

# 胃癌组织中 P53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 的表达及与幽门螺杆菌感染的相关性分析

魏 茜<sup>1</sup>, 余树林<sup>1</sup>, 黄宜峰<sup>2</sup>

<sup>1</sup>深圳市龙华区人民医院 病理科, 广东 深圳 518109;

<sup>2</sup>深圳市龙华区人民医院 普外科, 广东 深圳 518109)

**摘要:**[目的]探讨胃癌组织中 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 的表达及与幽门螺杆菌(Hp)感染的关系。[方法]选取 2016 年 2 月~2018 年 5 月收治的 97 例胃癌患者为研究对象,根据 Hp 检查结果分组,Hp 阳性组 81 例,Hp 阴性组 16 例,另选 97 例体检健康者为对照组,对所有受检者胃癌组织中的 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 表达情况进行观察。[结果]胃癌组患者的 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 表达量均明显较对照组高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );Hp 阳性组患者的 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 表达量明显高于 Hp 阴性组患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );Hp 感染密度 3 级患者的 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 表达量明显高于 2 级、1 级患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );经 Perason 相关性分析显示,p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 表达量与胃癌患者的 Hp 感染呈正相关性( $r$  分别为 0.586、0.638、0.612, $P < 0.05$ )。[结论]胃癌组织中的 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 表达量与 Hp 感染呈正相关性。

**关键词:**胃癌;幽门螺旋杆菌感染;p53;IL-1 $\beta$ ;NF- $\kappa$ B

doi:10.3969/j.issn.1671-038X.2019.03.15

中图分类号:R735.2 文献标志码:A

## Analysis of expression of P53, IL-1beta and NF-kappa B in gastric cancer and its correlation with Helicobacter pylori infection

WEI Qian<sup>1</sup>, YU Shu-lin<sup>1</sup>, HUANG Yi-feng<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Department of Pathology, Shenzhen Longhua District People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518109, China;<sup>2</sup>Department of Surgery, Shenzhen Longhua District People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518109, China)

Corresponding author: WEI Qian, E-mail: chx\_120@sina.com

**Abstract:**[Objective]To probe into the expression of p53, IL-1beta and NF-kappa B in gastric cancer and its relationship with Helicobacter pylori (Hp) infection. [Methods]97 cases of patients with gastric cancer treated from February, 2016 to May, 2018 were selected. Patients were divided into 2 groups, including Hp-positive group and Hp-negative group. 81 cases were positive for Hp and 16 cases were negative for Hp. Another 97 cases of healthy persons who underwent the physical examination were selected as control group. Then, the expression of p53, IL-1 $\beta$  and NF-kappa B in gastric cancer of all subjects were observed. [Results]The expression levels of p53, IL-1 $\beta$  and NF-kappa B in gastric cancer group were significantly higher than that in control group ( $P < 0.05$ ). The expression levels of p53, IL-1 $\beta$  and NF-kappa B in the positive group were significantly higher than those in the negative group ( $P < 0.05$ ). The expression levels of p53, IL-1 $\beta$  and NF-kappa B in patients with grade 3 of Hp infection density were significantly higher than those in patients with grade 1 and 2 ( $P < 0.05$ ). Perason correlation analysis showed that the expression of p53, IL-1 $\beta$  and NF-kappa B was positively correlated with Hp infection in gastric cancer patients ( $r$  was 0.586, 0.638 and 0.612, respectively,  $P < 0.05$ ). [Conclusion]The expression levels of p53, IL-1beta and NF-kappa B in gastric cancer tissues are positively correlated with Hp infection.

**Key words:**gastric cancer; helicobacter pylori infection; p53; IL-1 $\beta$ ; NF-kappa B

收稿日期:2018-12-25

作者简介:魏 茜,女,本科,病理技师

通讯作者:魏 茜,E-mail:chx\_120@sina.com

胃癌是发病率与死亡率极高的恶性肿瘤,其发生是多因素、多阶段的过程,通常需要经历慢性浅表性胃炎、萎缩性胃炎、肠上皮化生、上皮内瘤变、胃癌等过程,幽门螺旋杆菌感染(Hp)参与上述过程,是造成胃癌的主要因素之一<sup>[1]</sup>。大量研究表明,癌基因与抑癌基因在肿瘤的发生与发展中有直接影响<sup>[3]</sup>。目前,胃癌发病机制尚未明确,为进一步分析其发病机制,本研究对胃癌患者 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 表达情况进行观察,并对其表达量与 Hp 感染的关系进行分析,现报到如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2016 年 2 月~2018 年 5 月收治的 97 例胃癌患者为研究对象,所有受试者均对本研究知情同意。纳入标准:确诊为胃癌<sup>[3]</sup>;18~80 岁;近期末接受激素、非甾体药物治疗者;依从性好。排除标准:合并肝、肾、心功能严重障碍者;精神疾病;免疫系统疾病;妊娠期、哺乳期女性;失访或依从性低无法配合者。

97 例胃癌患者根据 Hp 检测结果分为 Hp 阳性组 81 例, Hp 阴性组 16 例。Hp 阳性组:男 47 例,女 34 例,年龄 45~77 岁,平均年龄(60.52 $\pm$ 4.18)岁;I~II 期 52 例,III 期 29 例;淋巴结转移 31 例,无淋巴结转移 50 例。Hp 阴性组:男 11 例,女 5 例,年龄 47~79 岁,平均年龄(60.28 $\pm$ 4.11)岁;I~II 期 10 例,III 期 6 例;淋巴结转移 5 例,无淋巴结转移 11 例。另选 97 例体检健康者为对照组,男 51 例,女 46 例,年龄 40~78 岁,平均年龄(60.18 $\pm$ 4.09)岁。3 组受试者一般资料差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),存在可比性。

### 1.2 方法

Hp 检测:快速尿素酶实验:经胃镜活检取得胃黏膜标本,标本取出后置入含尿素酶、酚红指示剂的检测试纸内,置入后 2 min 内,黄色试纸变为樱红色即为 Hp(+),反之为 Hp(-);组织学检查:通过 Giemsa 法染色,1000 倍显微镜下对胃黏膜标本进行观察,标本呈紫色即为 Hp(+),反之则为 Hp(-)。上述两种检测结果均为 Hp(+),则确诊为 Hp 感染。

血清指标检测:所有受试者均于清晨取空腹晨血 5 ml,经 3000 r/min 离心 10 min,取上层血清,IL-1 $\beta$  采用酶联免疫吸附法检测,试剂盒购自上海康郎生物科技有限公司。

p53 检测:免疫组化 S-9 试剂盒购自北京中杉生物技术公司,生物素标记 DAB 显色试剂盒(二抗)由上海宝曼生物科技有限公司提供;鼠人抗 p53

单克隆抗体由上海长岛生物技术有限公司提供,胃黏膜组织经甲醛脱水固定后石蜡包埋,进行组织连续切片,采用免疫组化 SP 法染色。

NF- $\kappa$ B 检测:经胃镜活检取胃黏膜组织,用石蜡包埋组织,检测细胞质和细胞核中 NF- $\kappa$ B 表达。细胞质染色采用兔抗人多克隆抗体(购自美国 Abcam 公司),细胞核染色采用鼠抗人单克隆抗体(针对 p65 细胞核定位序列 NLS,购自英国 Chemicon 公司)。免疫组织化学 SP 法染色的步骤为:先脱蜡,再进行抗原修复,内源性过氧化物酶灭活,加一抗,细胞核染色浓度 1:200,4 $^{\circ}$ C 过夜,细胞质染色浓度 1:800;加二抗,进行 DAB 染色负染、脱水、透明、树脂封入,进行光学显微镜下照相。根据染色的阳性细胞数量进行分布评分:0 分表示无阳性染色细胞,1 分为阳性细胞 $<1/3$ ,2 分为阳性细胞 $1/3\sim 2/3$ ,3 分为阳性细胞 $>2/3$ ;阳性细胞染色程度评分:0 分表示无染色,1 分为中等染色,2 分为强染色。染色分布及染色强度评分相加得最终染色评分。

### 1.3 观察指标

记录胃癌组与对照组的 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 表达情况,比较 Hp 阳性与 Hp 阴性胃癌患者、不同感染密度患者的 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 表达程度。对 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 表达与 Hp 感染的关系进行分析。

### 1.4 统计学处理

本研究数据均录入 SPSS 20.0 软件进行统计学处理,计量资料以  $t$  检验, $\bar{x}\pm s$  表示,计数资料以  $\chi^2$  检验,率(%)表示;采用 Perason 相关性分析对 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 与胃癌患者 Hp 感染的相关性进行检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 胃癌与对照组的 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 表达量比较

胃癌组患者的 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 表达量均明显较对照组高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。

### 2.2 Hp 阳性与 Hp 阴性胃癌患者的 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 比较

Hp 阳性组患者的 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 表达量明显高于 Hp 阴性组患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 2。

### 2.3 不同感染密度的 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 比较

Hp 感染密度 3 级患者的 p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 表达量明显高于 2 级、1 级患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 3。

表 1 胃癌与对照组的 p53、IL-1β、NF-κB 表达量比较

组别	例数	IL-1β/(ng · L <sup>-1</sup> )	p53/(U · ml <sup>-1</sup> )	NF-κB/分
胃癌组	97	154.32 ± 22.63 <sup>1)</sup>	0.42 ± 0.03 <sup>1)</sup>	2.32 ± 0.86 <sup>1)</sup>
对照组	97	25.17 ± 7.16	0.25 ± 0.01	0.42 ± 0.12

与对照组比较,<sup>1)</sup>P < 0.05。

表 2 Hp 阳性与 Hp 阴性胃癌患者的 p53、IL-1β、NF-κB 表达量比较

组别	例数	IL-1β/(ng · L <sup>-1</sup> )	p53/(U · ml <sup>-1</sup> )	NF-κB/分
Hp 阳性组	81	203.69 ± 25.63 <sup>1)</sup>	0.82 ± 0.12 <sup>1)</sup>	3.12 ± 0.92 <sup>1)</sup>
Hp 阴性组	16	102.47 ± 17.16	0.45 ± 0.08	1.03 ± 0.39

与 Hp 阴性组比较,<sup>1)</sup>P < 0.05。

表 3 不同感染密度患者的 p53、IL-1β、NF-κB 表达量比较

感染密度	例数	IL-1β/(ng · L <sup>-1</sup> )	p53/(U · ml <sup>-1</sup> )	NF-κB/分
3 级	39	245.96 ± 29.35 <sup>1)2)</sup>	1.31 ± 0.28 <sup>1)2)</sup>	3.96 ± 0.84 <sup>1)2)</sup>
2 级	30	185.17 ± 21.03 <sup>1)</sup>	0.89 ± 0.11 <sup>1)</sup>	3.03 ± 0.52 <sup>1)</sup>
1 级	12	161.58 ± 18.62 <sup>2)3)</sup>	0.72 ± 0.08 <sup>2)3)</sup>	2.52 ± 0.61 <sup>2)3)</sup>

与 1 级比较,<sup>1)</sup>P < 0.05;与 2 级比较,<sup>2)</sup>P < 0.05;与 3 级比较,<sup>3)</sup>P < 0.05。

## 2.4 相关性分析

经 Perason 相关性分析显示,p53、IL-1β、NF-κB 表达量与胃癌患者的 Hp 感染呈正相关性(*r* 分别为 0.586、0.638、0.612,*P* < 0.05)。

## 3 讨论

胃癌是我国发病率最高的消化道恶性肿瘤之一,由于早期缺乏特异性症状及体征,导致早期检出率较低,多数患者确诊时已经为中晚期,对预后造成严重影响。我国每年胃癌新发病例为 67.9 万,仅次于肺癌,其中死亡率达 60%~80%,近年来,全球范围的胃癌发病率趋于下降,但我国胃癌发病率与死亡率依然处于较高水平<sup>[4]</sup>。目前,胃癌的发病机制尚未明确,多数学者认为与环境因素、年龄、遗传因素、Hp 感染、饮食习惯等因素相关。Hp 感染是引起慢性胃炎、萎缩性胃炎的主要危险因素,而萎缩性胃炎伴高 Hp 感染量患者,还会引发胃黏膜细胞 DNA 变化,是胃癌的前提条件<sup>[5-6]</sup>。由于胃癌尚无特异性诊断与治疗措施,寻找与胃癌密切相关的因子极为重要,可为胃癌的早期防治提供依据。

Hp 为微需氧菌,定植于胃黏膜表面及黏膜层间,可分泌大量尿素酶,损伤胃黏膜屏障。Hp 的空泡毒素基因能使离子通透性发生改变,产生细胞空泡变性,引发胃黏膜损伤、糜烂等<sup>[7]</sup>。有研究表明,Hp 可产生细胞毒性相关基因 A,在胃黏膜产生细胞毒性效应,介导炎性反应及免疫反应<sup>[8]</sup>。Hp 为

胃癌的启动因子,持续感染会诱发慢性胃炎,逐渐进展至萎缩性胃炎、肠上皮化生,最后形成胃癌。有学者研究发现,Hp 感染与胃癌患者预后密切相关,Hp 阳性多见于胃癌 T1~T2 期,而 Hp 阴性多见于胃癌 T3 期,认为 Hp 感染可诱导胃癌发生淋巴结转移<sup>[9]</sup>。本研究显示,胃癌组患者的 Hp 感染率达 83.51%,表明 Hp 感染与胃癌发生、发展有一定关系,与上述研究结果相符。

IL-1 是由活化的单核-巨噬细胞产生,具有生物学特性,可激活炎症细胞,参与机体的多种免疫机制。IL-1 是通过 IL-1β 传导,可促进 B 细胞分化,加速人体的免疫球蛋白分泌,增加因细胞免疫参与所致的组织损伤。已经有研究表明,IL-1β 是胃肠道免疫炎性反应中的强效促炎性细胞因子,有极强的抑酸作用,而 IL-1β 长期处于高水平状态会导致 Hp 大量扩散,长期抑酸也会导致胃黏膜萎缩,进而产生胃癌<sup>[11]</sup>。p53 基因分突变型与野生型两种,突变型所分泌的 p53 蛋白不具正常生物活性,可刺激细胞异常生长,加速细胞增殖,导致凋亡受阻,有较长半衰期,可诱导肿瘤细胞发生与发展;野生型所分泌的 p53 蛋白对机体细胞周期有调节作用,可修复 DNA,半衰期较短。有研究发现,胃癌患者的 Hp 感染率、p53 阳性率高于胃部良性疾病,而 Hp 感染患者的胃黏膜组织中 p53 基因突变率也明显高于 Hp 阴性组织<sup>[11]</sup>。本研究结果显示,胃癌组患者的

IL-1 $\beta$ 及p53表达量均明显高于对照组,而Hp阳性组的IL-1 $\beta$ 及p53表达量也高于Hp阴性组,Hp感染密度越高,IL-1 $\beta$ 及p53表达量越高,与上述研究结果相符。

Hp感染后,会损伤内皮细胞,诱发癌症发生,而NF- $\kappa$ B参与内皮细胞损伤<sup>[12]</sup>。NF- $\kappa$ B是一种可与免疫球蛋白 $\kappa$ 轻链基因增强子 $\kappa$ B序列特异性结合,也能对转录活性核蛋白因子进行调节的因子,其活化形式为NF- $\kappa$ Bp65。NF- $\kappa$ B所调控的基因在肿瘤发生、发展中均有参与,也会促进癌细胞转移<sup>[13]</sup>。已经有研究发现,NF- $\kappa$ B异常状态与癌细胞生成、凋亡相关<sup>[14]</sup>。Hp感染后,可通过NF- $\kappa$ B信号通路调节细胞基因转录、信号传导,最终导致胃癌发生。本研究显示,胃癌组患者的NF- $\kappa$ B表达明显高于对照组,且Hp阳性组的NF- $\kappa$ B表达量高于Hp阴性组,Hp感染密切越高,NF- $\kappa$ B表达量越高,与上述研究结果相符。本研究经Pearson相关性分析显示,p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B表达量与胃癌患者Hp感染呈正相关性。由上可说明Hp感染导致胃癌发生的机制可能是促进p53突变,导致DNA修复基因失活;而Hp感染会诱发炎症反应,激活IL-1 $\beta$ ,导致受损胃黏膜细胞无法得到及时修复,不断过度增殖而引发恶性肿瘤;NF- $\kappa$ B信号通路异常激活可促进Hp感染发生,参与胃癌侵袭与转移过程。

综合上述,p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B表达与胃癌Hp感染呈正相关性,均参与胃癌发生和发展,推测是Hp感染引起胃部炎性反应及抑癌基因失活,进而形成胃癌。因此,对Hp感染患者p53、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B表达进行调控,可能是防治胃癌新方向。

#### 参考文献

- [1] 路敏敏,刘京运,金世禄,等.胃癌及癌前病变黏膜组织中环氧酶-2、p53的表达及其与幽门螺杆菌感染的相关性[J].川北医学院学报,2016,31(3):410-412.
- [2] 程智勇,杨雁鸿,李桃,等. Tip30和p53蛋白在胃癌组织中的表达及其临床意义[J]. 疑难病杂志,2016,15(8):813-816.
- [3] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 胃癌规范化诊疗指南(试行)[J]. 慢性病学杂志,2013,5(10):47-51.
- [4] Wei LM, Cao S, Yu WD, et al. Overexpression of CX3CR1 is associated with cellular metastasis, proliferation and survival in gastric cancer[J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(2):615-24.
- [5] 牟海军,陈小燕,化伟利,等. 胃癌患者幽门螺杆菌的感染与预后的关系[J]. 中华医院感染学杂志,2016,26(16):3643-3644,3647.
- [6] Cho YS, Chung IK, Kim JH, et al. Risk factors of developing interval early gastric cancer after negative endoscopy[J]. *Digest Dis Sci*, 2015, 60(4):936-43.
- [7] 尚颖,赵立元,陆景坤,等. 炎性细胞因子与胃癌的关系[J]. 中国药科大学学报,2015,46(1):123-128.
- [8] 帕提玛·阿布力米提,节阳华,谢新梅,等. 幽门螺杆菌感染与胃癌发生及预后的相关性研究[J]. 成都医学院学报,2016,11(5):546-549.
- [9] 陈晓兵. 胃癌患者幽门螺杆菌感染情况与肿瘤恶性程度的相关性研究[J]. 海南医学院学报,2017,23(4):475-477,481.
- [10] 陈俊利,温莹,常虹,等. IL-1B和IL-1RN基因多态性与非贲门胃癌发病风险的研究[J]. 现代预防医学,2016,43(2):342-345.
- [11] 高永庆,邓玉林,徐长青,等. IL-1 $\beta$ 、IL-6、p53与胃癌组织幽门螺杆菌感染的相关性分析[J]. 标记免疫分析与临床,2018,25(5):665-668.
- [12] 李彦,马欢,李媛,等. NF- $\kappa$ B与IL-8在幽门螺杆菌相关性胃癌组织中的表达及意义[J]. 实用医学杂志,2016,32(4):583-585.
- [13] 赵煜,曾杰银. NF- $\kappa$ B在胃癌组织中的表达与临床病理的相关性研究[J]. 中国医药导报,2015,12(29):70-73.
- [14] 沈书旭. 幽门螺杆菌通过NF- $\kappa$ B信号通路调控胃上皮细胞自噬及凋亡的机制研究[J]. 安徽医药,2018,22(6):1058-1063.