

## HDGF 和 Ki-67 在胃癌中的表达及临床意义

马桂芳, 丁凤云

(盐城卫生职业技术学院, 江苏 盐城 224006)

**[摘要]** 目的:探讨肝癌衍生生长因子(hepatoma derived growth factor, HDGF)与 Ki-67 在胃癌组织及正常胃黏膜组织中的表达及临床意义。方法:用免疫组织化学 SP 法检测 47 例胃癌组织、15 例胃黏膜不典型增生组织及 10 例正常胃黏膜组织中 HDGF 和 Ki-67 蛋白的表达水平,并探讨其表达与肿瘤临床病理参数的关系。结果:HDGF 在胃癌组织中的阳性表达率为 65.9%,高于胃黏膜不典型增生组织(33.3%,  $P < 0.05$ )及正常胃黏膜组织(20%,  $P < 0.05$ ),HDGF 表达与肿瘤的浸润深度、淋巴结转移、临床 TNM 分期之间有明显的相关性;Ki-67 在胃癌组织中的阳性表达率为 74.5%,明显高于胃黏膜不典型增生组织(26.7%,  $P < 0.05$ )及正常胃黏膜组织(20%,  $P < 0.01$ ),Ki-67 表达与肿瘤的淋巴结转移、临床 TNM 分期之间有明显的相关性。结论:HDGF 与 Ki-67 在胃癌中高表达,在肿瘤细胞增殖上存在一定协同性,在胃癌的发生发展过程中具有重要作用。

**[关键词]** 肝癌衍生生长因子; Ki-67; 胃癌

**[中图分类号]** R735.2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2012)07-1010-04

胃癌是严重危害人类健康的常见恶性肿瘤之一。研究表明,胃癌的不良预后与胃癌细胞的无限增殖有关,究其原因可能是与细胞增殖相关的基因发生了改变。寻找与肿瘤细胞增殖有关的基因并阐明其在胃癌发生及发展中的作用对肿瘤的防治具有重要意义。肝癌衍生生长因子(hepatoma derived growth factor, HDGF)是 Nakamura 等<sup>[1]</sup>从肝癌细胞系 HuH-7 培养液中分离的一种酸性肝素结合蛋白,具有促进细胞增殖的活性。Ki-67 蛋白是一种与细胞增殖相关的核蛋白,可准确反映细胞增殖的状况,是一种反映细胞分裂与增殖活性的标志物。现有研究表明 HDGF、Ki-67 蛋白的过表达与一些恶性肿瘤的侵袭、转移及预后紧密相关。本研究采用免疫组织化学方法检测胃癌组织中 HDGF、Ki-67 蛋白表达情况,探讨两者与胃癌发生发展的关系。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

##### 1.1.1 组织标本

盐城市第一人民医院病理科 2011 年 1 月~2011 年 12 月手术切除并经病理证实的胃癌石蜡标本 47 例,男 30 例,女 17 例;≥60 岁 32 例、<60 岁 15 例;高-中分化 27 例、低分化 20 例;浸润深度 T1~T2 期有 16 例、T3~T4 期有 31 例;TNM 分期中 I~II 期有 18 例、III~IV 期有 29 例;有淋巴结转移 29 例、无淋巴结转移 18 例;术前均未接受放疗化

疗。另取同期胃黏膜不典型增生组织标本 15 例(男 10 例,女 5 例;≥60 岁 9 例,<60 岁 6 例),及因胃良性病变行部分胃切除的正常胃黏膜标本 10 例(男 7 例,女 3 例;≥60 岁 6 例,<60 岁 4 例)作对照。

##### 1.1.2 主要试剂

兔抗人 HDGF 多克隆抗体(bs-6537R),购自北京博奥森生物技术有限公司,抗体稀释液也为北京博奥森生物技术有限公司产品;鼠抗人 Ki-67 单克隆抗体即用型(RMA-0542)、超敏 SP(鼠/兔)试剂盒即用型(KIT-5030)及 DAB 显色液均为福州迈新生物技术公司产品。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 免疫组化染色方法

采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连接法(SP)检测胃癌及正常胃黏膜组织中 HDGF、Ki-67 蛋白的表达,具体操作步骤按说明书进行。将石蜡块行 4 μm 厚切片,常规脱蜡至水。切片置已加热沸腾的 pH6.0 柠檬酸缓冲液中,继续微波加热 15 min 修复抗原,然后用 3%过氧化氢去离子水 37℃孵育 15 min,以消除内源性过氧化物酶活性。一抗(1:100 稀释)37℃孵育 60 min,4℃过夜;二抗 37℃孵育 45 min,链霉菌抗生物素过氧化物酶 37℃孵育 45 min, DAB 显色,苏木素复染。用已知的 HDGF 和 Ki-67 阳性胃癌切片染色作阳性对照,用 PBS 代替一抗作阴性对照。

#### 1.2.2 结果判定

HDGF 表达以细胞核(少数细胞浆)呈棕黄色或棕褐色为阳性染色;Ki-67 的表达以细胞核呈棕黄色或棕褐色为阳性染色。每份标本置高倍镜下选取 5 个不同视野,每个视野计数 200 个肿瘤细胞,由两位病理医师进行盲法判读,计算阳性肿瘤细胞所占的百分数。结果分为 4 级:未见明显阳性细胞为“-”;阳性细胞数 < 25%为“+”;阳性细胞数 25%~50%为“++”;阳性细胞数 > 50%为“+++”。

### 1.3 统计学方法

用 SPSS19.0 版软件包进行统计分析,HDGF、Ki-67 蛋白表达与胃癌临床病理参数的关系用  $\chi^2$  检验,胃癌中 HDGF 与 Ki-67 表达相关性用 Spearman 进行相关分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HDGF、Ki-67 在胃癌和不典型增生、正常胃黏膜组织中的表达

HDGF 蛋白在胃癌组织中阳性染色主要定位于细胞核,少数在细胞浆,为棕黄色或棕褐色颗粒(图 1)。HDGF 在胃癌组织中的阳性表达率为 65.9% (31/47),在胃黏膜不典型增生组织为 33.3% (5/15),正常在胃黏膜组织为 20% (2/10)。结果显示,HDGF 在胃癌组织的表达高于胃黏膜不典型增生组织( $\chi^2 = 4.970, P < 0.05$ )和正常胃黏膜组织

( $\chi^2 = 5.383, P < 0.05$ )。

Ki-67 阳性染色主要定位于细胞核,为棕黄色或棕褐色颗粒(图 1)。Ki-67 在胃癌组织中的阳性表达率为 74.5% (35/47),在胃黏膜不典型增生组织中为 26.7% (4/15),在正常胃黏膜组织为 20% (2/10)。结果显示,Ki-67 在胃癌组织的表达显著高于胃黏膜不典型增生组织( $\chi^2 = 11.134, P < 0.01$ )和正常胃黏膜组织( $\chi^2 = 8.482, P < 0.01$ )。

### 2.2 HDGF、Ki-67 表达与肿瘤临床病理参数的关系

胃癌组织中 HDGF 表达与肿瘤浸润深度、临床 TNM 分期、淋巴结转移等有相关性( $P < 0.05$ );而与患者年龄、肿瘤组织分化等无明显相关性。Ki-67 表达与肿瘤的临床 TNM 分期、淋巴结转移等有相关性( $P < 0.05$ );与患者年龄、肿瘤组织分化、浸润深度等无相关性(表 1)。

### 2.3 胃癌组织中 HDGF 和 Ki-67 表达的相关性

在 31 例 HDGF 阳性的胃癌组织中,Ki-67 阳性者 27 例,占 87.1%,16 例 HDGF 阴性胃癌组织中,Ki-67 阳性者 8 例,占 50%, $r = 0.403, P < 0.05$ ,相关分析表明,胃癌组织中 HDGF 表达与 Ki-67 表达呈正相关。

## 3 讨论

细胞异常增殖是肿瘤生物学特征之一,其原因主要是基因水平失调。HDGF 是一种酸性肝素结

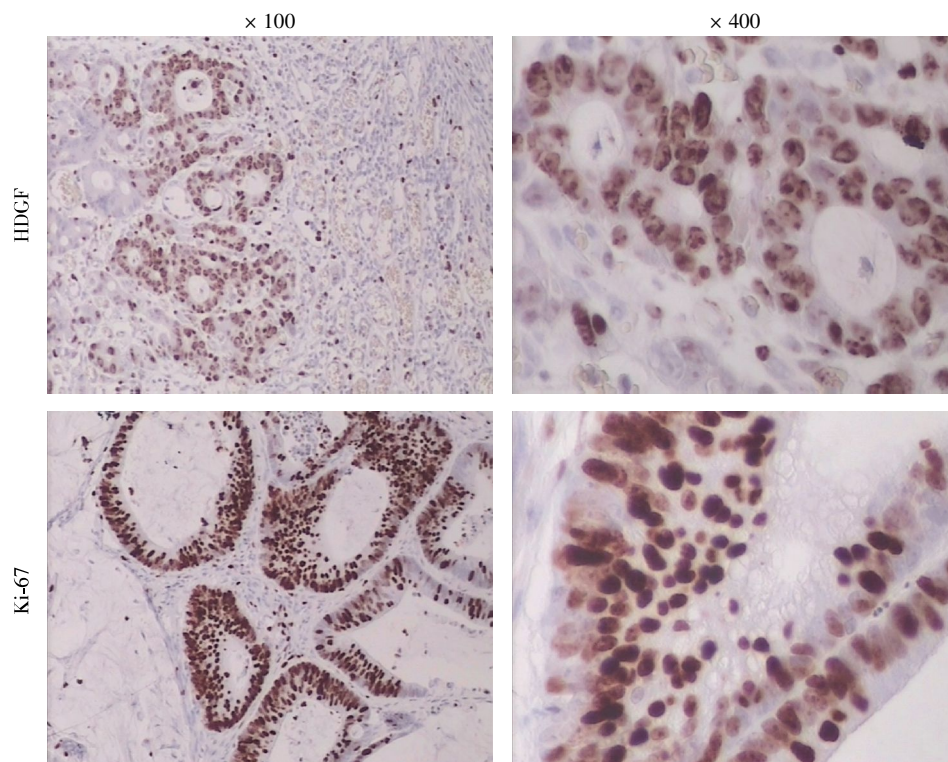


图 1 HDGF 和 Ki-67 蛋白在胃癌组织中的阳性表达(SP 法)

表1 胃癌 HDGF 与 Ki-67 阳性表达与临床病理参数的关系

临床病理特征	n	HDGF			P 值	Ki-67			P 值
		阴性(n)	阳性(n)	阳性率(%)		阴性(n)	阳性(n)	阳性率(%)	
性别					> 0.05				> 0.05
男	30	11	19	63.3		8	22	73.3	
女	17	5	12	70.6		4	13	76.5	
年龄(岁)					> 0.05				> 0.05
≥60	32	12	20	62.5		7	25	78.1	
< 60	15	4	11	73.3		5	10	66.7	
分化程度					> 0.05				> 0.05
高-中分化	27	9	18	66.7		8	19	70.4	
低分化	20	7	13	65.0		4	16	80.0	
浸润深度					< 0.05				> 0.05
T1~T2	16	9	7	43.8		7	9	56.3	
T3~T4	31	7	24	77.4		5	26	83.9	
TNM 分期					< 0.01				< 0.01
I~II	18	11	7	38.9		10	8	44.4	
III~IV	29	5	24	82.8		2	27	93.1	
淋巴结转移					< 0.05				< 0.01
有	29	6	23	79.3		3	26	89.7	
无	18	10	8	44.4		9	9	50.0	

合蛋白,结构上类似于高迁移率族蛋白-1(high mobility group-1,HMG-1)的氨基酸序列。近年来,随着国内外学者对 HDGF 功能的研究不断深入,发现 HDGF 对细胞增殖、血管生成、组织器官生长发育、创伤修复等生物学行为有着重要的影响<sup>[2]</sup>,而且其在食管癌<sup>[3]</sup>、胰腺癌<sup>[4]</sup>、结肠癌<sup>[5]</sup>、胃癌<sup>[6]</sup>等多种肿瘤中呈过表达,且与患者预后密切相关。本研究结果显示,胃癌组织中 HDGF 的阳性表达率远远高于胃黏膜不典型增生组织及正常胃黏膜组织,此与文献报道基本一致。Yamamoto 等<sup>[6]</sup>研究发现胃癌组织中 HDGF 指数水平高的病例肿瘤体积均较大,多呈侵袭性生长,血管转移和淋巴转移率均较 HDGF 指数水平低的病例高,且 HDGF 指数水平高的患者 5 年生存率低。本研究结果表明,胃癌组织中 HDGF 的表达水平随患者临床分期和浸润深度增加而增高,而且伴有淋巴结转移的胃癌病例 HDGF 的表达明显高于无淋巴结转移的胃癌病例,提示 HDGF 在胃癌的发生、发展及转移过程中可能起重要作用。

Ki-67 是一类与细胞周期相关的细胞核非组蛋白,也是一种敏感的细胞增殖相关核抗原,其在 G<sub>0</sub> 期不表达,在 G<sub>1</sub> 后期开始出现,在 S 期和 G<sub>2</sub> 期逐渐升高,M 期达到高峰,有丝分裂后迅速降解消失<sup>[7]</sup>,故已成为检测肿瘤细胞增殖活性最可靠的指标<sup>[8]</sup>。有研究表明 Ki-67 在多种恶性肿瘤如肺癌、胃癌、大肠癌、鼻咽癌等的表达远高于正常组织,与恶性肿

瘤的生物学行为和预后密切相关<sup>[9]</sup>,Ki-67 表达的高低对评价肿瘤细胞的增殖状态、研究肿瘤的生物学行为、判断预后具有重要意义。关于 Ki-67 与胃癌的关系,有研究显示胃癌组织 Ki-67 的表达与胃癌临床分期、分化程度有关<sup>[10]</sup>,还有学者提出 Ki-67 的表达与胃癌胃壁浸润深度、淋巴结转移及分化程度均有关<sup>[11]</sup>。本研究结果显示,胃癌组织、胃黏膜不典型增生及正常胃黏膜组织中 Ki-67 表达差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),且 Ki-67 表达与胃癌患者的临床分期、淋巴结转移等有相关性,提示 Ki-67 蛋白可通过调控肿瘤细胞的增殖而促进肿瘤的进展和转移。

Kishima 等<sup>[12]</sup>证实 HDGF 能够促进 HepG2 细胞 DNA 的合成和细胞增生。HDGF 具有促有丝分裂活性,从而促进细胞增殖;Ki-67 与染色质及与细胞有丝分裂密切相关,提示两者之间有一定的协同性。Iwasaki 等<sup>[13]</sup>通过免疫组化联合检测 102 例非小细胞肺癌中 HDGF 及 Ki-67 的表达,探讨二者之间的关系,结果显示 Ki-67 阳性率随 HDGF 的表达增强而升高。本文研究结果也显示,胃癌组织中 HDGF 的表达与 Ki-67 的表达呈正相关。提示 HDGF 促进细胞增殖生长的同时,可能通过某种途径调节 Ki-67 基因的表达,两者相互协同促进胃癌的发生和发展。

#### [参考文献]

- [1] Nakamura H,Izumoto Y,Kambe H,et al. Molecular

- cloning of complementary DNA for a novel human hepatoma-derived growth factor;Its homology with high mobility group-1 protein [J]. *J Biol Chem*,1994,269(40): 25143-25149
- [2] Enomoto H, Yoshida K, Kishima Y, et al. Hepatoma-derived growth factor is highly expressed in developing liver and promotes fetal hepatocyte proliferation [J]. *Hepatology*,2002,36(6): 1519-1527
- [3] Yamamoto S, Tomita Y, Hoshida Y, et al. Expression level of hepatoma-derived growth factor correlates with tumor recurrence of esophageal carcinoma [J]. *Am Surg Oncol*, 2007, 14(7): 2141-2149
- [4] Uyama H, Tomita Y, Natamura H, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for patients with pancreatic cancer[J]. *Clin Cancer Res*,2006,12(20Pt1): 6043-6048
- [5] 吕莉,董卫国. 肝细胞瘤衍生生长因子在结直肠腺癌中的表达及与血管形成的关系的研究 [J]. *中华消化杂志*,2007, 37(3): 195-196
- [6] Yamamoto S, Tomita Y, Hoshida Y, et al. Expression of hepatoma-derived growth factor is correlated with lymph node metastasis and prognosis of gastric carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*,2006, 12(1): 117-122
- [7] Gerdes J, Lemke H, Baisch H, et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki67 [J]. *J Immunol*, 1984,33(4):1710-1715
- [8] Hall PA, Levison DA, Woods AL, et al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) Immunolocalization in paraffin sections;an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms [J]. *J Pathol*, 1990,162(4):285-294
- [9] Tut VM, Braithwaite AL, Angus B, et al. Cyclin D1 expression in transitional cell carcinoma of the bladder;correlation with P53, wall, pRb and Ki67 [J]. *Br J Cancer*, 2001, 84(2):270-275
- [10] 郭悦悦,项锋钢,杨宪勇. 胃癌组织 CK20, Ki-67 的表达及意义[J]. *泰山医学院学报*,2004,25(1): 22-25
- [11] 郭长青,李继昌,李建生,等. Ki-67核抗原在良恶性胃粘膜病变中的表达及临床意义[J]. *胃肠病学和肝病杂志*,2002,11(3): 249-250
- [12] Kishima Y, Yamamoto H, Izumoto Y, et al. Hepatoma-derived growth factor stimulates cell growth after translocation to the nucleus by nuclear localization signals [J]. *J Biol Chem*,2002,227(12): 10315-10322
- [13] Iwasaki T, Nakagawa K, Nakamura H, et al. Hepatoma-derived growth factor as a prognostic marker in completely resected non-small-cell lung cancer [J]. *Oneol Rep*, 2005,13(6): 1075-1080

[收稿日期] 2012-03-16

本刊现已启用网上稿件管理系统, 作者登陆  
<http://jnm.njmu.edu.cn/>即可在线投稿并查询稿件  
审理情况。