

# Runx3与Ki67分子在慢性胃炎胃黏膜肠化生及胃癌组织中的表达及相互关系

彭真, 赵治国, 刘占举, 索明果, 唐芙爱

彭真, 赵治国, 刘占举, 索明果, 唐芙爱, 郑州大学第二附属医院消化内科 河南省郑州市 450014

**作者贡献分布:** 赵治国与彭真对此文所作贡献两均等; 此课题由赵治国, 彭真及索明果设计; 研究过程由彭真与索明果操作完成; 研究所用分析工具由唐芙爱提供; 数据分析由彭真与刘占举完成; 本论文写作由彭真与刘占举完成。

**通讯作者:** 赵治国, 450014, 河南省郑州市经八路2号, 郑州大学第二附属医院消化科. zzghappy@eyou.com

电话: 0371-65261229

收稿日期: 2008-08-25 修回日期: 2008-10-28

接受日期: 2008-11-03 在线出版日期: 2008-11-28

## Expression of Runx3 and Ki67 in chronic gastritis with intestinal metaplasia and gastric carcinoma and their correlations

Zhen Peng, Zhi-Guo Zhao, Zhan-Ju Liu, Ming-Guo Suo, Fu-Ai Tang

Zhen Peng, Zhi-Guo Zhao, Zhan-Ju Liu, Ming-Guo Suo, Fu-Ai Tang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450014, Henan Province, China

**Correspondence to:** Zhi-Guo Zhao, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 2 Jingba Road, Zhengzhou 450014, Henan Province, China. zzghappy@eyou.com

Received: 2008-08-25 Revised: 2008-10-28

Accepted: 2008-11-03 Published online: 2008-11-28

## Abstract

**AIM:** To examine the expression and roles of Runx3 and Ki67 in the process of the intestinal metaplasia as well as their roles in gastric carcinogenesis.

**METHODS:** Immunohistochemical staining was used to examine the expression and correlation of Runx3 and Ki67 in 92 cases of gastric specimens, including 15 cases of normal gastric mucosa, 30 cases of intestinal metaplasia and 47 cases of gastric cancer. The relationship between their expressions and histological types or biological behavior was analyzed.

**RESULTS:** Runx3 was expressed in all normal gastric mucosa. Compared with normal gas-

tric mucosa a significantly lower expression was found in chronic gastritis with intestinal metaplasia and in gastric cancer (26.7%, 10.6% vs 100%, both  $P < 0.01$ ). The expression rate of Ki67 was higher in gastric cancer than in chronic gastritis with intestinal metaplasia (40%, 74.5% vs 2%, both  $P < 0.01$ ). In gastric carcinoma, the expression of Runx3 was related to differential degree of tumor, serosal infiltration and metastasis to lymph nodes ( $\chi^2 = 7.729, 7.661, 4.656, P = 0.021, 0.006, 0.031$ ). The expression of Ki67 was related to differential degree of tumor, serosal infiltration and histological types ( $\chi^2 = 6.758, 4.019, 9.740, P = 0.034, 0.045, 0.002$ ). There was a negative correlation between the Runx3 expression and Ki67 expression in chronic gastritis with intestinal metaplasia or in gastric cancer ( $r = -0.453, P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Runx3 and Ki67 might be utilized jointly to screen for high-risk population and early diagnosis of gastric cancer.

**Key Words:** Runx3; Ki67; Intestinal metaplasia; Gastric cancer; Immunohistochemical staining

Peng Z, Zhao ZG, Liu ZJ, Suo MG, Tang FA. Expression of Runx3 and Ki67 in chronic gastritis with intestinal metaplasia and gastric carcinoma and their correlations. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(33): 3801-3804

## 摘要

**目的:** 探讨人类runt相关转录因子3(Runx3)和Ki67分子在慢性胃炎胃黏膜肠化生和胃癌发生、发展中的作用及二者的相互关系, 分析两者在胃黏膜肠化生和癌变过程中的作用。

**方法:** 采用免疫组化SP法对92例正常胃黏膜、胃黏膜肠化生及胃癌标本进行Runx3和Ki67染色。分析Runx3和Ki67在慢性胃炎胃黏膜肠化生和胃癌中的表达, 以及与胃癌组织学类型和生物学行为关系, 并分析Runx3和Ki67表达的相互关系。

**结果:** Runx3在胃黏膜肠化生和胃癌组织的

## ■背景资料

Runx3是迄今为止约10余种胃癌相关基因中与胃癌关系最密切的抑癌基因。可能是胃癌发生发展中的关键性基因。目前研究表明Runx3作用机制与TGF- $\beta$ 信号转导通路和细胞凋亡密切相关; Ki67与细胞分裂有关, 是目前应用最广泛的增殖细胞标记之一, 检测两者在胃癌发生发展中的作用有助于癌及其癌前病变的早期发现, 对指导临床治疗有一定意义。

## ■同行评议者

秦成勇, 教授, 山东省立医院消化内科

## ■研发前沿

有关Runx3基因表达调节的作用机制是否与其他癌基因和(或)抑癌基因存在相关作用尚不十分清楚。Ki67被认为是能较可靠地全面地反映细胞群体增殖活性的客观指标,但国内外研究Ki67与胃癌发生、发展的报道少见。

表达明显低于正常胃黏膜(26.7%, 10.6% vs 100%, 均 $P<0.01$ )。而Ki67分子在胃黏膜肠化生与胃癌中的表达率明显高于正常胃黏膜(40%, 74.5% vs 2%, 均 $P<0.01$ )。Runx3的表达与胃癌的分化程度、浆膜浸润、淋巴结转移有关( $\chi^2=7.729, 7.661, 4.656, P=0.021, 0.006, 0.031$ ), Ki67的表达与分化程度、浆膜浸润、胃癌组织学类型有关( $\chi^2=6.758, 4.019, 9.740, P=0.034, 0.045, 0.002$ )。Runx3和Ki67在胃黏膜肠化生和胃癌中表达呈显著负相关( $r=-0.453, P<0.01$ )。

**结论:** 检测Runx3和Ki67表达可能有助于胃癌高危人群,尤其是慢性胃炎患者伴有肠化生-胃癌演变过程的人群的筛查、早期诊断。

**关键词:** Runx3; Ki67; 胃黏膜肠化生; 胃癌; 免疫组织化学染色

彭真, 赵治国, 刘占举, 索明果, 唐关爱. Runx3与Ki67分子在慢性胃炎胃黏膜肠化生及胃癌组织中的表达及相互关系. 世界华人消化杂志 2008; 16(33): 3801-3804  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/3801.asp>

## 0 引言

研究发现, Runx3是与胃癌关系较为密切的抑癌基因,在调控细胞生长发育和凋亡过程中发挥重要的转录作用。而Ki67是公认的全面反映细胞群体增殖活性的可靠且客观的指标,其表达与细胞周期密切相连<sup>[1]</sup>,本课题采用免疫组织化学SP法联合检测Runx3及Ki67在正常胃黏膜、胃黏膜肠化生和胃癌组织中的表达及其相互关系,旨在探讨他们在肿瘤发生发展中的机制和协同作用以及与胃癌临床病理特征的内在联系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集郑州大学第二附属医院病理科2005-01/2007-08存档石蜡标本92例,包括胃镜下正常胃黏膜石蜡标本15例;病理证实肠化生性胃炎肠化胃黏膜石蜡标本30例;同期手术切除胃癌组织石蜡标本47例(按分化程度:高分化6例,中分化15例,低分化26例),要求有详细临床资料,患者术前均未行放疗及化疗,标本经病理证实,胃癌组织学分型采用Lauren分型,包括肠型胃癌21例和弥漫型胃癌26例。兔抗人Runx3单克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司,兔抗人Ki-67多克隆抗体,SP免疫组化试剂盒购自中杉金桥生物技术有限公司。

**1.2 方法** 采用免疫组化SP法进行Runx3和Ki-67

表 1 Runx3和Ki67与组织学分级的关系 (n)

分组	n	Runx3		Ki67	
		+	-	+	-
正常	15	15	0	3	12
胃黏膜肠化生	30	8	22	12	18
高分化胃癌	6	2	4	2	4
中分化胃癌	15	3	12	11	4
低分化胃癌	26	0	26	22	4

染色。实验步骤严格按试剂盒说明书操作。石蜡切片脱蜡,以微波枸橼酸盐进行抗原修复, DAB显色,苏木精复染,脱水,透明封片,显微镜下观察,用已知标准的Runx3和Ki67表达阳性的胃癌组织切片作为阳性对照,用磷酸盐缓冲液(PBS)代替I抗,作为阴性对照。阳性结果判定: Runx3阳性结果为细胞膜和(或)细胞质为棕褐色, Ki-67阳性结果为细胞核为棕褐色,每张切片均由两位有经验的病理医师在400倍显微镜下观察5个视野,每个视野200个细胞,然后计算阳性细胞百分率。判定标准: 阳性细胞数 $\leq 5\%$ 为阴性(-), 阳性细胞数 $>5\%$ 为阳性(+).

**统计学处理** 统计学应用SPSS11.0软件包进行统计学处理,根据实验资料要求,选用 $\chi^2$ 检验进行数据分析,以 $P<0.05$ 为差异具有显著性。

## 2 结果

**2.1 Runx3和Ki67在慢性胃炎胃黏膜肠化生和胃癌中表达** Runx3表达在正常胃黏膜(100%)、胃黏膜肠化生(26.7%)和胃癌(10.6%)中的表达差异有统计学意义( $P<0.01$ )。Ki67的表达在正常胃黏膜(2%)、胃黏膜肠化生(40%)、胃癌(74.5%)中呈递升趋势,并在低分化胃癌组织中呈表达高峰(表1)。

**2.2 Runx3和Ki67与胃癌组织学类型和生物学行为关系** 胃癌组织学类型采用Lauren分型。结果表明, Runx3与组织学分型无关, Ki67在弥漫型中的表达高于肠型( $P<0.05$ );肿瘤生物学行为按有无浆膜浸润和淋巴结转移各分两组, Runx3在有浆膜浸润组和淋巴结转移组的表达低于无浆膜浸润组和无淋巴结转移组( $P<0.05$ ), Ki67在有浆膜浸润组的表达高于无浆膜浸润组( $P<0.05$ ), Ki67表达与有无淋巴结转移无关(表2)。

**2.3 Runx3和Ki67表达相互关系** 77例慢性胃炎胃黏膜肠化生和胃癌组织, 13例Runx3表达阳性, 47例Ki67表达阳性; 64例Runx3表达阴性, 30例Ki67表达阴性; 统计学分析两者呈负相关( $r=-0.453, P<0.01$ )。

## ■相关报道

郭长青 *et al* 研究发现, Ki67核抗原的表达与胃癌的侵袭、低分化、淋巴结转移显著相关。田丽峰 *et al* 研究表明Ki67表达与胃不典型增生程度、分化程度、组织学类型有关,与EGFR有协同作用。徐佳 *et al* 研究发现Ki67指数和浸润深度、淋巴结转移有关。陈玉芳 *et al* 研究提示胃癌恶性度低, Ki67指数低,反之则高。

表 2 Runx3和Ki67与临床病理参数关系

	<i>n</i>	Runx3				Ki67			
		+	-	$\chi^2$	<i>P</i>	+	-	$\chi^2$	<i>P</i>
Lauren分型									
弥漫型	26	2	24	0.531	0.466	24	2	9.740	0.002
肠型	21	3	18			11	10		
浸润浆膜									
有	34	1	33	7.661	0.006	28	6	4.019	0.045
无	13	4	9			7	6		
淋巴结转移									
有	30	1	29	4.656	0.031	22	8	0.056	0.813
无	17	4	13			13	4		

## ■应用要点

检测Runx3和Ki67表达可能有助于胃癌高危人群,尤其是慢性胃炎患者伴有肠化生-胃癌演变过程的人群的筛查、早期诊断。

## 3 讨论

动物研究发现Runx3选择性地表达在凋亡明显的胃黏膜上皮细胞,而在增生活跃的干细胞带未发现Runx3表达,提示Runx3可能是与TGF- $\beta$ 介导的细胞生长和凋亡调控有关的重要抑癌基因<sup>[2-3]</sup>。TGF- $\beta$ 是许多细胞的有效抑制因子(如上皮细胞、内皮细胞、淋巴细胞等),TGF- $\beta$ 信号紊乱将导致多种肿瘤的发生<sup>[4]</sup>。在TGF- $\beta$ 信号传导过程中,被激活的Smad复合物需在Runx蛋白(包括Runx3)指导下才能从胞质内转入核内特定的靶位点,并加强Smad蛋白与靶位点的结合强度,Smad蛋白与Runx3转录因子相互作用共同调控靶基因的转录,因此Runx3蛋白在TGF- $\beta$ /Runx3/Smad信号传导通路中起着非常重要的作用,Runx3功能的改变可以影响TGF- $\beta$ 信号的活动,进而在胃癌的发生过程中起着重要的作用<sup>[5]</sup>。宋军民 *et al*<sup>[6]</sup>应用Western blot法检测了26例胃癌及相应的癌旁正常组织的Runx3蛋白表达,结果表明胃癌组Runx3蛋白表达明显低于癌旁组,而且Runx3蛋白的表达与肿瘤的分化程度有关。Runx3失活不表达蛋白时,TGF- $\beta$ 凋亡传导通路受到影响,胃黏膜凋亡抑制,胃黏膜无限制的增生,发生胃癌。Runx3除对胃黏膜上皮的异常增生有影响外,还与其肠化生有关。曾有报道指出,在人体胃组织中,Runx3<sup>+/+</sup>能诱导胃黏膜上皮肠化生<sup>[7]</sup>。但近期又发现Runx3<sup>-/-</sup>的胃黏膜上皮细胞可分化成肠型胃黏膜(肠化生)。Runx3<sup>-/-</sup>还诱导能促进胃黏膜肠化生的Cdx2表达,但在正常胃黏膜中Cdx2的表达可被Runx3所抑制<sup>[8]</sup>。本研究结果表明,Runx3在正常胃黏膜中表达为阳性;在胃黏膜肠化生、胃癌组织中表达明显低于正常胃黏膜( $P<0.01$ );Runx3与胃癌的分化程度、浆膜浸润、淋巴结

转移密切相关;Runx3基因缺失可能是胃癌发生发展的重要机制之一,Runx3有望成为一个胃癌发生的生物学标记和肿瘤基因治疗的靶点,为胃癌的诊断和治疗提供新的途径。

Ki67是一种核增殖抗原<sup>[9]</sup>,存在于细胞周期的G<sub>1</sub>、S、G<sub>2</sub>、M期,G<sub>1</sub>后期开始出现,在S期和G<sub>2</sub>期逐渐升高,M期达到高峰。有丝分裂结束后迅速降解或失去其抗原决定簇。Ki67表达的高低反映了细胞增殖状态,是目前应用最广泛的增殖细胞标记之一<sup>[10]</sup>。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<sup>[11]</sup>。Ki67与胃癌关系的研究报道较多,但结论并不完全一致<sup>[12-13]</sup>。Czyzewska *et al*<sup>[12]</sup>研究证实Ki67表达与肿瘤的分化程度、Lauren分型、淋巴结转移等明显相关,与年龄、肿瘤部位无关;Oshima *et al*<sup>[13]</sup>的研究表明Ki67表达与年龄、性别、分期和预后等均无明显相关。本研究结果表明,Ki67表达与胃癌的分化程度、浆膜浸润和Lauren分型有关,检测Ki67的表达水平,有助于胃癌恶性程度的判断,对指导临床治疗有一定意义。

胃癌的发生是一个多因素、多步骤、多基因参与的过程<sup>[14-16]</sup>,胃癌中主要是腺癌,研究表明腺癌的发生是由正常黏膜-慢性炎症-萎缩-肠化生-异型增生-癌变多步骤、逐渐进展的过程,众多基因及分子改变的累积与这一演变过程密切相关<sup>[17]</sup>。在胃癌发生的多因素形成方面,肠化生是一个非常重要的癌前病变,虽然肠化生并不是伴癌状态,但因能提高胃液pH,利于细菌生长而易致癌。因此,研究这一演变过程不同阶段中众多基因表达谱的差异,有助于揭示胃癌的发生机制。本研究认为胃癌中Runx3的低表达和Ki67的表达密切相关相一致,提示推测异常增



### ■同行评价

本研究设计合理,方法正确,结论可信,具有较好的可读性和科学性。

殖的细胞中可能有Runx3抑癌基因的功能缺失, Ki67基因的表达活跃, 两方面对细胞恶变均有促进作用. Runx3基因功能异常后, 其调节TGF- $\beta$ 凋亡传导通路的作用受影响, 从而增强胃癌细胞的增殖活性, 进而使Ki67抗原表达明显增加. 因此, 免疫组化法检测胃组织中Runx3与Ki67蛋白的异常表达, 有助于癌及其癌前病变的早期发现, 并为开发新的抗癌药物和寻找新的基因治疗的靶基因提供线索和思路. 有关二者的分子和生物学机制, 还有待进一步研究和证实.

### 4 参考文献

- 1 Heaney AP, Horwitz GA, Wang Z, Singson R, Melmed S. Early involvement of estrogen-induced pituitary tumor transforming gene and fibroblast growth factor expression in prolactinoma pathogenesis. *Nat Med* 1999; 5: 1317-1321
- 2 Fukamachi H, Ito K. Growth regulation of gastric epithelial cells by Runx3. *Oncogene* 2004; 23: 4330-4335
- 3 Li QL, Ito K, Sakakura C, Fukamachi H, Inoue K, Chi XZ, Lee KY, Nomura S, Lee CW, Han SB, Kim HM, Kim WJ, Yamamoto H, Yamashita N, Yano T, Ikeda T, Itohara S, Inazawa J, Abe T, Hagiwara A, Yamagishi H, Ooe A, Kaneda A, Sugimura T, Ushijima T, Bae SC, Ito Y. Causal relationship between the loss of RUNX3 expression and gastric cancer. *Cell* 2002; 109: 113-124
- 4 Miyazono K, Suzuki H, Imamura T. Regulation of TGF-beta signaling and its roles in progression of tumors. *Cancer Sci* 2003; 94: 230-234
- 5 Otto F, Lübbert M, Stock M. Upstream and downstream targets of RUNX proteins. *J Cell Biochem* 2003; 89: 9-18
- 6 宋军民, 刘晓梅, 李岩, 韩成波. 人胃癌Runx3基因CpG岛甲基化的关键位点和演进. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 212-216
- 7 Yamamoto M, Tsukamoto T, Sakai H, Shirai N, Ohgaki H, Furihata C, Donehower LA, Yoshida K, Tatematsu M. p53 knockout mice (-/-) are more susceptible than (+/-) or (+/+) mice to N-methyl-N-nitrosourea stomach carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2000; 21: 1891-1897
- 8 Fukamachi H, Ito K, Ito Y. Runx3<sup>-/-</sup> gastric epithelial cells differentiate into intestinal type cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 321: 58-64
- 9 Yu R, Heaney AP, Lu W, Chen J, Melmed S. Pituitary tumor transforming gene causes aneuploidy and p53-dependent and p53-independent apoptosis. *J Biol Chem* 2000; 275: 36502-36505
- 10 靳玉兰, 张伟, 刘伯齐, 王洪平, 韩志楷, 韩双延, 曲平, 李莱, 丁镇伟, 林培中. 食管癌前病变及原位癌组织中Ki67、p53、iNOS的异常表达. *中华肿瘤杂志* 2001; 23: 129-131
- 11 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
- 12 Czyzewska J, Guzińska-Ustymowicz K, Lebelt A, Zalewski B, Kemon A. Evaluation of proliferating markers Ki-67, PCNA in gastric cancers. *Rocz Akad Med Białymst* 2004; 49 Suppl 1: 64-66
- 13 Oshima CT, Iriya K, Forones NM. Ki-67 as a prognostic marker in colorectal cancer but not in gastric cancer. *Neoplasma* 2005; 52: 420-424
- 14 Yasui W, Yokozaki H, Fujimoto J, Naka K, Kuniyasu H, Tahara E. Genetic and epigenetic alterations in multistep carcinogenesis of the stomach. *J Gastroenterol* 2000; 35 Suppl 12: 111-115
- 15 Hara T, Ooi A, Kobayashi M, Mai M, Yanagihara K, Nakanishi I. Amplification of c-myc, K-sam, and c-met in gastric cancers: detection by fluorescence in situ hybridization. *Lab Invest* 1998; 78: 1143-1153
- 16 Yu J, Miehle S, Ebert MP, Hoffmann J, Breidert M, Alpen B, Starzynska T, Stolte Prof M, Malfertheiner P, Bayerdörffer E. Frequency of TPR-MET rearrangement in patients with gastric carcinoma and in first-degree relatives. *Cancer* 2000; 88: 1801-1806
- 17 Tahara E. Genetic pathways of two types of gastric cancer. *IARC Sci Publ* 2004; 327-349

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

### • 消息 •

## 世界华人消化杂志被收录情况

**本刊讯** 世界华人消化杂志被国际权威检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBase/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录. 国内为中国科技论文统计与分析(科技部遴选为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊、中国学术期刊文摘、中国生物医学文献光盘数据库、中文科技资料目录医药卫生、解放军医学图书馆CMCC系统、中国医学文摘外科学分册(英文版)、中国医学文摘内科学分册(英文版)收录. (常务副总编辑: 张海宁 2008-11-28)