞内的大部分 $\beta$ -catenin与E-cadherin形成

### ■应用要点

我们应用免疫组织化学方法检测 $\beta$ -catenin及nm23H<sub>1</sub>, 探讨二者与胃癌的侵袭、转移的关系, 为临床胃癌转移的有效防治提供依据.

# 同行评价

本文探讨了胃癌组织中 $\beta$ -catenin及nm23H<sub>1</sub>的表达及临床意义, 论证有据, 数据可信, 有一定的创新性和可读性.

E-cadherin-catenin复合体, 通过 $\alpha$ -catenin与肌动蛋白细胞骨架相连, 参与细胞间的黏附和细胞运动. E-cadherin-catenin复合体中的任一结构发生改变, 影响细胞间的连接.  $\beta$ -catenin的生成与降解处于动态平衡,  $\beta$ -catenin降解复合体包括APC蛋白、Axin蛋白、糖原合成酶激酶3 $\beta$ (GSK-3 $\beta$ )和酪蛋白激酶1 $\alpha/\epsilon$ 等, 胞膜上的Wnt信号活化后使胞质内散乱蛋白激活而被磷酸化, 抑制 $\beta$ -catenin降解复合体降解 $\beta$ -catenin,  $\beta$ -catenin降解复合体异常(如APC或Axin突变等)和 $\beta$ -catenin基因本身突变均可以导致 $\beta$ -catenin降解障碍, 在胞质内积累, 当细胞内单聚体的 $\beta$ -catenin增多, 与作为转录因子的DNA结合蛋白Tcf/Lef结合, 进入细胞核内后, 与相应的DNA结合, 促进靶基因(如C-myc、cyclin D1、MMP-7等)的持续转录<sup>[3-5]</sup>. 而当 $\beta$ -catenin在细胞膜的表达减弱或缺失, 使 $\alpha$ -catenin无法与cadherin相连接, 影响细胞间的正常连接, 细胞失去黏附功能, 导致细胞分散, 癌细胞表型改变, 获得转移、侵袭的能力. 本研究中,  $\beta$ -catenin在胃癌细胞膜的表达缺失, 细胞质及细胞核中的阳性表达明显高于浅表性胃炎, 而且低分化组以及淋巴结转移组中的表达率明显高于高分化组和无淋巴结转移组. 在未分化癌组的阳性率很高, 但是因为例数少, 没有进行统计学分析.

nm23基因定位于染色体17q21.3-22, 长约10 kb, 编码的产物为核苷二磷酸激酶(NDPK). NDPK是一类广泛存在的酶, 至少参与两个在肿瘤和发育上起重要作用的功能, 即微管的聚合/解聚和G蛋白介导的信号传导<sup>[6-7]</sup>. 微管的聚合/解聚需要由NDPK介导的转磷酸酶作用所提供的GTP, 因此, nm23蛋白的改变, 一方面可以使微管聚合异常, 而引起减数分裂时纺锤体的异常, 从而导致癌细胞染色体非整数倍的形成, 促进肿瘤的发展; 而另一方面, 可以通过影响细胞骨架而引起细胞运动, 参与浸润、转移过程. NDPK的第二个功能是在信号传导的过程中使GDP还原成GTP, 激活G蛋白, 参与肿瘤的进展和转移<sup>[8]</sup>. 大量研究显示, nm23基因缺失或表达降低与多种肿瘤的发生和转移密切相关, 而且nm23基因有可能是肿瘤转移调控过程中的上游基因<sup>[9]</sup>. 对于nm23基因抑制肿瘤转移的作用, 目前尚存在争议. nm23基因在乳腺癌<sup>[10]</sup>等恶性肿瘤中的表达与肿瘤抑制、良好预后有关, 而另外的报道<sup>[11]</sup>指出, nm23基因表达与肿瘤侵袭及预后不良有关. 本研究发现, 在胃癌组织中nm23H<sub>1</sub>表达率明显高于浅表性胃炎组织, 表明

表 2 胃癌 $\beta$ -catenin与nm23H<sub>1</sub>表达的关系(n)

nm23H <sub>1</sub>	$\beta$ -catenin		合计
	阳性	阴性	
阳性	13	22	35
阴性	18	10	28
合计	31	32	63

nm23H<sub>1</sub>参与胃癌的发生过程, 而在低分化组以及淋巴结转移组中, nm23H<sub>1</sub>的阳性表达率明显降低, 表明nm23H<sub>1</sub>参与胃癌组织分化的调节, 并且在淋巴结转移过程中发挥重要的负性调控作用.

肿瘤的发生和发展过程中存在多种基因结构或功能的改变, 先发生改变的基因(上游基因)可能是其他基因(下游基因)改变的原因. 上游基因在肿瘤的发生、发展中可能起更关键的作用. 大量研究显示, nm23具有转移抑制功能, 肿瘤中nm23基因很少发生突变, 转移抑制与NDPK活性无关<sup>[12]</sup>, 而与nm23基因的表达水平有关. nm23的过度表达常引起癌细胞对某些信号的反应性降低. nm23与其他蛋白间的交互作用影响下游的信号传导可能在nm23调节肿瘤转移中占有重要地位. nm23调节细胞信号传导与G蛋白活性和其基因中的G蛋白信号调控序列(regulator of G protein signaling, RGS)序列有关, 而RGS是Wnt信号通路蛋白Axin的重要功能域. 在Wnt通路中,  $\beta$ -catenin起关键的信号传递作用, 其生成与降解处于一种动态平衡状态, 细胞中的GSK-3 $\beta$ 可以使 $\beta$ -catenin磷酸化, 通过蛋白分解系统降解 $\beta$ -catenin, Axin在 $\beta$ -catenin降解复合体中起支架蛋白的作用<sup>[13]</sup>. Wnt通路激活时, 细胞内的GSK-3 $\beta$ 活性被抑制,  $\beta$ -catenin的氨基末端的Ser、Thr四个信号不被磷酸化而降解,  $\beta$ -catenin进入细胞核, 促进Tcf/Lef的转录<sup>[14]</sup>. 在转染nm23H<sub>1</sub>的肺癌细胞株中<sup>[15]</sup>, GSK-3 $\beta$ 的表达上调, 酶活性增强. 本研究中, 高分化组和淋巴结转移阴性组 $\beta$ -catenin的表达明显低于低分化组和淋巴结转移阳性组, 而nm23H<sub>1</sub>在高分化组和淋巴结转移阴性组的表达却高于低分化组和淋巴结转移阳性组, 考虑在胃癌的恶性转化及侵袭、转移过程中, nm23H<sub>1</sub>可能通过上调GSK-3 $\beta$ , 对 $\beta$ -catenin的表达起到一定的抑制作用. 考虑在胃癌的进展过程中, nm23H<sub>1</sub>的表达对于Wnt信号通路有一定的抑制作用, 可能通过靶向抑制Wnt信号而调节 $\beta$ -catenin蛋白的表达, 从而发挥转移抑制的作用.



## 4 参考文献

- 1 Gumbiner BM. Signal transduction of beta-catenin. *Curr Opin Cell Biol* 1995; 7: 634-640
- 2 Cui J, Zhou X, Liu Y, Tang Z, Romeih M. Wnt signaling in hepatocellular carcinoma: analysis of mutation and expression of beta-catenin, T-cell factor-4 and glycogen synthase kinase 3-beta genes. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 280-287
- 3 He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, da Costa LT, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science* 1998; 281: 1509-1512
- 4 Bhatia M, Wallig MA, Hofbauer B, Lee HS, Frossard JL, Steer ML, Saluja AK. Induction of apoptosis in pancreatic acinar cells reduces the severity of acute pancreatitis. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 246: 476-483
- 5 Brabletz T, Jung A, Dag S, Hlubek F, Kirchner T. beta-catenin regulates the expression of the matrix metalloproteinase-7 in human colorectal cancer. *Am J Pathol* 1999; 155: 1033-1038
- 6 Hartsough MT, Morrison DK, Salerno M, Palmieri D, Ouatas T, Mair M, Patrick J, Steeg PS. Nm23-H1 metastasis suppressor phosphorylation of kinase suppressor of Ras via a histidine protein kinase pathway. *J Biol Chem* 2002; 277: 32389-32399
- 7 Roymans D, Willems R, Van Blockstaele DR, Slegers H. Nucleoside diphosphate kinase (NDPK/ NM23) and the waltz with multiple partners: possible consequences in tumor metastasis. *Clin Exp Metastasis* 2002; 19: 465-476
- 8 Postel EH. NM23-NDP kinase. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30: 1291-1295
- 9 Tomita M, Ayabe T, Matsuzaki Y, Edagawa M, Maeda M, Shimizu T, Hara M, Onitsuka T. Expression of nm23-H1 gene product in esophageal squamous cell carcinoma and its association with vessel invasion and survival. *BMC Cancer* 2001; 1: 3
- 10 Freije JM, MacDonald NJ, Steeg PS. Nm23 and tumour metastasis: basic and translational advances. *Biochem Soc Symp* 1998; 63: 261-271
- 11 Muller W, Schneiders A, Hommel G, Gabbert HE. Expression of nm23 in gastric carcinoma: association with tumor progression and poor prognosis. *Cancer* 1998; 83: 2481-2487
- 12 Salerno M, Ouatas T, Palmieri D, Steeg PS. Inhibition of signal transduction by the nm23 metastasis suppressor: possible mechanisms. *Clin Exp Metastasis* 2003; 20: 3-10
- 13 Bogenrieder T, Herlyn M. Axis of evil: molecular mechanisms of cancer metastasis. *Oncogene* 2003; 22: 6524-6536
- 14 Polakis P. Wnt signaling and cancer. *Genes Dev* 2000; 14: 1837-1851
- 15 付军科, 周清华, 朱文, 王艳萍, 刘伦旭, 陈小禾, 聂强, 李定彪, 李印. 转移nm23-H1基因靶向阻断人大细胞肺癌细胞株L9981 Wnt信号传导通路. *中国肺癌杂志* 2004; 7: 294-297

编辑 王晓瑜 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

## 欢迎订阅 2007 年《世界华人消化杂志》

本刊讯 《世界华人消化杂志》为中国科技核心期刊、2003年百种中国杰出学术期刊、《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊、中国科技论文统计源期刊,《世界华人消化杂志》发表的英文摘要被美国《化学文摘(Chemical Abstracts)》,荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica)》,俄罗斯《文摘杂志(Abstracts Journals)》收录。

《世界华人消化杂志》综合介绍以下内容: 消化基础研究、消化临床研究、消化内科、消化内镜、消化外科、消化肿瘤、消化介入治疗、消化护理、消化医学影像、消化病理、消化预防医学、消化误诊误治、消化中西医结合、消化检验、消化新技术应用、消化病诊断、消化病治疗、消化新药应用、消化专家门诊。

《世界华人消化杂志》2007年由北京报刊发行局发行,国际标准刊号 ISSN 1009-3079,国内统一刊号 CN 14-1260/R,邮发代号82-262,出版日期每月8, 18, 28日,月价72.00, 年价864元。欢迎广大消化科医务工作者及科教人员、各大图书馆订阅。联系地址: 100023, 北京市2345信箱。联系电话: 010-85381901-1020; 传真: 010-85381893; E-mail: wcjd@wjgnet.com; 网址: www.wjgnet.com。