DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.01.030
第26卷第1期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 1
78 2004年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2004

论著

文章编号:1000-5404(2004)01-0078-03

β-catenin蛋白表达与大肠腺瘤癌变的关系

何渝军[1],刘宝华[1],向德兵[2] (第三军医大学大坪医院野战外科研究所:[1]普通外科,[2]病理科,重庆 400042)

提 要:目的 探讨β-catenin蛋白表达与大肠腺瘤癌变的关系。方法 采用免疫组化法检测25例正常大肠粘膜(NCM)、42例大肠腺瘤(CA)和19例大肠腺瘤癌变(CAC)组织中β-catenin蛋白的表达。结果 正常大肠粘膜β-catenin蛋白表达位于细胞膜,大肠腺瘤和大肠腺瘤癌变组织的β-catenin细胞膜表达有不同程度的缺失,而细胞浆和细胞核异位表达明显增加。大肠腺瘤癌变组织β-catenin异位表达率为89.5%,显著高于大肠腺瘤42.9%($P<0.01$)。大肠腺瘤组织β-catenin细胞膜表达缺失率为33.3%,大肠腺瘤癌变组织为42.1%。结论 β-catenin蛋白的异常表达可能是大肠腺瘤癌变的重要环节之一。

关键词:大肠腺瘤;β-连环素;免疫组织化学
中图法分类号:R735.3;Q516;R730.23 文献标识码:A

β-catenin expression and colorectal adenoma with canceration

HE Yu-jun[1], LIU Bao-hua[1], XIANG De-bing[2] ([1]Department of General Surgery, [2]Department of Pathology, Institute of Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between β-catenin expression and colorectal adenoma with canceration. Methods The expression levels of β-catenin in 25 cases of normal colorectal mucosa (NCM), 42 cases of colorectal adenoma (CA), and 19 cases of colorectal adenoma with canceration (CAC) were detected by immunohistochemistry. Results β-catenin expression was detected on the cell membrane in normal colorectal mucosa. Reduced membrane expression, cytoplasmic and nuclear expression were detected in the colorectal adenoma and adenoma with canceration. The cytoplasmic and nuclear expression rate of β-catenin was 89.5% in colorectal adenoma with canceration, significantly higher than that in colorectal adenoma (42.9%, $P<0.01$). The reduced membrane expression rate of β-catenin was 33.3% in colorectal adenoma and 42.1% in colorectal adenoma with canceration, respectively. Conclusion The abnormal expression of β-catenin might be one of the important steps in the canceration of colorectal adenoma.

Key words: colorectal adenoma; β-catenin; immunohistochemistry

大肠腺瘤是一种具有癌变潜能的良性病变,近年来研究表明β-连环素(β-catenin)及其通路相关基因的改变与大肠肿瘤的发生、发展有密切的关系。本实验采用免疫组化染色检测正常大肠粘膜、大肠腺瘤和大肠腺瘤癌变组织中β-catenin蛋白的表达,旨在了解β-catenin在大肠腺瘤癌变中的作用。

1 资料和方法

1.1 临床资料

收集我院普通外科1999年8月至2002年4月行纤维结肠镜活检和外科手术切除的标本,正常大肠粘膜(NCM)25例,大肠腺瘤(CA)42例,其中管状腺瘤30例、管状绒毛状腺瘤7例、绒毛状腺瘤5例,大肠腺瘤癌变(CAC)19例。所有标本均经病理学检查证实。男性49例,女性37例,年龄24~72岁,平均47.5岁。

1.2 主要试剂

浓缩型鼠抗人β-catenin单克隆抗体(sc-7963),购自Santa Cruz公司,工作浓度为1∶100,Power Vision™(IgG抗体—HRP多聚体)复合物,购自北京中山公司。

1.3 方法

采用免疫组化二步法:标本石蜡包埋,4μm厚切片,二甲苯脱蜡,乙醇梯度水化,3%H_2O_2甲醇室温10 min,微波抗原修复。滴加一抗,4 ℃过夜,Power Vision™复合物50μl 37 ℃孵育30 min,DAB H_2O_2显色,苏木精复染。取已知阳性的肝癌组织作阳性对照,以PBS代替一抗作阴性对照。以细胞内出现棕黄色β-catenin颗粒为阳性标志,β-catenin染色判断标准按照Maruyama等[1]方法:从细胞膜、细胞浆和细胞核3个方面判断β-catenin

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30100228)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30100228)
作者简介:何渝军(1969—),男,江西省万安县人,博士研究生,主治医师,讲师,主要从事胃肠肿瘤发生机制方面的研究,发表论文13篇。电话:(023)68757248
收稿日期:2003-03-07;修回日期:2003-08-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

的表达特征, 正常β-catenin 表达主要定位于细胞膜, 当> 70% 细胞膜阳性表达者为正常表达, 反之为细胞膜表达缺失; 当> 10%细胞浆或细胞核阳性表达者为异位表达。细胞膜表达缺失和异位表达统称为异常表达。

1.4　统计学处理

采用χ^2 检验。

2　结果

2.1　β-catenin 在不同大肠组织中的表达

正常大肠粘膜β-catenin 表达呈清晰的棕黄色染色, 阳性表达几乎全部定位于细胞膜上, 仅有个别标本细胞浆有极弱的染色, 未见细胞核表达(图 1)。大肠腺瘤组织的β-catenin 细胞浆和细胞核异位表达增加(图 2)。大肠腺瘤癌变组织的β-catenin 细胞浆和细胞核表达明显增加, 细胞膜表达有不同程度的减少(图 3)。大肠腺瘤癌变组织β-catenin 异位表达率, 显著高于大肠腺瘤(42.9%, $P<0.01$)。大肠腺瘤组织β-catenin 细胞膜表达缺失率为 33.3%, 大肠腺瘤癌变组织为 42.1%(表 1)。

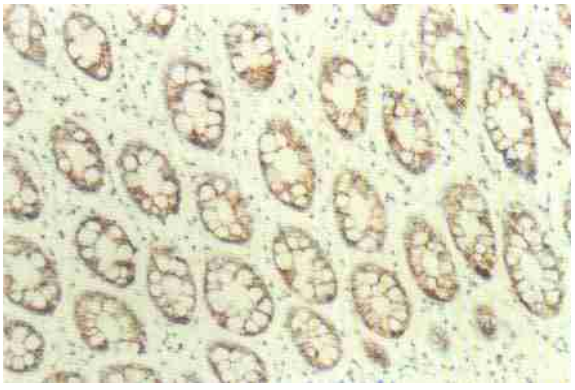


图 1　正常大肠粘膜β-**catenin** 的免疫组化染色　(Power Vision™× 200)

Fig 1　Immunohistochemical staining of β-catenin in normal colorectal mucosa　(Power Vision™× 200)



图 2　大肠腺瘤β-**catenin** 的免疫组化染色　(Power Vision™× 200)

Fig 2　Immunohistochemical staining of β-catenin in colorectal adenoma　(Power Vision™× 200)

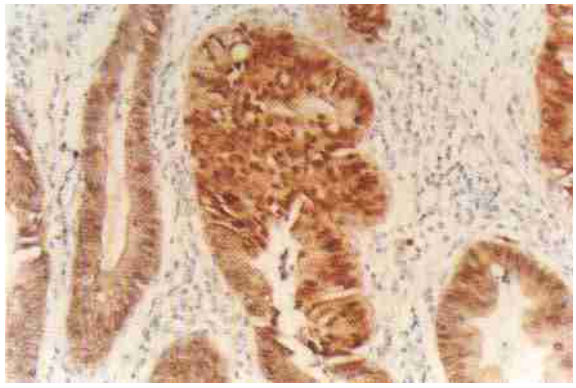


图 3　大肠腺瘤癌变β-**catenin** 的免疫组化染色　(Power Vision™× 200)

Fig 3　Immunohistochemical staining of β-catenin in colorectal adenoma with canceration　(Power Vision™× 200)

表 1　β-**catenin** 在不同大肠组织中的表达

Tab 1　Expression of β-catenin in different colorectal tissues

Group	*n*	Abnormal expression of β-catenin	
		Reduced membrane expression(%)	Translocation expression(%)
NCM	25	0	0
CA	42	14(33.3)	18(42.9)
CAC	19	8(42.1)	17(89.5)*

*: $P<0.01$, *vs* CA

2.2　β-catenin 在不同类型大肠腺瘤中的表达

在管状腺瘤中β-catenin 细胞核和细胞浆异位表达率为 40%(12/30), 细胞膜表达缺失率为 30%(9/30); 在管状绒毛状腺瘤两者均为 42.9%(3/7); 在绒毛状腺瘤中分别为 60%(3/5)和 40%(2/5)。绒毛状腺瘤β-catenin 异位表达率较管状腺瘤和管状绒毛状腺瘤有所增加, 但无显著性差异。其他各组差异均无显著性。

3　讨论

大肠腺瘤是一种具有癌变潜能的良性肿瘤, 近年来研究表明β-catenin 及其通路相关基因的改变在大肠腺瘤癌变中具有重要作用。β-catenin 基因是一种原癌基因, 定位于人染色体 3p21.3, 全长 23.2 kb, 共有 16 个外显子, 其 mRNA 长度为 3 362 个核苷酸残基。β-catenin 蛋白分子量约为(92 ~95)× 10^3, 它既是细胞间粘附连接的主要结构成分, 又是 APC-β-catenin-Tcf 信号通路的中枢成分。β-catenin 肽链中部的重复序列可以和胞浆内腺瘤性结肠息肉病(adenomatous polyposis coli, APC)、T 细胞因子(T cell factor, Tcf)等蛋白结合而发挥多种功能。在正常成熟细胞胞浆内的β-catenin 大部分与细胞膜上的钙粘蛋白(cadherin)胞内肽段结合, 参与细胞粘连、生长, 增殖等过程; 少部分与 APC、糖原

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

合成酶激酶-3β(glycogen synthase kinase-3β,GSK-3β)及轴蛋白(Axin)结合成多蛋白复合体,通过磷酸化与去磷酸化过程来调控 c-myc、cyclinD1 等靶基因的转录,其中APC 蛋白作为载体将β-catenin 与 GSK-3β 联系起来,GSK-3β 通过磷酸化可降解β-catenin,因而胞浆内游离β-catenin 水平极低,不能进入细胞核调控相应基因表达[2]。

异常 APC-β-catenin-Tcf 通路致癌的关键是胞浆内游离的β-catenin 积累,与 Tcf 结合形成复合物,然后进入细胞核内,启动靶基因转录。免疫组织化学显示正常大肠粘膜上皮β-catenin 的阳性着色主要定位于细胞膜,而在大肠腺瘤和大肠癌中普遍存在β-catenin 表达异常,即在胞浆及胞核内异常积聚,而细胞膜表达减少。Brabletz 等[3]检测了 88 例大肠腺瘤β-catenin 的表达,发现有 40 例腺瘤为细胞核表达阳性(45.4%),而且细胞核表达与大肠腺瘤的大小呈正相关。Hao 等[4]用免疫组化方法对 74 例大肠腺瘤、65 例瘤旁正常粘膜和 52 例腺瘤癌变研究发现,正常粘膜均为膜表达,而大肠腺瘤和大肠癌有不同程度的细胞核异位表达,异位表达的程度随大肠腺瘤上皮不典型增生程度增高而增强,故认为β-catenin 的膜表达下降和核表达增加与大肠腺瘤向腺癌转变有关。

本研究结果显示正常大肠粘膜β-catenin 表达位于细胞膜,而大肠腺瘤和大肠腺瘤癌变组织普遍存在β-catenin 的异常表达,特别是大肠腺瘤癌变组织的细胞核和细胞浆异位表达明显增加,细胞膜表达也有不同程度的缺失。大肠腺瘤癌变组织β-catenin 异位表达率为 89.5%,显著高于大肠腺瘤(42.9%,$P<0.01$)。大肠腺瘤组织β-catenin 细胞膜表达缺失率为 33.3%,大肠腺瘤癌变组织为 42.1%。在不同类型的大肠腺瘤中β-catenin 的表达均无显著性差异,虽然绒毛状腺瘤β-catenin 异位表达率较管状腺瘤和管状绒毛状腺瘤有所增加,但无显著性差异。结合这些结果,我们认为β-catenin 蛋白的异常表达与大肠腺瘤的发生及癌变有密切的关系,特别是细胞核和细胞浆异位表达的增加可能参与了大肠腺瘤及大肠腺瘤癌变的发生、发展过程,是大肠癌发生的早期事件,可以作为判断大肠腺瘤癌变的良好指标。

目前研究认为大肠腺瘤及其癌变过程中出现的β-catenin 异常表达与 APC 基因或β-catenin 基因突变有关。β-catenin 基因外显子 3 的缺失或突变会导致β-catenin 不与 GSK-3β 结合而免于降解。在大肠腺瘤和大肠癌中也有相当比例的肿瘤有β-catenin 基因突变,且以外显子 3 最为常见。Sparks 等[5]发现在 APC 基因完整的结直肠癌中β-catenin 基因 NH_2 末端的突变率高达 48%,并可发生在大肠肿瘤形成的早期阶段。Samowitz 等[6]用 PCR 分析了 202 例大肠肿瘤发现,β-catenin 基因突变率在大肠小腺瘤(直径<1 cm)为 12.5%(6/48),明显高于 1 cm 及 1 cm 以上的腺瘤(2.4%,2/82)和浸润性腺癌(1.4%,1/72)。β-catenin 基因突变后,导致胞浆内游离的β-catenin 积累,与 Tcf-4 结合并发生核转位,启动 c-myc,cyclinD1 等靶基因转录,而这些靶基因在细胞增殖及癌变过程中都起着重要作用。

大肠癌分子模型认为大肠癌的发生是由正常粘膜形成早期腺瘤、中期腺瘤和晚期腺瘤,然后转变为浸润性癌,再发生转移的渐进过程,而β-catenin 基因的改变在大肠腺瘤发生,特别是腺瘤癌变的过程中发挥着重要的作用,β-catenin 蛋白的异常表达可能是大肠腺瘤癌变的早期重要环节之一。因此,进一步研究β-catenin 基因可能为大肠肿瘤的诊断和基因治疗提供新的依据。

参考文献:

[1] Maruyama K, Ochiai A, Akimoto S, *et al*. Cytoplasmic beta-catenin accumulation as a predictor of hematogenous metastasis in human colorectal cancer[J]. Oncology, 2000, 59(4): 302-309.

[2] Moon R T, Bowerman B, Boutros M, *et al*. the Promise and perils of Wnt signaling through bata-catenin[J]. Science, 2002, 296(5573): 1644-1646.

[3] Brabletz T, Herrmann K, Jung A, *et al*. Expression of nuclear beta-catenin and c-myc is correlated with tumor size but not with proliferative activity of colorectal adenomas[J]. Am J Pathol, 2000, 156(3): 865-870.

[4] Hao X, Tomlinson I, Ilyas M, *et al*. Reciprocity between membranous and nuclear expression of beta-catenin in colorectal tumours[J]. Virchows Arch, 1997, 431(3): 167-172.

[5] Sparks A B, Morin P J, Vogelstein B, *et al*. Mutational analysis of the APC/beta-catenin/Tcf pathway in colorectal cancer[J]. Cancer Res, 1998, 58(6): 1130-1134.

[6] Samowitz W S, Powers M D, Spirio L N, *et al*. Beta-catenin mutations are more frequent in small colorectal adenomas than in larger adenomas and invasive carcinomas[J]. Cancer Res, 1999, 59(7): 1442-1444.

(编辑 薛国文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net