

胃癌组织中转化生长因子 α 、表皮生长因子受体和增殖细胞核抗原的表达

王春虹, 刘丽娜, 吕 申

■背景资料

肿瘤的发生、发展是一个十分复杂的生物学现象,受到许多复杂因素的影响和制约,其中也包括TGF- α , EGFR, PCNA的表达,目前较多研究认为,TGF- α 过量表达,引起细胞失控性生长,从而形成癌。EGFR阳性表达与胃癌发生有关。PCNA可作为一项评估细胞增殖状态的指标。本研究观察TGF- α , EGFR, PCNA在胃癌组织中的表达,研究三者对胃黏膜上皮细胞增殖的作用及与癌变的关系。

王春虹, 本溪市本钢总医院消化内科 辽宁省本溪市 117000
刘丽娜, 大连医科大学附属一院消化内科 辽宁省大连市 116011
吕申, 大连医科大学附属二院中心实验室 辽宁省大连市 116023
王春虹, 2005年大连医科大学硕士, 副主任医师, 主要从事胃癌病理与临床的研究。
通讯作者: 王春虹, 117000, 辽宁省本溪市, 本溪市本钢总医院消化内科. chunhong1970@126.com
电话: 0414-2215138
收稿日期: 2006-05-31 接受日期: 2006-09-01

Expression of transforming growth factor- α , epidermal growth factor receptor and proliferating cell nuclear antigen in human gastric cancer tissues

Chun-Hong Wang, Li-Na Liu, Shen Lv

Chun-Hong Wang, Department of Gastroenterology, General Hospital, Bengang Iron and Steel Corporation, Benxi 117000, Liaoning Province, China

Li-Na Liu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, Liaoning Province, China

Shen Lv, Center Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116023, Liaoning Province

Correspondence to: Chun-Hong Wang, Department of Gastroenterology, General Hospital, Bengang Iron and Steel Corporation, Benxi 117000, Liaoning Province, China. chunhong1970@126.com

Received: 2006-05-31 Accepted: 2006-09-01

Abstract

AIM: To observe the expression of transforming growth factor- α (TGF- α), epidermal growth factor receptor (EGFR) and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) as well as their correlations in gastric carcinoma.

METHODS: Immunohistochemical staining (SP method) was used to detect the expression of TGF- α , EGFR and PCNA in specimens from 62 gastric carcinoma patients, and the pathological characteristics were comparatively analyzed.

RESULTS: The positive rates of TGF- α , EGFR and PCNA expression in normal gastric mucosa were significantly lower than those in gastric carcinoma ($\chi^2 = 10.090$, $P < 0.05$; $\chi^2 = 4.373$, $P < 0.05$; $\chi^2 = 31.230$, $P < 0.05$), while their positive expression rate were markedly higher in the lowly-differentiated adenocarcinoma and mucosal carcinoma than those in the highly- and moderately-differentiated one ($\chi^2 = 15.290$, $P < 0.05$; $\chi^2 = 7.779$, $P < 0.05$; $\chi^2 = 10.895$, $P < 0.05$). A positive correlation was observed between TGF- α and PCNA expression ($\chi^2 = 5.158$, $P < 0.05$) as well as between EGFR and PCNA expression ($\chi^2 = 5.322$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The expression of TGF- α , EGFR and PCNA play important roles in the carcinogenesis and progression of gastric carcinoma, and they may help to evaluate the prognosis of gastric cancer patients.

Key Words: Transforming growth factor- α ; Epidermal growth factor receptor; proliferating cell nuclear antigen; Gastric carcinoma

Wang CH, Liu LN, Lv S. Expression of transforming growth factor- α , epidermal growth factor receptor and proliferating cell nuclear antigen in human gastric cancer tissues. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2006;14(31):3026-3029

摘要

目的: 观察TGF- α , EGFR, PCNA在胃癌组织中的表达, 研究三者对胃黏膜上皮细胞增殖的作用及与癌变的关系。

方法: 采用免疫组织化学SP法分别检测TGF- α , EGFR, PCNA在正常胃黏膜34例、胃癌62例中的表达, 分析不同病理组织学分型的TGF- α , EGFR, PCNA表达差异。

结果: TGF- α , EGFR, PCNA在正常胃组织阳性表达率均明显低于胃癌组织的阳性表达率($\chi^2 = 10.090$, $P < 0.05$; $\chi^2 = 4.373$, $P < 0.05$; $\chi^2 = 31.230$, $P < 0.05$)。

= 31.230, $P < 0.05$). TGF- α , EGFR, PCNA在胃低分化腺癌阳性表达均明显高于高中分化腺癌($\chi^2 = 15.290$, $P < 0.05$; $\chi^2 = 7.779$, $P < 0.05$; $\chi^2 = 10.895$, $P < 0.05$), 低分化腺癌与黏液癌之间阳性表达无显著性差异($P > 0.05$). 胃癌组织中TGF- α 与PCNA表达呈正相关($\chi^2 = 5.158$, $P < 0.05$). 胃癌组织中EGFR与PCNA表达呈正相关($\chi^2 = 5.322$, $P < 0.05$).

结论: TGF- α , EGFR和PCNA与胃癌发生相关, 可能与胃癌的恶性程度有关, 对判断预后有帮助.

关键词: 转化生长因子 α ; 表皮生长因子受体; 增殖细胞核抗原; 胃癌

王春虹, 刘丽娜, 吕申. 胃癌组织中转化生长因子 α 、表皮生长因子受体和增殖细胞核抗原的表达. 世界华人消化杂志 2006;14(31):3026-3029
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3026.asp>

0 引言

转化生长因子 α (transforming growth factor- α , TGF- α)是作用于上皮细胞的重要生长因子之一, 与表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)结合后可促使细胞增殖和发生转化^[1]; EGFR是原癌基因c-erbB-1的表达产物, 在生理状态下对细胞的生长和分化产生调节作用, 而他的过度表达与细胞的增殖和癌变有关^[2]; 增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)对细胞由G₁期向S期过渡起着重要的调节作用^[3], 是反映细胞增殖活性的良好指标. 本研究应用免疫组化法观察胃癌组织中TGF- α , EGFR, PCNA的表达情况, 从细胞增殖状态的角度探讨三者与胃癌发生、发展的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 2003-12/2004-10经PENTAX-EG2940电子胃镜检查诊断并经病理组织学证实的胃癌患者62例, 男性43例, 女性19例, 年龄36-75岁. 正常对照为经胃镜检查诊断并经病理组织学证实的胃黏膜基本正常患者34例, 男13例, 女21例, 年龄32-67岁. 所有研究对象受检前均未经放化疗等治疗.

1.2 方法 活检标本经40 g/L中性甲醛溶液中固定, 石蜡包埋, 4 μ m连续切片. 采用免疫组化SP法常规步骤操作, 分别进行TGF- α , EGFR, PCNA免疫组化染色, 苏木素复染. TGF- α 主要

表达于细胞质, 阳性结果为细胞质呈棕黄色. 在正常胃黏膜组织中, TGF- α 染色阳性很少, 散在分布. 在胃癌组织中, TGF- α 染色阳性细胞呈广泛分布(图1); EGFR主要表达于细胞膜和细胞质, 阳性结果为细胞膜和细胞质为棕黄色. 在正常胃黏膜中, 该细胞数很少, 颜色浅, 在胃癌组织中, EGFR染色阳性细胞分布广泛(图2); PCNA染色阳性部位主要在细胞核, 呈棕黄色. 在正常胃黏膜中, PCNA阳性细胞很少, 散在分布. 在胃癌组织中, PCNA染色阳性细胞呈广泛分布(图3). 染色结果分级参照Shimizu *et al*^[4]评分方法. 每张切片均观察整体染色情况, 选择5个有代表性的区域, 每区计算200个细胞. 阳性细胞数计分: 阳性数 $\leq 5\%$ 为0; 阳性数 $> 5\%$, 但 $\leq 35\%$ 为1; 阳性数 $> 35\%$, 但 $\leq 70\%$ 为2; 阳性数 $> 70\%$ 为3. 着色强度计分: 不着色为0, 弱着色(呈淡棕黄色)为1, 强着色(呈明显的棕黄色)为2. 阳性分级: 以上两项相加, 1分为(-), 2分为($\pm$), 3分为(+), 4分为(++), 5分为(+++); +-+++计为阳性, -- $\pm$ 计为阴性.

统计学处理 用SPSS 11.5统计软件分析, 计数资料用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性.

2 结果

TGF- α 在正常胃黏膜组织和胃癌组织阳性率分别为32.4%和66.1%, 两者比较有显著性差异($\chi^2 = 10.090$, $P < 0.05$); EGFR在正常胃黏膜和胃癌中阳性率分别为26.5%和48.4%, 两者比较有显著性差异($\chi^2 = 4.373$, $P < 0.05$); PCNA在正常胃黏膜和胃癌组织中阳性率为26.5%和83.9%, 两者比较有显著性差异($\chi^2 = 31.230$, $P < 0.05$). TGF- α 在高中分化腺癌、低分化腺癌和胃黏液癌阳性率分别为26.3%, 82.8%和85.7%, 胃低分化腺癌阳性表达明显高于高中分化腺癌, 二者比较有显著性差异($\chi^2 = 15.290$, $P < 0.05$), 低分化腺癌与黏液癌之间TGF- α 阳性表达无显著性差异($\chi^2 = 0.061$, $P = 0.806$); EGFR在高中分化腺癌、低分化腺癌和胃黏液癌阳性率分别为21.0%, 62.1%和57.1%, 胃低分化腺癌阳性表达明显高于高中分化腺癌, 二者比较有显著性差异($\chi^2 = 7.779$, $P < 0.05$), 低分化腺癌与黏液癌之间EGFR阳性表达无显著性差异($\chi^2 = 0.096$, $P = 0.757$); PCNA在高中分化腺癌、低分化腺癌和胃黏液癌阳性率分别为52.6%, 96.6%和100%, 胃低分化腺癌阳性表达明显高于高中分化腺癌, 二者比较有显著性差异($\chi^2 = 10.895$, $P < 0.05$), 低分化腺癌与黏液癌之间PCNA阳性表达无显著性差异($\chi^2 = 0$,

■ 相关报道

梁复新 *et al*研究认为胃黏膜炎症时, 组织修复、增殖, TGF- α 有过量表达, TGF- α 过量表达又可使其配体EGFR mRNA表达增加, TGF- α 与EGFR结合后, 可形成一种自泌循环, 即细胞本身分泌生物因子, 作用于自身的膜受体, 形成了刺激其自身增殖的环路, 从而引起细胞失控性生长, 从而形成癌; Inada *et al*认为, 分化程度好的胃癌的PCNA表达高于分化差的胃癌. 这些研究均提示TGF- α , EGFR, PCNA与胃癌发生有关, 可能与胃癌的恶性程度有关.

■ 创新盘点

本文观察了TGF- α , EGFR, PCNA在胃癌组织中的表达, 研究三者对胃黏膜上皮细胞增殖的作用及与癌变的关系, 而且探讨了三者在胃癌中表达的相关性, 为临床评估胃癌的恶性程度、判断预后及指导治疗提供了更有价值的指标.

应用要点

本研究从细胞增殖状态的角度探讨胃癌的发生、发展,其结论对于评估胃癌的恶性程度、判断预后及指导治疗有一定的临床意义。

$P = 1.0$). 在62例胃癌中TGF- α 阳性者的PCNA阳性表达显著高于TGF- α 阴性者的PCNA阳性表达,分别为92.7%(38/41)及66.7%(14/21),二者呈正相关($\chi^2 = 5.158, P < 0.05$). 在62例胃癌中EGFR阳性者的PCNA阳性表达显著高于EGFR阴性者的PCNA阳性表达,分别为96.7%(29/30)及71.9%(23/32),二者呈正相关($\chi^2 = 5.322, P < 0.05$).

3 讨论

许多学者认为,细胞增殖和凋亡的平衡维持着组织中细胞总数的相对恒定,细胞增殖失控与肿瘤的发生密切相关,一种组织中细胞增殖易感性决定于多种增殖相关基因表达产物的水平和相互作用^[5]. TGF- α 最早是由Delarco *et al*于1978年从鼠肉瘤病毒转化的3T₃细胞培养液中分离得到,是一种多肽促细胞分裂剂. 他与受体EGFR结合后,激活受体上的酪氨酸激酶,促使细胞内的DNA的合成,致细胞增殖、分化^[6]. 本文用免疫组化方法检测发现,胃癌组织中TGF- α 表达率较正常胃黏膜组织明显增高,表明胃癌发生过程中存在着TGF- α 的变化,可能有TGF- α 参与作用;胃低分化腺癌TGF- α 阳性表达明显高于高中分化腺癌,二者比较有显著性差异;低分化腺癌与黏液癌之间TGF- α 阳性表达无显著性差异,表明TGF- α 阳性表达与胃癌分化程度有关,分化愈低,表达愈高,与某些报道一致. 国内Luan *et al*^[7]通过对癌周正常黏膜、肠化生、不典型增生组织中EGFR蛋白的表达的研究,认为胃黏膜炎症时,组织修复、增殖, TGF- α 有过量表达, TGF- α 过量表达又可使其配体EGFR mRNA表达增加^[8], TGF- α 与EGFR结合后,可形成一种自泌循环,即细胞本身分泌生物因子,作用于自身的膜受体,形成了刺激其自身增殖的环路,从而引起细胞失控性生长,从而形成癌,进一步说明胃癌发生与细胞增殖异常有关^[9].

EGFR是原癌基因c-erbB-1的表达产物,广泛分布于哺乳类动物的细胞膜上. EGFR基因位于7号染色体,成熟的人EGFR是一个由1186个氨基酸搭配组成的单链跨膜糖蛋白, M_r 为 17×10^3 . 其结构分细胞外区、跨膜区和细胞内区三部分,细胞内区有酪氨酸蛋白激酶活性. 当EGF或TGF- α 与EGFR结合后,能引起自身磷酸化和细胞内酪氨酸残基磷酸化、激活酪氨酸激酶,继而触发细胞分裂信号、引起细胞分裂^[10]. EGFR的突变能使他在配体不存在的情况下保持激酶活性而具有致癌潜能^[11]. 本文研究结果发

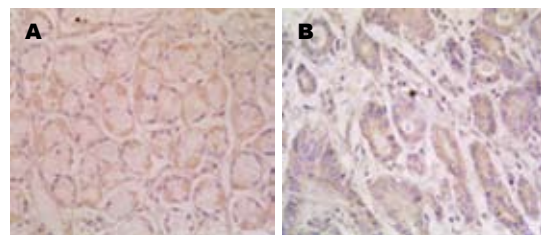


图1 胃黏膜TGF- α 的表达(SP $\times 400$). A: 正常; B: 高分化腺癌.

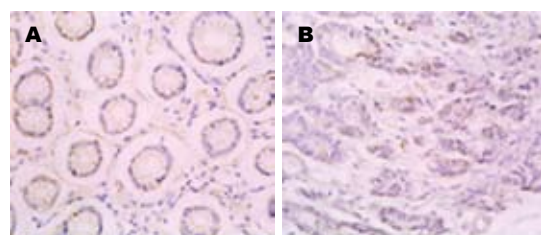


图2 胃黏膜EGFR的表达(SP $\times 400$). A: 正常; B: 中分化腺癌.

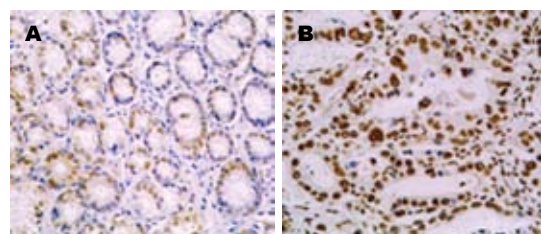


图3 胃黏膜PCNA的表达(SP $\times 400$). A: 正常; B: 高分化腺癌.

现,胃癌组织中EGFR表达率较正常胃黏膜组织明显增高;胃低分化腺癌EGFR阳性表达明显高于高中分化腺癌,二者比较有显著性差异;而低分化腺癌与黏液癌之间EGFR阳性表达无显著性差异,提示EGFR阳性表达不但与胃癌发生有关,而且与胃癌恶性程度有关. Yasui *et al*^[12]报道EGFR代表恶性程度较高的弥漫型胃癌,其阳性率显著高于恶性程度较低的肠型胃癌. 王献松^[13]报道分化差的低分化腺癌或印戒细胞癌比分化好的管状腺癌高,统计学处理均有显著性差异,与本文结果一致.

PCNA是DNA多聚酶的辅助蛋白,存在于细胞核中,在DNA的合成中起重要作用. 肿瘤细胞增殖活跃, DNA复制加速, PCNA表达明显增强,与细胞增殖状态明显相关,是伴随细胞增殖而表达的一种核内蛋白. PCNA可作为一项评估细胞增殖状态的指标. PCNA在增殖细胞中的含量变化有明显的周期性,在G₀期基本无表达, G₁晚期开始增加,至S中期达到高峰, G₂, M期迅速降低^[14],这种变化与细胞内DNA复制的时相变化一致,说明两者间存在着密切联系. 本实验结果

显示, 胃癌组织中PCNA表达率较正常胃黏膜组织明显增高; PCNA表达与胃癌的分化程度显著相关, 低分化胃癌中PCNA表达明显高于高中分化胃癌, 表明癌细胞的生长调节失控, DNA合成加速, 而且肿瘤分化越幼稚, 增殖越活跃, 进一步提示PCNA可能成为反映胃癌恶性程度的参考指标. 有关PCNA与胃癌临床病理特征之间的关系, 目前尚未存在一个统一的结论. Inada *et al*^[15]认为, 分化程度好的胃癌的表达高于分化差的胃癌; 也有人认为分化程度差的胃癌的表达高于分化好的胃癌^[17]; Maeda *et al*^[16]则认为, 两者间无明显关系. 各家研究结果尚存较大差异, 有待于进一步深入研究, 也说明胃癌发生过程中多因子参与及其相互作用的复杂性.

TGF- α 、EGFR分别与PCNA表达存在如下3点一致性: (1)均在正常胃黏膜较低; (2)均在胃癌中增高; (3)均在低分化腺癌中高于中-高分化腺癌, 在黏液腺癌有高于中-高分化腺癌的倾向. 另外, 胃癌中TGF- α 阳性者的PCNA阳性表达显著高于TGF- α 阴性者的PCNA阳性表达; 胃癌中EGFR阳性者的PCNA阳性表达显著高于EGFR阴性者的PCNA阳性表达, 分别呈正相关. 以上结果提示三者的表达与肿瘤的恶性程度相关, 三者的表达增高与胃癌发生、发展关系密切, 三者协同可能使肿瘤细胞获得更大的生长优势.

4 参考文献

- 1 de-Paulsen N, Brychzy A, Fournier MC, Klausner RD, Gnarr JR, Pause A, Lee S. Role of transforming growth factor- α in von Hippel-Lindau (VHL)^{-/-} clear cell renal carcinoma cell proliferation: A possible mechanism coupling VHL tumor suppressor inactivation and tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 1387-1392
- 2 Ghanem MA, Van Der Kwast TH, Den Hollander JC, Sudaryo MK, Mathoera RB, Van den Heuvel MM, Noordzij MA, Nijman RJ, van Steenbrugge GJ. Expression and prognostic value of epidermal growth factor receptor, transforming growth factor- α , and c-erb B-2 in nephroblastoma. *Cancer* 2001; 92: 3120-3129
- 3 Waga S, Hannon GJ, Beach D, Stillman B. The p21 inhibitor of cyclin-dependent kinases controls DNA replication by interaction with PCNA. *Nature* 1994; 369: 574-578
- 4 Shimizu M, Saitoh Y, Itoh H. Immunohistochemical staining of Ha-ras oncogene product in normal, benign, and malignant human pancreatic tissues. *Hum Pathol* 1990; 21: 607-612
- 5 Ishii HH, Gobe GC, Pan W, Yoneyama J, Ebihara Y. Apoptosis and cell proliferation in the development of gastric carcinomas: associations with c-myc and p53 protein expression. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 966-972
- 6 Narita T, Taga T, Sugita K, Nakazawa S, Ohta S. The autocrine loop of epidermal growth factor receptor-epidermal growth factor / transforming growth factor- α in malignant rhabdoid tumor cell lines: heterogeneity of autocrine mechanism in TTC549. *Jpn J Cancer Res* 2001; 92: 269-278
- 7 Luan F, Wang M, You W. The correlation of TGF- α , EGFR in precancerous lesions and carcinoma of stomach with PCNA expression. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 1997; 26: 31-34
- 8 Filipe MI, Osborn M, Linehan J, Sanidas E, Brito MJ, Jankowski J. Expression of transforming growth factor α , epidermal growth factor receptor and epidermal growth factor in precursor lesions to gastric carcinoma. *Br J Cancer* 1995; 71: 30-36
- 9 Jones C, Pritchard-Jones K. MIB-1 and p27Kip1 expression in nephroblastoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 7785-7786
- 10 何双梧. 表皮生长因子及其受体与胃癌的关系. 中国普外基础与临床杂志 1997; 4: 53-55
- 11 Baselga J. Why the epidermal growth factor receptor? The rationale for cancer therapy. *Oncologist* 2002; 7 Suppl 4: 2-8
- 12 Yasui W, Hata J, Yokozaki H, Nakatani H, Ochiai A, Ito H, Tahara E. Interaction between epidermal growth factor and its receptor in progression of human gastric carcinoma. *Int J Cancer* 1988; 41: 211-217
- 13 王献松. 表皮生长因子及其受体在胃癌中的表达. 中国肿瘤 2004; 13: 184-185
- 14 Mathews MB, Bernstein RM, Franza BR Jr, Garrels JI. Identity of the proliferating cell nuclear antigen and cyclin. *Nature* 1984; 309: 374-376
- 15 Inada T, Imura J, Ichikawa A, Ogata Y, Shimamura K. Proliferative activity of gastric cancer assessed by immunostaining for proliferating cell nuclear antigen. *J Surg Oncol* 1993; 54: 146-151; discussion 151-152
- 16 Maeda K, Chung YS, Onoda N, Kato Y, Nitta A, Arimoto Y, Yamada N, Kondo Y, Sowa M. Proliferating cell nuclear antigen labeling index of preoperative biopsy specimens in gastric carcinoma with special reference to prognosis. *Cancer* 1994; 73: 528-533
- 17 戴林, 张学庸, 陈宝军, 王剑波, 张惠中, 樊代明. 增殖细胞核抗原与胃癌淋巴结转移的关系. 第四军医大学学报 1996; 17: 169-171

■同行评价

本文应用免疫组化SPF方法观察了胃癌组织中转化生长因子 α 、表皮生长因子受体和增殖细胞核抗原的表达情况, 从细胞增殖状态角度深入探讨了三者与胃癌发生、发展的内在关系, 有一定的学术价值, 对于评估胃癌恶性程度及预后也有一定的临床意义. 文章内容较新颖, 设计合理, 数据客观可信, 论据充分.

电编 张敏 编辑 潘伯荣