

Runx3在不同类型胃息肉与胃癌中的蛋白表达及与幽门螺杆菌感染的相关性

仇达, 高善玲, 朱丽, 崔琳

仇达, 高善玲, 朱丽, 崔琳, 哈尔滨医科大学第二附属医院消化内科, 黑龙江省哈尔滨市 150086
黑龙江省科学技术厅科技攻关基金资助项目, No. GC06C421
作者贡献分布: 本文文献检索、资料分析及撰写由仇达完成; 朱丽协助; 崔琳辅助完成文章的后期修改; 选题, 指导及审校由高善玲完成。
通讯作者: 高善玲, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第二附属医院消化内科. bolixin-beibei@163.com
电话: 0451-86605143
收稿日期: 2010-01-13 修回日期: 2010-03-29
接受日期: 2010-04-07 在线出版日期: 2010-05-08

Association between Runx3 protein expression and *Helicobacter pylori* infection in different types of gastric polyps and gastric cancer

Da Zhang, Shan-Ling Gao, Li Zhu, Lin Cui

Da Zhang, Shan-Ling Gao, Li Zhu, Lin Cui, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
Supported by: the Key Science and Technology Program of Science and Technology Department of Heilongjiang Province, No. GC06C421
Correspondence to: Shan-Ling Gao, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. bolixin-beibei@163.com
Received: 2010-01-13 Revised: 2010-03-29
Accepted: 2010-04-07 Published online: 2010-05-08

Abstract

AIM: To detect Runx3 protein expression and *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) infection in different pathological types of gastric polyps and gastric cancer, and to investigate their association with the development of gastric polyps and gastric cancer.

METHODS: The expression of Runx3 protein was detected by immunohistochemistry in specimens of inflammatory gastric polyps ($n = 25$), hyperplastic gastric polyps ($n = 25$), adenomatous polypoidosis ($n = 25$) and gastric cancer ($n = 30$). *H.pylori* infection was evaluated by hematoxylin and eosin (HE) staining, toluidine blue staining and Warthin-Starry (W-S) silver staining.

RESULTS: The positive rate of Runx3 protein expression in gastric cancer was significantly lower than those in normal gastric mucosa, inflammatory gastric polyps, and hyperplastic gastric polyps ($\chi^2 = 8.967, 5.632$ and 4.289 , respectively; all $P < 0.05$). The positive rate of Runx3 protein expression in adenomatous polypoidosis was significantly lower than those in normal gastric mucosa, inflammatory gastric polyps, and hyperplastic gastric polyps (all $P < 0.05$). Although the positive rate of Runx3 protein expression in gastric cancer was lower than that in adenomatous polypoidosis, the difference was not statistically significant. Significant difference was noted in the rate of *H.pylori* infection between normal gastric mucosa and gastric cancer ($P < 0.05$). A negative association was noted between the rate of *H.pylori* infection and Runx3 protein expression in gastric polyps and gastric cancer.

CONCLUSION: Reduced Runx3 protein expression and *H.pylori* infection may play a synergistic role in the development of gastric cancer.

Key Words: Runx3; *Helicobacter pylori*; Gastric polyps; Gastric cancer

Zhang D, Gao SL, Zhu L, Cui L. Association between Runx3 protein expression and *Helicobacter pylori* infection in different types of gastric polyps and gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(13): 1371-1374

摘要

目的: 检测不同病理类型胃息肉和胃癌中Runx3蛋白的表达和幽门螺杆菌(*H.pylori*)的感染率, 探讨其在胃息肉与胃癌中的相关性。

方法: 对炎性胃息肉组25例、增生性胃息肉组25例、腺瘤性息肉组25例、胃癌组30例采用SP染色法检测Runx3的表达水平, HE染色、甲苯胺蓝染色和Warthin-Starry(W-S)银染法检测*H.pylori*的感染情况。

结果: 胃癌组Runx3蛋白的阳性表达率明显

■背景资料

目前对胃息肉的诊断和治疗已经取得了较大进展。但临床医师对胃息肉在临床上的认识仍有较大争议, 主要集中在胃息肉与胃癌的关系及*H.pylori*感染的关系。对胃良性肿瘤胃息肉的研究, 有利于我们更好地认识研究胃癌这一给人类带来巨大危害的恶性疾病。

■同行评议者

蓝宇, 教授, 北京积水潭医院消化科

■研发前沿

Runx3基因作为一种新近发现的抑癌基因,其具体抑癌机制仍然有待于在以后的研究中解决,特别是Runx3基因与其他基因或是因素之间的相互关系还有待进一步深入研究。

低于正常胃黏膜组、炎性胃息肉组和增生性胃息肉组,差异有统计学意义($\chi^2 = 8.967$ 、5.632、4.289, 均 $P < 0.05$);腺瘤性息肉组明显低于正常胃黏膜组、炎性胃息肉组和增生性胃息肉组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。胃癌组低于腺瘤性息肉组,但差异无统计学意义。*H.pylori*的感染率在胃癌组与正常胃黏膜组相比*H.pylori*感染率有统计学意义($P < 0.05$)。胃息肉组和胃癌组中*H.pylori*、Runx3的表达率之间存在着负性相关。

结论: Runx3蛋白表达下调与*H.pylori*感染可能在胃癌的发生过程中起着协同作用。

关键词: Runx3; 幽门螺杆菌; 胃息肉; 胃癌

仇达, 高善玲, 朱丽, 崔琳. Runx3在不同类型胃息肉与胃癌中的蛋白表达及与幽门螺杆菌感染的相关性. 世界华人消化杂志 2010; 18(13): 1371-1374

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1371.asp>

0 引言

胃息肉是指胃黏膜局限性上皮隆起性的病变。目前对息肉的分类方法很多,国内学者依据病理组织学特征将其分为炎症性息肉、炎性纤维性息肉、错构瘤性息肉、增生性息肉和腺瘤性息肉等。多数报道腺瘤性息肉具有较高的癌变率,但各种类型胃息肉中基因的表达在息肉形成、癌变过程中的作用及其胃癌发生发展之间的关系,目前的文献报道尚不多见。胃癌的发生是一个多因素、多步骤、多基因参与的过程^[1-3]。Runx3作为新发现的肿瘤抑制基因,近期研究又发现Runx3失活或缺失的胃黏膜可以发生肠化生,虽然肠化生并不是伴癌状态,但是其能提高胃液pH值,利于细菌生长而易致癌。幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*)作为第一类致癌因子其与胃癌发生发展的关系日益受到人们的重视,有学者认为*H.pylori*感染导致了原癌基因的激活和抑癌基因的失活。本实验通过对不同类型胃息肉和胃癌中抑癌基因Runx3的表达和*H.pylori*感染的检测,分析其在各型胃息肉和胃癌中的表达及两者之间的关系,从临床应用角度探讨不同类型胃息肉与胃癌发生的相关性,并期望为肿瘤的基因治疗提供新的途径。

1 材料和方法

1.1 材料 收集哈尔滨医科大学附属第二医院2006-2009年手术切除的胃癌标本30例,术前均

未进行放化疗,胃镜下电切炎性胃息肉标本25例、增生性胃息肉标本25例、腺瘤性息肉25例,所有标本经病理科确诊。且无使用非甾体类抗炎药及糖皮质激素史。各标本经常规甲醛固定,石蜡包埋切片。*H.pylori*特染主要试剂包括1%硝酸银、2%硝酸银、0.1%甲苯胺蓝染液和醋酸盐缓冲液。免疫组织化学主要试剂包括兔抗人Runx3多克隆抗体试剂盒(购自武汉博士得生物工程有限公司)、生物素标记二抗(辣根过氧化物酶连接的山羊抗兔抗体)购自武汉博士得生物工程有限公司、0.1 mol/L枸橼酸盐缓冲液(自配)、DAB显色剂、防脱片剂APES购自北京中杉生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 Runx3蛋白的检测及阳性结果的判定: 免疫组织化学方法检测Runx3的表达,实验按照试剂盒说明书进行,阴性对照用PBS代替一抗,用已知阳性切片作为阳性对照。由2名未参与实验研究、不了解患者临床资料的病理医生分别独立观察所有切片。以细胞核膜或胞质内出现棕黄色细颗粒为阳性,每一切片观察5个不相连的视野,每个视野计数100个细胞,计算每张切片染色细胞百分率。根据染色细胞所占比例,将Runx3蛋白的阳性率分成4个等级:染色细胞比例>90%为强阳性(+++);50%-90%为阳性(++);10%-49%为弱阳性(+);<10%为阴性(-)。结果不一致时,采取协商统一的原则。

1.2.2 *H.pylori*检测方法及阳性结果判定: 分别采用常规HE染色、Warthin-Starry(W-S)银染法和甲苯胺蓝法检测*H.pylori*的感染情况,后确认*H.pylori*感染有两项以上为阳性者为*H.pylori*阳性组,均阴性者为阴性组,单项阳性者退出该实验。HE染色*H.pylori*为淡紫色,W-S法染色为棕黑色,甲苯胺蓝染色为蓝色。

统计学处理 数据库建立和数据分析采用SPSS13.0软件处理,以 χ^2 检验进行统计分析。

2 结果

2.1 Runx3蛋白在不同病理类型的胃息肉与胃癌中的表达 Runx3蛋白的表达在正常胃黏膜组、炎性胃息肉组、增生性胃息肉组、腺瘤性息肉组、胃癌组中分别为80.00%、72.00%、68.00%、44.00%、40.00%,胃癌组与正常胃黏膜组、炎性胃息肉组、增生性胃息肉组的阳性率相比有显著性差异($\chi^2 = 8.967$ 、5.632、4.289, 均 $P < 0.05$)。胃癌组与腺瘤性息肉组比无统计学

■相关报道

Runx3在肿瘤发病机制中的研究是近几年研究的热点,目前大量文献报道了消化系统肿瘤和Runx3的相互关系,特别是胃、食管和结肠的研究较多。

表1 Runx3蛋白在不同病理类型的胃息肉与胃癌中的表达

类型	Runx3					阳性率(%)
	<i>n</i>	-	+	++	+++	
正常胃黏膜	25	5	8	7	5	80.00
炎性胃息肉	25	7	7	6	5	72.00
增生性胃息肉	25	8	9	6	2	68.00
腺瘤性胃息肉	25	14	6	3	2	44.00 ^a
胃癌	30	18	7	5	0	40.00 ^a

^a $P<0.05$ vs 正常胃黏膜组、炎性胃息肉组和增生性胃息肉组。

意义($\chi^2 = 0.089$, 表1)。

2.2 *H.pylori*在不同病理类型的胃息肉与胃癌中的表达 *H.pylori*主要存在于胃黏膜表面的黏液中、细胞的表面、胃小凹内、腺腔中及癌旁黏膜,呈弯曲状、海鸥状及杆状,往往聚集成群,而癌组织内却少见*H.pylori*。在正常胃黏膜组、炎性息肉组、增生性息肉组、腺瘤性息肉组、胃癌组*H.pylori*的感染率分别为40.00%、48.00%、48.00%、72.00%、73.33%。经统计学分析,胃癌组与正常胃黏膜组相比,*H.pylori*的感染率有显著差异($P<0.05$,表2)。

2.3 在不同病理类型的胃息肉与胃癌中*H.pylori*阳性组和*H.pylori*阴性组Runx3蛋白的表达 *H.pylori*阳性组中Runx3蛋白的阳性表达率为60.81%,*H.pylori*阴性组中Runx3蛋白的阳性表达率为82.14%。在130例胃黏膜标本中,*H.pylori*阳性组Runx3的阳性表达明显低于*H.pylori*阴性组($\chi^2 = 3.853$, $P<0.05$)。

3 讨论

迄今为止,对胃息肉的诊断和治疗已经取得了较大进展。但临床医师对胃息肉在临床上的认识仍有较大争议,主要集中在胃息肉与胃癌的关系及其与*H.pylori*感染的关系。对胃良性肿瘤胃息肉的研究,有利于我们更好地认识研究胃癌这一给人类带来巨大危害的恶性疾病。

Runx3基因(runt-related transcription factor3 gene)为一种新发现的肿瘤抑癌基因,其能调控细胞的生长发育和细胞的凋亡,对细胞的信号转导和其他生物学效应有着重要而复杂的转录调节作用。因其表达下调在人类多种恶性肿瘤的发生发展过程中起重要作用而备受关注^[4]。抑癌基因Runx3在胃癌中被发现以来,研究便集中在该基因与消化系肿瘤发生发展的关系,尤其是在胃癌、结直肠癌、食管癌、肝癌中^[5],研究最

表2 *H.pylori*在不同病理类型的胃息肉与胃癌中的感染

类型	<i>H.pylori</i>				阳性率(%)
	<i>n</i>	-	+		
正常胃黏膜	25	15	10		40.00
炎性胃息肉	25	13	12		48.00
增生性胃息肉	25	13	12		48.00
腺瘤性胃息肉	25	7	18		72.00
胃癌	30	8	22		73.33 ^a

$\chi^2 = 6.227$, ^a $P<0.05$ vs 正常胃黏膜组。

早、最多的当属其与胃癌发生发展的关系。早期Li等^[4]发现人正常胃黏膜上皮细胞存在Runx3基因的表达式,而在胃癌组织中则有45%-60%的病例存在Runx3基因表达的缺失或下调。这与本研究结果基本相一致,用免疫组织化学检测不同病理类型胃息肉和胃癌中Runx3蛋白的表达情况,在正常胃黏膜组、炎性胃息肉组、增生性胃息肉组、腺瘤性息肉组、胃癌组中其表达分别为80.00%、72.00%、68.00%、44.00%、40.00%,表达率逐渐下降。胃癌组与正常胃黏膜组、炎性胃息肉组、增生性胃息肉组的阳性率相比有统计学意义($P<0.05$)。提示Runx3蛋白表达下调,可能导致胃黏膜上皮细胞增生和分化异常^[6],参与胃癌的发生过程,是胃癌发生过程中的关键性基因。有资料报道由于Runx3半合子缺失或者超甲基化,使得Runx3的表达下调,而胃癌中有一半存在Runx3的甲基化^[4,7]。这提示我们可以探索以Runx3为治疗的靶点,用诱导沉默Runx3基因重新表达的方法对胃癌进行基因治疗。本研究还显示,胃癌组与腺瘤性息肉组比无统计学意义。从而表明腺瘤性胃息肉带有更多的癌细胞的生物学特性和基因表达特点,在多种致癌因素作用下,更趋于发展成为癌。有细胞动力学研究显示,胃增生性息肉的上皮细胞更新缓慢,超微结构发现有细胞成熟过度 and 衰老的特性,因此有可能癌变。据文献报道^[8],增生性息肉癌变率为0.3%-0.6%。Ginsberg证实了在增生性息肉中也包含有腺瘤的成分,此可能为极少数增生性息肉癌变的机制。一般认为,炎性息肉恶变率较低,但许多研究也发现炎性增生性息肉有癌变倾向^[9,10]。

20世纪90年代以来,在人群中具有较高感染率的*H.pylori*与胃癌关系已受到广泛的关注,目前大多数学者认为胃癌可能是*H.pylori*长期感染与其他因素共同作用的结果。据世界胃肠病学

■创新盘点

本实验通过Runx3表达和*H.pylori*感染的联合检测有助于推测胃息肉的生物学行为发展趋势,早期诊断胃息肉癌变并判断其预后,为进一步研究胃息肉与胃癌之间发生、发展的分子机制提供了新的思路。

■应用要点

本实验通过对不同类型胃息肉和胃癌中抑癌基因Runx3的表达和*H.pylori*感染的检测,分析其在各型胃息肉和胃癌中的表达及两者之间的关系,从临床应用角度探讨不同类型胃息肉与胃癌发生的相关性,并期望为肿瘤的基因治疗提供新的途径。

■同行评价

本文具有一定的新颖性,结果有可能对胃息肉癌变的检测及预防起作用。

组织(WGO-OMGE)统计^[11]:全球*H.pylori*感染率大于50%,其中亚洲地区感染率为50%-80%;发达国家*H.pylori*感染率有下降趋势,而发展中国家*H.pylori*感染率较高,年龄、种族、性别、地理位置和社会经济状况等是影响*H.pylori*发病率和感染率的因素。1994年世界卫生组织国际癌症研究机构已将*H.pylori*列为人类I类致癌因子^[12]。本研究实验结果显示:胃癌患者*H.pylori*感染率明显高于正常胃黏膜,表明*H.pylori*感染与胃癌的发生存在密切关系,并且在腺瘤性胃息肉中感染率也较高,因此说明*H.pylori*感染可能在胃息肉癌变过程中起重要作用。赵继红等^[13]通过免疫组织化学研究显示,肿瘤性息肉*H.pylori*感染者中性粒细胞核抗原阳性表达大于未感染者。有2例重度异性增生的乳头状腺瘤P53表达阳性,随访10-23 mo,再次活检病理证实均发生癌变。提示肿瘤性息肉中*H.pylori*感染可促使上皮逐步向癌肿转化。因此,根除*H.pylori*感染,减轻胃黏膜炎症,可能是预防肿瘤性息肉恶变的措施之一。

在不同病理类型胃息肉中*H.pylori*阳性组Runx3蛋白表达率低于*H.pylori*阴性组,二者之间有统计学意义($P<0.05$),这提示Runx3蛋白表达下调与*H.pylori*感染在胃息肉癌变中可能起着协同作用。正如近期研究发现Runx3能抵抗TGF- β 诱导的生长抑制和细胞凋亡,调控胃黏膜上皮细胞分化,其失活或缺失可导致胃黏膜上皮细胞发生肠化生^[14],从而提高胃液pH值,利于细菌生长而易致癌。也有学者认为*H.pylori*感染导致了原癌基因的激活和抑癌基因的失活。那么是Runx3基因失活引发肠化导致*H.pylori*感染,还是*H.pylori*感染导致了Runx3抑癌基因的失活?其具体关系有待进一步深入研究。目前对胃息肉癌变的分子生物学机制研究较少,考虑到促使胃黏膜恶变的因素同样可以引起胃息肉的恶变,认为胃息肉癌变的发生也是多因素,多阶段,多基因变异的结果^[15]。因此,Runx3蛋白表达和*H.pylori*感染的联合检测有助于推测胃息肉的生物学行为发展趋势,早期诊断胃息肉癌变并判断其预后,为进一步研究胃息肉与胃癌之间发生、发展的分子机制提供了新的思路。

4 参考文献

- 1 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
- 2 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
- 3 Yu J, Miehke 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
- 4 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
- 5 陶军, 邓涛. 抑癌基因RUNX3与消化系统肿瘤关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3787-3791
- 6 Cameron ER, Blyth K, Hanlon L, Kilbey A, Mackay N, Stewart M, Terry A, Vaillant F, Wotton S, Neil JC. The Runx genes as dominant oncogenes. *Blood Cells Mol Dis* 2003; 30: 194-200
- 7 Sakata K, Tamura G, Endoh Y, Ohmura K, Ogata S, Motoyama T. Hypermethylation of the hMLH1 gene promoter in solitary and multiple gastric cancers with microsatellite instability. *Br J Cancer* 2002; 86: 564-567
- 8 Abraham SC, Singh VK, Yardley JH, Wu TT. Hyperplastic polyps of the stomach: associations with histologic patterns of gastritis and gastric atrophy. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 500-507
- 9 Murakami K, Mitomi H, Yamashita K, Tanabe S, Saigenji K, Okayasu I. p53, but not c-Ki-ras, mutation and down-regulation of p21WAF1/CIP1 and cyclin D1 are associated with malignant transformation in gastric hyperplastic polyps. *Am J Clin Pathol* 2001; 115: 224-234
- 10 Yao T, Kajiwaru M, Kuroiwa S, Iwashita A, Oya M, Kabashima A, Tsuneyoshi M. Malignant transformation of gastric hyperplastic polyps: alteration of phenotypes, proliferative activity, and p53 expression. *Hum Pathol* 2002; 33: 1016-1022
- 11 Hunt RH, Xiao SD, Megraud F, Leon-Barua R, Bazzoli F, Van der Merwe S, vaz Coelho LG, Fock KM, Fedail S, Cohen H, Malfertheiner P, Vakil N, Hamid S, Goh KL, Wong BC, Krabshuis JH. 世界胃肠病学组织(WGO-OMGE)临床指南-发展中国家幽门螺杆菌感染. *胃肠病学* 2007; 12: 40-52
- 12 齐淑文, 谢立群, 舒徐, 王华. p53基因网络与幽门螺杆菌致病关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 681-686
- 13 赵继红, 黄彩儿. 胃息肉的组织学分型与Hp感染关系. *宁波医学* 2002; 12: 462-463
- 14 Fukamachi H. Runx3 controls growth and differentiation of gastric epithelial cells in mammals. *Dev Growth Differ* 2006; 48: 1-13
- 15 朱人敏, 秦苏堤. 胃癌癌前病变分子遗传学改变的研究. *中华消化内镜杂志* 2003; 4: 286-288

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕