文章编号:1000-5404(2006)08-0831-03

论著

C-KIT蛋白在结直肠癌中的表达及临床意义

马千里,马 华,陈 曦,何扬涛,周德山 (第三军医大学基础医学部组织学与胚胎学教研室,重庆市神经科学研究所,重庆 400038)

提 要: 目的 探讨C-KIT蛋白在结直肠癌中的表达及其临床意义。**方法** 应用免疫组织化学方法检测46例原发结直肠癌组织和30例癌旁正常组织的C-KIT蛋白和CEA的表达。**结果** 46例结直肠癌组织中,C-KIT蛋白表达率为15.2%(7/46),其中9例低分化结直肠癌组织中C-KIT蛋白阳性表达率高达77.8%(7/9),而12例高分化、25例中分化结直肠癌组织及30例癌旁正常组织未见C-KIT蛋白表达;统计分析表明C-KIT蛋白的表达在不同肿瘤大小和临床分期的结直肠癌间无显著差异($P>0.05$),而在不同癌细胞分化程度间差异显著($P<0.05$)。**结论** 表达C-KIT蛋白的结直肠癌细胞呈低分化趋向,提示以C-KIT为靶点治疗低分化结直肠癌患者具有一定的可能性。

关键词: 结直肠癌;C-KIT蛋白;免疫组织化学;癌胚抗原
中图法分类号: R341;R730.23;R735.35 **文献标识码**: A

Expression and significance of C-KIT protein in human colorectal carcinoma

MA Qian-li, MA Hua, CHEN Xi, HE Yang-tao, ZHOU De-shan (Department of Histology and Embryology, College of Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and significance of C-KIT protein in human colorectal carcinoma. Methods Expression of C-KIT was detected in 46 colorectal carcinoma specimens of different differentiation by immunohistochemistry, 30 normal colorectal specimens from paraneoplastic regions adjacent to colorectal carcinoma as control. Results Of the 46 carcinoma specimens, 7 out of 9 (77.8%) poorly differentiated colorectal carcinoma showed C-KIT positive staining in cytoplasm of cancer cells, but the expression of C-KIT was detected neither in the 12 well-differentiated and 25 moderately differentiated colorectal carcinomas nor in the 30 normal tissues, indicating that the expression of C-KIT may be related to differentiation of the cancer ($P<0.05$), not to the other characteristics of the Dukes' staging ($P=1.000$) and tumor size ($P=0.681$). Conclusion Expression of C-KIT protein may be associated with the poorly differentiated colorectal carcinoma. It suggested a possibility to treat poorly differentiated colorectal carcinomas by targeted interference in C-KIT signaling pathway.

Key words: colorectal carcinoma; C-KIT; immunohistochemistry; carcinoembryonic antigen

结直肠癌是一种严重威胁人类健康的疾病,死亡率位居恶性肿瘤死亡谱的第4位,目前临床治疗依然以手术为主,尚缺乏特异性靶向治疗药物[1]。近年国内外研究表明一些与肿瘤生长分化、发生发展密切相关的生物分子,可用于肿瘤的监测及评估,但与治疗相关的靶分子目前尚较缺乏[2]。

原癌基因C-KIT,是一种编码具有酪氨酸蛋白激酶活性的生长因子受体,已经证明在乳腺癌、小细胞肺癌、生殖细胞肿瘤、胃肠间质肿瘤(gastrointestinal stromal tumors, GIST)及恶性胶质瘤等多种恶性肿瘤中表达;目前在多种结直肠癌细胞系中可见C-KIT蛋白表达,并发现C-KIT阳性细胞具有较强的增殖、分裂能力[3]。早在1997年Bellone[4]曾报道结直肠癌组织中可见C-KIT表达;2003年Yorke等[5]检测62例结直肠癌标本,阳性率仅3%;而Sammarco等[6]报道了20例结直肠癌临床手术标本,仅1例低分化腺癌呈C-KIT

作者简介:马千里(1978-),男,重庆市人,硕士研究生,助教,主要从事肿瘤微转移方面研究。电话:(023)68752229
通讯作者:周德山,电话:(023)68752230
收稿日期:2005-10-25;修回日期:2006-01-04

阳性表达。上述报道均采用甲醛固定，石蜡包埋的病理标本，该方法对膜抗原 C-KIT 蛋白的破坏较大，可能存在部分假阴性的可能。因此，本研究采用新鲜临床结直肠癌手术标本，OCT 包埋、液氮速冻的 C-KIT 免疫组织化学染色，观察其在不同肿瘤直径、Dukes 分期和肿瘤细胞分化程度之间的表达情况，为临床结直肠癌靶向治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本 来自我校西南医院，新桥医院普通外科，46 例原发性结直肠癌手术切除肿瘤标本，其中男性 27 例，女性 19 例；年龄 32～79 岁，中位年龄 56.2 岁。其中结肠癌 5 例，直肠癌 41 例；病理组织分型：高分化 12 例、中分化 25 例、低分化 9 例；临床病理分期：Dukes A 期 11 例、B 期 23 例、C 期 10 例、D 期 2 例。癌旁正常组织 30 例作为对照。

1.1.2 主要试剂 鼠抗人 C-KIT 单克隆抗体和羊抗鼠过氧化物酶标记二抗（DAKO）；DAB（SIGMA）。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化染色 标本 OCT 包埋后、液氮速冻、5 μm 连续切片，分别进行 HE 染色，C-KIT 蛋白免疫染色。染色方法为间接酶标抗体法。标本风干后 100% 冷丙酮固定，C-KIT 单克隆抗体 1∶200，二抗稀释 1∶100，DAB 显色，苏木精复染[7]。所有染色均设置阴性对照。

1.2.2 结果判断 免疫组化结果使用 Image Pro Plus 软件进行数字图像分析，行半定量检测：通过染色强度和阳性肿瘤细胞比例判断阳性与否，染色强度评为 0～3 分，未见阳性细胞为 0 分，弱阳性为 1 分，中等强度为 2 分，强阳性为 3 分；阳性肿瘤细胞比例评为 0～3 分，阴性为 0 分，1%～20% 为 1 分，21%～50% 为 2 分，51%～100% 为 3 分；免疫反应评分＝染色强度分×阳性瘤细胞比例分，大于 1 分的样本为 C-KIT 蛋白表达阳性[8]。

1.3 统计学分析

用 SPSS 10.0 软件，χ^2 检验和 Fish's 确切概率法检验。

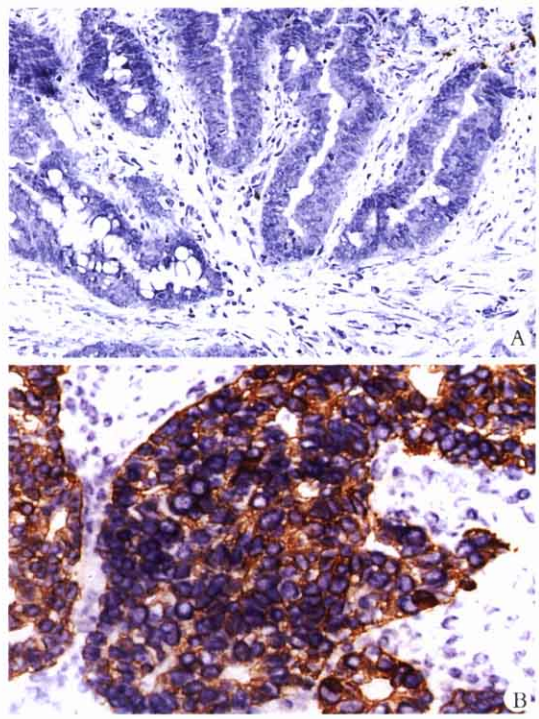
2 结果

2.1 HE 染色

结直肠癌组织及癌旁正常组织 HE 染色结果表明，高分化 12 例、中分化 25 例、低分化 9 例，与临床病理检查结果一致。

2.2 C-KIT 蛋白的表达

在 30 例癌旁正常组织中，C-KIT 蛋白主要存在于肥大细胞和 Cajal 细胞中，黏膜上皮未见 C-KIT 蛋白表达；而 46 例结直肠癌患者标本中，C-KIT 蛋白阳性表达率为 15.2%（7/46）；9 例低分化结直肠癌组织中 C-KIT 蛋白阳性表达率高达 77.8%（7/9），而 12 例高分化、25 例中分化结直肠癌组织中均未见 C-KIT 蛋白的表达。C-KIT 蛋白阳性产物主要分布于细胞膜和细胞质中（图 1）。



A：高、中分化结直肠癌中未见 C-KIT 蛋白阳性产物（间接酶标×100）；B：低分化结直肠癌中 C-KIT 蛋白表达阳性（间接酶标×400）

图 1 C-KIT 蛋白在结直肠癌中的表达

2.3 C-KIT 蛋白表达与其他临床相关指标的关系

表 1 可见 46 例标本中，7 例 C-KIT 阳性肿瘤患者中肿瘤直径小于 5 cm 的 4 例，大于 5 cm 的 3 例；C-KIT 阳性表达的肿瘤属 Dukes A 期 1 例，Dukes B 期 4 例，Dukes C 期 2 例，Dukes D 期 0 例。C-KIT 蛋白的表达在不同肿瘤直径和不同临床分期的结直肠癌间无显著差异，而在不同肿瘤细胞分化程度间差异显著（$P<0.01$）；同时在低分化的结直肠癌中 C-KIT 蛋白的表达率高达 77.8%（7/9），而在高分化和中分化的肿瘤中未检测到 C-KIT 蛋白表达，提示 C-KIT 阳性肿瘤细胞呈低分化趋势，患者的预后可能更差。

表 1 C-KIT 蛋白表达与结直肠癌患者临床相关指标间的关系

临床相关指标	例数	阳性例数（%）	阴性例数	P
肿瘤直径（cm）				
<5	30	4（13.3）	26	0.681[a]
>5	16	3（18.7）	13	
Dukes' 分期				
A	11	1（9.9）	10	1.000[a]
B-D	35	6（17.1）	29	
分化程度				
低分化	9	7（77.8）	2	0.000[b]
高、中分化	37	0（0）	37	

a：Fish's 确切概率法检验 $P>0.05$；b：χ^2 检验 $P<0.05$

3　讨论

结直肠癌是继肺癌和乳腺癌之后发病率居第 3 位的常见恶性肿瘤，虽然在诊断、外科技术、围手术期处理、术后放化疗及综合治疗等方面均不断提高，但近 40 年的治疗分析表明其发病率和死亡率仍未见改善，5 年生存率约为 50%。目前手术是结直肠癌的主要治疗手段，化疗仅对部分患者有益，近年，利用特异性靶分子对肿瘤生物学行为进行干预的靶向治疗显示了诱人的前景。

目前已有依决洛单抗（edrecolomab）[9]、西妥昔单抗（cetuximab）[10]、贝伐单抗（bevacizumab）[11]、COX 相关抑制剂及多种 CEA 疫苗[12]等针对结直肠癌肿瘤靶向治疗药物进入临床实验和应用，其中西妥昔单抗（人鼠嵌合抗 EGFR 单克隆抗体）和贝伐单抗（人源化抗 VEGF 单克隆抗体）已于 2004 年被美国 FDA 批准上市，并得到良好的治疗效果，尤其对化疗失败及肿瘤转移患者能够延长其生存时间，提示靶向性治疗将是恶性肿瘤治疗的发展方向之一。

原癌基因 C-KIT 属于具有酪氨酸蛋白激酶活性的生长因子受体家族，表达的 C-KIT 蛋白通过与配体干细胞因子结合，在造血干细胞、肥大细胞、Cajal 细胞、生殖细胞、黑色素细胞等的生长、分化及增殖中发挥重要调控作用。近年研究表明，C-KIT 在多种肿瘤细胞中表达，并与肿瘤的发生，生长，恶性转化等密切相关。在急性白血病和成人肥大细胞增生症中，酪氨酸激酶抑制剂 SU5416 已进入临床实验并显示出良好的前景；而酪氨酸激酶抑制剂 STI571 对 GIST 良好的治疗作用也提示：SCF/C-KIT 通路作为部分肿瘤的靶向治疗靶点具有一定意义。

本实验显示：46 例结直肠癌组织中 C-KIT 蛋白的表达在不同肿瘤直径和临床分期的标本中无显著差异，而在不同肿瘤细胞分化程度间差异显著（$P < 0.01$）；在低分化的结直肠癌中 C-KIT 蛋白的表达率高达 77.8%（7/9），而在高分化和中分化的肿瘤中未检测到 C-KIT 蛋白表达；上述结果提示 C-KIT 阳性肿瘤细胞呈低分化趋势，即 C-KIT 蛋白阳性肿瘤细胞的生物学行为上恶性度较高，患者的预后可能更差。因此，随着个体化治疗的发展，临床上针对 C-KIT 阳性结直肠癌患者，应用干扰 C-KIT 分子的靶向性药物治疗有望成为个性化治疗方案之一，对于提高低分化结直肠癌患者的生存率，改善生存质量具有重要临床意义。

参考文献：

[1] 李连弟，饶克勤，张思维，等. 中国 12 市县 1993－1997 年肿瘤发病和死亡登记资料统计分析［J］. 中国肿瘤，2002，11（9）：497－507.

[2] HANNA M G，Jr.，HOOVER H C，Jr.，VERMORKEN J B，*et al*. Adjuvant active specific immunotherapy of stage II and stage III colon cancer with an autologous tumor cell vaccine：first randomized phase III trials show promise［J］. Vaccine，2001，19（17－19）：2576－2582.

[3] BELLONE G，CARBONE A，SIBONA N，*et al*. Aberrant activation of C-KIT protects colon carcinoma cells against apoptosis and enhances their invasive potential［J］. Cancer Res，2001，61（5）：2200－2206.

[4] BELLONE G，SILVESTRI S，ARTUSIO E，*et al*. Growth stimulation of colorectal carcinoma cells via the C-KIT receptor is inhibited by TGF-beta 1［J］. J Cell Physiol，1997，172（1）：1－11.

[5] YORKE R，CHIRALA M，YOUNES M. C-KIT proto-oncogene product is rarely detected in colorectal adenocarcinoma［J］. J Clin Oncol，2003，21（20）：3885－3886.

[6] SAMMARCO I，CAPURSO G，COPPOLA L，*et al*. Expression of the proto-oncogene C-KIT in normal and tumor tissues from colorectal carcinoma patients［J］. Int J Colorectal Dis，2004，19（6）：545－553.

[7] 梅　峰，于　彬，马　华，等. 豚鼠空肠吻合术后 ICCs 的再生及细胞网络再形成研究［J］，第三军医大学学报，2005，27（5）：376－380.

[8] REMMELE W，STEGNER H E. Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score（IRS）for immunohistochemical estrogen receptor detection（ER-ICA）in breast cancer tissue［J］. Pathologe，1987，8（3）：138－140.

[9] RIETHMULLER G，HOLZ E，SCHLIMOK G，*et al*. Monoclonal antibody therapy for resected Dukes' C colorectal cancer：seven-year outcome of a multicenter randomized trial［J］. J Clin Oncol，1998，16（5）：1788－1794.

[10] CUNNINGHAM D，HUMBLET Y，SIENA S，*et al*. Cetuximab（C225）alone or in combination with irinotecan（CPT-11）in patients with epidermal growth factor receptor（EGFR）-positive，irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer（MCRC）［J］. Proc Am Soc Clin Oncol，2003，22（8）：252.

[11] HURWITZ H，FEHRENBACHER L，CARTWRIGHT T，*et al*. Bevacizumab（a monoclonal antibody to vascular endothelial growth factor）prolongs survival in first-line colorectal cancer（CRC）：results of a phase III trial of bevacizumab in combination with bolus IFL（irinotecan，5-fluorouracil，leucovorin）as first-line therapy in subjects with metastatic CRC［J］. Proc Am Soc Clin Oncol，2003，22（8）：3646.

[12] CONRY R M，CURIEL D T，STRONG T V，*et al*. Safety and immunogenicity of a DNA vaccine encoding carcinoembryonic antigen and hepatitis B surface antigen in colorectal carcinoma patients［J］. Clin Cancer Res，2002，8（9）：2782－2787.

（编辑　陈聪连）