

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.17.023

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200428.1648.021.html\(2020-04-29\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200428.1648.021.html(2020-04-29))GSK3 β 在贲门腺癌中的表达及临床意义*李硕果,孔国强,高社干 Δ

(河南科技大学第一附属医院肿瘤内六科,河南洛阳 471003)

[摘要] **目的** 检测原合成酶激酶-3 β (GSK3 β)在贲门腺癌(GCA)中的表达,分析其与临床病理及预后的关系。**方法** 采用免疫组织化学 SP 法检测 57 例 GCA 及癌旁组织中 GSK3 β 的表达;Cox 多元回归分析其与 GCA 临床病理特征及预后的关系。**结果** GSK3 β 在 GCA 及癌旁组织中的阳性表达率分别为 63.1%、31.6%,两者比较差异有统计学意义($P=0.000$)。GSK3 β 阳性表达与分化程度、淋巴结转移有关,差异有统计学意义($P=0.018,0.036$)。GSK3 β 阳性组和阴性组 76 个月生存率分别为 41.7%和 59.1%,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** GSK3 β 在 GCA 中高表达,与 GCA 预后有关,它可能是 GCA 的生物标志物之一。

[关键词] 腺癌;贲门;糖原合成酶激酶 3 β ;免疫组织化学**[中图法分类号]** R735.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2020)17-2882-03

The expression and clinical significance of GSK-3 β in gastric cardia adenocarcinoma*

LI Shuoguo, KONG Guoqiang, GAO Shegan Δ

(Sixth Department of Oncology, First Affiliated Hospital, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003, China)

[Abstract] **Objective** To detect the expression of prosynthase kinase-3 β (GSK3 β) in cardiac adenocarcinoma (GCA) and analyze its relationship with clinicopathology and prognosis. **Methods** Immunohistochemical SP method was used to detect the expression of GSK3 β in 57 cases of GCA and adjacent tissues. COX multiple regression analysis was used to analyze the relationship between GSK3 β and clinical pathological characteristics and prognosis of GCA. **Results** The positive expression rates of GSK3 β in GCA and adjacent tissues were 63.1% and 31.6%, respectively, the difference was statistically significant ($P=0.000$). The positive expression of GSK3 β was related to the degree of differentiation and lymph node metastasis, and the difference was statistically significant ($P=0.018,0.036$). The 76-month survival rates of the GSK3 β positive group and the negative group were 41.7% and 59.1%, respectively, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The high expression of GSK3 β in GCA is related to the prognosis of GCA. It may be one of the biomarkers of GCA.

[Key words] adenocarcinoma; cardia; glycogen synthase kinase 3 beta; immunohistochemistry

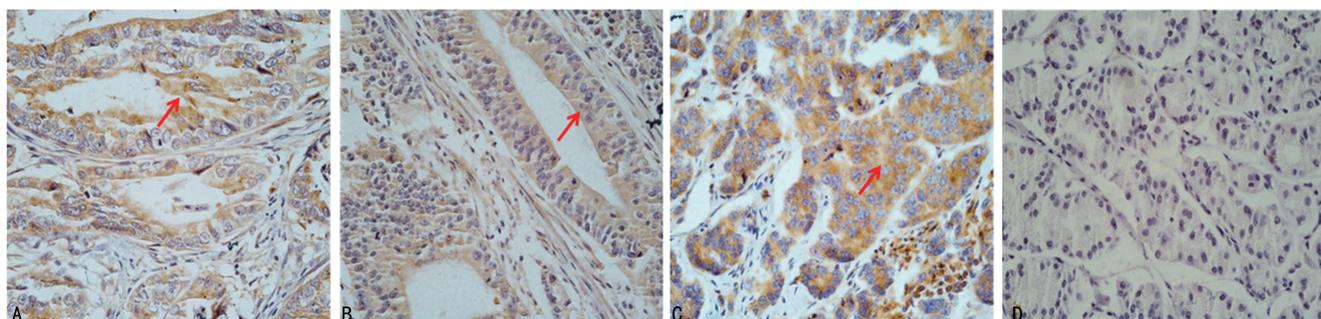
糖原合成酶激酶-3(GSK3)是一种有活性的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,主要有两种亚型,GSK3 α 和GSK3 β ^[1]。有关研究表明 GSK3 β 能够影响多种细胞内信号通路,可能涉及肿瘤的发生发展过程。已有研究表明 GSK3 β 在不同的癌症类型中有双重作用,在一些肿瘤中 GSK3 β 可促进肿瘤的发展,例如骨髓瘤、胰腺癌、结直肠癌;在另一些癌症中可抑制肿瘤的发展,例如肺癌、乳腺癌、口腔癌等^[2]。然而大多数研究表明 GSK3 β 在肿瘤中过表达,而磷酸化失活后表达

降低^[3]。丁矢等^[4]报道 GSK3 β 在胃癌组织中的阳性表达率明显低于正常胃组织和癌旁组织。贲门腺癌(gastric cardia adenocarcinoma,GCA)作为消化道常见的恶性肿瘤之一,近年来发病率有明显上升趋势^[5]。由于其发病部位特殊,位于食管、胃结合部,难以早期发现,临床治疗效果不佳,中晚期患者 5 年生存率低,病死率高。GSK3 β 在 GCA 中的表达暂少见报道,因此了解 GSK3 β 在 GCA 发生发展中的作用是必要的,本研究旨在检测糖原合成酶激酶-3 β (GSK3 β)在

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81972571)。

作者简介:李硕果(1987-),住院医师,硕士,主要从事消化道肿瘤研究。 Δ 通信

作者,E-mail:gsg112258@163.com。



A: 高分化 GCA; B: 中分化 GCA; C: 低分化 GCA; D: 癌旁组织

图 1 GSK3β 的阳性表达 (免疫组织化学, ×200)

GCA 中的表达, 分析其与临床病理及预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择本院 2013—2018 年接受手术治疗的 GCA 患者 57 例, 患者术前均未进行放化疗。对手术切除标本依次选取癌组织、相应癌旁组织 (距离癌组织 5 cm 以上), 4 μm 厚连续切片, 进行免疫组织化学染色。本研究经本院伦理委员会批准, 并取得患者书面知情同意。

1.2 试剂和方法

SP 超敏免疫组织化学试剂盒购于福州迈新公司, 免疫组织化学步骤如下: 固定组织经石蜡包埋、切片, 于 60 °C 溶蜡 1 h 后, 经二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化、柠檬酸液修复抗原, 利用免疫组织化学 SP 超敏试剂盒检测 GSK3β 蛋白。滴加 GSK3β 兔单克隆抗体 (1 : 200) 室温孵育 (兔抗人 GSK3β 单克隆抗体购自德国 CST 公司)。DAB 显色、苏木素复染、梯度乙醇脱水、二甲苯透明、中性树胶封片。

1.3 结果评估

每个组织切片由两名资深的病理学专家评估。结果判定: 按阳性细胞百分率评分: 阳性细胞占 0~<5% 为 0 分, 5%~<25% 为 1 分, 25%~<75% 为 2 分, ≥75% 为 3 分; 按细胞质或细胞核着色程度评分: 未着色为 0 分, 浅黄色着色为 1 分, 棕黄色着色为 2 分, 棕褐色着色为 3 分。将两项得分相乘, <2 分判为阴性(-), ≥2 分为阳性(+)

1.4 统计学处理

采用 SPSS19.0 软件进行数据分析, 计数资料采用 χ^2 检验, 随访 76 个月, 以死亡为终点事件, 生存分析采用 Kaplan-Meier 法并用 log-rank 检验, 生存状态影响因素分析采用 COX 回归模型。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GSK3β 在 GCA 中的表达及与临床病理的关系

GSK3β 表达主要定位于细胞质, 部分细胞核亦可见着色 (图 1)。GSK3β 在 GCA 组织与癌旁组织中均可见阳性表达, 但与癌旁组织 [11 例 (19.3%)] 相比, GCA 组织 [36 例 (63.2%)] 中阳性表达率显著升高,

两者比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 22.626, P = 0.000$), 且随着分化程度降低, 阳性表达率逐渐升高。GSK3β 阳性表达与肿瘤分化程度及是否淋巴结转移有关 ($P = 0.018, 0.036$)。其表达与肿瘤浸润深度、年龄、性别无明显相关性 ($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 GSK3β 在 GCA 中的表达及与临床病理的关系 [n (%)]

项目	n	GSK3β 表达		χ^2	P
		阳性	阴性		
性别				0.235	0.628
男	50	31 (62.0)	19 (38.0)		
女	7	5 (71.4)	2 (28.6)		
年龄				0.339	0.560
≤60 岁	19	11 (57.9)	8 (42.1)		
>60 岁	38	25 (65.8)	13 (34.2)		
分化程度				8.009	0.018
高分化	7	5 (71.4)	2 (28.6)		
中分化	27	12 (44.4)	15 (55.6)		
低分化	23	19 (82.6)	4 (17.4)		
淋巴结转移				4.414	0.036
是	44	31 (70.5)	13 (29.5)		
否	13	5 (38.5)	8 (61.5)		
浸润深度				0.435	0.510
未累及深肌层	11	6 (54.5)	5 (45.5)		
累及深肌层	46	30 (65.2)	16 (34.8)		

2.2 GSK3β 表达对 GCA 患者预后的影响

根据染色情况, 将 GSK3β 的表达归为两组: 阴性表达组和阳性表达组, 分析 GSK3β 的表达与预后之间的关系, 结果显示 GSK3β 阳性表达组和阴性表达组 76 个月生存率分别为 41.7% 和 59.1%, GSK3β 阳性表达组和阴性表达组的中位总生存期 (OS) 分别为 33 个月和 57 个月, 两者比较差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。Kaplan-Meier 生存分析表明 GSK3β 阳性表达组患者与阴性表达组患者相比预后不良 ($P = 0.038$), 见图 2。

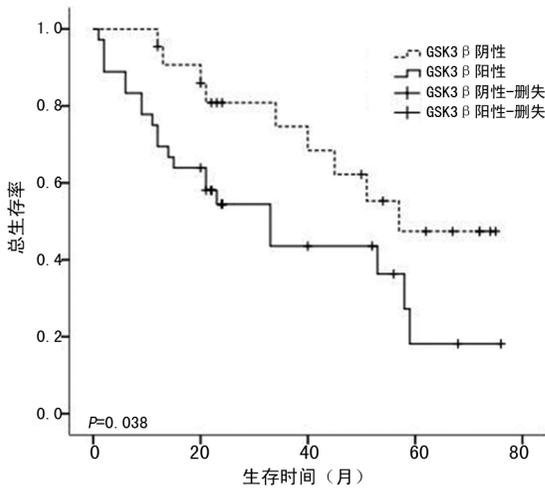


图 2 GCA 中 GSK3 β 表达水平与患者预后的关系

3 讨 论

GCA 是中国常见消化道肿瘤之一,多数患者就诊时已至中晚期,且易复发和转移,5 年总生存率低^[5]。因此,阐明 GCA 病因学并深入理解其发生发展的分子机制,对降低 GCA 发病率及分子靶向治疗十分必要。

GSK3 β 最初被认为是一种调控糖原代谢的一种激酶,越来越多的证据表明它在细胞进程中扮演重要作用,包括增殖、分化、炎症、运动和生存性,它被各种转录因子调控。转录因子活性或表达的改变在肿瘤形成的不同阶段起不同的作用。研究表明,GSK3 β 在肿瘤发生发展中起关键作用,参与肿瘤细胞的生长、增殖、转移及凋亡过程,还与肿瘤的化疗耐药相关,被视为肿瘤治疗的一个重要靶点^[6]。目前关于 GSK3 β 在不同肿瘤中的作用报道不一^[7],许多研究证实 GSK3 β 在非小细胞肺癌^[7]、乳腺癌^[8]、口腔癌^[9] 等肿瘤中低表达,在胰腺癌^[10]、胃癌^[11]、结直肠癌^[12]、黑色素瘤^[13]、卵巢癌^[14]、前列腺癌^[15] 等恶性肿瘤中高表达。国内有关学者采用免疫组织化学发现,GSK3 β 在胃癌组织中表达的阳性率明显低于正常胃黏膜组织,提示了 GSK3 β 表达降低可能对胃癌细胞增殖起促进作用;同时还发现 GSK3 β 在胃癌中的表达与有无淋巴结转移、TNM 分期及分化程度密切相关,而且 GSK3 β 高表达的胃癌患者生存时间较长^[4]。然而,也有研究表明 GSK3 β 在各种胃肠道肿瘤中具有不同的病理特征,与非肿瘤细胞和组织相比,GSK3 β 在肿瘤细胞和组织中的表达与活性升高^[13,15]。本研究结果表明,与癌旁组织比较,GSK3 β 在 GCA 中的表达明显升高,GSK3 β 在 57 例 GCA 组织、癌旁组织中的阳性表达率分别为 63.2%、19.3%,两者比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。并且在 GCA 患者中 GSK3 β 阳性表达与肿瘤分化程度及是否淋巴结转移有关($P = 0.018, 0.036$)。同时 GSK3 β 阳性表达组与阴性表达组相比 76 个月生存率明显降低,两者比较差异

有统计学意义($P < 0.05$)。

总之,GSK3 β 在 GCA 组织中表达增高,提示它与 GCA 的关系密切,其在 GCA 的发生发展中具有促进作用,可以考虑将其基因表达作为预后指标应用于临床,并为 GCA 的基因治疗提供新的途径。本研究病例数较少,如能对大宗病例进行多中心、多水平的联合检测,将会进一步提高其对临床预后判断的准确性,更好地指导临床,同时其具体分子生物学作用机制尚需进一步研究。

参考文献

- [1] GOZDZ A, NIKOLAIENKO O, URBANSKA M, et al. GSK3 α and GSK3 β phosphorylate arc and regulate its degradation [J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 16(10):192.
- [2] GAO S, LI S, DUAN X, et al. Inhibition of glycogen synthase kinase 3 beta (GSK3) suppresses the progression of esophageal squamous cell carcinoma by modifying STAT3 activity [J]. *Mol Carcinogen*, 2017, 56(10):2301-2316.
- [3] 杨娇, 杨勇. 糖原合成酶激酶-3 β 对不同肿瘤作用机制 [J]. *医药导报*, 2018, 37(3):273-278.
- [4] 丁矢, 郭玉凤, 杜维. GSK3 β 和 CyclinD1 在胃癌组织中的表达及临床意义 [J]. *肿瘤学杂志*, 2015, 39(7):577-580.
- [5] GUO W, LV P, LIU S, et al. Aberrant methylation-mediated downregulation of long noncoding RNA C5orf66-AS1 promotes the development of gastric cardia adenocarcinoma [J]. *Molecul Carcinogen*, 2018, 57(7):854-865.
- [6] 苏杭, 胡冰. 恶性腹腔积液的靶向治疗进展 [J]. *医药导报*, 2016, 35(5):496-500.
- [7] WANG H, KUMAR A, LAMONT R J, et al. GSK3beta and the control of infectious bacterial diseases [J]. *Trends Microbiol*, 2014, 22(4):208-217.
- [8] O'FLAHERTY L, SHNYDER S, COOPER P, et al. Tumor growth suppression using a combination of taxol-based therapy and GSK3 inhibition in non-small cell lung cancer. [J]. *PLoS One*, 2019, 14(4):e0214610.
- [9] SHAO J, TENG Y, PADIA R, et al. COP1 and GSK3beta cooperate to promote c-Jun degradation and inhibit breast cancer cell tumorigenesis [J]. *Neoplasia*, 2013, 15(9):1075-1085.
- [10] LEE C J, LEE M H, LEE J Y, et al. RSK2-induced stress tolerance enhances cell(下转第 2888 页)

- diagnosis of lung cancer: a perspective from members of the pulmonary pathology society [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2018, 142(2): 253-262.
- [6] YANG F, LIU E, SUN S. Rapid on-site evaluation (ROSE) with EUS-FNA: the ROSE looks beautiful[J]. *Endosc Ultrasound*, 2019, 8(5): 283-287.
- [7] MINAMI D, TAKIGAWA N, INOUE H, et al. Rapid on-site evaluation with BIOEVALUATOR ((R)) during endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for diagnosing pulmonary and mediastinal diseases[J]. *Ann Thorac Med*, 2014, 9(1): 14-17.
- [8] PORFYRIDIS I, GEORGIADIS G, MICHAEL M, et al. Rapid on-site evaluation with the hemacolor rapid staining method of medical thoracoscopy biopsy specimens for the management of pleural disease[J]. *Respirology*, 2016, 21: 1106-1112.
- [9] NORGE V, ROSEANN W, STUTI S, et al. Cytology and histology: Complementary diagnostic modalities during endoscopic ultrasound-guided tissue acquisition[J]. *Techniques in Gastrointestinal Endoscopy*, 2018, 20(1): 10-14.
- [10] 冯靖. 介入呼吸病学的快速现场评价[J]. *现代实用医学*, 2016, 29(1): 5-7.
- [11] 王伟, 于力克, 徐春华. C-ROSE 技术在诊断性介入呼吸病学中的应用[J]. *临床肺科杂志*, 2017, 22(12): 2294-2298.
- [12] CAUPENA C, ESTEBAN L, JAEN A, et al. Concordance between rapid on-site evaluation and final cytologic diagnosis in patients undergoing endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for non-small cell lung cancer staging [J]. *Am J Clin Pathol*, 2020, 153(2): 190-197.
- [13] 冯靖, 沈华浩, 李雯, 等. 诊断性介入肺脏病学快速现场评价临床实施指南[J]. *天津医药*, 2017, 45(4): 337-344.
- [14] BONIFAZI M, SEDIARI M, FERRETTI M, et al. The role of the pulmonologist in rapid on-site cytologic evaluation of trans bronchial needle aspiration: a prospective study [J]. *Chest J*, 2014, 145(1): 60-65.
- [15] VAN P, CAHEN L, POLEY J, et al. Mapping international practice patterns in EUS-guided tissue sampling: outcome of a global survey [J]. *Endosc Int Open*, 2016, 4(3): E360-370.
- (收稿日期: 2020-04-03 修回日期: 2020-05-13)
-
- (上接第 2884 页)
- survival signals mediated by inhibition of GSK3beta activity [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 440(1): 112-118.
- [11] TONG X, ZHAO J, ZHANG Y, et al. Expression levels of MRP1, GST- π , and GSK3 β in ovarian cancer and the relationship with drug resistance and prognosis of patients [J]. *Oncology letters*, 2019, 18(1): 22-28.
- [12] LI Y, XIN L, HAIBIN L, et al. Rab11a sustains GSK3 β /Wnt/ β -catenin signaling to enhance cancer progression in pancreatic cancer [J]. *Tumor Biology*, 2016, 37(10): 13821-13829.
- [13] HAO X, WEN J, YA D, et al. Glycogen synthase kinase-3 beta regulates Snail and β -catenin expression during Fas-induced epithelial-mesenchymal transition in gastrointestinal cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(12): 2734-2746.
- [14] EICHENAUER T, HUSSEIN M, HUBE-MAGG C, et al. A nuclear shift of GSK3 β protein is an independent prognostic factor in prostate cancer [J]. *Oncotarget*, 2019, 10(18): 1729-1744.
- [15] MARTÍNEZ-M, MARTÍN-R, MARTÍN P, et al. CB2 cannabinoid receptor activation promotes colon cancer progression via AKT/GSK3 β signaling pathway [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(42): 68781-68791.
- (收稿日期: 2020-04-05 修回日期: 2020-05-27)