

PKC β II、P53 和 Ki67 在胃印戒细胞癌中的表达 及其与侵袭转移的关系

陈 波¹ 邹赛英^{1△} 陈 城² 唐新萍¹ 马 莉¹ 韩 茹¹

(1 兰州军区乌鲁木齐总医院病理科 新疆 乌鲁木齐 830000; 2 新疆医科大学基础医学院 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要 目的:检测蛋白激酶 C- β II 亚型(PKC β II), P53, Ki67 三种蛋白在胃印戒细胞癌组织中的表达,探讨三种蛋白与胃印戒细胞癌侵袭性及转移的关系。**方法:**应用免疫组化(S-P 法)检测 60 例胃印戒细胞癌标本及 60 例胃低分化腺癌标本中 PKC β II、p53、Ki67 的表达状况,并将检测结果与浸润深度及淋巴结转移进行综合分析。**结果:**胃印戒细胞癌和低分化腺癌 PKC β II 阳性表达率分别为 76.67%和 41.67%,二者之间有显著性差异($P<0.05$);P53 阳性表达率分别为 43.33%和 61.67%,二者之间具有显著性差异($P<0.05$),Ki67 阳性表达率分别为 60.00%和 91.67%,二者之间亦具有显著性差异($P<0.05$)。在未侵及浆膜层的印戒细胞癌和低分化腺癌间 P53 的阳性表达率有显著性差异($P<0.05$),而在侵及浆膜及邻近组织的印戒细胞癌和低分化腺癌间 PKC β II 和 Ki67 的阳性表达率有显著性差异($P<0.05$);在淋巴结转移的胃印戒细胞癌和低分化腺癌之间 PKC β II 和 Ki67 的阳性表达率具有显著性差异($P<0.05$);**结论:** PKC β II 在胃印戒细胞癌高表达,Ki67 在低分化腺癌有较高表达;PKC β II 和 Ki67 与两种类型胃癌的晚期浸润及淋巴结转移有关,可能与浸润性侵袭方式相关密切;P53 与两种类型胃癌的早期浸润有关,可能为胃癌发生的早期事件。

关键词:胃印戒细胞癌;PKC β II;P53;Ki67;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(2011)04-711-04

Relation of PKC β II, P53 and Ki67 expression to invasion and metastasis of gastric signet ring cell carcinoma

CHEN Bo¹, ZOU Sai-ying^{1△}, CHEN Cheng¹, Tang xin-ping¹, MA Li¹, HAN Ru¹

(1 Department of Pathology, Urumqi General Hospital Lanzhou Command, PLA, Urumqi 830000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expressions of protein kinase C isoforms beta II (PKC β II), P53 and Ki67 in gastric signet ring cell carcinoma, and to explore their relationship with the invasion and metastasis of gastric signet ring cell carcinoma. **Methods:** Immunohistochemical technique (S-P) was used to detect the expression of PKC β II, P53 and Ki67 in 60 samples of gastric signet ring cell carcinoma and poorly differentiated adenocarcinoma, the data were then analyzed in collaboration with the depth of invasion and lymph node metastasis. **Results:** The positive expression rate of PKC β II in the gastric signet ring cell carcinoma and poorly differentiated adenocarcinoma was 76.67% and 41.67%, which had significant difference ($P<0.05$). While the positive expression rate of P53 was 43.33% and 61.67%, which had significant difference ($P<0.05$). And the positive expression rate of Ki67 was 60.00% and 91.67%, which had significant difference ($P<0.05$). The positive expression rate of P53 in the Down-serosa group of the two type of cancer had significant difference ($P<0.05$). The positive expression rate of PKC β II and Ki67 in the serosa and adjacent organ group of the two type of cancer had significant difference ($P<0.05$). **Conclusions:** The expression of PKC β II was higher in the gastric signet ring cell carcinoma and Ki67 was higher in poorly differentiated adenocarcinoma. PKC β II and Ki67 had correlation with the metastasis of lymphaden and adjacent organ in the two type of cancer, had related closely with the way of infiltrating invasion; while P53 had correlation with the earlier period stage of infiltrating in the two type of cancer, probably concerned with earlier event of gastric carcinoma.

Key words: Gastric signet ring cell carcinoma; PKC β II; P53; Ki67; Immunohistochemical

Chinese Library Classification: R735.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)04-711-04

前言

作者简介:陈波(1979-),女,硕士研究生,住院医师。研究方向:肿瘤病理学。Tel: 15199093695, E-mail: ccsky5200@sina.cn
△通讯作者:邹赛英(1954-),女,研究方向:肿瘤病理学。
电话: 13139698230, E-mail: zousaiying@163.com
(收稿日期:2010-11-05 接受日期:2010-11-30)

胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一,其中一种特殊类型是印戒细胞癌(signet ring cell carcinoma SRCC)又称粘液细胞癌,约占胃癌的 9-20%;以含有大量粘液的孤立细胞为主要成分、具有单细胞浸润性生长、侵袭力强、转移率高且广泛多变等侵袭性特点^[1,2];本文通过对胃印戒细胞癌中 PKC β II、P53 和 Ki67 表达状况进行检测,并与胃低分化腺癌(Poorly differentiated adenocarcinoma PDAC)进行对比观察,探讨二者在两类胃癌中

的表达状况及其与浸润、转移的关系,为临床诊治及治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

收集 1997-2010 年兰州军区乌鲁木齐总医院病理科和石河子大学医学院第一附属医院病理科行胃癌切除手术并经病理确诊为胃印戒细胞癌的石蜡包埋组织标本 60 例作为实验组,其中男性 29 例、女性 31 例;年龄从 30-82 岁,中位年龄 60.5 岁。胃低分化腺癌 60 例作为对照组,男性 35 例、女性 25 例;年龄从 34-76 岁,中位年龄 60 岁。患者术前未经化疗或放疗。胃癌组织学分类依据 WHO 2002 版诊断标准,由两名以上高年资病理医生确定胃癌类型,选择癌组织典型蜡块切片各 3 张,进行免疫组化染色。

1.2 试剂

一抗分别为 PKCβ II 多克隆抗体购于 Santa Cruz 公司,抗体稀释滴度 1:200;P53 单克隆抗体(稀释滴度 1:200)、Ki67 单克隆抗体(稀释滴度 1:50)、即用型免疫组化 UltraSensitiveTMS-P 超敏试剂盒、对二甲氨基偶氮苯(DAB)显色剂及阳性对照片均购自福州迈新生物技术开发公司。具体染色步骤按说明书进行,分别用已知的阳性切片做阳性对照,以 PBS 代替一抗做阴性对照。

1.3 方法

1.3.1 PKCβ II、P53 和 Ki67 的免疫组化检测 免疫组化采用 S—P 法。标本用 10 %中性甲醛固定、脱水、石蜡包埋,切片。切片置于电热恒温干燥箱烤片过夜后脱蜡至水。柠檬酸高温微波修复 15 min;内源性过氧化酶阻断剂 10 min,动物非免疫血清封闭 20 min,滴加一抗 50 μ l / 片,4 ℃ 恒温冰箱过夜,生物素

标记的二抗 10 min,链霉素抗生物素蛋白 - 过氧化酶 10 min, DAB 显色 3 ~ 5 min,显微镜下观察,苏木素复染,脱水,透明,封片。

1.3.2 结果判定 以肿瘤细胞出现棕黄色颗粒为阳性标记结果。PKCβ II 阳性定位于细胞浆,少部分表达于细胞核;P53 阳性定位于细胞核;Ki67 定位于细胞核;结果判定采用半定量法,按染色程度计分:0 级为无色,1 级为淡黄色,2 级为棕黄色,3 级为棕褐色;再根据阳性细胞在所观察细胞中所占的百分比分级:0 级为阳性细胞 < 5 %,1 级为阳性细胞 5 %~25 %,2 级为阳性细胞 26 %~50 %,3 级为阳性细胞 51 %~75 %,4 级为阳性细胞 >75 %。染色强度与阳性细胞百分比相加,0 分 (-),1~2 分 (+),3~4 分 (++) ,5~7 分 (+++)。0~1 分为阴性表达,2~7 分为阳性表达。

1.4 统计学处理

采用 SPASS17.0 软件,组间比较采用 χ^2 检验,因素相关分析采用 Spearman 等级相关分析, $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 PKCβ II、P53、Ki67 在胃印戒细胞癌与低分化腺癌的表达

60 例胃印戒细胞癌细胞 (图 1)PKCβ II 阳性表达 46 例 (76.67 %) (图 2),胃低分化腺癌组织 PKCβ II 阳性表达 25 例 (41.67 %),二者之间有差异 ($P<0.05$);P53 在胃印戒细胞癌组织中阳性表达 26 例 (43.33 %) (图 3),胃低分化腺癌组织中表达 37 例 (61.67 %),二者之间有差异 ($P<0.05$);Ki67 胃印戒细胞癌组织中阳性表达 36 例 (60.00 %) (图 4),胃低分化腺癌组织中阳性表达 55 例 (91.67 %),二者之间有差异 ($P<0.05$) (表 1)。

表 1 PKCβ II、P53 和 Ki67 在胃印戒细胞癌与胃低分化腺癌组表达率比较[n(%)]

Table 1 Positive rate of PKCβ II, P53 and Ki67 in gastric signet ring cell carcinoma and poorly differentiated adenocarcinoma[n(%)]

Group	case	PKCβ II	P	P53	P	Ki67	P
SRCC	60	46(76.67)	0.000	26(43.33)	0.044	36(60.00)	0.000
PDAC	60	25(41.67)		37(61.67)		55(91.67)	

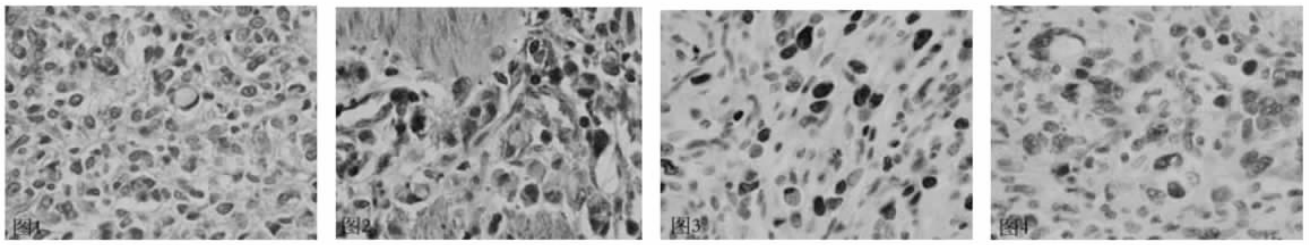


图 1 胃印戒细胞癌浸润性侵袭 HE X1000 ;Figure 1 Infiltrative invasion in Signet-ring cell carcinoma

图 2 PKCβ II 在胃印戒细胞癌中的表达,细胞浆阳性,X1000 Figure 2 Expression of PKCβ II in the Signet-ring cell carcinoma

图 3 Ki67 在胃印戒细胞癌中的表达,细胞核阳性,X1000 Figure 3 Expression of Ki67 in the Signet-ring cell carcinoma

图 4 P53 在胃印戒细胞癌中的表达,细胞膜核阳性,X1000 Figure 4 Expression of P53in the Signet-ring cell carcinoma

2.2 PKCβ II、P53、Ki67 在胃印戒细胞癌、低分化腺癌表达的相互关系

在胃印戒细胞癌中 PKCβ II 和 P53 表达呈负相关($r=-0.313$, $P=0.015$),PKCβ II 和 Ki67 表达呈负相关($r=-0.290$, $P=0.025$);

在低分化腺癌中 PKCβ II 和 P53 表达呈正相关($r=0.303,P=0.019$) , PKCβ II 和 Ki67 表达无相关性($r=-0.112,P=0.394$)。(表 2)。

表 2 PKCβ II、P53 和 Ki67 在胃印戒细胞癌与低分化腺癌组织中蛋白表达的相互关系
Table 2 Correlation of expression of PKCβ II,P53 and Ki67 in gastric signet ring cell carcinoma and poorly differentiated adenocarcinoma [n(%)]

PKCβ II	P53				Ki67		
	n	+	-	P	+	-	P
SRCC +	46	16(34.78)	30(65.22)	0.015	24(52.17)	22(47.83)	0.025
SRCC -	14	10(71.43)	4 (28.57)		12(85.71)	2(14.29)	
PDAC +	25	19(76.00)	6(24.00)	0.019	22 (88.00)	3(12.00)	0.394
PDAC -	35	16(45.71)	19(54.29)		33(94.29)	2(5.71)	

2.3 PKCβ II、P53、Ki67 表达与两种胃癌不同浸润深度的关系

依浸润浆膜深度分组:在未侵及浆膜层组中胃印戒细胞癌 PKCβ II、P53、Ki67 的阳性表达率分别为 10/ 18 (55.56%)、5/ 18(27.78%)、10/ 18(55.56%),胃低分化腺癌中三者的阳性表达率分别为 9/ 22 (40.91%)、13/ 22 (59.09%)、19/ 22 (86.36%); PKCβ II 阳性表达率在两类型之间无差异($P>0.05$) ,P53 阳性表达率在两类型之间有差异 ($P<0.05$) ,Ki67 阳性表达率在两

组之间无差异 ($P>0.05$)。在侵及浆膜层的胃印戒细胞癌 PKCβ II、P53、Ki67 的阳性表达率分别为 36/ 42 (85.71%)、21/ 42(50.00%)、26/ 42(61.90%),胃低分化腺癌中三者阳性表达率分别为 16/ 38 (42.11%)、24/ 38 (63.16%)、36 /38 (94.74%); PKCβ II 阳性表达率在两组之间具有显著性差异 ($P<0.05$) , P53 阳性表达率在两组之间无差异($P>0.05$) ,Ki67 阳性表达率在两组之间具有显著性差异($P<0.05$)(表 3)。

表 3 PKCβ II、P53 和 Ki67 在胃印戒细胞癌与胃低分化腺癌不同浸润深度阳性表达率比较[n(%)]
Table 3 Comparison of positive rate of PKCβ II , P53 and Ki67 in different depth of invasion in gastric signet ring cell carcinoma and poorly differentiated adenocarcinoma[n(%)]

Group		case	PKCβ II	P	P53	P	Ki67	P
Down-serosa	SRCC	18	10(55.56)	0.356	5(27.78)	0.048	10(55.56)	0.070
	PDAC	22	9(40.91)		13(59.09)		19(86.36)	
Serosa	SRCC	42	36(85.71)	0.000	21(50.00)	0.236	26(61.90)	0.001
	PDAC	38	16(42.11)		24(63.16)		36(94.74)	

2.4 PKCβ II、P53、Ki67 在淋巴结转移的两种胃癌中的表达

在淋巴结转移组中 PKCβ II 在胃印戒细胞癌阳性表达率为 34 / 40 (85.00 %) ,在胃低分化腺癌阳性表达率为 16 / 39 (41.03 %) ,二者之间具有显著性差异($P<0.05$) ;P53 在二者的

表达率分别为 19 / 40(47.50 %) 和 20 / 39(51.28%) ,二者之间无差异($P>0.05$) ;Ki67 在在二者的表达率为 20 / 40(50.00 %) 和 32 / 39(82.05 %) ,二者之间具有显著性差异($P<0.05$) (表 4)。

表 4 PKCβ II、P53 和 Ki67 在淋巴结转移的胃印戒细胞癌与胃低分化腺癌阳性表达率比较[n(%)]
Table 4 Comparison of positive rate of PKCβ II , P53 and Ki67 in gastric signet ring cell carcinoma and poorly differentiated adenocarcinoma with lymph node metastasis [n(%)]

Group	case	PKCβ II	P	P53	P	Ki67	P
SRCC	40	34(85.00)	0.000	19(47.50)	0.737	20(50.00)	0.003
PDAC	39	16(41.03)		20(51.28)		32(82.05)	

3 讨论

侵袭和转移是恶性肿瘤的重要生物学特征,围绕恶性肿瘤

具有的不同病理侵袭特征及其与临床生物学行为的关系等问题已成为肿瘤学研究的重要内容,亦是为制定抗肿瘤侵袭转移提供相关治疗方案的研究热点之一。近年认为:肿瘤具有扩张性

侵袭和浸润性侵袭两种侵袭模式,不同的侵袭模式与肿瘤临床生物学特征、手术方式、判断预后及治疗方案具有密切关系^[3,4]。扩张性侵袭(expansile invasion)也叫腺体融合/扩张性侵袭,是以密集的肿瘤性腺体互相融合、推挤间质以致间质消失为特点的一种侵袭模式,其肿瘤性腺体呈背靠背或筛状结构,病灶与周围分界清楚,常见于腺癌^[5],例如胃低分化腺癌。而浸润性侵袭(infiltrative invasion)是指肿瘤性腺体、单个细胞或细胞巢突破基底膜,破坏固有间质,在间质中杂乱地穿插浸润,伴有水肿以及炎性间质反应,或者是硬化性间质反应;这种侵袭模式破坏固有组织,也称为破坏性侵袭(destructive invasion),即使是局灶,其预后也可能是致死性的^[6,7]。胃印戒细胞癌在胃壁组织内弥漫浸润性生长,范围广泛,细胞动力学特性常表现为:单细胞性、单个散在,缺乏正常的极性和基质,形态不规则,具有全方位的阿米巴样运动能力,并且其癌组织无完整的腺管结构,粘液分泌异常增多,有助于癌细胞从癌灶分离脱落向周围正常组织内浸润性生长,具有很强的侵袭性,属于浸润性侵袭。

本研究选择两型不同浸润方式的胃癌组织进行了有关肿瘤相关信号分子 PKC β II 及抑癌基因 P53 和与细胞增殖周期相关的核蛋白 Ki67 进行联合检测,并结合肿瘤浸润转移状况进行对比观察发现:PKC β II、P53 和 Ki67 在两种类型胃癌组织中的表达存在差异,PKC β II 在印戒细胞癌中具有高表达,在侵及浆膜层及邻近组织和淋巴结转移组中与 Ki67 存在一致性,与胃低分化腺癌具有显著性差异($P<0.05$);而 P53 在两类胃癌浸润浆膜及淋巴结转移组中无差异。由此提示:PKC β II、P53、Ki67 三者在胃癌组织侵袭中具有重要的作用,其中 PKC β II 和 Ki67 与胃印戒细胞癌及其深度浸润和淋巴结转移密切相关,具有一定的协同作用,可能与浸润性侵袭方式相关密切;P53 与两种类型胃癌的早期浸润有关,可能为胃癌发生的早期事件。近年的研究认为:蛋白激酶 C(PKC)做为细胞内信号转导的重要递质,参与细胞的信息传递和癌基因的激活以及肿瘤细胞的生长、分化、癌变、凋亡及耐药等一系列生命活动;蛋白激酶 C 亚型的异常表达和活性增高在调节细胞生长、分化、肿瘤的形成和转移等过程中起着重要作用,其中 PKC β II 具有促进细胞增殖、抑制细胞凋亡、参与细胞周期调控、促进肿瘤粘附侵袭及转移等作用^[8,9];在实验研究中已经发现 PKC β 与胃癌细胞株的浸润性相关,PKC β 抑制剂能降低胃癌细胞株的生长和血管的形成,明显抑制胃癌细胞系生长^[10]。本研究进一步证明了 PKC β II 和 Ki67 与胃印戒细胞癌侵袭性浸润的密切相关,有望为抑制肿瘤细胞生长、侵袭浸润提供新

的联合靶点;进一步深入研究 PKC β II 在不同侵袭模式胃癌组织与肿瘤临床生物学特征的关系为胃癌分子靶向治疗提供新的思路具有积极的意义。

参考文献(References)

- [1] Stanley R. Hanmilton, Lauri A.Aaltonen. World Health Organization classification of Tumours: Pathology & Genetics Tumours of the Digestive System [M]. Beijing: People's medical publishing house, 2006, 7,40-49
- [2] Zou Sai-ying, Tang Xin-ping, Zhang Pei-yi, et al. Relations of MDR with CEA, nm23 in gastric signet ring cell carcinoma [J]. Medical Journal of National Defending Forces in Northwest China, 2002,23 (1):26-27
- [3] Zhang Yan-ning, Huang Shou-fang. A new invasion model: neoplasia-expansile invasion [J]. Chinese Journal of Diagnostic Pathology; 2006; 13(4): 310-312
- [4] Bell KA, Kurman RJ. A clinicopathologic analysis of atypical proliferative (borderline) tumors and well differentiated endometrioid adenocarcinomas of the ovary[J]. Am J Surg Pathol, 2000,24(11):1465- 1479
- [5] Chen S, Leitao MM, Tornos C, et al. Invasion patterns in stage I endometrioid and mucinous ovarian carcinomas: a clinicopathologic analysis emphasizing favorable outcomes in carcinomas without destructive stromal invasion and the occasional malignant course of carcinomas with limited destructive stromal invasion[J]. Mod Pathol, 2005,18 (7): 903 - 911
- [6] Lee KR, Scully RE. Mucinous tumors of the ovary, a clinicopathologic study of 196 borderline tumors (of intestinal type) and carcinomas, including an evaluation of 11 cases with pseudomyxoma peritonei [J]. Am J Surg Pathol, 2000,24 (11): 1447- 1464
- [7] Ronnett BM, Kajdacsy, Balla A, Gilks CB, et al. Mucinous borderline-ovarian tumors: points of general agreement and persistent controversies regarding nomenclature, diagnostic criteria, and behavior[J]. Human Pathol, 2004,35 (8): 949 - 960
- [8] Costa AM, Robinson JK, Maududi T, et al. The p roapop tosi tumor suppressor p rotein kinase C δ is lost in human squamous cell carcinomas[J]. Oncogene, 2006, 25 (3): 378-386
- [9] Chen Bo, Zou Sai-ying, Chen Cheng, et al. Expression of PKC β II and EGF receptor in gastric carcinoma and their significance [J]. Progress In Modern Biomedicine, 2010;10(18):3443-3446
- [10] Clark AS, West KA, Blumberg PM, et al. Altered p rotein kinase C [PKC] isoforms in non-small cell lung cancer cell: PKC δ promotes cellular survival and chemotherapeutic resistance [J]. Cancer Res, 2003, 63 (4): 780-786