

c-Kit 在进展期胃癌组织中的表达及其与预后的关系*

禹立霞, 谢 丽, 陈 红, 魏 嘉, 刘宝瑞[△](南京大学医学院附属鼓楼医院肿瘤中心, 南京 210008)

【摘要】 目的 研究进展期胃癌组织 c-Kit 表达及与相关指标和预后的关系, 以探讨 c-Kit 能否作为胃癌分子靶向药物治疗靶点。**方法** 采用免疫组化法研究了 69 例进展期胃癌组织标本的 c-Kit 表达及与 MDR1 和 SSTR2 的相关性, 并对患者进行总生存期随访。**结果** 进展期胃癌组织 c-Kit 阳性表达率为 24.6%。c-Kit 表达与患者性别、年龄、分期、分化及脉管和神经侵犯均无相关性。肿瘤组织 c-Kit 表达与 MDR1 ($P=0.049$) 和 SSTR2 ($P=0.013$) 表达有相关性。c-Kit 表达阴性患者中位总生存期为 13.8 个月 (95% CI 11.8~15.8 个月), c-Kit 表达阳性患者中位总生存期为 12.5 个月 (95% CI 9.58~15.42 个月, $P=0.049$), 两者差异具有统计学意义。Ⅲ A 期病例 c-Kit 表达阴性患者中位总生存期为 26.1 个月 (95% CI 15.36~36.84 个月), c-Kit 表达阳性患者中位总生存期仅为 12.5 个月 (95% CI 7.51~17.49 个月, $P=0.04$)。**结论** c-Kit 可能是胃癌靶向酪氨酸激酶抑制剂使用靶点, 但其相关机制有待体内外研究证实。

【关键词】 c-Kit; 胃癌; 预后

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.19.001 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)19-2497-02

Relationship between c-Kit expression and prognosis of advanced gastric cancer YU Li-xia, XIE Li, CHEN Hong, WEI Jia, LIU Bao-ru[△] (Cancer Center, Gulou Hospital Affiliated to Medical College of Nanjing University, Nanjing, Jiangsu 210008, China)

【Abstract】 **Objective** To explore the relationship between c-Kit expression and prognosis of advanced gastric cancer. **Methods** c-Kit expression was detected in tissue samples from 69 cases of advanced gastric cancer by using immunohistochemistry, and its relationship with MDR1 and SSTR2 was analyzed. Survival data of all patients were analyzed by follow-up. **Results** The positive rate of c-Kit expression was 24.6%. c-Kit expression was not related to gender, age, stage, histological differentiation, and nerves and vessels involvement, but was related to MDR1 ($P=0.049$) and SSTR2 ($P=0.013$) expression. The median overall survival of c-Kit negative patients was 13.8 months (95% CI: 11.8–15.8 months), while the median overall survival was 12.5 months (95% CI: 9.58–15.42 months) in c-Kit positive patients, and the difference between the two groups was significant ($P=0.049$). The median overall survival of c-Kit negative and positive patients at stage III A were 26.1 months (95% CI: 15.36–36.84 months) and 12.5 months (95% CI: 7.51–17.49 months), and the difference was significant ($P=0.04$). **Conclusion** c-Kit expression might be related to survival of patients with advanced gastric cancer and could be a potential therapeutic target, which should be confirmed by further investigation.

【Key words】 c-Kit; gastric cancer; prognosis

c-Kit 即 CD117, 广泛表达于胃肠道间质瘤、恶性黑色素瘤、小细胞肺癌、精原细胞瘤等多种恶性肿瘤^[1]。c-Kit 活化能够促进细胞增殖, 在造血干细胞、间质瘤细胞及黑色素瘤细胞中都具有重要的活化作用。然而, c-Kit 在消化道上皮来源的恶性肿瘤中相关报道较少。本文拟研究进展期胃癌组织 c-Kit 的表达及其与预后的关系, 以探讨其作为胃癌作用靶点的潜在可能性。

1 材料与方法

1.1 材料 收集南京大学医学院附属鼓楼医院病理科 2004 年 1 月至 2008 年 12 个月间资料完整, 诊断明确的Ⅲ、Ⅳ期胃癌标本 69 例。随访时间大于 12 个月, 最长为 60 个月。免疫组化抗体购自北京中杉公司, 抗体稀释液及 EnVision 试剂盒为 Dako 公司产品。

1.2 方法 标本经中性甲醛固定, 常规石蜡包埋, 切片厚 4 μm , HE 染色, 光镜观察, 免疫组织化学用 EnVision 两步法, 蜡标本常规切片脱蜡, 于抗原修复液中微波修复, 详细步骤按说明书进行。染色设已知阳性对照, 阴性对照用磷酸盐缓冲液

(PBS) 替代, DAB 显色, 苏木精衬染。

1.3 免疫组织化学结果判定 c-Kit 胞质染色为阳性, 按染色强度及阳性细胞比例各指标可分为阴性、1+、2+、3+。由于 c-Kit 阳性率低且强表达例数不多, 本文仅对 c-Kit 阳性标本统一进行分析。

1.4 统计学处理 应用 SPSS13.0 统计软件包对本试验数据进行校正的 χ^2 检验分析及 Kaplan-Meier 法分析生存期。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 临床病理参数与生存期分析 本研究 69 例患者, 其中男 50 例, 女 19 例; 中位年龄 65 岁 (19~81 岁); Ⅲ A 期 28 例, Ⅲ B 期 26 例, Ⅳ 期 15 例; 中分化 21 例, 中低分化 19 例, 低分化 29 例。患者年龄、脉管、神经侵犯与患者总生存期有关。老年患者 (>65 岁) 中位生存期为 12.1 个月, 而年轻患者为 18.2 个月 ($P=0.027$)。脉管侵犯患者中位总生存期为 12.7 个月, 而无脉管侵犯患者中位总生存期为 21.7 个月 ($P=0.047$)。神经侵犯患者中位总生存期为 12.6 个月, 无神经侵犯患者中位

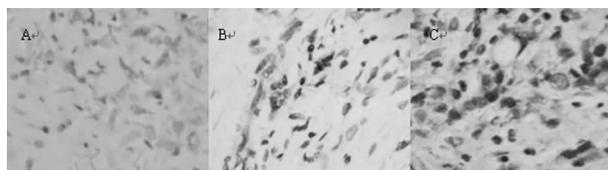
* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81172094, 81000980, 81101751)。 [△] 通讯作者, E-mail: baoruiliu@hotmail.com。

总生存期为 22.1 个月 ($P=0.017$, 表 1)。

表 1 临床病理特点

项目	n	总生存期(个月)			P	
		中位值	min	max		
性别	男	50	13.6	0.57	58.7	0.344
	女	19	13.3	0.60	58.2	
年龄(岁)	≤65	34	18.2	2.13	58.7	0.027
	>65	35	12.1	0.57	58.2	
分期	ⅢA	28	22.8	1.93	58.7	0.058
	ⅢB	26	13.2	0.57	58.2	
	Ⅳ	15	9.7	0.60	39.4	
分化	G2	21	15.2	3.17	58.7	0.220
	G2~3	19	12.5	0.60	39.9	
	G3	29	13.3	0.57	58.2	
脉管浸润	无	17	21.7	4.87	58.7	0.047
	有	52	12.7	0.57	58.2	
神经侵犯	无	18	22.1	4.87	58.7	0.017
	有	51	12.6	0.57	53.5	

2.2 c-Kit 表达情况 c-Kit 表达阳性见图 1。69 例进展期胃癌共有 17 例患者 c-Kit 表达阳性,阳性率为 24.6%。c-Kit 表达与患者性别、年龄、分期、分化及脉管和神经侵犯均无相关性。c-Kit 蛋白表达与 MDR1 ($P=0.049$)和 SSTR2 ($P=0.013$)表达有相关性,MDR1 阳性与 SSTR2 阳性组 c-Kit 阳性率更高。此外,COX2 表达与 c-Kit 表达也具有一定相关性,c-Kit 阳性标本表达 COX2 比例更高,但差异无统计学意义($P=0.052$),见表 2。



注:A 为 c-Kit 阴性;B 为 c-Kit 阳性+;C 为 c-Kit 阳性 2+。

图 1 c-Kit 在胃癌组织中的表达 (IAC×200)

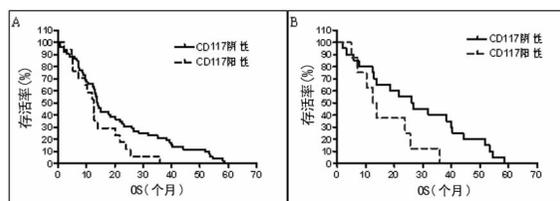
表 2 c-Kit 表达与临床病理参数及其他免疫组化指标关系

项目	c-Kit 阴性	c-Kit 阳性	P	
性别	男	36	14	0.363
	女	16	3	
年龄(岁)	≤65	25	9	0.785
	>65	27	8	
分期	ⅢA	20	8	0.770
	ⅢB	20	5	
	Ⅳ	12	4	
分化	G2	15	6	0.800
	G2~3	14	5	
	G3	23	6	
脉管浸润	无	12	5	0.747
	有	40	12	
神经侵犯	无	14	4	1.000
	有	38	13	
EGFR	-	34	10	1.000
	+	19	7	
PCNA	+	6	2	0.141
	++	19	2	
	+++	27	13	
P53	-	22	4	0.250
	+	30	13	

续表 2 c-Kit 表达与临床病理参数及其他免疫组化指标关系

项目	c-Kit 阴性	c-Kit 阳性	P	
MDR1	-	31	5	0.049
	+	21	12	
SSTR2	-	37	5	0.013
	+	20	12	
COX2	-	16	1	0.052
	+	36	16	

2.3 c-Kit 表达与预后 69 例进展期胃癌患者中位总生存期为 13.5 个月(95% CI 12.22~14.78 个月)。c-Kit 表达阴性患者中位总生存期为 13.8 个月(95% CI 11.8~15.8 个月),c-Kit 表达阳性患者中位总生存期为 12.5 个月(95% CI 9.58~15.42 个月, $P=0.049$)。将ⅢA 期病例分为 c-Kit 阳性组 ($n=20$)和 c-Kit 阴性组 ($n=8$),c-Kit 表达阴性患者中位总生存期为 26.1 个月(95% CI 15.36~36.84 个月),c-Kit 表达阳性患者中位总生存期仅为 12.5 个月(95% CI 7.51~17.49 个月, $P=0.04$)。见图 2。



注:A 为 69 例胃癌患者 c-Kit 阳性组 ($n=17$)与 c-Kit 阴性组 ($n=52$)总生存期比较;B 为ⅢA 期胃癌患者 c-Kit 阳性组 ($n=8$)与 c-Kit 阴性组 ($n=20$)总生存期比较。

图 2 c-Kit 表达水平与总生存期

3 讨论

c-Kit 在间质瘤细胞往往高表达,因此常用于间质瘤细胞的鉴别诊断。文献报道,仅有 6% 肠癌弱表达 c-Kit^[2]。本研究结果显示,胃癌 c-Kit 阳性表达率达 24.6%,但主要以弱阳性为主。显微镜下观察明确 c-Kit 为肿瘤细胞表达,但阳性表达细胞较分散。进一步生存期分析发现,c-Kit 阳性表达组较阴性组生存期短,差异有统计学意义,并且这一差异主要体现在ⅢA 期患者。因此,作者推测胃癌细胞表达 c-Kit 具有一定的功能。分析其他免疫组化指标发现,c-Kit 表达与 MDR1 和 SSTR2 表达显著相关,与 COX2 表达具有相关的趋势。但是,c-Kit 功能是否与 MDR1、SSTR2 及 COX2 蛋白具有相关性,则有待体内实验的进一步验证。

c-Kit 在胃肠道间质瘤等恶性肿瘤中因突变或基因扩增往往处于活化状态,主要作用于 RAS/RAF 及 PI3K 通路,进而激活下游信号,促进细胞增殖^[3]。同时 c-Kit 也具有促进黑色素形成等功能^[4]。因此,在胃肠道间质瘤采用 c-Kit 抑制剂 STI-571 能够有效抑制肿瘤细胞增殖,延长患者生存期^[5-6]。近期报道提示,在 c-Kit 突变或有扩增的恶性黑色素瘤患者采用 STI-571 治疗,也能有效控制肿瘤的进展^[7-8]。本研究结果显示,c-Kit 表达胃癌患者生存期较短,提示了 c-Kit 通路在胃癌进展中可能有生物学功能。然而,在 69 例患者回顾性研究中,胃癌细胞 c-Kit 表达多数为弱阳性或者仅散在少数细胞表达 c-Kit,提示了胃癌细胞的异质性,同时 c-Kit 在胃癌中的增殖促进作用可能较在间质瘤细胞中作用弱。此外,由于 c-Kit 是间质瘤细胞的常用指标,提示可能这部分 c-Kit 阳性表达细胞发生了表皮间质化,因此具有部分肿瘤干细胞特征,从而能够影响胃癌患者生存^[9]。然而,c-Kit 抑制(下转第 2502 页)

- [6] 杨新星,郝友华,宋娜,等. HBV 抗原肽-HLA-A * 2402 复合物四聚体的构建及初步检测应用[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2007,23(10):943-945.
- [7] 陈永良. TCR-多肽-MHC 复合物的相互识别[J]. 国外医学:免疫学分册,1995,18(4):177-180.
- [8] 王洪,周吉军,王宇明. MHC-表位肽四聚体技术在病毒性肝炎研究中的应用[J]. 世界华人消化杂志,2004,12(6):1432-1436.
- [9] 安娟,耿排力. HLA 超型鉴定技术和疾病关系的研究进展[J]. 国际免疫学杂志,2008,31(2):156-158.
- [10] 刘燕明,罗晶. CD4+T 细胞免疫识别的一种新理解[J]. 现代生物医学进展,2007,7(1):1-4.
- [11] 刘燕明,罗晶. T 细胞识别谱与获得性免疫[J]. 现代免疫学,2009,29(3):185-189.
- [12] Reignat S, Webster GJ, Brown D, et al. Escaping high viral load exhaustion: CD8 cells with altered tetramer binding in chronic hepatitis B virus infection[J]. J Exp Med, 2002,195(9):1089-1101.
- [13] Maini MK, Reignat S, Boni C, et al. T cell receptor usage of virus-specific CD8 cells and recognition of viral mutations during acute and persistent hepatitis B virus infection[J]. Eur J Immunol, 2000,30(11):3067-3078.
- [14] Das A, Hoare M, Davies N, et al. Functional skewing of the global CD8 T cell population in chronic hepatitis B virus infection[J]. J Exp Med, 2008,205(9):2111-2124.
- [15] Yoshimura A, Muto G. TGF- β function in immune suppression[J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2011, 350: 127-147.
- [16] Mueller SN, Ahmed R. High antigen levels are the cause of T cell exhaustion during chronic viral infection[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009,106(21):8623-8628.
- [17] Schurich A, Khanna P, Lopes AR, et al. Role of the coinhibitory receptor cytotoxic T lymphocyte antigen-4 on apoptosis-Prone CD8 T cells in persistent hepatitis B virus infection[J]. Hepatology, 2011,53(5):1494-1503.
- [18] Lopes AR, Kellam P, Das A, et al. Bim-mediated deletion of antigen-specific CD8 T cells in patients unable to control HBV infection[J]. J Clin Invest, 2008,118(5):1835-1845.
- [19] Kutscher S, Bauer T, Dembek C, et al. Design of therapeutic vaccines: hepatitis B as an example[J]. Microb Biotechnol, 2012,5(2):270-282.
- [20] 范振平,王福生,徐东平,等. 乙型肝炎患者 HBcAg 特异性细胞毒性 T 细胞的检测及其与临床疾病状态的关系[J]. 中华医学杂志,2004,84(24):2073-2076.
- [21] Carey I, D'antiga L, Bansal S, et al. Immune and viral profile from tolerance to hepatitis B surface antigen clearance: a longitudinal study of vertically hepatitis B virus-infected children on combined therapy[J]. J Virol, 2011, 85(5):2416-2428.
- [22] Bertoletti A, Ferrari C. Republished: innate and adaptive immune responses in chronic hepatitis B virus infections: towards restoration of immune control of viral infection[J]. Gut, 2013,89(1051):294-304.
- [23] Maini MK, Boni C, Ogg GS, et al. Direct ex vivo analysis of hepatitis B virus-specific CD8(+) T cells associated with the control of infection[J]. Gastroenterology, 1999, 117(6):1386-1396.
- [24] Maini MK, Boni C, Lee CK, et al. The role of virus-specific CD8(+) cells in liver damage and viral control during persistent hepatitis B virus infection[J]. J Exp Med, 2000,191(8):1269-1280.

(收稿日期:2013-04-08 修回日期:2013-05-15)

(上接第 2498 页)

剂 STI-571 能否治疗这部分患者则有待进一步验证。

综上所述, c-Kit 阳性胃癌患者具有较差的预后, 但 c-Kit 的生物学功能及是否能够成为治疗靶点则有待进一步体内外研究。

参考文献

- [1] Went PT, Dirnhofer S, Bundi M, et al. Prevalence of KIT expression in human tumors[J]. J Clin Oncol, 2004, 22(22):4514-4522.
- [2] Singer CF, Hudelist G, Lamm W, et al. Expression of tyrosine kinases in human malignancies as potential targets for kinase-specific inhibitors[J]. Endocr Relat Cancer, 2004, 11(4):861-869.
- [3] Ashman LK. The biology of stem cell factor and its receptor C-kit[J]. Int J Biochem Cell Biol, 1999, 31(10):1037-1051.
- [4] Rivera RS, Nagatsuka H, Gunduz M, et al. C-kit protein expression correlated with activating mutations in KIT gene in oral mucosal melanoma[J]. Virchows Arch, 2008, 452(1):27-32.
- [5] Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD, et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. [J]. N Engl J Med, 2002, 347(7):472-480.
- [6] Verweij J, Casali PG, Zalcberg J, et al. Progression-free survival in gastrointestinal stromal tumors with high-dose imatinib: randomised trial[J]. Lancet, 2004, 364(9440):1127-1134.
- [7] Carvajal RD, Antonescu CR, Wolchok JD, et al. KIT as a therapeutic target in metastatic melanoma[J]. JAMA, 2011, 305(22):2327-2334.
- [8] Guo J, Si L, Kong Y, et al. Phase II, open-label, single-arm trial of imatinib mesylate in patients with metastatic melanoma harboring c-Kit mutation or amplification[J]. J Clin Oncol, 2011, 29(21):2904-2909.
- [9] Gupta PB, Onder TT, Jiang G, et al. Identification of selective inhibitors of Cancer stem cells by high-throughput screening[J]. Cell, 2009, 138(4):645-659.

(收稿日期:2013-02-18 修回日期:2013-05-12)