

胃癌中 HER-2 蛋白和 NF- κ B 蛋白的表达及其临床意义 *徐智高¹ 杨桂芳¹ 喻明霞^{2△} 杨国春² 龚玲玲¹

(1 武汉大学中南医院病理科 湖北 武汉 430071 2 武汉大学中南医院检验科 湖北 武汉 430071)

摘要 目的 探究人类表皮生长因子受体-2 (HER-2)和核因子- κ B(NF- κ B)在胃癌中的表达及二者之间的关系。方法 收集检测武汉大学附属中南医院 2007 年 1 月~2009 年 12 月 75 例胃癌手术切除的组织和 22 例癌旁正常胃组织, HER-2 和 NF- κ B 的表达检测采用免疫组织化学 SP 法,分析其与胃癌临床病理特征的关系以及二者之间的相关性。结果 胃癌中 HER-2 和 NF- κ B 的阳性率分别为 24.00 % (18/75)和 62.67 % (47/75),两者与年龄、性别均无相关性,而与分期、分级和是否转移相关($P<0.05$)。HER-2 与肿瘤大小无相关性,但 NF- κ B 与肿瘤大小相关($P<0.01$)。HER-2 阳性时 NF- κ B 的阳性率为 94.44 % (17/18), HER-2 阴性时 NF- κ B 的阳性率为 52.63 % (30/57),两者的表达有显著相关性($\chi^2=8.514, P<0.01$)。结论 胃癌中 NF- κ B、HER-2 蛋白的表达具有相关性,在胃癌的发生发展中具有重要作用。

关键词 胃癌;人类表皮生长因子受体;NF- κ B;免疫组织化学

中图分类号 R735.2 文献标识码 A 文章编号 1673-6273(2012)21-4011-04

Expression and Clinical Significance of HER-2 and NF- κ B
in Gastric Cancer*XU Zhi-gao¹, YANG Gui-fang¹, YU Ming-xia^{2△}, YANG Guo-chun², GONG Ling-ling¹

(1 Dept. of Pathology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China;

2 Dept. of Clinical Laboratory Science, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression and their relevance of human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2) and Nuclear factor- κ B (NF- κ B) in gastric cancer. **Methods:** The expression of HER-2 and NF- κ B protein were detected by SP immunohistochemical method in 75 gastric cancer specimens (observed group) and 22 normal gastric tissue collected during January 2007 to December 2009. The clinical pathological data was statistically analyzed. **Results:** The positive rate of HER-2 and NF- κ B in the observed group were 24.00 % (18/75) and 62.67 % (47/75) respectively. The expression of HER-2 and NF- κ B were not correlated with age and gender, but with stage, grade and metastasis ($P<0.05$). The expression of NF- κ B was correlated with tumor size ($P<0.05$), while HER-2 was not ($P<0.01$). When HER-2 was positive, NF- κ B had a positive rate of 94.44 % (17/18), but a positive rate of 52.63 % (30/57) when HER-2 was negative. Expression of NF- κ B in gastric cancer tissues was correlated with HER-2 expression ($\chi^2=8.514, P<0.01$). **Conclusions:** The expression of NF- κ B in gastric cancer tissues is correlated with HER-2 expression, and they may play a very important role in the progress of gastric cancer.

Key words: Gastric tumor; Human epidermal growth factor receptor; NF- κ B; Immunohistochemistry

Chinese Library Classification(CLC): R735.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)21-4011-04

前言

人类表皮生长因子受体(human epidermal growth factor receptor, HER)是一组具有酪氨酸激酶活性的高同源性蛋白质,其中 HER-2 又称 c-erbB-2。c-erbB/neu 基因在正常情况下处于非激活状态,当受到体内外各种致癌因素的作用后,基因结构或表达调控失调,导致细胞无序生长、运动、侵袭、转移^[1,2]。HER2 阳性患者肿瘤恶性程度更高,进展更快,更容易复发和远处转移^[3],且此类患者通常对分泌治疗不敏感,预后较差。NF- κ B 是一组核转录因子,可上调靶基因的表达,在细胞增殖、分化、凋亡及恶性转化中起到重要作用^[4]。本研究利用免疫组织化学的方法,对 HER-2 和 NF- κ B 在胃癌中的表达进行研究,探讨

两者的相互关系及对胃癌的临床意义,为判定胃癌的生物学行为及预后提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

收集武汉大学中南医院 2007 年 1 月~2009 年 12 月病理诊断为胃癌的石蜡标本 75 例,其中男性 57 例,女性 18 例。年龄 35~81 岁,平均年龄 62.4 岁;早期胃癌(I-II 期)21 例,中晚期胃癌(III-IV 期)54 例;按照分化程度,低分化 15 例,中分化 18 例,高分化 42 例;31 例肿瘤直径 ≤ 5 cm,44 例超过 5 cm;有淋巴结转移者 49 例,无淋巴结转移者 26 例。所有患者术前均未接受化疗或放疗。另选 22 例癌旁正常胃粘膜(胃镜活检组织)

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30901308),博士点基金-新教师类资助项目(20090141120025)

作者简介:徐智高,硕士,病理技师,主要从事分子病理研究, E-mail: Dewrosy520@163.com

△通讯作者:喻明霞,博士,副主任技师,主要从事肿瘤免疫研究, E-mail: Dewrosy520@163.com,电话: 027-67813068

(收稿日期: 2012-02-06 接受日期: 2012-02-29)

作对照组,对照组年龄 42~74 岁,平均年龄 60.8 岁。兔抗人 HER-2 单克隆抗体和兔抗人 NF-κB/p65 多克隆抗体 柠檬酸盐 抗原修复液 MVS-0066 ,UltraSensitiveTMS-P 超敏试剂盒和 DAB 显色试剂盒均购自福州迈新生物技术开发公司。经预实验 ,一抗均稀释 1:100 使用。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学 标本用 10 %的福尔马林溶液固定过夜 ,经石蜡包埋后切片 ,其中 1 张用于 HE 常规染色进行病理诊断 ,另外 2 张进行免疫组化检测。免疫组化用 SP 法 ,切片经常规脱蜡水化后 ,高压抗原修复。所有染色均用已知阳性片作对照 ,PBS 缓冲液代替一抗作阴性对照。

1.2.2 结果判定标准 光学显微镜分析 ,排除非特异性染色的前提下 ,阳性染色呈棕黄色。每例切片选 5 个高倍视野 ,按阳性细胞数占同类细胞的百分比 ,将免疫组化结果分为阴性(-) ,<5 % ;弱阳性 (+) ,5 %~25 % ;阳性 (++) ,25 %~50 % ;强阳性 (+++~++++) ,>50 %。

1.3 统计学分析

应用 SPSS13.0 统计软件进行分析 ,计数资料采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法计算 ,以 $\alpha=0.05$ 为显著性检验水准。

2 结果

2.1 胃癌与正常胃粘膜中 HER-2 与 NF-κB 的表达

HER-2 为胞膜表达 ,NF-κB 胞质和胞核均可见棕黄色颗粒 (图 1 和图 2)。胃癌和正常组织中 ,HER-2 的阳性表达率分别为 10/75(13.3 %) 和 0/22(0) ,两者比较差别具有统计学意义 , $P<0.01$,NF-κB 阳性表达率分别为 44/75(58.7 %)和 0/22(0) 两者比较有统计学意义 , $P<0.01$ (表 1)。

2.2 各指标在胃癌组织及癌旁正常胃组织中的表达情况

HER-2 在胃癌中的阳性表达率为 24.00 %(18/75) ,而在癌旁正常胃组织中未见表达 ,两者比较差异有统计学意义($P<0.05$) ,NF-κB 在胃癌中的阳性表达率为 62.67 %(47/75) ,在癌旁正常胃组织也无表达 ,差异有统计学意义($P<0.001$)(表 1)。

表 1 HER-2、NF-κB 在胃癌组织及正常胃组织的表达

Table 1 Expression of HER-2 and NF-κB in Gastric Cancer and Normal tissues

Tissue type	n	HER-2		Positive %	χ^2	P	NF-κB		Positive %	χ^2	P
		+	-				+	-			
Cancer tissue	75	18	57	24.00			47	28	62.67		
Normal tissue	20	0	22	0	4.992	0.025	0	22	0	24.296	0.000

表 2 胃癌组织中 HER-2、NF-κB 的表达和临床病理因素的关系

Table 2 Expression of HER-2 and NF-κB and correlations with clinical pathological factors in Gastric Cancer and Normal tissues

Clinical pathological factors	n	HER-2		Positive %	χ^2	P	NF-κB		Positive %	χ^2	P
		+	-				+	-			
Gender											
Male	57	14	43	24.56			32	25	56.14		
Female	18	4	14	22.2	0.013	0.909	15	3	83.33	3.240	0.072
Age(years)											
<60	33	9	24	27.27			20	13	60.61		
≥ 60	42	9	33	21.43	0.383	0.845	27	15	64.29	0.007	0.931
TNM stage											
I+II	21	1	20	4.76			9	13	42.86		
III+IV	54	17	37	31.48	4.544	0.033	38	15	70.37	5.052	0.025
Grades											
High	15	1	13	6.67			5	10	33.3		
Medium	18	2	16	11.11	6.613	0.037	9	9	50.00	11.292	0.004
Low	42	15	28	35.71			33	9	78.57		
volume											
≤ 5cm	31	8	23	25.81			13	18	41.94		
>5cm	44	10	34	22.73	0.001	0.979	34	10	77.27	8.255	0.004
Lymphnode metastasis											
Yes	49	16	33	32.65			38	11	77.55		
No	26	2	24	7.69	4515	0.034	7	19	26.92	16.094	0.000

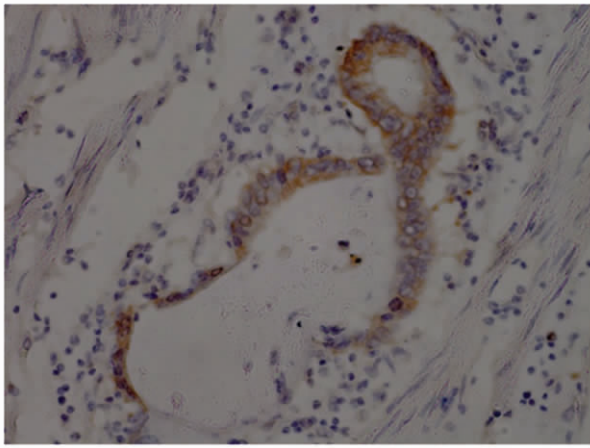


图 1 HER-2 的表达(400×)

Fig. 1 Expression of HER-2 (400×)

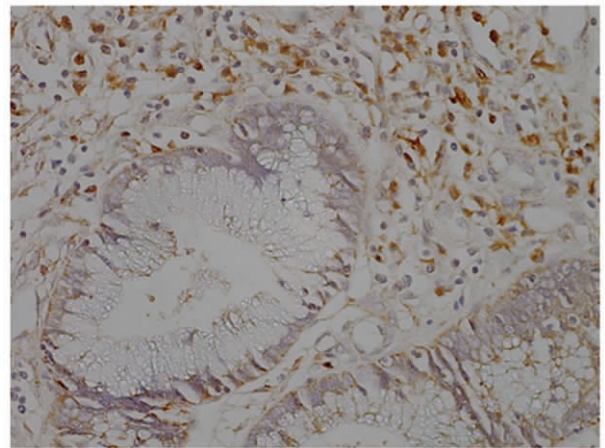


图 2 NF-κB 的表达(400×)

Fig. 2 Expression of NF-κB (400×)

2.3 各指标与胃癌患者临床病理因素的关系

HER-2、NF-κB 的表达均与患者的性别、年龄无关。而与临床病理分期、组织分化及有无淋巴结转移有关,HER-2 与患者的肿瘤大小没有相关性,但 NF-κB 与肿瘤大小有显著的相关性(表 2)。

2.4 胃癌组织中各指标表达相互之间的关系

HER-2 阳性时 NF-κB 的阳性率为 94.44 % (17/18),HER-2 阴性时 NF-κB 的阳性率为 52.63 % (30/57),两者的表达有显著相关性($\chi^2=8.514, P<0.01$)(表 3)。

表 3 胃癌中 HER-2 与 NF-κB 表达的关系

Table 3 Correlation of HER-2 and NF-κB in Gastric Cancer

HER-2	NF-κB		χ^2	P
	-	+		
-	27	30	8.514	0.004
+	1	17		

3 讨论

胃癌是世界范围内一种常见的恶性肿瘤。HER-2/neu 原癌基因在多种恶性肿瘤中均有表达^[5],并在约 20 % 的胃癌中高表达^[6-8]。HER-2 阳性胃癌患者的存活时间较短,更容易复发。在体外实验和胃癌模型中的研究表明抗 HER-2 治疗具有显著地抗肿瘤效应^[1]。最近的一项 III 期随机试验显示,针对 HER-2 的治疗药物赫赛汀能显著延长 HER-2 阳性胃癌患者的生存期^[9,10]。HER-2 是胃癌的独立预后因子^[11,12],因此在胃癌治疗前对 HER-2 进行检测显得很有必要。HER-2 在胃癌中的表达情况报道较多,但阳性率有所不同,与样本量、检测方法和评分标准都有关系。本研究资料中,癌旁正常胃组织未见 HER-2 的表达;75 例胃癌标本中有 18 例(24.00 %)呈阳性表达,明显高于癌旁组织($P<0.001$),证明了 HER-2 作为胃癌肿瘤标志物的价值。HER-2 的阳性率与性别、年龄和肿瘤大小无显著相关性($P>0.05$)。HER-2 在 TNM 分期(III+IV 期)、有淋巴结转移组阳性表达率明显高于 TNM 分期(I+II 期)、无淋巴结转移组,差别有统计学意义($P<0.05$)。同时显示,HER-2 的阳性表达率与癌组织的分级相关($P<0.05$),分化程度越差,HER-2 的阳性率越高。研究结果显示,HER-2 在分化较好的胃癌组织中的阳性率比分化差的组织高($P=0.001$)。这可能与样本量少、组织分化判定标准

及人种差异有关,有待更深入的讨论。

在胃癌的发生发展中,NF-κB 起到重要作用^[13-16]。目前的研究表明,幽门螺杆菌等因素可引起 NF-κB 活化,活化的 NF-κB 又可进一步调节 Bcl-2 家族等,从而最终促进胃癌的发生发展^[17]。本研究资料中,NF-κB 仅在癌组织中表达,与正常组织的表达的差异显著($P<0.001$)。同 HER-2 相似,NF-κB 也与性别和年龄无相关性($P>0.05$)。NF-κB 在 TNM 分期(III+IV 期)、有淋巴结转移组阳性表达率明显高于 TNM 分期(I+II 期)、无淋巴结转移组,差别有统计学意义($P<0.05$);分级越高,NF-κB 的阳性率也越高,差别有统计学意义($P<0.01$)。与 HER-2 不同的是,NF-κB 在肿瘤直径 >5 cm 组的阳性表达率比直径 ≤ 5 cm 组高,差别有统计学意义($P<0.01$)。NF-κB 本身有双重作用,不同的研究显示 NF-κB 功能有促癌和抑癌两种功能^[18]。但在本研究中,NF-κB 同胃癌进展的高度相关表明其作为胃癌的肿瘤标志物在临床中的应用有着重要的意义。

Ce'cile Le Page 等利用多种 ErbB 的抑制药物证明了 HER-2 参与了 PC-3 细胞中 NF-κB 的组成性活化^[19]。有研究发现 HER-2/neu 可通过 Akt/NF-κB 通路,上调一组促生存基因的表达,导致 HER-2 阳性癌细胞产生放疗抵抗^[19-21]。本研究显示,HER-2 蛋白与 NF-κB 蛋白在胃癌中的表达有显著相关性,也提示了 HER-2 蛋白在 NFκB 基因活化与表达过程中可能起

到重要作用,两者之间相关的分子生物学机制有待进一步阐释。

参考文献(References)

- [1] Gravalos C, Jimeno A. HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target[J]. *Ann Oncol*, 2008, 19(9):1523-1529
- [2] Liu W, Zhong S, Chen J, Yu Y. 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):31-37
- [3] Hsu JT, Chen TC, Tseng JH, et al. Impact of HER-2 overexpression/amplification on the prognosis of gastric cancer patients undergoing resection: a single-center study of 1,036 patients[J]. *Oncologist*, 2011, 16(12):1706-1713
- [4] Yang LQ, Fang DC, Wang RQ, Yang SM. Effect of NF-kappaB, survivin, Bcl-2 and Caspase3 on apoptosis of gastric cancer cells induced by tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand[J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(1): 22-25
- [5] Cidon EU, Centeno RG, Lagarto EG, Peral JI. HER-2 evaluation in a specific gastric cancer population with the highest rate of mortality in Spain[J]. *J Oncol*, 2011, 2011:391564-391569
- [6] Kono K, Takahashi A, Amemiya H, et al. Frequencies of HER-2/neu overexpression relating to HLA haplotype in patients with gastric cancer[J]. *Int J Cancer*, 2002, 98(2):216-220
- [7] Liu HQ, Zhang SL, Song S. HER-2/neu and TOPIIa expression in gastric cancer reflect disease severity [J]. *Hepatogastroenterology*, 2012, 59(116), doi: 10.5754/hge11844
- [8] Kono K, Naganuma H, Sekikawa T, et al. Serum level of HER-2/neu in patients with gastric cancer: correlation with HER-2/neu overexpression in gastric carcinoma tissue [J]. *Tumour Biol*, 2000, 21(3): 139-144
- [9] Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2010, 376(9742):687-697
- [10] Inui T, Asakawa A, Morita Y, et al. HER-2 overexpression and targeted treatment by trastuzumab in a very old patient with gastric cancer[J]. *J Intern Med*, 2006, 260(5):484-487
- [11] Park DI, Yun JW, Park JH, et al. HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer [J]. *Dig Dis Sci*, 2006, 51(8):1371-1379
- [12] Wang S, Zheng G, Chen L, Xiong B. Effect of HER-2/neu over-expression on prognosis in gastric cancer: a meta-analysis[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2011, 12(6):1417-1423
- [13] Ueda M, Kokura S, Imamoto E, et al. Blocking of NF-kappaB activation enhances the tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis of a human gastric cancer cell line[J]. *Cancer Lett*, 2003, 193(2):177-182
- [14] Kang MH, Oh SC, Lee HJ, et al. Metastatic function of BMP-2 in gastric cancer cells: the role of PI3K/AKT, MAPK, the NF-kappaB pathway, and MMP-9 expression [J]. *Exp Cell Res*, 2011, 317(12): 1746-1762
- [15] Li Q, Gao Y, Xu ZG, Jiang H, Yu YY, Zhu ZG. Effect of antisense oligodeoxynucleotide targeted against NF-kappaB/P65 on cell proliferation and tumorigenesis of gastric cancer [J]. *Clin Exp Med*, 2012, DOI: 10.1007/s10238-011-0174-1
- [16] Gutierrez-Orozco F, Stephens BR, Neilson AP, Green R, Ferruzzi MG, Bomser JA. Green and black tea inhibit cytokine-induced IL-8 production and secretion in AGS gastric cancer cells via inhibition of NF-kappaB activity[J]. *Planta Med*, 2010, 76(15):1659-1665
- [17] Maeda S, Yoshida H, Ogura K, et al. H. pylori activates NF-kappaB through a signaling pathway involving IkappaB kinases, NF-kappaB-inducing kinase, TRAF2, and TRAF6 in gastric cancer cells[J]. *Gastroenterology*, 2000, 119(1): 97-108
- [18] Sohma I, Fujiwara Y, Sugita Y, et al. Parthenolide, an NF-kappaB inhibitor, suppresses tumor growth and enhances response to chemotherapy in gastric cancer [J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2011, 8(1): 39-47
- [19] Le Page C, Koumakpayi IH, Lessard L, Mes-Masson AM, Saad F. EGFR and Her-2 regulate the constitutive activation of NF-kappaB in PC-3 prostate cancer cells[J]. *Prostate*, 2005, 65(2):130-140
- [20] Zhou BP, Hu MC, Miller SA, et al. HER-2/neu blocks tumor necrosis factor-induced apoptosis via the Akt/NF-kappaB pathway [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(11):8027-8031
- [21] Ahmed KM, Cao N, Li JJ. HER-2 and NF-kappaB as the targets for therapy-resistant breast cancer [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(6B): 4235-4243