

NF- B 及靶基因表达与胃窦肠上皮化生关系的研究

杨桂芳,熊永炎,龚玲玲

Study of relationship between expression of NF- B/p65, its target genes and intestinal metaplasia of antral gastritis

YANG Gui-fang, XIONG Yong-yan, GONG Ling-lin

Department of Pathology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between expression of NF- B/p65, its target genes and different types of intestinal metaplasia in antral gastritis. **Methods** HID/AB/PAS method was used to detect the different kinds of mucin in intestinal metaplasia (IM) epithelium. Expression of NF- B/p65, c-myc, cyclinD₁ in intestinal metaplasia epithelium of gastric antral biopsy was detected by S-P immunohistochemistry method. **Results** The positive rates of NF- B/p65, c-myc, cyclinD₁ were significantly higher in the IM than in the normal gastric mucosa. The positive rates of NF- B/p65, c-myc, cyclinD₁ were significantly higher in the IM grade I, IM grade II, IM grade III, while there was no significant difference among IM grade I, IM grade II, IM grade III. **Conclusion** The high expression of NF- B/p65, c-myc, cyclinD₁ in IM may be an important event in the tumorigenesis of gastric adenocarcinoma.

Keywords: Intestinal metaplasia; NF- B/p65; Immunohistochemistry

摘要: **目的** 研究 Nuclear factor- B (NF- B)/p65 靶基因表达与胃粘膜不同类型肠上皮化生的关系。**方法** 采用 HID/AB/PAS 方法检测肠化生上皮中粘液性质; S-P 免疫组化法检测 98 例胃窦活检肠上皮中 NF- B/p65, C-myc, cyclinD₁ 表达。**结果** NF- B/p65, C-myc, cyclinD₁ 在 III 型肠化中阳性表达最高, 分别为: 29/35、30/35、28/35, 明显高于 I 型、II 型肠化且有显著性差异; 而在 I、II 级肠化中表达无显著性差异。**结论** III 型肠上皮化生中 NF- B/p65, C-myc, cyclinD₁ 的高表达, 可能是胃癌发生过程中的重要分子生物学事件。

关键词: 肠上皮化生; NF- B/p65; 免疫组化

中图分类号: R730.231 + .3 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2004)01-0019-02

0 引言

大量研究证实: 慢性萎缩性胃炎, 胃粘膜肠上皮化生是胃癌前病变, 特别是不完全型结肠上皮化生 (III 型肠化) 与胃癌发生关系密切^[1,2], 但其确切机制不清。NF- B 是一系转录因子, 调节编码涉及炎症免疫反应的细胞因子。最近的研究发现 NF- B 调节细胞增殖基因及抗凋亡基因的表达, 其在肿瘤发生中的作用日益受到人们的重视^[3]。本研究采用免疫组织化学方法检测胃粘膜肠化上皮中 NF- B/p65 及靶基因 C-myc, cyclinD₁ 的表达, 并分析在不同类型肠上皮化生中的阳性表达率, 探讨 NF- B 及靶基因在胃癌发生中的作用。

1 材料和方法

1.1 资料来源 收集武汉大学中南医院病理科

2000 ~ 2001 年间胃镜胃窦活检, 确诊为慢性萎缩性胃炎伴肠上皮化生病例共 98 例。男性: 59 例, 女性: 37 例; 年龄: 20 ~ 62 岁, 均龄为 41 岁。

1.2 病理组织学检查 根据光镜形态学观察: 肠上皮化生分为三型: I 型肠化: 镜下见纹状缘细胞, 杯状细胞及 Paneth 细胞。II 型、III 型肠化: 镜下见柱状细胞及杯状细胞。肠上皮化生分级据悉尼系统。

1.3 粘液染色 HID/AB/PAS 粘液染色按 Jass JR 方法进行。染色结果判断: 硫酸粘液呈棕黑色, 非硫酸酸性粘液呈蓝色, 中性粘液呈红色。I 型肠化: 肠化上皮着蓝色; II 型肠化: 上皮着红色及蓝色; III 型肠化上皮着蓝色及棕褐色。

1.4 免疫组化染色 小鼠抗人 NF- B/P65 浓缩型抗体, cyclinD₁ 即用型抗体均购自北京中山生物有限公司, 即用型 C-myc 抗体购于福州迈新生物技术公司, S-P 免疫组化试剂盒均购于福州迈新生物技术公司, S-P 免疫组化染色按试剂盒说明书 NF- B/p65 工作浓度为 1:200。所有切片均采用微波修复抗原, 一抗 4℃ 冰箱温盒内过夜, DAB 显色。用已知

收稿日期: 2003-05-21; 修回日期: 2003-08-14
基金项目: 湖北省科技攻关项目基金资助项目 (2003AA301C25)
作者单位: 430071 武汉大学中南医院病理科

阳性片做对照,PBS 代替一抗作阴性对照。结果判断:NF- B/p65: 细胞浆内出现明显棕黄色颗粒为阳性细胞。C-myc,cyclinD1: 细胞核/或浆内出现棕黄色颗粒为阳性细胞。阳性细胞数 10% 者为阴性,>10% 者为阳性。

1.5 统计学处理 10.0SPSS 统计软件分析数据,采用²及四格表精确概率法计算结果。 $P < 0.05$ 为显著性检测水准。

2 结果

结合光镜及黏液染色结果:I 型肠化有 36 例,II 型肠化有 37 例,III 型肠化 35 例。光镜观察结果:1 级肠化有 36 例,2 级肠化 32 例,3 级肠化 30 例。NF- B、C-myc、cyclinD₁ 在 III 型肠化中阳性表达率分别为82.86% ,85.71% , 80.00% 较 I、II 型肠化表达率明显增高且差异有显著性意义,见表 1。NF- B/p65 阳性表达率在 、 、 级肠化分别为: 55.56% , 56.25% , 63.33% , 表达差异无显著性意义。C-myc 阳性表达率分别为: 58.33% ,53.12% , 63.33% ,表达差异无显著性意义。cyclinD₁ 阳性表达率分别为: 52.78% ,62.50% ,60.00% , 表达在各级之间差异无显著意义,见表 2。

表 1 NF- B/p65 及靶基因在不同类型肠化生上皮中的表达

n	肠化 I 型 36	肠化 II 型 37	肠化 III 型 35
NF- B	13 *	15 *	29
C-myc	14 *	13 *	30
cyclinD ₁	12 *	17 *	28

* 与 III 型肠化比较, $P < 0.01$

表 2 NF- B/p65 及靶基因在不同程度肠化生上皮中的表达

n	肠化 I 型 36	肠化 II 型 32	肠化 III 型 30
NF- B	20 *	18 *	19
C-myc	21 *	17 *	19
cyclinD ₁	19 *	20 *	18

* 与 III 级肠化比较, $P > 0.05$

3 讨论

NF- B 首次从鼠 B 淋巴细胞中提出并确定为调节 Kappa 轻链表达的调节因子,由一系列不同蛋白二聚体组成,p50 p65 是 NF- B 激活最常见的形式,具有和某些基因启动子区域特定核苷酸序列结合而启动靶基因转录的功能^[4]。引起慢性胃炎的

病菌如幽门螺杆菌及炎症过程中的某些物质如 IL- I 均可激活 NF- B, 激活后的 NF- B 可启动靶基因的转录。

C-myc、cyclinD₁ 基因启动子上存在与 NF- B 结合的位点,NF- B 与其启动子 B 位点结合后,可启动 C-myc,cyclinD₁ 基因的转录表达^[3,4]。C-myc 是强有力的促进细胞增殖因子,具有原癌基因的特征,是多因素致癌过程中的重要基因,其过表达可使细胞周期异常、失控,使组织具有明显癌变倾向,在肿瘤的形成中具有重要作用^[5],cyclinD₁ 是细胞由 G₁ 期向 S 期转移的重要因子,有促进细胞增殖的作用^[6],并在多种肿瘤细胞中表达异常增高。本实验中观察到 NF- B/p65 及靶基因的表达在三种不同类型的肠化中存在差异,以 III 型肠上皮化生中表达最高且与 I、II 型肠化之间存在显著性差异。

许多学者认为,慢性胃炎中的肠上皮化生是胃癌前病变的重要阶段,特别是 III 型肠化与胃癌的发生关系密切。本结果提示:III 型肠化上皮组织中,NF- B/p65 可能被胃炎中的某些因素激活后上调 C-myc,cyclinD₁ 的高表达。III 型肠上皮化生组织中 NF- B/p65、C-myc、cyclinD₁ 的高表达可导致细胞过度增殖,促进胃癌的发生,可能是胃癌发生过程中重要的分子生物学机制。

本实验还观察到 NF- B 及靶基因表达与肠上皮化生的程度无关。提示:NF- B 及靶基因(C-myc、cyclinD₁) 过度表达与肠化生上皮的类型有关,而与肠化程度无关。提示阻止 III 型肠化的发生、发展在预防胃癌的发生上具有重要意义。

参考文献:

[1] ConchilloJM,HoubenG,deBruineA,etal.Ist ypeIIIintestinal metaplasiaandbli gatory precancerouslesioninintestinal -type gastriccancer[J].EurJcancer prev,2001,10 (4):302-312.

[2]GuarnerJ,Herrera -goepferR,MoharA.Gastricatrophylaxantentofintestinalmetaplasiaina cohortofHelicobacter pyloriinfected patients[J].HumanPathology,2001,32 (1):31-35.

[3]LinA,KarinM.NF -kappaBinCancer:amarkedtarget[J].SeminCancerBiol,2003,13 (2):107-114.

[4]KarinM,GaoY,CretenFR.etal.NF -kappaBincancer:from innocent bystandertomajorculprit[J].NatRevCancer,2002,2 (4):301-310.

[5]ChenJP,LinC,XuCP,etal.MoleculartherapieswithrecombinantantisenseC -mycadenovirusforhuman gastriccarcinomacells invitroandin vivo[J].JGastroenterolHepatol,2001,16 (1):22-28.

[6]UmekitaY,OhiY,SagaraY,etal.OverexpressionofCyclinD₁ predictsfor poor prognosisinestrogenreceptor-negativebreastcancer patients[J].IntJ Cancer,2002,20 (3):45-48.

(安 凤校对)