

结直肠癌组织中转化生长因子 β 表达的意义

应月强, 曹晓智, 伍先久, 李希麟

应月强, 伍先久, 李希麟, 皖南医学院附属二院外科 安徽省芜湖市 241000
曹晓智, 皖南医学院附属二院病理科 安徽省芜湖市 241000
安徽省教育厅自然科学基金资助, No. 2001kj251
项目负责人: 应月强, 241000, 安徽省芜湖市, 皖南医学院附属二院外科.
yingyq55@163.com
电话: 0553-2871921
收稿日期: 2004-04-28 接受日期: 2004-06-17

摘要

目的: 探讨结直肠癌组织中转化生长因子(Transforming growth factor, TGF)- β 1, 2 和 3 的表达及其与临床生物学行为的关系。

方法: 采用免疫组织化学技术SP法检测67例结直肠癌组织和10例正常黏膜中TGF- β 1, 2 和 3 的表达。

结果: TGF- β 1和TGF- β 2在结直肠癌组织中的表达明显高于正常黏膜($P<0.05$); 结直肠癌中TGF- β 1的表达与肿瘤的浸润深度、淋巴结转移和Dukes分期呈正相关($P<0.05$), TGF- β 2仅与肿瘤的Dukes分期有关($P<0.05$), 而与肿瘤的浸润深度和淋巴结转移无关($P>0.05$), TGF- β 3与肿瘤的浸润深度、淋巴结转移和Dukes分期无相关性($P>0.05$)。

结论: TGF- β 1和TGF- β 2可能在结直肠癌的发生中起着重要作用, 可反映为结直肠癌的临床生物学行为。

应月强, 曹晓智, 伍先久, 李希麟. 结直肠癌组织中转化生长因子 β 表达的意义. 世界华人消化杂志 2004; 12(9):2184-2185

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2184.asp>

0 引言

转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)是一类多功能地调节细胞生长、分化的细胞因子, 通过自分泌或旁分泌方式与细胞膜受体结合, 对多种细胞发挥调控作用。哺乳动物的TGF- β s有TGF- β 1, TGF- β 2和TGF- β 3三种亚型。近年来研究表明, 许多恶性肿瘤中均存在TGF- β s三个亚型表达的异常。我们采用免疫组织化学技术SP法检测三种亚型在结直肠癌组织及其正常组织中的表达情况, 旨在探讨他们在结直肠癌发生中的作用及其与临床生物学行为的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 1999-05/2003-05手术切除的大肠癌标本67例; 直肠癌38例, 结肠癌29例; 年龄27-81(平均 50.2 ± 14.3)岁; 男39例, 女28例; 术前均未化疗或放疗。组织学类型按全国大肠癌协作组标准: 高分化癌(乳头状腺癌、管状腺癌Ⅰ级)22例, 中分化癌(管状腺癌Ⅱ级、黏液腺癌)31例, 低分化癌(管状腺癌Ⅲ级、印戒细胞癌和未分化癌)14例; Dukes A期17例, B期16例, C期

26例, D期8例。

1.2 方法 癌组织和正常黏膜(距肿瘤 >5 cm)各用40 g/L中性甲醛固定, 石蜡包埋, 作4 μ m厚的连续切片5张, 分别做HE染色和免疫组化染色。免疫组化采用SP法, 主要实验步骤如下: 切片常规脱蜡水化后, 用30 mL/L过氧化氢去除内源性过氧化物酶, 微波抗原修复(250 W, 20 min), 室温下冷却, 余步骤按试剂盒的操作步骤进行, DAB显色, 苏木精复染。以已知阳性切片作阳性对照, 以PBS代替一抗作阴性对照。鼠抗人TGF- β 1, TGF- β 2和TGF- β 3mAb均为SantaCruz公司产品, 工作浓度均为1:50, 分别购于北京中山生物技术开发公司和武汉博士德生物技术开发公司。TGF- β 1, 2, 3主要均表达于细胞质中, 少数为细胞质和细胞膜共同着色。结果判断标准采用由Rammele和Stegner提出的免疫反应积分法^[1]: IRS=SI(染色强度)×PP(阳性细胞百分比)。SI分为: 阴性0分, 弱阳性1分, 中等阳性2分, 强阳性3分。PP分为: 阴性为0分, 1-20%为1分, 21-50%为2分, 51-100%为3分。由病理科高年资医师对每例标本随机选择10个视野进行评价, 计算IRS平均值。

统计学处理: IRS以均数 \pm 标准差表示, 应用SPSS软件包对全部资料分析处理, 统计学分析采用 t 检验。

2 结果

TGF- β 1在肿瘤组织中的表达明显高于正常黏膜, 差异有显著意义($P=0.036$)。TGF- β 2在正常黏膜中只表达于柱状细胞的细胞质中, 而隐窝细胞表达阴性, 所有肿瘤标本中细胞均呈不同程度表达(见表1), 肿瘤组织中IRS明显高于正常黏膜($P=0.038$)。TGF- β 3在肿瘤组织中的表达高于正常黏膜, 但差异无显著性意义($P=0.068$)。

表1 大肠癌组织TGF- β 1, TGF- β 2和TGF- β 3的IRS (mean \pm SD)

分组	n	TGF- β 1	TGF- β 2	TGF- β 3
癌组织	67	5.22 \pm 2.45	4.87 \pm 2.56	5.03 \pm 2.54
正常组织	10	3.50 \pm 1.78 ^a	3.10 \pm 1.60 ^a	3.50 \pm 1.43

^a $P<0.05$ vs 癌组织。

随着Dukes分期的增高, 大肠癌组织中TGF- β 1, TGF- β 2和TGF- β 3的IRS呈增高趋势, 其中TGF- β 1和TGF- β 2在C, D期的IRS明显高于A, B期, 差异有显著性($P=0.001$ 和 0.010)。TGF- β 3在A, B期和C, D期的IRS差异无显著性($P=0.445$)。淋巴结转移阳性组TGF- β 1的IRS明显高于淋巴结转移阴性组, 而TGF- β 2和TGF- β 3在淋巴结转移阳性组和阴性组之间差异

无显著性. TGF- β 1在侵及浆膜层及浆膜外者的IRS明显高于仅侵及肌层者($P=0.044$, 见表2), 浸润浆膜层及浆膜外者TGF- β 2和TGF- β 3的IRS虽高于仅浸润肌层者, 但差异无显著性($P=0.134$ 和 0.181).

表2 结直肠癌组织 TGF- β 1, TGF- β 2 和 TGF- β 3 的表达与临床病理参数的关系

临床病理	<i>n</i>	TGF- β 1	TGF- β 2	TGF- β 3
Dukes' 分期				
A+B	34	4.18 \pm 2.19	4.09 \pm 2.01	4.79 \pm 2.44
C+D	33	6.30 \pm 2.26 ^b	5.67 \pm 2.45 ^b	5.27 \pm 2.55
淋巴结				
阴性	40	4.33 \pm 2.45	4.38 \pm 2.55	5.45 \pm 2.51
阳性	27	6.56 \pm 1.78	5.59 \pm 2.44	5.01 \pm 2.63
浸润深度				
肌层	32	4.59 \pm 1.88	4.38 \pm 2.32	4.59 \pm 2.31
浆膜层	35	5.80 \pm 2.68 ^a	5.31 \pm 2.51	5.43 \pm 2.50

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$

3 讨论

TGF- β s 是一个由二硫键连接的二聚体分子, 是由5种分子质量相同的同族异构体组成, 具有高度同源的氨基酸序列. 人体内 TGF- β s 仅发现有 TGF- β 1, TGF- β 2 和 TGF- β 3 三种. TGF- β s 的作用很复杂, 常表现双向作用, 对细胞的增生既可起促进作用又可起抑制作用^[2]. 这取决于细胞的类型与分化状态, TGF- β s 的浓度及其受体等. TGF- β s 与结直肠癌的相关性研究, 目前国内外报道较多的是 TGF- β 1, 而 TGF- β 2 和 TGF- β 3 的研究甚少, 国内还未见相关报道. 本结果显示, 结直肠癌组织中 TGF- β 1 和 TGF- β 2 的 IRS 在癌组织明显高于正常组织, 且阳性表达于细胞质和细胞膜, 提示结直肠癌细胞具有自分泌 TGF- β 1 和 TGF- β 2 的功能并且参与了结直肠癌的发生. 同时还发现, 结直肠癌组织中 TGF- β 1 的 IRS 高于 TGF- β 2, 而 TGF- β 3 在癌组织的 IRS 虽高于正常组织, 但没有明显差异, 提示在结直肠癌的发生过程中, TGF- β 1 的作用最强, 其机制可能是结直肠细胞在癌变过程中其表面 TGF- β 1 受体表达缺失而逃逸了 TGF- β 1 介导的生长抑制作用^[3].

Bellone *et al*^[4]采用了原位杂交和 ELISA 方法研究结直肠癌组织和血清中 TGF- β 1, TGF- β 2 和 TGF- β 3 的 mRNA 和浓度, 结果发现癌组织和血清中 TGF- β 1 的

表达与结直肠癌的临床病理指标密切相关, TGF- β 2 在 DukesB、C 期表达强度虽高于 DukesA 期, 但差异无显著性, TGF- β 3 在癌组织和正常组织中表达无明显差异, TGF- β 3 的表达与临床病理指标无关. 国内王春霞 *et al*^[5]在肺癌的研究结果显示 TGF- β 1 和 TGF- β 2 在癌组织中的表达明显高于正常组织, 有淋巴结转移和 III 期肺癌的表达明显高于 I、II 期肺癌. 程继义 *et al*^[6]研究发现前列腺癌中 TGF- β 1ECM/ 胞质染色指数与临床分期、Gleason 评分和远处转移呈正相关, 而 TGF- β 3 的染色指数与临床分期、Gleason 评分和远处转移无明显相关性. 本文研究结果显示, TGF- β 2 在 C、D 结直肠癌组织中的表达明显高于 A、B 期($P < 0.05$), 但与肿瘤的浸润深度和淋巴结转移无关($P > 0.05$). TGF- β 3 与肿瘤的浸润深度、淋巴结转移和 Dukes 分期无关($P > 0.05$). 表明三种亚型的 TGF- β 不同程度地参与了结直肠癌的恶性进展, 尤其是 TGF- β 1 与结直肠癌的关系最密切, 故检测结直肠癌组织中 TGF- β 1 的表达对判断肿瘤患者预后具有重要的参考意义. 有研究表明, TGF- β 1 可通过旁分泌途径诱导 VEGF 地表达, 间接地刺激肿瘤血管地形成和促进肿瘤地进展^[7], 因而我们推测由结直肠癌细胞产生 TGF- β 1 可通过刺激原发灶和转移灶中肿瘤血管形成而参与肿瘤的进展.

4 参考文献

- 1 Remmele W, Stegner HE. Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score(IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection(ER-CIA) in breast cancer tissue. *Pathologe* 1987;8:138-140
- 2 Blobe GC, Schiemann WP, Lodish HF. Role of transforming growth factor in human disease. *N Engl J Med* 2000;342:1350-1358
- 3 Grady WM, Myeroff LL, Swinler SE, Rajput A, Thiagalingam S, Lutterbaugh JD, Neumann A, Brattain MG, Chang J, Kim SJ, Kinzler KW, Vogelstein B, Willson JK, Markowitz S. Mutational inactivation of transforming growth factor TGF- β receptor type II in microsatellite stable colon cancers. *Cancer Res* 1999;59: 320-324
- 4 Bellone G, Carbone A, Tibaudi D, Mauri F, Ferrero I, Smirne C, Suman F, Rivetti C, Migliaretti G, Camandona M, Palestro G, Emanuelli G, Rodeck U. Differential expression of transforming growth factors- β 1, - β 2 and - β 3 in human colon carcinoma. *Eur J Cancer* 2001;37:224-233
- 5 王春霞, 王洪云, 李怀臣, 雷茂禄. 转化生长因子 β 在肺癌组织中表达的意义. *山东医科大学学报* 2001;39:119-121
- 6 程继义, 蒋绍博, 王杰, 金讯波, 王法成, 刘士怡. 转化生长因子 β 1 和 β 3 在前列腺癌中的表达及其意义. *中华泌尿外科杂志* 1997; 20:422-424
- 7 Hasegawa Y, Takanashi S, Kanehira Y, Tsushima T, Imai T, Okumura K. Transforming growth factor-beta1 level correlates with angiogenesis, tumor progression, and prognosis in patients with nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 2001;91: 964-971