中图分类号：编号:20110127

**承德医学院**硕士研究生毕业论文

**NF-κB在胃癌组织中的表达及其与TOPO II、Ki-67的关系**

Expression of NF-κB in gastric carcinoma and its relationship with TOPOⅡand Ki-67

研究生: 李常洲

导师: 李建辉教授学科专业：肿瘤学

所在部系：临床学院

研究起止日期：2012年9月~2014年3月论文提交日期：2014年3 月

**承德医学 院**

**学位论文使用授权及知识产权归属承诺**

本学位论文在导师（或指导小组）的指导下，由本人独立完成。本学位论文研究所获的研究成果，其知识产权归承德医学院所有。承德医学院有权对本学位论文进行交流、公开和使用。凡发表与学位论文主要内容相关的论文，第一署名单位为承德医学院，试验材料、原始数据、申报的专利等知识产权均归承德医学院所有。否则，承担相应的法律责任。

研究生签名：导师签章：

年月日

**承德医学院**

**研究生学位论文独创性声明**

本论文是在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果，除了文中特别加以标注和致谢等内容外，文中不包含其他人已经发表或撰写的研究成果，指导教师对此进行了审定。本论文由本人独立撰写，文责自负。

研究生签名：导师签章：

年月日

**NF-κB在胃癌组织中的表达及其与TOPO II、Ki-67的关系**

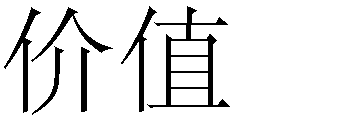
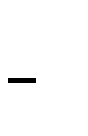
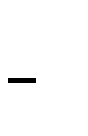
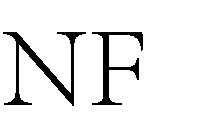
Expression of NF-κB in gastric carcinoma and its relationship with TOPOⅡand Ki-67

研究生：李常洲学号: 20110127

年级：2011 级

导师：李建辉教授学科专业：肿瘤学

所在部系：临床学院研究方向 ：



研究起止日期：2012年9月~2014年3月论文提交日期：2014年3 月

目 录

[摘要](#_Toc686273654) 3

[（3） 102例胃癌组织标本中，Ki-67阳性表达者88例，阳性表达率](#_Toc686273655) 3

[（4） 3个指标在胃癌组织中的阳性表达例数分别为72例、55例和](#_Toc686273656) 3

**[Abstract](#_Toc686273657)** 3

[前言](#_Toc686273658) 5

[结论](#_Toc686273659) 12

[参 考 文 献](#_Toc686273660) 12

[参考文献](#_Toc686273661) 14

[参 考 文 献](#_Toc686273662) 15

**NF-κB在胃癌组织中的表达及其与TOPO II、Ki-67的关系**

摘**要**

胃癌是恶性占位性疾病，在中国各种恶性肿瘤中位居前列，好发于高龄患者，50岁以上者发病率明显升高，男女发病率之比为2: 1，但因该病起病隐匿，恶性程度高，预后极差，是我国乃至世界人民的重要健康威胁。当前对胃癌研究的方法较多，肿瘤分子生物学的研究是认识胃癌的重要途径之一，其中对核转录因子kappa B(nuclear transcription factorκB, NF-κB)的研究为众多研究的热点之一，并且已经逐渐认识到NF-κB与多种实体肿瘤均有相关性，其可以调控炎症因子、细胞的凋亡及肿瘤组织的血管、淋巴管的生成，在肿瘤的发生、发展中有多种作用。目前关于NF-

κB在多种癌症中的研究虽然较多，但研究NF-κB p50在胃粘膜组织的不同临床分期中的表达意义及其与Ki-67、TOPOⅡ的关系的研究少见，已有研究结果证实Ki-67、TOPOⅡ与各种良恶性肿瘤（包括胃癌等多种肿瘤）有密切关系，进一步探讨三者与胃癌的生物学行为及三者之间的关系具有一定的临床意义。

NF-κB不仅可以通过多种途径参与肿瘤的发生、发展过程，与此同时在评估胃癌的化疗等治疗效果、肿瘤预后及耐药等多方面存在一定的意义，通过对三者的探讨，以期为胃癌的研究、防治及肿瘤临床生物学行为和预后的评估提供理论依据。

**目的：**

通过对NF-κB、Ki-67、TOPOⅡ在胃粘膜不同临床分期组织中的研究，了解三者在胃癌组织中的表达及其与胃癌生物学行为之间的关系，以期为胃癌的生物学行为、预后的评估提供依据。

**方法：**

1研究对象胃癌组102例，均为胃腺癌，标本来自于承德市中心医

院2011年-2013年肿瘤科手术术后患者，其中男性72例，女性30例，年龄42-78岁，中位年龄59岁，其中年龄≥55岁者69例，＜55岁者

33例，术前均未行放化疗，术后病理证实均为腺癌，其中高、中分化腺

癌33例，低分化腺癌69例；未侵及浆膜层者36例，侵及浆膜层者66

例，胃癌标本中无淋巴结转移者42例，有淋巴结转移者60例。另选取癌旁增生组织组（距离肿瘤灶5cm-10cm之间、结合镜下特点证实为癌旁增生组织）45例，正常胃黏膜（距离肿瘤灶10cm以外、结合镜下特点证实为正常胃粘膜组织）组织者34例作为对照研究。

2标本的处理收集承德市中心医院2011年-2013年肿瘤科手术术后

患者标本，术后病理证实为胃腺癌的蜡块共102例，癌旁增生组织，正常胃粘膜组织，取下的术后组织应尽量防止其弯曲、扭转，平展于草纸上粘着以后，慢慢地放入10％的中性福尔马林溶液固定，固定液的量为固定组织的10倍，组织固定时间为12小时，进行石蜡包埋，4μm连续切片，经脱蜡、脱二甲苯、水化后利用免疫组织化学方法中的链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶(streptavidin-peroxidase, S-P)法检测标本中NF-κB、Ki-67、TOPOⅡ的表达情况，以PBS代替一抗进行阴性对照，所有操作均严格按照仪器和试剂盒说明书进行，结果由两位病理科副主任以上医师于镜下判读，检测其在胃癌组织、癌旁增生组织及正常胃粘膜组织中的表达情况，结合病理学资料对其实验数据进行统计学分析。

**结果：**

（1）102例胃癌组织标本中，NF-κB阳性表达数为72例，阳性表达率为70.59%；45例癌旁增生组织组阳性表达数为10例，阳性表达率为

22.22%；34例正常胃黏膜组织阳性表达数为2例，阳性表达率为5.88%，癌旁增生组织及正常胃粘膜组织中的NF-κB表达率明显低于胃癌组织。经**2检验，三者之间有统计学差异(**2=57.104, *P*＜0.05) Tab 2。

（2）102例胃癌组织标本中，TOPOⅡ阳性表达者55例，阳性表达率53.92%，45例癌旁增生组织阳性表达者24例，阳性表达率53.33%，

34例正常胃粘膜组织中阳性表达者10例，阳性表达率29.41%，经**2检验，三者之间有统计学差异(**2=6.281, *P*＜0.05) Tab 3。

# （3） 102例胃癌组织标本中，Ki-67阳性表达者88例，阳性表达率

86.27 %，45例癌旁增生组织阳性表达者31例，阳性表达率68.89%，34例正常胃粘膜组织中阳性表达者11例，阳性表达率32.35%，经**2检验，三者之间有统计学差异(**2=36.83, *P*＜0.05) Tab 4。

# （4） 3个指标在胃癌组织中的阳性表达例数分别为72例、55例和

88例，经**2检验提示三者之间统计结果有差异(**2=25.556, *P*＜0.05)

Tab 5，进一步行卡方分割检验，三者两两之间仍有统计学差异。**结论：**

1 NF-κB在不同粘膜分期中的表达有明显的统计学意义，在伴有淋巴结转移、浸润深度逐渐增加和临床分期逐步恶化的标本中，阳性表达明显增加，提示NF-κB与胃癌的临床分期密切相关。

2在正常胃粘膜及癌前病变组织中，均检测到NF-κB的表达，提示NF-κB可能参与了胃癌的启动；此外，随着粘膜病变进程的恶化进展，NF-κB的表达呈逐渐增加的趋势，提示NF-κB可能参与了胃癌进展中的各粘膜阶段的病变进程。

3 TOPOⅡ及Ki-67在胃粘膜不同组织分期中均有表达，且阳性表达率随胃粘膜恶性程度的加深及NF-κB表达的增加而有逐渐增加趋势，提示与NF-κB的表达存在相关性。

**关键词：**胃癌；NF-κB p 50；TOPOII；Ki-67；免疫组织化学法

**Expression of NF-κB in gastric carcinoma and its relationship with TOPO II, Ki-67**

**Abstract**

Gastric cancer is a malignant mass lesion topped various malignant tumors in China, which occurs in elderly patients, and after the age of 50, the incidence is significantly higher. The incidence of male and female is 2:1, but the disease is insidious onset high degree of clinical malignancy, the prognosis is poor, and is an important health threat bote in China and the world. The current study is one of the molecular biology of tumor, which has awareness that it is an important method of treatment to gastric cancer, in which tumors the study of molecular biology research on nuclear transcription factor kappa B (Nuclear transcription factorκB, NF-κB) is a research focus of many one, and has come to realize the NF-κB is correlated with a variety of solid tumors, and can modulate inflammatory cytokines, vascular apoptosis and tumor cells, lymphangiogenesis in tumor occurrence and development of a variety of the role of the current research on NF-κB in a variety of cancers more, but modern biological research has shows that its expression is significant in different clinical stages of the gastric mucosa and its relationship with Ki-67, the relationship between TOPO II study of rare, It has been confirmed that Ki-67, TOPO II with a variety of benign and malignant tumors ( including gastric cancer and other tumors) is closely related to further explore the relationship among the three and biological behavior of gastric cancer and between the has some clinical significance.

NF-κB is not only involved in the development of a variety of tumors by NF-κB pathway, while there is a clear relationship between the biological behavior of gastric cancer chemotherapy affect treatment outcomes, drug, etc. for gastric cancer research, prevention and treatment of clinical biological behavior and prognosis assessment and provide a theoretical basis.

**Objective:**

By studying NF-κB, Ki-67, TOPO II in gastric tissue in different clinical stages, understanding the relationship between their expression and biological behavior of gastric cancer in gastric cancer between order for the biological behavior of gastric cancer, provide the basis for assessing prognosis.

**Method:**

1. Cases of gastric cancer study All gastric adenocarcinoma specimens come from Chengde Central Hospital in 2011 and 2013 surgical oncology patients, male 72 cases, female 30 cases, aged frome 42 to 78 years, median

Age 59 years, aged ≥55 years old in 69 cases, <55 years, 33 cases were not

Received chemotherapy before surgery; pathologically confirmed adenocarcinoma, moderately differentiated adenocarcinoma, 33 cases of poorly differentiated adenocarcinoma 69 cases; not invading the serosa of gastric carcinoma were 36 cases of gastric cancer were 66 cases of serosal invasion, lymph node metastasis of gastric cancer specimens not 42 cases, there are 60 cases of gastric cancer specimens were transferred prompt, select another paracancerous hyperplasia organizational groups (from 5 cm -10 cm tumor foci between adjacent hyperplasia as cancer), 45 cases of normal gastric mucosa (10 cm from the tumor foci outside as normal gastric mucosa) organizers of 34 cases as a control study.

2. Handling specimens collected specimens of Chengde Central Hospital, pathological 2011 -2013 oncology patients after surgery paraffin blocks of 102 confirmed cases of gastric adenocarcinoma, hyperplastic tissue adjacent normal gastric tissue removed organizations should try to prevent it from bending, torsion, should be flat on the subsequent adhesion and slowly placed in 10% neutral formalin solution fixed the toilet paper, fixative is 10 times the amount of the fixed tissue, tissue fixation time 12 hours, embedded in paraffin, 4μm serial sections, after dewaxing, de-xylene, after hydration using immunohistochemistry method streptomycin avidin - peroxidase (streptavidin-peroxidase, SP) method Test specimens in NF-κB, Ki-67, the expression of TOPO II to PBS instead of primary antibody negative control, all reagents are instruments reagents, all operations are in strict accordance

With the instrument and kit instructions, by two disease MD, deputy director of science at the microscope more than confirmed its expression level in gastric cancer tissues and normal gastric mucosa, combined with pathological data were statistically analyzed experimental data.

**Result：**

(1) 102 cases of gastric cancer tissue specimens, Expression of NF-κB in positive tissue is 72 cases, the positive rate was 70.59%; beside the 45 cases of cancer hyperplasia positive expression group was 10 cases, the positive rate was 22.22%; 34 cases positive expression in normal tissues as two cases, the positive rate was 5.88%, hyperplastic tissue and adjacent normal gastric mucosa of NF-κB expression was significantly lower than that of gastric carcinoma. The chi-square test, there are differences (**2 = 57.104, p <0.05) between the three statistical results.

(2) 102 cases of gastric cancer tissue specimens, expression of TOPO Ⅱin

55 cases, the positive expression rate of 53.92%, next to the 45 cases of cancer hyperplasia expression in 24 cases, the positive rate of 53.33%, the positive expression in 34 cases of normal gastric mucosa in 10 cases, the positive rate of 29.41%, by chi-square test, there are differences (**2 = 6.281, p <0.05) between the three statistical results.

(3) 102 cases of gastric cancer tissue specimens, Ki-67 expression in 88 cases, the positive expression rate of 86.27%, next to the 45 cases of cancer hyperplasia expression in 31 cases, the positive rate of 68.89%, 34 cases of normal gastric mucosa expression in 11 cases, the positive rate 32.35%, chi-square test, there are differences (**2= 36.83, p <0.05) between the three statistical results.

(4) Three indicators of the cases of positive expression in gastric carcinoma were 72 cases, 55 cases and 88 cases, there are differences between the statistical results of the chi-square test prompted three (**2 = 25.556, p <0.05), further dividing line chi-square test, there are significant differences between the three pairwise.

**Conclusion:**

1 NF-κB expression in different stages of the mucosa have statistically significant in lymph node metastasis, depth of invasion and clinical stage and gradually increasing deterioration of the specimen, the positive expression was significantly increased, suggesting that NF-κB and clinical gastric cancer phases are closely related.

2 In normal gastric mucosa and precancerous lesions, we detected that the expression of NF-κB, suggest that NF-κB may still be involved in gastric cancer and may paly a role in the starting of cancer; addition, mucosal lesions with the deterioration of the progress of the process, Expression of NF-κB was gradually increasing trend, suggesting that NF-κB might be involved in the progression of gastric mucosa in various stages of damage.

3 TOPO Ⅱand Ki-67 was expressed in different tissues staging of gastric

Mucosa, and the positive expression rate increases with deepening and expression of NF-κB in gastric malignancy while gradually increasing trend, tips and NF-κB expression in the presence of relevant sex.

**Keywords:** gastric cancer; NF-κB p50; TOPOII; Ki-67; Immunohistochemistry

**英文缩写**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| NF-κB | Nucleartranscription  factorκB, NF-κB | 核转录因子-κB |
| TOPO II  Ki-67 PBS | TopoisomeraseII ,TOPO II Ki-67  Phosphate-bufferen solution | 拓扑异构酶 II  增殖细胞核抗原 Ki-67 磷酸盐缓冲液 |
| DAB | 3,3′-diaminobenzidine | 3,3'-二氨基联苯胺 |
| IκB | Inhibitor of NF-κB | NF-kB 抑制蛋白 |
| RHD | Rel homogeneous domain | Rel 同源区 |
| IAPs | Inhibitor of apopfosis  pmteins | 凋亡抑制蛋白 |
| TNF | Tumor Necrosis Factor | 肿瘤坏死因子 |
| IL-1 | Interleukin-1 | 白细胞介素-1 |
| HBV | Hepatitis B virus | 乙型肝炎病毒 |
| HPV | Human papillomavirus | 人乳头瘤病毒 |

**NF-κB在胃癌组织中的表达及其与TOPO II、Ki-67的关系**

前**言**

胃癌已成为在全球发病率最高的癌症之一，我国胃癌患病和死亡率均超过世界平均水平的两倍，中国的胃癌发病已占全世界的42%，每年约有17万人死于胃癌，几乎接近全部恶性肿瘤死亡人数的1/4。

肿瘤的发生与进展是多因素所致的复杂、多步的过程，包括遗传、环境、生活习惯等的影响造成的多种炎症因子刺激、新生血管形成、癌基因与抑癌基因的失衡，并涉及一系列的基因突变，目前已经发现的癌基因和抑癌基因不下数十种，它们不仅为解释肿瘤的发生提供了重要的依据，而且可以通过检测这些基因的异常来早期诊断和预测某些肿瘤的发生。在众多的研究领域中，分子生物学的研究为胃癌病因研究的重点，其中NF-κB为研究的热点之一，多数临床研究结果显示其在胃癌等多种实体肿瘤的形成中扮演重要角色，其在肿瘤组织中的异常表达、细胞凋亡的失衡，可能是肿瘤形成的原因之一。

TOPOⅡ是细胞基质酶蛋白，参与多种生物学过程，高表达于处于增殖状态的细胞中，目前作为肿瘤耐药机制评估的重要因子，并可作为肿瘤良恶性的评估指标；而作为增殖细胞核抗原的Ki67近年亦被广泛地应用于各种肿瘤的预后测定。

三者在肿瘤的浸润、转移中起着非常重要的作用，但其作用机制目前尚不完全清楚。本实验通过免疫组织化学方法标记，检测正常胃粘膜组织、癌旁增生组织及胃癌组织中的三者的表达水平，从蛋白水平揭示三者与胃癌及三者之间的关系，为研究胃癌的预后的评估提供理论依据，同时对指导肿瘤的治疗有一定的意义。

**材料和方法**

## 1 一般资料

### 1.1 实验对象

收集来自承德市中心医院2011年-2013年肿瘤外科手术术后患者标

本，术后病理证实均为胃腺癌，共102例，其中男性72例，女性30例，

年龄42-78岁，中位年龄59岁，年龄≥55岁者69例，＜55岁者33例，

术前均未行放化疗，术后病理证实均为腺癌，其中高、中分化腺癌33例，

低分化腺癌69例；未侵及浆膜层者36例，侵及浆膜层者66例；无淋巴

结转移者42例，伴有淋巴结转移者60例。根据临床症状、实验室检查及影像学等综合检查确诊。另选取癌旁增生组织组（距离肿瘤灶5cm-10cm之间的作为癌旁增生组织）45例，正常胃黏膜（距离肿瘤灶10cm以外的作为正常胃粘膜组织）组织者34例作为对照研究。

### 1.2 主要试剂及抗体

|  |  |
| --- | --- |
| 一抗：兔抗人多克隆抗体即用型(NF-  κB) | 福州迈新生物技术开发有限公司 |
| 一抗： 兔抗人多克隆抗体即用型(TOPOⅡ) | 福州迈新生物技术开发有限公司 |
| 一抗： 兔抗人多克隆抗体即用型(Ki-67) | 福州迈新生物技术开发有限公司 |
| 二抗：ft羊血清 | 福州迈新生物技术开发有限公司 |
| 其它化学试剂 | 进口或国产 |

### 1.3 主要溶液配制

0.01M PBS(pH7.2-7.4) NaCl 9g

Na2HPO4·12H2O 6g

NaH2PO4·2H2O 0.4g

加双蒸水定容至1000ml

0.1M 枸橼酸盐缓冲液（pH6.0） C6H5Na3O7·2H2O 3g

C6H8O7·H2O 0.4g

加双蒸水定容至1000ml

0.3%甲醇双氧水 3%H2O2 3ml 加甲醇至 30ml

DAB 显色剂 双蒸水 1ml

A 液 1 滴

B 液 1 滴

C 液 1 滴

1.4标本的处理

胃组织的标本在离体后一部分用于HE和免疫组织化学法染色，常规取材固定于中性甲醛溶液后，逐级脱水，进行石蜡包埋，4µm厚连续切片备用。

### 1.2 试剂

1.2.1免疫组织化学法试剂

二甲苯、酒精、甲醇、30%过氧化氢、PBS、枸橼酸盐缓冲液、苏木素、氨水、中性树胶等由承德市中心医院病理科提供。

### 1.3 仪器

（1）37℃恒温培养箱（天津中环实验电炉有限公司DH101）

（2）微波动脱水机（德国Leica ASP300S）

（3）高压锅(东莞PCT-35)

（4）4℃冰箱(Haier电器)

(5) BX40F4显微镜(日本Olympus公司)

（6）显微照相系统(日本Olympus BX40F4)

（7）显微照相系统（麦克奥迪）

（8）旋转式石蜡切片机(德国Leica RM2235)

（9）全自动脱水机(英国Shandon Thrmo公司)

（10）载玻片（世泰标准级1000张）

## 2 方法

### 2.1 免疫组织化学方法

标本用10％的中性福尔马林溶液固定，进行石蜡包埋，4μm连续切片，经脱蜡，脱二甲苯，水化后采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶(streptavidin-peroxidase, S-P法)免疫组织化学方法检测胃癌组织NF-

κB、TOPOⅡ和Ki-67蛋白的表达情况。以PBS代替一抗进行阴性对照，用已知阳性片进行阳性对照。具体如下：

2.1.1进行标本的脱水、透明及包埋：

用双蒸水冲洗固定好的胃组织标本，将其表面的福尔马林液冲掉，然后取合适大小、正确位置的组织，做好标记后放入标本筐中，进行以下步骤—脱水：75%的乙醇溶液过夜，85%的乙醇→1h，90%的乙醇→1h，95%乙醇→1h，无水乙醇Ⅰ→1h，无水乙醇Ⅱ→1h；透明：二甲苯Ⅰ→1h，二

甲苯Ⅱ→1h；浸蜡：石蜡Ⅰ→1h，石蜡Ⅱ→1h；包埋。

2.1.2载玻片处理：

取一定数量的载玻片，先用洗洁精超声清洗玻片45min×2次，用自来水冲洗后，再用蒸馏水洗（一张一张冲）3次，叠好烘干；将烘干的载玻片泡酸过夜，取出后用自来水冲洗，再用蒸馏水冲洗（一张一张冲）3次，叠好烘干；将烘干的玻片泡入95%酒精中过夜；取出晾干，将甲醇和APES以50:1的比例配成工作液，载玻片在稀释的APES中浸泡0.5min，取出后置于玻片架上，放入37℃恒温箱内晾干装盒备用。

2.1.3盖玻片处理：

将盖玻片置入硫酸清洁液中浸泡24h，取出后先用蒸馏水清洗3次，再用无水酒精清洗3次，最后晾干装盒备用。

2.1.4 HE染色预选：

⑴切片：4μm厚的切片；

⑵脱蜡：浸入二甲苯2×15min；

⑶洗去二甲苯：浸入无水乙醇2×10 min；

⑷水化：95%、80%、70%乙醇依次各5min，自来水冲洗5min；

⑸苏木素染色4min，自来水冲洗1min；

⑹1%盐酸酒精分化8s，自来水冲洗1min；

⑺1%的稀氨水返蓝8s，自来水冲洗1min；

⑻伊红染色3min，自来水冲洗1min；

⑼脱水：70%乙醇脱水5min；80%乙醇5min；95%乙醇2×5min；无水乙醇2×5min；

⑽透明：二甲苯2×10min；

⑾中性树胶封片；

光镜下进行观察，选出肿瘤所在的典型区域。

2.1.5免疫组织化学主要溶液配置：

⑴磷酸盐缓冲液(PBS, 0.01mol/L, pH7.2-7.4): 在1000ml蒸馏水中加入9g氯化钠、2.9g磷酸氢二钠(Na2HP04·12H20)、0.3g磷酸二氢钠

（NaH2P04·2H20），调整pH值至7.2-7.4.

⑵枸橼酸盐缓冲液(0.01mol/L, pH6.0): 在1000ml蒸馏水中加入0.4 g枸橼酸(C6H807·H20)和3.0g枸橼酸三钠(C6H5Na307·2H20)，调pH值至6.0.

⑶3%双氧水-甲醇溶液：甲醇与30%的双氧水的比例是97: 3，混匀。

2.1.6免疫组织化学方法检测步骤：

⑴切片、烤片：所有标本经4μm厚连续切片，用已涂抹防脱片剂的载玻片将其捞出，后置于60℃烤箱中烤片1h，以使组织更紧密的贴于载玻片上；

⑵将4μm厚石蜡切片脱蜡、脱二甲苯至蒸馏水：二甲苯2×15min；无水乙醇2×10min、95%、80%、70%乙醇依次各10min；蒸馏水洗2×5min；0.01M PBS浸泡2×5min；

⑶去除内源性过氧化物酶活性：37℃，3%双氧水-甲醇溶液30min，灭活内源性过氧化物酶；0.01M PBS浸泡5min×3次，37℃；

⑷抗原修复：先将0.01M pH6.0的枸橼酸盐缓冲液在微波炉中加热至沸腾，再将切片放入已沸的枸橼酸盐缓冲液中，调至中低火4min，后低火4min，室温冷却后用0.01M PBS洗5min×3次；

⑸滴加血清封闭液：在组织处滴加ft羊血清（1: 10正常ft羊血清），放入湿盒，37°C温箱孵育半小时，封闭组织中非特异性抗原，不做冲洗；

⑹一抗孵育：甩去玻片上多余的封闭液后滴加一抗，放入湿盒，4°C过夜，37°C温箱复温半小时后，0.01M PBS洗5min×3次；

⑺二抗孵育：滴加抗兔生物素化二抗，放入湿盒，37°C温箱孵育40min，0.01M PBS洗5min×3次；

⑻滴加HRP标记链亲和素：甩去多余液体，滴加HRP标记链亲和素，放入湿盒，37°C温箱孵育40min，0.01M PBS洗5min×3次；

⑼DAB显色：滴加DAB显色剂于室温下显色，边显色边在显微镜下观察，控制好反应时间(7min左右)，后自来水冲洗终止反应；

⑽苏木素复染、脱水透明、封片：将切片浸入苏木素90s，流水冲洗4min，盐酸酒精分化20-30s，再用细水流冲洗15min，梯度酒精溶液（70%，

80%5min，90%5min，95%Ⅰ5min，100%Ⅰ10min，100%Ⅱ10min)脱水，二甲苯透明2×15 min，最后用中性树胶封片。

免疫组化染色以PBS代替一抗作阴性对照，阳性对照采用已知的阳性切片组织。

2.1.7结果判定：

遵循可纳入统计的每一例标本均能全部判读NF-κB、Ki-67和TOPOⅡ

的免疫组化染色情况的原则，有效统计量为102例。

NF-κB蛋白阳性表达主要定位于细胞浆，Ki-67和TOPOⅡ表达于胞核，呈棕黄色颗粒或团块状，弥漫分布，选择组织切片中癌细胞密集的区域高倍镜下观察（×400），随机选择5个视野，按染色强度和阳性细胞数占肿瘤细胞总数的百分比进行综合计分。染色强度：未着色（0分），浅黄色（1分），棕黄色（2分），棕褐色（3分）；阳性细胞数：＜5%(0分)，6%-25%(1分)，26%-50%(2分)，＞50%(3分)。两项分值之积：＜3计为阴性(-)，

3-5分计为阳性(+)，＞5为强阳性(++)。

## 3 统计方法

采用SPSS17.0统计软件对数据进行分析，计数资料采用**2检验和四格表精确概率法，相关性分析采用Spearmen等级相关分析，以*P*＜0.05作为差异有显著统计学意义。

**结果**

## 1 NF-κB在胃癌组织、癌旁增生组织及正常胃粘膜组织中的表达

NF-κB蛋白在阴性对照组中无表达。阳性产物主要定位于细胞浆，在胞核亦有少量阳性表达，呈棕黄色颗粒状，在102例胃癌组织中，NF-

κB的阳性表达例数为72例，阳性表达率为70.59%(72/102)；在45例癌旁增生组织中，NF-κB的阳性表达率为10例，阳性表达率22.22%(10/45)；在34例正常胃粘膜组织中，NF-κB的阳性表达者2例，阳性表达

5.88%(2/34). NF-κB的阳性表达水平在胃癌组织中明显高于癌旁组织及正常胃粘膜组织，经**2检验，三者两两之间差异有显著性（*P*＜0.05，*P*

＜0.05，*P*＜0.05)。

## 2 TOPOⅡ在胃癌组织、癌旁增生组织及正常胃粘膜组织中的表达

TOPOⅡ在阴性对照组中无表达。阳性产物主要定位于细胞核，呈棕黄色颗粒，强阳性表达者颜色明显加深。在102例胃癌组织中，TOPOⅡ的阳

性表达例数为55例，阳性表达率为53.92%(55/102)；在45例癌旁增生组织中，TOPOⅡ的阳性表达率为24例，阳性表达率53.33%(24/45)；在

34例正常胃粘膜组织中，TOPOⅡ的阳性表达者10例，阳性表达

29.41%(10/34)。经**2检验提示，三者之间有统计学意义(*P*＜0.05)，

进一步行**2分割检验，TOPOⅡ的阳性表达水平在胃癌组织、癌旁组织中的表达分别与正常胃粘膜组织中的表达均具有统计学有意义，两两之间差异有显著性(*P*＜0.05, *P*＜0.05)，但在胃癌组织及癌旁增生组织中的表达中经**2检验，两者之间差异无统计学意义(*P*＞0.05)。

## 3 Ki-67在胃癌组织、癌旁增生组织及正常胃粘膜组织中的表达

Ki-67在阴性对照组中无表达。阳性产物主要定位于细胞核，呈棕黄色颗粒，强阳性表达者颜色明显加深。在102例胃癌组织中，Ki-67的阳性表达例数为88例，阳性表达率为86.27%(88/102)；在45例癌旁增生组织中，Ki-67的阳性表达率为31例，阳性表达率68.89%(31/45)；在

34例正常胃粘膜组织中，Ki-67的阳性表达者11例，阳性表达

32.35%(11/34)。经**2检验，三者之间有统计学意义(*P*＜0.05)，进一步行**2分割检验，胃癌组、癌旁增生组明显高于正常胃粘膜组(*P*＜0.05, *P*＜0.05)，但癌旁增生组织与正常胃粘膜组，两者之间差异无统计学意义(*P*＞0.05)。

## 4 NF-κB蛋白表达与胃癌生物学行为的关系

102例胃癌组织标本中，高、中分化33例，低分化69例，NF-κB的表达率为67.65%，高于高、中分化32.35%，经**2检验两组间无显著差异(*P*＞0.05)，或可进一步增加样本量证实之。TNM分期中III、IV期组66例，其中阳性组56例(84.85%)，明显高于I、II期组(44.44%)，经

**2检验两组间差异有显著统计学意义(*P*＜0.05)。有淋巴结转移组60例，阳性率为81.67%，明显高于无淋巴结转移组54.76%，经**2检验两组有显著统计学意义(*P*＜0.05)。侵及浆膜层者66例，阳性表达率为

77.27%，明显高于未侵及浆膜层58.33%，经**2检验两组有显著统计学意义(*P*＜0.05)。

NF-κB蛋白的表达在不同性别、年龄、肿瘤大小分组中无明显差异(*P*＞0.05, *P*＞0.05, *P*＞0.05)。

## 5 TOPOⅡ蛋白表达与胃癌生物学行为之间的关系

102例胃癌组织标本中，高、中分化33例，低分化者55例，TOPOⅡ的阳性表达率为67.65%，明显高于高、中分化32.35%，经**2检验两组具有显著差异(*P*＜0.05)。TNM分期中III、IV期组66例，其中阳性组30例45.45%，低于I、II期组69.44%，进一步经**2检验，两组有显著统计

学意义(*P*＜0.05)。有淋巴结转移组60例，阳性率为58.82%，高于无淋巴结转移组41.12%，经**2检验两组有显著统计学意义(*P*＜0.05)。侵及浆膜层者66例，阳性表达率为64.71%，明显高于未侵及浆膜层(35.29%)，经**2检验两组有显著统计学意义(*P*＜0.05)。

TOPOⅡ蛋白的表达在不同性别、年龄、肿瘤大小分组中无明显差异（*P*

＞0.05，*P*＞0.05，*P*＞0.05)。

## 6 Ki-67蛋白表达与胃癌生物学行为之间的关系

102例胃癌组织标本中，高、中分化22例，低分化者66例，Ki-67的阳性表达率为86.27%，明显高于阴性组13.73%，经**2检验两组具有显著差异(*P*＜0.05)。TNM分期中III、IV期组66例，其中阳性组61 例

92.42 %，明显高于I、II期组75.00%，经**2检验两组有显著统计学意义(*P*＜0.05)。有淋巴结转移组60例，阳性率为93.33%，明显高于无淋巴结转移组76.19%，经**2检验两组有显著统计学意义(*P*＜0.05)。侵及浆膜层者66例，阳性表达率为92.42%，明显高于未侵及浆膜层75.00%，经**2检验两组有显著统计学意义(*P*＜0.05)。

Ki-67蛋白的表达在不同性别、年龄、肿瘤大小分组中无明显差异（*P*

＞0.05，*P*＞0.05，*P*＞0.05)。

**附图**

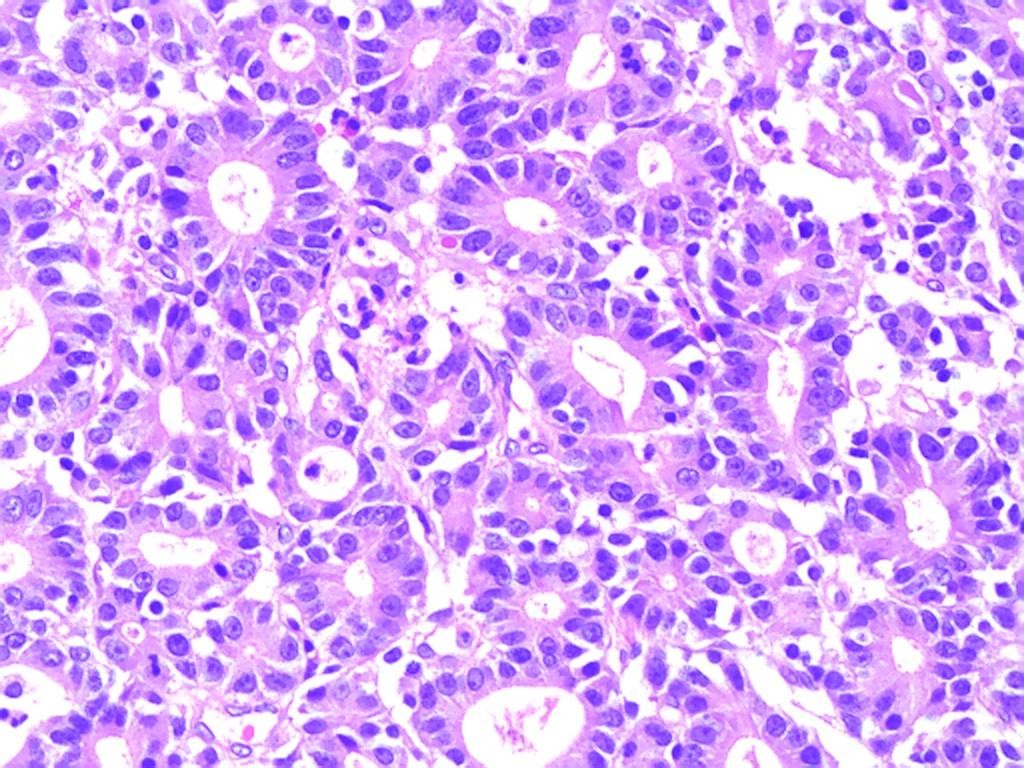


Fig. 1 Adjacent tissue

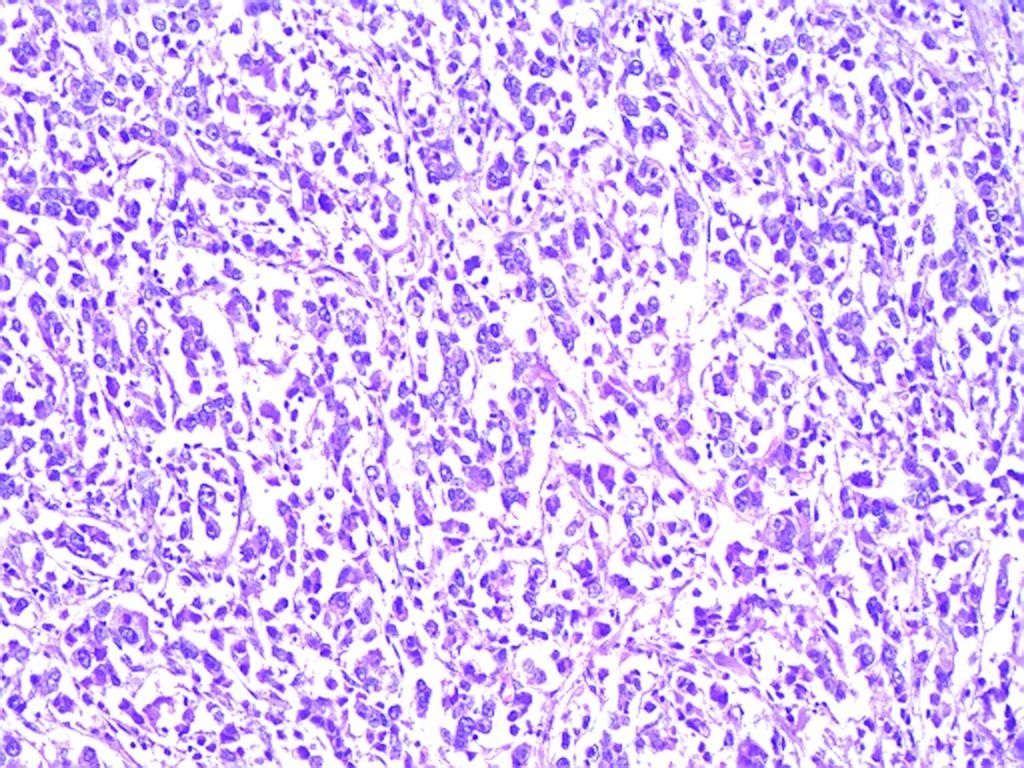


Fig. 2 Gastric carcinoma



Fig. 3 Expression of NF-κB in normal tissue×100



Fig. 4 Expression of NF-κB in adjacent tissue×100



Fig. 5 Expression of NF-κB in gastric cancer tissue×100



Fig. 6 Expression of NF-κB in gastric cancer tissue×100



Fig. 7 Expression of NF-κB in gastric cancer tissue×400



Fig. 8 Expression of NF-κB in gastric cancer tissue×400



Fig. 9 Expression of TOPOII in gastric cancer tissue×100



Fig. 10 Expression of TOPOII in gastric cancer tissue×400



Fig. 11 Expression of Ki-67 in gastric cancer tissue×100



Fig. 12 Expression of Ki-67 in gastric cancer tissue×400

**附表**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Grope | Number | NF-κB | | TopoⅡ | | Ki-67 | |
|  |  | － | + | － | +～++ | － | +～++ |
| Age |  |  |  |  |  |  |  |
| ＜55 | 33 | 12(36.36) | 21(63.64) | 12(36.36) | 21(63.64) | 4(12.12) | 29(87.88) |
| ≥55 | 69 | 18(26.09) | 51(73.91) | 35(50.72) | 34(49.28) | 10(14.49) | 59(85.51) |
| Gender |  |  |  |  |  |  |  |
| male | 72 | 20(27.78) | 52(72.22) | 33(45.83) | 39(54.17) | 7(9.72) | 65(90.28) |
| female | 30 | 10(33.33) | 20(66.67) | 14(46.67) | 16(53.33) | 7(23.33) | 23(76.67) |
| Grades |  |  |  |  |  |  |  |
| High+Medium | 33 | 9(27.27) | 24(72.73) | 6(18.18) | 27(81.82) | 11(33.33) | 22(66.67) |
| Low | 69 | 21(30.43) | 48(69.57) | 41(59.42) | 28(40.58) | 3(4.35) | 66(95.65) |
| Depth of invasion |  |  |  |  |  |  |  |
| Not to serosa | 36 | 15(41.67) | 21(58.33) | 22(61,11) | 14(38.89) | 11 (30.56) | 25(69.44) |
| To serosa | 66 | 15(22.73) | 51(77.27a) | 25(38.88) | 41(62.12) | 3(4.55) | 63(95.45) |
| TNM stage |  |  |  |  |  |  |  |
| Ⅰ+Ⅱ | 36 | 20(55.56) | 16(44.44) | 11(30.56) | 25(69.44) | 9(25.00) | 27(75.00) |
| Ⅲ+Ⅳ | 66 | 10(15.15) | 56(84.85) b | 36(54.55) | 30(45.45) | 5(7.58) | 61(92.42) |
| Lymphnode  metastasis |  |  |  |  |  |  |  |
| No | 42 | 19(45.24) | 23(54.76) | 25(59.52) | 17(40.48) | 10(23.81) | 32(76.19) |
| Yes | 60 | 11(18.33) | 49(81.67)b | 22(36.67) | 38(63.33) | 4(6.67) | 56(93.33) |

Tab1 Expression of NF-κB, TOPOⅡ, Ki-67 and their clinicopathologic characteristics in gastric carcinoma

注：a: *P* ＜0.05；b: *P＜*0.01

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grope |  |  | NF-κB |
|  | n |  | |
| Positive（%） ** 2 *P* | | | |
| Gastric  carcinoma | 102 | 72(70.59) |  |
| Adjacent tissues | 45 | 10(22.22) | 57.104 ＜0.05 |
| Normal tissue | 34 | 2(5.88) |  |

Tab2 Expression of NF-kB in gastric cancer tissues, adjacent and normal gastric mucosa

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grope |  |  | TopoⅡ |
|  | n |  | |
| Positive（%） ** 2 *P* | | | |
| Gastric  carcinoma | 102 | 55(53.92) |  |
| Adjacent tissues | 45 | 24(53.33) | 6.281 ＜0.05 |
| Normal tissue | 34 | 10(29.41) |  |

Tab3 Expression of TopoII in gastric cancer tissues, adjacent and normal gastric mucosa

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grope |  |  | Ki-67 |
|  | n |  | |
| Positive（%） ** 2 *P* | | | |
| Gastric  carcinoma | 102 | 88(86.27) |  |
| Adjacent tissues | 45 | 31(68.89) | 36.83 ＜0.05 |
| Normal tissue | 34 | 11(32.35) |  |

Tab4 Expression of Ki-67 in gastric cancer tissues, adjacent and normal gastric mucosa

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grope |  |  | Result |
|  | n |  | |
| Negative Positive ** 2 *P* | | | |
| NF-κB | 102 | 30 | 72 |
| TopoII | 102 | 47 | 55 25.556 ＜0.05 |
| Ki-67 | 102 | 14 | 88 |

Tab5 Expression of NF-kB, TopoII and Ki-67 in gastric cancer tissues and their relationship

**讨论**

胃癌是危害我国乃至世界人民的重要恶性肿瘤，近年来虽对胃癌的研究在早期检测方法及早期胃癌的诊断率方面有了一定成绩，但对胃癌的研究仍有巨大认知盲区，关于胃癌的探索仍继续得到国内外学者的普遍关注，并发现至少有六个标志性的细胞病理的改变发生在肿瘤细胞中：细胞能量的自我供给、凋亡的逃避、对生长抑制信号不敏感、逃避凋亡、血管形成、无限增殖、组织侵袭和转移[1]。研究认为，NF-κB在诸多疾病包括诸如急性胰腺炎、急性肝损伤、心肌梗死等相关[2, 3]，并在多种实体肿瘤中[4]有异常表达，NF-κB、TOPOⅡ、Ki-67在恶性占位性病变中的作用机制越来越受到学者的重视。

1 NF-κB与胃癌

NF-κB是最先由Sen等在1986年从鼠B淋巴细胞中发现的一种核转录调节因子，它介入到多种生理病理过程，存在于体内各种细胞，最初发现其与免疫反应及炎症相关，但逐渐发现其通过信号传导通路在细胞恶化的过程中也起着重要作用[5]。在没有外界刺激时，大多数NF-κB二聚体和IκB结合成复杂的无活性物自由穿梭于细胞质和细胞核之间，但被激活后则进入细胞核，严重干扰细胞的正常的途径，同时干扰细胞的凋亡，而具有癌变发展倾向[6]。而更多的研究发现[7, 8, 9]，NF-κB与肿瘤密切相关。

关于肿瘤的形成是否是由于机体为应对外来或内在刺激产生的炎症相关，19世纪学者Virchow认为两者之间存在相关性，而现代医学对此已有证实，并发现多种因子在炎症刺激后相应产生，NF-κB是多种因子之一并有研究证实其是架接在炎症和肿瘤之间的桥梁[10]，而慢性、多发致病因素所形成的慢性炎症及在此基础上形成的瀑布效应是肿瘤发生重要因素之一，慢性炎症可能促进基因组的不稳定性增加，从而引起机体细胞中DNA分子的毁伤，引起肿瘤微环境的改变，而肿瘤微环境改变进一步促进肿瘤细胞的增殖，促进肿瘤血管生成和转移，有证据表明，其在多种肿瘤的发生进展和转移潜能中发挥致病性作用。如长期慢性HBV感染者并发肝癌、幽门螺杆菌感染与胃癌之间的密切关系、HPV感染与宫颈癌的关系等，我们有充足的证据，根除某些炎症因素可以阻止甚至治愈某些癌症，

长期应用非甾体抗炎药却能降低肿瘤的发生风险，而机体长期存在慢性炎症反应时，形成癌症的机率会增加，这从近年来的关于非甾体抗炎药与肿瘤疾患的发病因素研究中可以得到佐证[11]。如持续的炎症导致NF-κB通路的激活，导致核转录因子靶基因的异常表达，这从动物实验中进一步得以证实，IL-1的过度表达的转基因小鼠，在其体内的IL-1与IL-1受体的结合，会激活炎症细胞和胃粘膜上皮细胞中的NF-κB通道，进而导致炎症和胃癌发病率的升高，而阻断本通路的激活则会抑制炎症和降低胃癌的发生[12]。

肿瘤的发生不仅与慢性炎症相关，而且与细胞增殖、分化及凋亡异常相关，消化系统粘膜增生快、更新周期短，但出于动态平衡之中，若平衡失调即细胞的永生化则是肿瘤发生的重要前提[13]，近年的研究发现NF-κB的失控导致许多肿瘤的发生[14, 15]，当它被激活后，可以产生较强的抗凋亡信号，从而加快肿瘤的发生，目前发现NF-κB诱导凋亡基因包括抑制因子（IAPs），cl-2样因子、TNF受体结合因子1和2(TRAF1和TRAF2)、A20D等，同时NF-κB还可以通过非凋亡的形式来促进肿瘤的形成，即通过激活原癌基因c-myc的表达刺激肿瘤细胞的增生[16]。但令人遗憾的是，如今的研究仍不清楚是哪些机制最终决定了NF-κB活化后而产生的生物学效应。

大量的研究表明[17, 18]，在胃黏膜不同组织中的NF-κB的表达与胃癌组织中的表达有显著差异，本研究显示，随着胃黏膜上皮异型程度的加深，NF-κB的表达亦逐渐增加，在正常黏膜、癌旁增生组织及癌组织中的阳性表达分别为5.88%、22.22%、70.59%，随着浸润深度、淋巴结转移及临床分期的出现，阳性表达亦相应增加，提示NF-κB可能参与了胃黏膜进展的整个过程，故NF-κB可能作为胃癌预后及治疗评估的临床指标之一。

2 TOPOⅡ、Ki-67与胃癌

DNATOPOⅡ是细胞基质酶蛋白，普遍存在于多种细胞中，是一种调节核酸空间结构动态变化的、控制核酸生理功能的关键酶，直接参与DNA重组、复制、转录及调节打结、超螺旋状态和解结[19]，高表达于处于增殖状态的细胞中，在DNA复制后期和有丝分裂期为高表达期，而进入静止期或分化后期则降至最低水平，TOPOⅡ相关表达文献国内外均少见，在消化道肿瘤的研究中仅限于食管癌，有关实验表明，TOPOⅡ下降可能是多药

的耐药机制之一，国外文献报道，TOPOⅡ的高表达对化疗药物的敏感性高于低表达或不表达组，且预后也较好，故近年来的研究常把TOPOⅡ作为细胞或肿瘤增殖程度的标志酶[20, 21, 22]。并有许多发现TOPOⅡ的表达水平与患者的预后相关，并且其指标高低可以作为衡量肿瘤恶性程度的指标之一[23]。

Ki-67是与细胞周期相关增殖细胞核抗原，是于1983年Gerdes研究霍奇金淋巴瘤时发现的，其分子量约为345kd、395kd2，它所编码的基因处于第10号染色体上，研究发现其具备蛋白连接特征的重要结构，在维持DNA结构方面起着重要作用，仅在G0期无表达，而在细胞周期的其他周期均可检测到，研究发现高表达于S期、G2期和M期，在细胞增殖的后期表达量迅速下降，表达部位因细胞周期而有所不同，其中在M早期，主要分布于细胞的染色体上，而在细胞增殖的中期可在染色体周围的网状结构中有大量明显表达。现已有大量的研究[24, 25]证实Ki-67在在乳腺癌、肺癌、子宫内膜癌等多种实体肿瘤中被广泛地应用于测定各种肿瘤预后的测定[26, 27]。

细胞的凋亡对维持细胞的正常形态和机能起着重要作用，但多种原因诸如慢性炎症及感染引起细胞的永生化是肿瘤形成的重要前提[13]，一方面造成细胞的新陈代谢周期延长，另一方面在此基础上形成的炎症的瀑布效应，又是肿瘤形成的重要因素之一；此外仍有研究显示[28]Ki-67与血管内皮生长因子和微血管密度有正相关关系，医学研究显示肿瘤的生长和转移依赖于血管的生成，但仍和细胞外基质的形成相关，对细胞存活率有影响，如参与细胞的生长和死亡，决定细胞的形状、分化和迁移的重要作用。而新文献报道[29, 30]，在一些肿瘤中Ki-67的表达与MMPs呈正相关，这说明两者可能有相互促进作用，共同完成对细胞外基质及基底膜的破坏及重塑，但机理仍不详。而对Ki-67在人体诸多恶性疾病中的明显升高，一种认为是原癌基因Ki-67的过度表达导致细胞无限制增生，或是肿瘤细胞的异常表达导致Ki-67的明显升高。本研究也显示，两者在胃癌组织中均为阳性表达，敏感性高，并且在癌旁增生组织及正常组织中亦有阳性，考虑与消化道黏膜更新周期短及癌组织增生明显相关，但随着分化和恶性程度的加深，其增殖活性有增高趋势，且Ki-67随着淋巴结转移和临床分期的恶化，阳性表达明显增加，这与以往报道基本一致[31]，且随着胃黏膜不同

分期中的NF-κB表达水平的逐步提高，TOPOⅡ和Ki-67的阳性表达率亦有增加。

目前，关于胃癌预后评估的指标很多，多指标的联合检查有助于提高肿瘤预后及治疗效果评价的准确性，为临床治疗提供一定的指导。我们的实验研究发现NF-κB、TOPOⅡ和Ki-67三者与胃癌的预后密切相关，三者在胃癌组织中的表达呈显著正相关，或许联合检测三者可以作为评估胃癌的愈后及胃癌治疗效果的一种方法，同时，我们也相信，在我们医学科学工作者的研究基础之上，伴随着分子生物学技术及理论的进步，调节NF-κB表达的药物研究也会有新的进展，同时也能为胃癌的早期诊断、治疗提供新的方法和思路。

结**论**

本试验采用免疫组织化学法检测了胃癌标本、癌旁增生标本及正常胃粘膜标本中的NF-κB、TOPOⅡ和Ki-67蛋白的表达，讨论三个因子在胃癌的发生、发展和在肿瘤侵袭转移的变化之间的关系，并探讨其与胃癌生物学行为变化中的意义。

1 NF-κB、TOPOⅡ和Ki-67在胃癌标本中的表达显着高于癌旁增生标本及正常胃粘膜标本，再次从蛋白水平上提示，其可能参与了胃癌的发生和发展过程。

2 NF-κB、TOPOⅡ和Ki-67的表达水平与胃癌的浸润深度、淋巴结转移和TNM分期显著相关，提示这三个因子对胃癌的侵袭和转移有一定的作用。并随胃粘膜恶性程度加深而逐渐增加，可作为胃癌浸润、转移及预后的预测因子，但在临床分期的研究结果与以往略有差异，或可进一步扩大样本量证实之。

3 NF-κB、TOPOⅡ和Ki-67三者在胃癌标本中的表达呈正相关，提示三者共同影响胃癌的发生、发展且三者之间有相互作用。

NF-κB、TOPOⅡ和Ki-67三者影响着胃癌的发生和发展，并在胃癌的生物学行为诸如浸润、转移等过程中扮演着重要角色，故检测此三指标可以为胃癌的预后及治疗效果的评估提供依据并在一定程度上有助于早期胃癌的诊断。

参 考 文 献

[1] 赵蔚然. NF-κB与肿瘤生成. 西部医学[J]. 2010, 22(9): 1729-1731.

[2] 饶春燕, 乐湘华. NF-κB与急性坏死性胰腺炎. 重庆医学[J]. 2012, 41(10): 1019-1021.

[3] 张艰, 李圣青, 李焕章, 等. NF-κB在大鼠急性肺损伤模型肺组织中的表达及N-乙酰半胱氨酸的影响. 细胞与分子免疫学杂志[J]. 712-715.

[4] 周永芹, 韩莉. NF-κB与肿瘤关系的研究进展. 现代肿瘤医学[J]. 2008, 16(5): 855-858.

[5] EinbergRA, E2Fandcellproliferation: aworldturnedupside down[J]. Cell, 1996, 85(4): 457-459.

[6] 吴继雄, 邓亚芳, 方亮. 慢性萎缩性胃炎患者体内NF-κB和Bcl-2的表达及意义[J]. 海南医学院学报. 2013, 7: 895-897, 900.

[7] 黄培林, 朱世能, 陆世伦. NF-κB、IκB与肿瘤细胞凋亡. 实用癌症杂志[J]. 2001, 16(1): 103-104.

[8] 李建业, 任元满. 核因子κB与恶性肿瘤的相关性研究. 亚太传统医药[J]. 2007, 3(11): 30-33.

[9] 刘晓, 邢丽娜. 核转录因子NF-κB与肿瘤. 实用肿瘤学杂志[J]. 2007, 21(2): 191-193.

[10] 黄小兵, NF-κB在感染和炎症促进肿瘤发生及发展中的作用[J]. 重庆医学. 2008, 37(23): 2741-2743.

[11] 任海霞. 非甾体类抗炎药抗肿瘤作用研究进展[J]. 中国药业. 2012, 21(6): 86-88.

[12] 王康玮, 曹清华, 林原, 等. NF-κB及IL-1ra在胃癌中的表达及其意义. 中ft大学学报(医学科学版) [J]. 2010, 31(1): 95-99.

[13] 曹亚. 细胞周期与肿瘤. 国外医学. 生理、病理科学与临床分册[J]. 2002, 22(2): 103-105.

[14] Scaife CL, Kuang J, et al. Nuclear factor kappaB inhibition induce adhesion dependent colon cancer apoptosis. Caccer Res, 2002, 62: 6870-6878.

[15] Dejardin E, Deregowski V, Chepelier M, et al. The nuclear factor-kappaB: aprotential therapeutic leukemial[J]. Oncogene, 2001, 20(16): 2131-2139.

[16] 邓景岳, 毕明刚. 影响原癌基因c-myc作用因素的研究进展.肿瘤. 2009, 29(12): 1176-1179.

[17] Mayo MW, Baldwin AS. The transcription factor NF-kappa B: control of oncogenesis and cancer therapy resistance[J]. Biochim Biophys Acta, 2000, 1470(2): M55-62.

[18] Zhang X, Nie D, Chakrabarty S. Groth factors in tumor microenvironment. FrontBiosci, 2010, 15: 151-165.

[19] 陈军, 王纳. 抗肿瘤药物作用的重要靶点-DNA拓扑异构酶. 国外医学肿瘤分册[J]. 1995, 10, 22(5): 271-273.

[20] Yabuki-N, SasaneH, KateK, etal. ImmunohistochemicalstudyofDNA topoisomerase II in human gastric disorders[J]. Am J Pathol, 1996, 149(3): 997-1007.

[21] Willman JH, Holden JA． Immunohistochemical staining for DNATopoisomerase II-alpha in benign, premalignant, and malignant lesions of the prostate． Prostate, 2000, 42( 4) : 280-286．

[22] Stathopoulos G P, Kapranos N, Manolopoulos L, et al． TopoisomeraseII alpha expression in squamous cell carcinomas of the head and neck． Anticancer Res, 2000, 20: 177-182．

[23] 欧希龙, 胥名, 刘顺英. T opoisomeraseII-a在大肠癌中的表达和临床意义. 中国肿瘤临床与康复[J]. 2002, 9(6): 14-15.

[24] Ogata DC, Marcondes CA, Tuon FF, et al. Sperfical papillary urothelial neoplasmas of the bladder(PTA E PT1): correlation of expression ofp53, ki-67 and CK20 with histologic grade, recurrence and tumor progression[J]. Rev Col Bras Cir, 2012, 39(5): 394-400.

[25] Vilar E, Salazar R, Perez-Garcia J, et al. Chemotherapy and role of the

Proliferation marker Ki-67 in digestive neuroendocrine tumor[s Relat Cancer,2007,14(2):221-232.

J]. Endocr

[26] 李智, 段建敏, 范维柯, Ki-67与恶性肿瘤预后的相关性. 国外医学临床生物化学与检验学分册[J], 2000, 21(6): 312-313.

[27] 刘大为, 刘星, 刘初晴, Ki-67在不同肿瘤中的表达及意义. 中国保健营养(中旬刊) [J]. 2012, (8): 583.

[28] 关鉴. 脑膜瘤组织中VEGF、Ki-67表达及其与肿瘤血管生成的关系. ft东医药[J]. 2013, 53(8): 47-49.

[29] 吴子旭, 王炳彦, 姚宏. 基质金属蛋白酶-9和Ki-67在视网膜母细胞瘤中的表达和意义. ft西医药杂志[J]. 2011, 40(23): 1195-1196.

[30] 付静, 姚宏. KISS-1基质蛋白酶-9和Ki-67在宫颈鳞癌组织中的表达和意义. 中国药物与临床[J]. 2011.11(2): 160-162.

[31] Liu W, Yu Y, Ouyang X. Expression of P53 and Ki67 and clinical significance in gastric cancer [J] World Chinese Journal of Digestology, 2011, 19(4): 367-373.

#### 综述一

NF-κB在胃癌中的研究进展

肿瘤严重危害着世界人民的生命和健康，近20年来肿瘤的发病年龄日趋年轻化[1]，同时发病率及死亡率总体仍在上升，且在死因谱中高居第

2位。在机体恶性肿瘤引起的死亡的病因谱中，胃癌仍位居前列。但当前对胃癌的发病原因、发病特点及病程进展、转归仍不完全清楚。随着医学技术及理论的进步，逐步认识到胃癌是多种因素的结果，近年来的对其在内镜、组织病理、体液标本、蛋白、基因等更高水平的研究，越来越发现众多与胃癌病因及进展相关的因子，并从多角度分析、探讨早期胃癌的诊断及检测方法和胃癌预后的评估，但因为肿瘤发病早起特点的隐匿性及早期转移特点，及浸润、转移后的治疗的棘手性，早起诊断显得越来越关键。

近年来，由于在各种肿瘤中的NF-κB的高表达引起的许多研究人员的广泛关注，当前研究认为肿瘤的发生、发展涉及肿瘤基因及抑癌基因的失衡、一系列的炎症因子的激活、新生血管的形成、浸润深度的增加及转移的发生[3,4]，NF-κB作为信号传导通路中的重要因子[5]，具有多种生物学作用，涉及炎症、肿瘤、免疫及细胞的增殖和细胞凋亡等多种机体的调节过程。本文将从以下几个方面探讨NF-κB在肿瘤发生及进展中的作用及多种生物学行为之间的关系。

1关于NF-κB

NF-κB是几乎存在于所有细胞的转录因子[6]，主要调节机体的炎症和自身免疫反应，同时，亦有研究发现其在控制细胞及癌变、调控细胞周期和凋亡、影响细胞的分化进程和肿瘤组织的转移中发挥重要作用[7]，在多种实体肿瘤中有表达。它在1986年是由Sen在淋巴细胞中首次发现，作为一种普遍存在的转录因子，其能调节免疫反应、炎症反应和细胞的生长和分化[8]，并在细胞的凋亡[9]及粘附等中发挥一定影响，其家族成员主要有RelA(p65)、RelB、c-Rel、NF-κB1(p50)、NF-κB 2(p52)等，这些成员的共同点是在N端有一个约300个氨基酸残基Rel同源区(RHD)，并且高度保守；在C端，据其结构和功能的差异将NF-κB分成两组，第一组包括第RelA、RelB、c-Rel等，它们具有转录激活作用；第二组包括

NF-κB1、NF-κB2等，一般不具有转录激活作用，它们的主要功能是结合DNA。但NF-κB活性的活性受IκB的调控。IκB的家族由多个成员构成，包含IκBa、IκBb等。静息状态的NF-κB通常与IκB直接结合的三聚体在细胞质中存在。而NF-κB是受多种因素的影响，目前有超过150中，如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor; TNF)、白细胞介素1、脂多糖、生长因子和病毒等。NF-κB的活化要解离IκB，令核定位序列的曝光，然后结合具体的κB序列，从而调节相应基因的表达，而被激活的NF-κB可增加TNF、IL-1的转录，后者又正反馈调节NF-κB，激活的NF-κB参与多种肿瘤的发生、发展及浸润、转移，并参与肿瘤细胞抵制放化疗的作用机制[10,11]，通常，NF-κB主要存在于胞质中，维持一定量的水平，但在被激活后进入细胞核，转录功能明显提升，严重妨碍细胞的正常信号通路，同时干扰细胞的凋亡，而具有癌变发展倾向[9]。

2 NF-κB与炎症

肿瘤微环境在肿瘤的发生和发展过程中发挥着关键的作用[12]，而炎症常在肿瘤发生之前出现，有研究认为炎症细胞和信号促进肿瘤的发生[13]，那么炎症或炎症因子与肿瘤之间究竟有着什么样的关系？

我们知道肿瘤的发生、发展是慢性、多因素致病，包括长期的细胞因子、射线、自由基等的刺激，这些课引起炎症因子的过量表达，他们对于炎症的发生和维持并由此而形成的瀑布效应有重要作用。相关研究结果提示急性炎症能够抑制甚至消除隐匿性癌[14]，但机体的消除肿瘤因素的机制无法完全清楚肿瘤细胞[15]，而慢性炎症的持续存在和逐渐加剧还可以促成基因组不稳定性的增长，原癌基因与抑癌基因之间的不平衡造成DNA的损伤，在瘤体微环境改变的同时，肿瘤的发展进一步促进肿瘤细胞的增殖，并促进肿瘤血管的生成和转移，有证据表明，在多种肿瘤的发生中，慢性炎症有促进肿瘤进展和转移潜能中发挥致病性作用，而炎细胞刺激产生的自由基致使DNA的毁伤，再次加剧肿瘤发展倾向。如长期慢性HBV感染者并发肝癌、幽门螺杆菌感染与胃癌之间的密切关系、HPV感染与宫颈癌的关系等，我们有充足的证据提示，根除某些炎症因素可以阻止甚至治愈某些癌症，NF-κB被认为是架接慢性炎症与肿瘤之间的桥梁[3]，胃粘膜细胞中的NF-κB的激活，诱导多种因子的活化，如TNF-a、IL-1、IL-8[16]等，这些生长因子可以通过内分泌和旁分泌的途径，进而启动炎症细胞而大量

增殖，当然并不是所有的炎症都具有致瘤性。但在肿瘤微环境改变的同时，微环境中的成分同时能够调节细胞生长，这些生长因子或受体的失调驱动着细胞恶性转化，如持续的炎症导致NF-κB通路的激活，导致核转录因子靶基因的异常表达，这从动物实验中进一步得以证实，IL-1的过度表达的转基因小鼠，在其体内的IL-1与IL-1受体的结合，会激活炎症细胞和胃粘膜上皮细胞中的NF-κB通道，进而导致炎症和胃癌发病率的升高，而阻断本通路的激活会抑制炎症和降低胃癌的发生[16]，长期应用非甾体抗炎药却能降低肿瘤的发生风险，而机体长期存在慢性炎症反应时，形成癌症的机率会增加，这从近年来的关于非甾体抗炎药与肿瘤疾患的发病因素研究中可以得到佐证[17]。

3 NF-κB与细胞凋亡

肿瘤的产生不单于肿瘤细胞的反常增殖和分化相关，也与细胞的凋亡系统紊乱有关，若维持机体正常生理机能的系统紊乱，就有可能致使疾病的发生，而细胞的用永生化是肿瘤发生的重要前提[18]。近些年有学者的探讨发现，NF-κB的失控，会导致许多肿瘤的发生[19, 20]，当它被激活后可以产生较强的抗凋亡信号，从而加速肿瘤的生物学进程。目前发现NF-κB诱导凋亡基因包括抑制因子（IAPs），cl-2样因子、TNF受体结合因子1和2(TRAF1和TRAF2)、A20D等，同时NF-κB还可以通过非凋亡的形式来促进肿瘤的形成，即通过激活原癌基因c-myc而刺激增生[21]。NF-κB活化后可引起抗细胞凋亡基因的表达增加，继而发挥此类因子在调节线粒体去极化过程和细胞色素C生理释放中的抗凋亡功能。其他抗凋亡基因大多也是通过诱导或者上调抗凋亡基因的表达实现的，但令人遗憾的是，如今的研究仍不清楚是哪些机制最终决定了NF-κB活化后而产生的生物学效应。

4 NF-κB与耐药

我们已知道，NF-κB在多种实体肿瘤异常表达并多次调控某些效应基因的转录，诸如乳腺癌、胰腺癌、结肠癌等，且NF-κB的活性很高，那么究竟是怎样的机制引起了肿瘤的发生与发展，侵袭和转移？研究发现肿瘤的发生、发展及恶化、进展与慢性、长期炎症刺激、细胞凋亡与抗凋亡的失衡、肿瘤组织血管和淋巴管的形成相关，还与肿瘤组织的粘附及令人棘手的肿瘤耐药密不可分[22]，如NF-κB可激活多种耐药基因的表达，

而多耐药基因的表达产物可组织细胞间毒性药物的堆积[23]，据NF-κB在肿瘤组织的高表达和耐药基因中影响的结论，可否通过抑制NF-κB来抑制肿瘤的进展，此外亦有报道究证实，多种NF-κB通路抑制剂、多肽等已经开始应用于临床[24]，并且干扰素a、干扰素b、白细胞介素2等被应用于治疗肿瘤，其多为NF-κB的调控因子或是NF-κB的激活因子。

5小结与展望

胃癌是我国乃至世界的病死率较高恶性肿瘤，研究发现其发生和发展是一个极其复杂的、多步骤的过程，涉及一系列的基因的变化，包括炎症因子的长期、大量的生成，免疫因素的改变、组织细胞的凋亡与抗凋亡的失衡及基因的突变等多方面的变化，近年来，大量的研究发现NF-κB与多种实体肿瘤的关系密切，其参与了肿瘤的形成、治疗中的耐药等多方面的作用，应用特异性方法进行抑制或者切断其传道通路机制中的某个环节，有可能阻滞或控制肿瘤的生长及进展，自1986年NF-κB被发现以来，对其的深入研究已经取得了一系列的进展，但深入研究其在胃癌等多种实体肿瘤的作用及开发出调节NF-κB的有效药物，同时对机体的副作用进一步降低的挑战仍然任重道远。

参考文献

[1] SiegelR, Ward E, Brawley O, et al, Cancer statistics,2001: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths [J]. CA Cancer J Clin,2001,61(4):212-236.

[2] Scaife CL, Kuang J, Wills Jc, et al. Nuclear factor kappaB inhibition induce

Adhesion dependent colon cancer apoptosis. Cancer Res,2002,62:6870-6878.

[3]黄小兵. NF-κB在感染和炎症促进肿瘤发生及发展中的作用.重庆医学[J].2008,37(23):2741-2743.

[4]李菁，朱元民，刘玉兰. 炎症与肿瘤关系研究进展. 中国医药导刊

[J],2007,9(3).217-219.

[5]韩竞春，黄磊，张开立等. NF-κB和Stat3信号途径在胃癌组织和细胞系中的活化.临床军医杂志[J].2008,36(2):166-168.

[6]李利.核因子-κB的结构和功能研究及与全身炎症反应综合征的关系.国外医学临床生物化学与检验学分册[J].2005,26(11):792-794.

[7]赵蔚然. NF-κB与肿瘤生成.西部医学[J].2010,22(9):1729-1731.

[8]李娜，曹书华. NF-κB在机体炎症与免疫反应中作用的研究进展.中华急诊医学杂志[J].2007,16(4):442-444.

[9] Wu Jixiong Deng Yafang Fang Liang, Chronic Atrophic Gastritis Patients in Vivo Expression and Significance of NF-κB and Bcl-2[J]. Journal of Hainan Medical University,2013,7: 895-897+900.

[10] Baeuerle PA, Baltimore D, NF-kappa B: ten years after[J]. Cell,1996,87(1):13-20.

[11] Mayo MW, Baldwin AS. The transcription factor NF-kappa B: control of oncogenesis and cancer therapy resistance[J]. Biochim Biophys Acta,2000,1470(2):M55-62.

[12] Zhang X, Nie D, Chakrabarty S. Groth factors in tumor microenvironment. Front

Biosci,2010,15:151-165.

[13] Rajput S, Wilber A. Role of inflammation in cancer intiation, progression and metastasis. Front Biosci(Schol Ed),2010,2:176-183.

[14] Nauts HC, Mc Laren JR. Coletroxins-the firescentury. Adv ExpMed

Biol.1990;267:483-500.

[15] Gallucci S, Matzinger P. Danger singals: SOS to the immune system. Curr

Opin Immunol 2001;13:114-9.

[16]王康玮，曹清华，林原，等. NF-κB及IL-1ra在胃癌中的表达及其意义.中ft大学学报（医学科学版）。[J].2010, 31(1),95-99.

[17] REN Hai-xia, Advances of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in anti-tumor effect[J]. China Pharmaceuticals,2012,21(6) 86-88.

[18]曹亚. 细胞周期与肿瘤. 国外医学. 生理、病理科学与临床分册

[J].2002,22(2): 103-105.

[19] Scaife CL, Kuang J, et al. Nuclear factor kappaB inhibition induce adhesion dependent colon cancer apoptosis. Caccer Res,2002,62:6870-6878.

[20] Dejardin E, Deregowski V, Chepelier M, et al. The nuclear factor-kappaB: a

Protential therapeutic leukemial[J]. Oncogene,2001,20(16):2131-2139.

[21]邓景岳，毕明刚.影响原癌基因c-myc作用因素的研究进展.肿瘤.2009,29(12):1176-1179.

[22]梁后杰，黄海辉.细胞粘附与肿瘤多细胞耐药.第三军医大学学报[J].2002,24(11):1257-1258.

[23] Zhou G, Kuo MT, The mechanism of docetaxel-induced apoptosis in human lung cancer cells[J]. J Biol Chem,2005,274(12):15174-15183.

[24] Epint JC, Gilmore TD. The use and action of druge in analyzing

mitosis[J]. Oncogene,2005,24(8):6898-6909.

#### 综述二

**Ki-67与肿瘤**

现代医学认为，肿瘤的产生、发展是由于肿瘤细胞的异常生长而致，人体正常细胞即使受到来自多种物理、化学及生物刺激伤害，其机体细胞如产生和凋亡处于一个动态平衡之中，则不会出现明显的机体不适，但如果平衡系统紊乱，则具有肿瘤的发展倾向。

肿瘤细胞的无节制生长是所有肿瘤组织的重要生物学特点，故有研究认为肿瘤的迅速发展是由于肿瘤细胞分裂异常明显的结果，但仍有结果显示肿瘤的发展的因为肿瘤细胞的分裂速度延缓，细胞更新周期延长，造成细胞新陈代谢速度降低而使大量细胞处于增殖期，胃癌与机体其他肿瘤一样，有着相同的转移机制，包括癌灶的起病及从原发肿瘤的脱落、向周围组织的浸润、侵入血液循环系统、穿透基底膜和侵及周边组织并进一步发生、发展等一系列过程，在这个过程中肿瘤细胞的持续存活、并从机体中自行获得营养而持续生长是其生物学特性得以进行的前提。

那如何评估机体肿瘤细胞的生长活性而了解肿瘤组织的良恶性、局灶侵及情况？在探索恶性实体肿瘤的研究中，Ki-67蛋白是当前学者期望能从其本身研究中实现肿瘤研究突破的重点生物标识之一，当前已广泛应用于临床，通过对瘤细胞增殖活性的评估，用于检测肿瘤细胞的良恶性。

1关于Ki-67

Ki-67作为增殖细胞核抗原，是在1983年Gerdes研究霍奇金淋巴瘤时发现的，是被广泛用于反映细胞增殖指数的指标，研究认为其功能细胞和有丝分裂相关，Bruno等推测其可能是染色质内部和周围的非组蛋白基质[1]，分子量约为345kd、395kd2[2]，Ki-67在机体细胞中是在细胞周期中表达的一种增殖细胞核抗原，它所编码的基因处于第10号染色体上，研究发现其具备蛋白连接特征的重要结构，在维护DNA结构方面起着紧要作用[3]，仅在G0期无表达，而在细胞周期的其他周期均可检测到，并研究发现高表达于S期、G2期和M期，在细胞增殖的后期表达量迅速下降，表达部位因细胞周期而有所不同，其中在M早期，主要分布于细胞的染色体上，而在细胞增殖的中期可在染色体周围的网状结构中有大量明显表

达。人体是一个非常复杂和精密的调节机体，同样Ki-67也受到机体非常精准的表达调控，随着人体所受外在刺激等有相应的应激表达反应，而且其表达周期较短，从开始出现到临床无法检测，持续时间约1小时到1.5小时，具体机理不详，但在其表达波动的同时有相应的蛋白酶合体有相应的临床波动。

近来研究指出, Ki-67蛋白是核基质的一部分，具有非蛋白的特点，它在人体细胞中的表达随着细胞周期的变化而变化。近年来Ki- 67在乳腺癌、肺癌、子宫内膜癌等多种实体肿瘤中被广泛地应用于测定各种肿瘤预后的测定[4, 5]。

2 Ki-67与肿瘤的生物学行为之间的关系

医学公认，肿瘤是一个多因素、慢性进展而来的恶性病变，那么我们要提出这样的问题，Ki-67在正常组织中有无表达？如果有，那么它与肿瘤的恶化、进展是什么关系？已有在经大量研究后证实Ki-67在调节细胞周期中的重要作用并将之作为评价细胞生长分数的指标之一[6]；国内外诸多文献报道，Ki-67在静止期无表达，仅活跃在细胞部分周期；而在细胞恶变初期就有细胞增生活跃的表现，所以可以检测出作为增值细胞核抗原的Ki-67的明显表达，并随着机体细胞生物学行为的恶变表达量迅速增加，即Ki-67的表达呈梯度式增强[7]，显示其参与了肿瘤的发生和发展。现代已有大量的研究[8, 9]证实Ki-67的高表达于结肠癌、膀胱癌以及肾癌等多种实体肿瘤密切相关。国内学者张文华[10]等研究认为Ki-67集中表达于M期，且特异性强，并认为在不受外界因素刺激的胆管上皮中Ki-67没有增殖活性，但随着肝内胆管结石长期刺激，胆管上皮增殖活性增加进而出现不典型增生及至细胞内部调控机制发生改变，从而引起质变。王红[11]在研究Ki-67在大肠癌中的表达时发现，Ki-67的表达明显高于正常肠粘膜及良性病变组织。

3 Ki-67基因与肿瘤转移的关系

恶性肿瘤的重要特点是侵犯和转移，已有大量实验指出在肿瘤组织中Ki-67的高表达，那么Ki-67与肿瘤的转移有无关系？已有很多研究证明了其在肿瘤的转移中异常表达，分析机理如下：

3.1 Ki-67与细胞代谢之间的关系

细胞的凋亡是细胞的正常死亡，对维持机体形态和机能的稳定有至关

重要的作用，但研究认为诸多因素如病毒、细菌感染等具有抑制凋亡的基因，从而有助于病毒逃避细胞的凋亡程序的启动和进行，而利于病毒、细菌等的自身繁殖，诱发或促进疾病的形成和进展，如华西医科大学张谊之[12] 教授在研究皮肤病时发现细胞的凋亡时发现，机体受到病毒感染后，通过胞浆的正常传输机制而到达胞核并将DNA与机体核酸进行组装，同时进行高速复制，并导致了机体细胞的永生化，而机体细胞的永生化是体外细胞转化的关键一步[13]，而由此形成的慢性炎症又是肿瘤形成的重要因素，而Ki-67本身是反应细胞增殖活性的指标，这也就可以解释为什么在细胞增生活跃的组织中Ki-67表达异常明显的原因。因此有理由这样认为，凋亡是机体细胞对抗病毒、细菌等繁殖的积极因素；有研究认为，在机体免疫监控紊乱或免疫清除异常时，导致机体细胞的分化不良和细胞的异常增殖，会引起Ki-67的过度表达，故认为Ki-67的指标和肿瘤的良恶性呈正相关。而对Ki-67在人体诸多恶性疾病中的明显升高，一种认为是原癌基因Ki-67的过度表达导致细胞无限制增生，或许是肿瘤细胞的异常表达导致Ki-67的明显升高。

3.2 Ki-67与血管生成

血管的生成在机体肿瘤的进展中起着重要作用[14]，因为肿瘤细胞的特点，需要丰富的血液供应以适应其代谢，否则肿瘤组织会退化甚至消失；而新生的血管会反馈刺激肿瘤组织生长，并协助肿瘤的生物学进展，但肿瘤血管生成过程复杂，包括众多刺激因子和生长因子的慢性长期刺激，进一步引起内皮细胞的活化、迁移、增殖等生物学行为。有研究显示[15]Ki-67与血管内皮生长因子和微血管密度有正相关关系，但三者之间的关系仍有待进一步探讨。

3.3 Ki-67与细胞外基质

细胞外基质(extracellular matrixc, ECM)的组成包括胶原、非胶原蛋白、氨基聚糖、蛋白聚糖和弹性蛋白，它们在机体中起着支持、连接、保护等静态物理作用的同时仍发挥着影响细胞存活、生长、控制细胞的分化和机体细胞的迁移等动态作用。

故肿瘤的持续发展直至侵犯、迁移均需要通过影响细胞外基质[16, 17]，并借此进一步影响机体，大致分为以下几个重要步骤：1）肿瘤灶突破基底膜并侵入间质；2）瘤细胞侵犯并突破血管；3）瘤细胞入血并在血中生存；

4）继续侵犯血管壁并穿透并转移至组织，在组织中持续生长并扩展。据报道在此过程中，基质金属蛋白酶(Mstrix metalloproteinases)起着非常重要的作用[18]，MMPs几乎能降解ECM中各种蛋白成分，破坏肿瘤细胞侵袭的组织学屏障，其不但介导肿瘤细胞对机体细胞的降解，还控制肿瘤血管生成及调节细胞黏附，而新文献报道[19, 20]，在一些肿瘤中ki-67的表达与MMPs呈正相关，这说明两者可能有相互促进作用，共同完成对细胞外基质及基底膜的破坏及重塑，但机理仍不详。

4小结与展望

肿瘤是危及世界人民的重要疾病，因其起病隐匿、转移早、恶性程度高和治疗手段有限的特点致使病死率高，患者生存质量低下及预后极差，随着医疗技术及人们健康意识的提高，癌症的早期诊断取得了一定的成绩，但仍有巨大的上升空间，与此同时也加强了对肿瘤的早期积极干预，但如何评估治疗疗效，实验室检查仍为重要依据。因肿瘤有慢性、复杂、多因素、多步骤的致病特点，或许可以找到疾病发展与浸润中的一环予以监测，将有可能为监测肿瘤的浸润和转移等提供一个方向。Ki-67作为一种增殖细胞核抗原被研究多年，虽在评估肿瘤的良恶性等诸多方面已取得进展并持续有新的发现，但在取得成果的同时，仍存在一些争议，由于肿瘤本身的特点及个体的差异和众多学者研究方法及思路的迥异，在研究Ki-67在肿瘤中的表达及对生物学行为影响仍存在观点上的不同，需加强协作并继续研究，以便明确结论，指导实践；另外，仍需进一步扩大研究范围和加强研究深度，明确该指标是否适用于所有肿瘤组织。

参 考 文 献

[1] Bruno S, Darzynkiewicz Z. Cell cycle dependent expression and stability of the nuclear protein detected by Ki-67 antibody in HL-60 cells. Cell prolif.1992.22(5):1149-55

[2] Campana D, Janossy G. Proliferation of normal and malignant human

Immature lymphoid cells. Blood.1988.71(5):1201-10.

[3] Duchrow M, Schluter C, Wohlenberg C, Flad HD, Gerdes J. Molecular characterization of the gene locus of the human cell proliferation associated nuclear protein defined by monoclonal antibody Ki-67. Cell prolif.1996.29(1):1-12.

[4]李智，段建敏，范维柯, Ki-67与恶性肿瘤预后的相关性.国外医学临

床生物化学与检验学分册[J],2000,21(6):312-313.

[5]刘大为，刘星，刘初晴, Ki-67在不同肿瘤中的表达及意义.中国保健营养（中旬刊）[J].2012，(8):583.

[6] Bura M, Seiwerth S, Vladika I, et al. Possible prognostic significance of p53 and Ki-67 in inverted sinonasal papilloma

[J] Coll antropol,2007,31(2):545-549.

[7]段建中，王殿栋，Ki-67基因在肿瘤发生发展中作用的研究，中国肿瘤外科杂志[J]，2011,3(1):50-51,57.

[8] Ogata DC, Marcondes CA, Tuon FF, et al. Sperfical papillary urothelial neoplasmas of the bladder(PTA E PT1):correlation of expression of p53, ki-67 and CK20 with histologic grade, recurrence and tumor

Progression[J]. Rev Col Bras Cir,2012,39(5):394-400.

[9] Vilar E, Salazar R, Perez-Garcia J, et al. Chemotherapy and role of the

Proliferation marker Ki-67 in digestive neuroendocrine tumor[s Relat Cancer,2007,14(2):221-232.

J]. Endocr

[10]张文华，唐瑞峰，白建国等，增殖细胞核抗原、Ki-67在肝内胆管

癌及肝内胆管结石胆管中的表达及意义[J]，2014,29(1)：35-37.

[11]王红，赵逵，王建立，等．COX-2、EGFR和Ki-67在大肠癌组织中的表达及其意义[J]．ft东医药. 2008, 48(31)：1-3.

[12]张谊之，张敏，王琳等，尖锐湿疣角质形成细胞凋亡及Ki-67的表达.

临床与实验病理学杂志[J].2000,16(4):298-300.

[13]曹亚.细胞周期与肿瘤.国外医学.生理、病理科学与临床分册[J].2002,22(2): 103-105.

[14] Blagosklonny MV. Antiangiogenie therapy andtumorprogression[J]. Cancer Cell,2004,5(1):131-141.

[15]关鉴.脑膜瘤组织中VEGF、Ki-67表达及其与肿瘤血管生成的关系.

ft东医药[J].2013,53(8):47-49.

[16]王拴柱，马秀梅.细胞外基质与肿瘤转移关系的研究进展.内蒙古医学院学报，2009, 31(1)：76-80.

[17]缪应雷，欧阳钦.基质金属蛋白酶与肿瘤的相关性.肿瘤防治研究[J].2005,31(1):52-55.

[18]张成武，邹寿椿.基质金属蛋白酶-2与胃癌的侵袭和转移.中华胃肠外科杂志[J].1999,2(2):124-126.

[19]吴子旭，王炳彦，姚宏.基质金属蛋白酶-9和Ki-67在视网膜母细胞瘤中的表达和意义. ft西医药杂志[J].2011,40(23):1195-1196.

[20]付静，姚宏. KISS-1基质蛋白酶-9和Ki-67在宫颈鳞癌组织中的表达和意义.中国药物与临床[J].2011.11(2):160-162.

致**谢**

时光荏苒、岁月如梭，三年转眼即逝。昨日尚沉浸于学生时代的青涩，如今却惆怅于将以何心情来迎接这令人激动又兴奋的时刻--毕业，三年的历练后，逐渐沉稳，学问、学识及经历有了一定的长进，感谢所有关心和帮助过我的人。

首先感谢我的恩师李建辉教授，恩师医德高尚、平易近人、知识渊博、学术严谨，实为我终身学习之楷模；弯腰为桥、挺身为梯，父母给我生命，恩师给我以慧命，在接受科研意识及科研思路洗礼的同时，又培养我严谨的临床思维和基本技能，学生鲁钝，得逢名师，虽仅蒙三年教诲，但仍将受益无穷，虽不能至，定心向往之。

感谢病理科段庆华教授的关心和教导，段老师宅心仁厚，不慕荣利，对学生认真负责，在他的身上，我感受到一个学者的严谨和务实，这些让我获益匪浅，并且将终生受用。感谢刘海丽老师、赵晶洁老师、吴建龙老师、顾玉老师、宋莎老师等在我资料搜集和整理、在病理学知识的拓展和免疫组化实验过程中的无私帮助，非常感谢！

消化科是我成长的沃土。感谢李秀娟主任、王海军主任等对我工作和生活的照顾，同时感谢郝欣、王爱民、姜海滨等各位老师的带教和指点，也感谢我的师姐花海洋，我的同窗李立文在我实验及论文写作期间对我的照顾和鼓励，感谢我的同学刘继微在统计方面的无私帮助，谢谢！

感谢感谢千里之外的父母对我坚定地支持和无言的奉献，感谢他们的养育和信任，感谢二老对我德育的引导和对我的选择的全力支持，感激之情无言以表。

感谢我可爱、可敬的承医母校大学五年、研究生三年来对我的培育之恩！致敬承医的师长，感恩研究生部乔跃兵老师、李德臣老师、张小英老师和周颖老师，三年来给了我们太多指引和帮助、理解与包容。

最后，我要谢谢参与我论文评审和答辩的各位老师，您给了我一个审视三年来学习成果的机会，让我能够明确今后的发展方向，您对我的帮助是一笔无价的财富。我将在今后的工作、学习中加倍努力，争取更大的进步！谢谢！

**个人简历**

**一、本人基本概况**

姓名李常洲性别男民族汉族

出生日期1985年05月20日籍贯河北邯郸

**二、个人经历**

2005—2010年承德医学院读大学本科、秦皇岛市中医院实习。

2011—2014年承德医学院研究生部学习基础课、承德市中心医院实习并完成研究生课题。

**三、发表论文情况**

NF-κB在胃癌组织中的表达及其与TOPO II、Ki-67的关系[J].慢性病学杂志,2014,1:31-34.

**四、获奖情况**

2007—2008学年：承德医学院优秀团干部