

# 胃癌中肿瘤相关纤维母细胞蛋白表达改变及意义

王立峰, 王瑞芬, 郝兆星, 王正彩

王立峰, 王瑞芬, 王正彩, 哈尔滨医科大学第一临床医学院  
病理科 黑龙江省哈尔滨市 150001

郝兆星, 黑龙江省铁力市人民医院病理科 黑龙江省铁力市  
152500

王立峰, 副教授, 副主任医师, 主要研究病理学.

黑龙江省科技攻关计划项目, No. GB06C40203

黑龙江省教育厅科学技术研究项目, No. 10551205

通讯作者: 王立峰, 150001, 黑龙江省哈尔滨市南岗区邮政街23  
号, 哈尔滨医科大学第一临床医学院病理科. lfwy@public.hr.hl.cn  
电话: 0451-53604114

收稿日期: 2007-03-17 接受日期: 2007-04-13

## Changes in protein expression and significance of tumor-associated fibroblasts in gastric cancer

Li-Feng Wang, Rui-Fen Wang, Zhao-Xing Hao,  
Zheng-Cai Wang

Li-Feng Wang, Rui-Fen Wang, Zheng-Cai Wang, De-  
partment of Pathology, the First Hospital of Harbin Medical  
University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China  
Zhao-Xing Hao, Department of Pathology, the People's Hos-  
pital of Tieli Municipal, Tieli 152500, Heilongjiang Prov-  
ince, China

Supported by: the Key Science and Technology Program  
of Heilongjiang Province, No. GB06C40203 and Project  
in Science and Technology of Department of Education of  
Heilongjiang Province, No. 10551205

Correspondence to: Dr. Li-Feng Wang, Department of  
Pathology, the First Hospital of Harbin Medical University,  
23 Youzheng Street, Nangang District, Harbin 150001, Hei-  
longjiang Province, China. lfwy@public.hr.hl.cn

Received: 2007-03-17 Accepted: 2007-04-13

## Abstract

**AIM:** To study changes in protein expression in  
tumor-associated fibroblasts in gastric cancer  
and their relationship with tumor invasion.

**METHODS:** We used immunohistochemistry to  
detect expression of CD34, smooth muscle actin  
(SMA) and transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 1  
in stromal fibroblasts of 75 gastric cancer and 10  
normal gastric tissues, and analyzed its mecha-  
nism and relationship with clinical characteris-  
tics.

**RESULTS:** There were statistically significant  
differences in expression of CD34, SMA and  
TGF- $\beta$ 1 between gastric cancer and normal gas-

tric tissues (8.0% vs 80.0%,  $\chi^2 = 28.220$ ; 90.7% vs  
30.0%,  $\chi^2 = 19.401$ ; 89.3% vs 30.0%,  $\chi^2 = 17.486$ ;  
 $P < 0.01$ , respectively). Expression of TGF- $\beta$ 1  
and SMA was related to depth of tumor, clinical  
stage and lymph node metastasis (both  $P < 0.05$ ).  
SMA was positively associated with TGF- $\beta$ 1 ( $r =$   
0.555,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The loss of CD34 and the acqui-  
sition of SMA in tumor-associated fibroblasts  
are associated with gastric cancer invasion, and  
TGF- $\beta$ 1 may promote this phenotypic alteration.

**Key Words:** Gastric cancer; Tumor-associated fi-  
broblast; CD34; Smooth muscle actin; Transforming  
growth factor beta1

Wang LF, Wang RF, Hao ZX, Wang ZC. Changes in  
protein expression and significance of tumor-associated  
fibroblasts in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi*  
2007;15(20):2263-2267

## 摘要

**目的:** 探讨胃癌中肿瘤相关纤维母细胞  
(tumor-associated fibroblasts, TAFs)蛋白表达  
的改变及与胃癌侵袭转移的关系.

**方法:** 应用免疫组织化学方法检测75例胃癌  
组织及10例正常胃黏膜组织中纤维母细胞  
CD34, 平滑肌肌动蛋白(SMA)和转化生长因  
子 $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)的表达, 分析蛋白表达改变的机  
制及与胃癌临床病理特征的关系.

**结果:** 胃癌组织CD34, SMA和TGF- $\beta$ 1中的  
阳性表达与正常胃黏膜组织纤维母细胞中  
的表达(8.0% vs 80.0%,  $\chi^2 = 28.220$ ; 90.7%  
vs 30.0%,  $\chi^2 = 19.401$ ; 89.3% vs 30.0%,  $\chi^2 =$   
17.486; 均 $P < 0.01$ ); SMA和TGF- $\beta$ 1均与与肿  
瘤浸润深度、临床分期和淋巴结转移有关  
(均 $P < 0.05$ ), 且两者的表达密切相关( $r =$   
0.555,  $P < 0.05$ ).

**结论:** 胃癌细胞可能通过分泌TGF- $\beta$ 1作用  
于间质, 促进CD34(+)纤维母细胞转变为  
SMA(+)的肌纤维母细胞, 从而发挥其促进肿  
瘤浸润转移的作用.

## ■背景资料

肿瘤的浸润和转  
移直接影响着患  
者的预后, 近年发  
现肿瘤间质在肿  
瘤的侵袭和转移  
过程中起着必不  
可少的作用. 肿瘤  
相关纤维母细胞  
作为肿瘤间质的  
主要细胞类型之  
一, 在肿瘤发生、  
发展过程中的作  
用已成为研究热  
点, 但胃癌中的相  
关报道很少.

## ■研究前沿

目前研究发现肿瘤相关纤维母细胞能分泌多种生长因子和酶类,从而促进肿瘤侵袭转移,但纤维母细胞与上皮细胞相互作用是许多因子共同参与的复杂过程,其中许多环节的作用机制还不清楚。

**关键词:** 胃癌; 肿瘤相关纤维母细胞; CD34; 平滑肌肌动蛋白; 转化生长因子 $\beta$ 1

王立峰, 王瑞芬, 郝兆星, 王正彩. 胃癌中肿瘤相关纤维母细胞蛋白表达改变及意义. 世界华人消化杂志 2007;15(20):2263-2267  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2263.asp>

## 0 引言

过去肿瘤的研究多集中在肿瘤细胞本身的基因结构和表型的改变上,近年来肿瘤间质在肿瘤浸润转移中的作用逐渐被人们重视. 肿瘤组织中被激活的纤维母细胞称为TAF,在肿瘤进展中的作用比想象的更为活跃<sup>[1]</sup>. 我们应用免疫组织化学方法检测胃癌TAF蛋白表达改变并探讨其机制及与胃癌侵袭转移的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2006-01/08病理诊断为胃癌的石蜡标本75例,男46例,女29例,年龄35-86(平均59.8)岁. 浸润未超过浆膜层者17例,超过浆膜层者58例; Lauren肠型35例,弥漫型38例,混合型2例; WHO 2000年分级标准,高中分化者23例,低分化和未分化者52例; 临床 I - II 期30例, III-IV期45例; 有淋巴结转移者47例,无淋巴结转移者28例. 同时选取相应的正常胃黏膜组织10例作为对照组。

**1.2 方法** 应用PV6000通用型二步法进行免疫组织化学染色. 一抗为CD34鼠抗人mAb(1:100), SMA鼠抗人mAb(1:150)均购于北京中杉金桥生物技术有限公司; TGF- $\beta$ 1兔抗人多克隆抗体(即用型)购于福州迈新生物技术开发有限公司,切片常规脱蜡至水,实验过程严格按照试剂说明书进行. 用已知阳性切片作为阳性对照,用PBS代替一抗作为阴性对照. CD34染色以胞质中出现背景清晰的棕色或棕黄色颗粒为阳性,根据阳性细胞所占百分比,阳性细胞数 $<10\%$ 为(-),阳性细胞数 $\geq 10\%$ 为(+); SMA染色以胞质中出现背景清晰的棕色或棕黄色颗粒为阳性,根据阳性细胞范围,无明显阳性细胞为(-),局灶阳性者为(+),弥漫阳性者为(++); TGF- $\beta$ 1染色以胞质中出现背景清晰的棕色或棕黄色颗粒为阳性,根据阳性细胞染色强度及阳性细胞百分数的多少进行分级: 染色强度(未着色、弱、中、强)及阳性细胞百分数(0%,  $\leq 25\%$ , 26%-75%,  $>75\%$ )分别积分为0, 1, 2, 3, 两项积分之和为0-1分者计为(-), 2-4分计为(+), 5-6分计为(++).

**统计学处理** 应用SPSS13.0软件进行统计学分析, CD34, SMA和TGF- $\beta$ 1蛋白在各组间的表

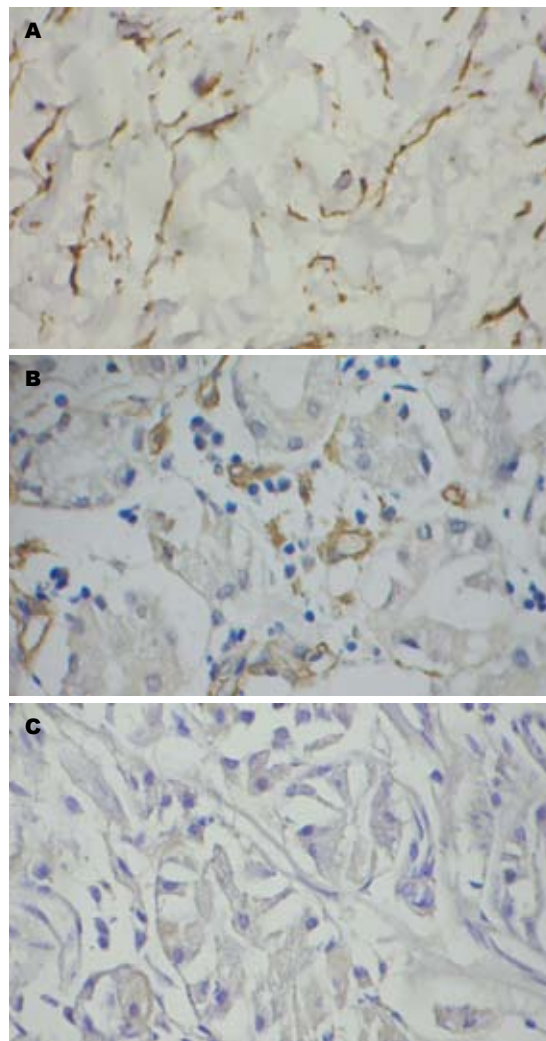


图1 正常胃黏膜组织(SP  $\times 400$ ). A: CD34(+); B: SMA(-); C: TGF- $\beta$ (-).

达差异采用 $\chi^2$ 检验和Fisher确切概率法, SMA和TGF- $\beta$ 1蛋白的相关性分析采用Spearman等级相关分析和 $\kappa$ 检验.  $P < 0.05$ 为有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 CD34, SMA和TGF- $\beta$ 1的表达** CD34在正常胃黏膜组织纤维母细胞中阳性表达率为80.0%, 主要分布于黏膜下层、固有肌层、浆膜下层和黏膜肌层(而黏膜固有层中未见明显阳性细胞); SMA在正常组织纤维母细胞的阳性表达率为30.0%, TGF- $\beta$ 1在正常胃黏膜腺体的阳性表达率为30.0%(图1, 表1). 在75例胃癌组织中CD34仅在血管呈阳性表达(图2A-B), 其中仅有6例(8.0%)在癌巢周围的TAF中呈阳性表达, 阳性率显著低于正常胃黏膜组( $\chi^2 = 28.220$ ,  $P < 0.01$ ); SMA在胃癌TAF中阳性表达率为90.7%, 阳性率明显高于正常组( $\chi^2 = 19.401$ ,  $P < 0.01$ ), 阳性细胞



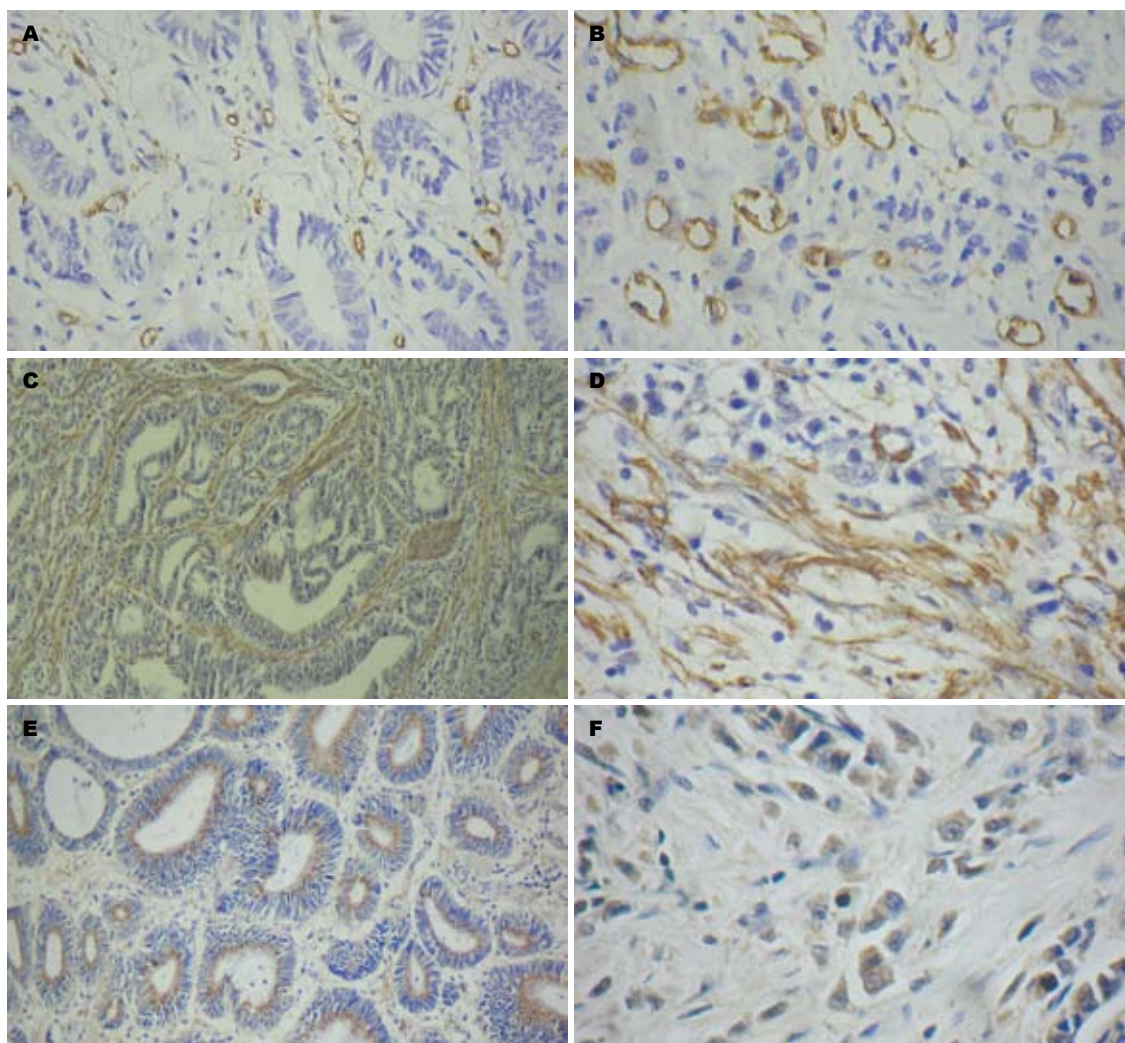


图2 胃癌组织. A: 肠型CD34( $\times 200$ ); B: 弥漫型CD34( $\times 400$ ); C: 肠型SMA( $\times 100$ ); D: 弥漫型SMA( $\times 400$ ); E: 肠型TGF- $\beta$ ( $\times 100$ ); F: 弥漫型TGF- $\beta$ ( $\times 400$ ).

呈梭形, 主要位于癌巢周边(图2C-D); 89.3%胃癌呈现出TGF- $\beta$ 1的阳性表达, 阳性率明显高于正常组( $\chi^2 = 17.486$ ,  $P < 0.01$ ), 阳性细胞主要为肿瘤细胞且位于腺体腔缘(图2E-F), 少量淋巴细胞、血管内皮细胞和纤维母细胞也呈现点状的阳性表达(表1).

**2.2 SMA和TGF- $\beta$ 1表达与临床病理的关系**  
SMA和TGF- $\beta$ 1的表达与患者年龄、性别、病理分型和组织学分级无关( $P > 0.05$ ), 而与肿瘤浸润深度、临床分期和淋巴结转移有关( $P < 0.05$ ). 随着浸润深度的增加、临床分期的进展和淋巴结转移的出现, 两者表达均增强且差异有统计学意义(表2). 另TGF- $\beta$ 1和SMA的表达呈正相关( $r = 0.555$ ), 根据 $\kappa(0.557)$ 值, 两者的一致性较好(表3).

### 3 讨论

研究发现, TAF参与肿瘤细胞外基质的合成、

表1 胃黏膜CD34, SMA和TGF- $\beta$ 1的阳性表达 $n(\%)$

分组	<i>n</i>	CD34	SMA	TGF- $\beta$ 1
正常组	10	8(80.0)	3(30.0)	3(30.0)
胃癌组	75	6(8.0) <sup>b</sup>	68(90.7) <sup>b</sup>	67(89.3) <sup>b</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 正常组.

沉积和重建等过程, 旁分泌多种生长因子、各种蛋白酶及其抑制剂, 并能诱导肿瘤免疫逃逸, 从而在肿瘤的发生、发展中具有重要作用<sup>[2-3]</sup>. TAF是被激活的肿瘤间质纤维母细胞, 其主要特征是能够发生表型改变, 主要表现为纤维母细胞不表达CD34, 而转变成 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin)阳性的肌纤维母细胞, 这种现象可发生于多种侵袭性上皮肿瘤如乳腺癌、宫颈癌、口腔鳞癌、肠癌、肺癌等<sup>[4-9]</sup>, 然

### ■创新盘点

本文通过检测胃癌中肿瘤相关纤维母细胞蛋白表达的改变, 分析其可能机制并探讨其与肿瘤细胞侵袭转移的相关性.

### ■应用要点

肿瘤相关纤维母细胞是非转化二倍体细胞, 与肿瘤细胞相比其基因组较稳定, 因此针对肿瘤相关纤维母细胞的肿瘤基因治疗或免疫治疗将有很好的发展前景. 探讨肿瘤相关纤维母细胞在胃癌侵袭过程中的作用, 以期临床对胃癌靶向向间质的早期合理、有效治疗提供理论基础.

# ■名词解释

1 弥漫型胃癌: 指不形成腺腔结构弥漫散在生长的低分化腺癌及印戒细胞癌。

2 肠型胃癌: 指具有管状结构的高-中分化腺癌。

表 2 胃癌SMA和TGF-β1阳性表达与临床病理特征的关系n(%)

临床病理特征	n	SMA		TGF-β1	
		+++	++	+++	++
男	46	43(93.5)	24(52.2)	43(93.5)	19(41.3)
女	29	25(86.2)	18(62.1)	24(82.8)	19(65.5)
年龄≥50	55	48(87.3)	31(56.4)	49(89.1)	28(50.9)
<50	20	20(100.0)	11(55.0)	18(90.0)	10(50.0)
浸润未超过浆膜	17	13(76.5)	6(35.3)	14(82.4)	4(23.5)
超过浆膜	58	55(94.8) <sup>a</sup>	36(62.1)	53(91.4)	34(58.6) <sup>a</sup>
肠型	35	31(88.6)	18(51.4)	30(85.7)	15(42.9)
弥漫型	38	35(92.1)	23(60.5)	35(92.1)	22(57.9)
混合型	2	2(100.0)	1(50.0)	2(100.0)	1(50.0)
高分化+中分化	23	20(87.0)	13(56.5)	18(78.3)	12(52.2)
低分化+未分化	52	48(92.3)	29(55.8)	49(94.2)	26(50.0)
临床 I - II 期	30	26(86.7)	8(26.7)	25(83.3)	8(26.7)
III - IV 期	45	42(93.3)	34(75.6) <sup>a</sup>	32(93.3)	30(66.7) <sup>a</sup>
淋巴结转移(+)	47	44(93.6)	37(78.7) <sup>a</sup>	44(93.6)	33(70.2) <sup>a</sup>
(-)	28	24(85.7)	5(17.9)	23(82.1)	5(17.9)

<sup>a</sup>P<0.05.

而Nakayama *et al*<sup>[10]</sup>在弥漫型进展期胃癌间质中发现大量CD34(+)的间质细胞, 而弥漫型早期胃癌和肠型胃癌中无CD34(+)的间质细胞. 随后的研究又发现, 胃癌中CD34(+)间质细胞和α-SMA(+)间质细胞与弥漫型进展期胃癌(浸润至浆膜下)间质形成有关, 而纤维母细胞中CD34不表达和α-SMA阳性表达与肠型和实体型胃癌间质的形成有关<sup>[11]</sup>, 因此, 胃癌TAF蛋白表达的改变及其与胃癌侵袭转移的关系尚需进一步研究.

研究表明, CD34(+)纤维母细胞具有合成胶原、抗原呈递及T细胞激活功能, 在免疫反应和组织修复过程中发挥重要作用<sup>[12-13]</sup>. SMA(+)肌纤维母细胞能够分泌多种可溶性生长因子, 参与合成降解细胞外基质的蛋白酶类, 体外实验还证实其参与肿瘤免疫逃逸<sup>[3]</sup>. 本实验结果显示, 正常胃黏膜组织纤维母细胞表现为CD34的高表达和SMA的低表达, 而75例胃癌组织中CD34仅在血管呈阳性表达, 其中仅有6例在癌巢周围的纤维母细胞中呈阳性表达, 阳性率显著低于正常胃黏膜组, SMA在胃癌组的阳性表达率明显高于正常组, 这说明胃癌中肿瘤相关纤维母细胞缺乏CD34(+)表达, 而表现为SMA(+)特征, 且这种改变与患者性别、年龄、病理分型和组织学分级无关. 随着浸润深度的增加、临床分期的进展和淋巴结转移的出现, 纤维母细胞中

表 3 SMA与TGF-β1表达的相关性

SMA	TGF-β1				P	r	κ
	-	+	++	合计			
-	4	2	1	7	<0.05	0.555	0.557
+	1	20	5	26			
++	3	7	32	42			
合计	8	29	38	75			

SMA的表达增强, 表明TAF与胃癌的侵袭转移密切相关.

目前, TAF蛋白表达改变的机制尚不清楚, Barth *et al*<sup>[6]</sup>推测: (1)肿瘤细胞能够诱导CD34(+)纤维母细胞凋亡, 而被SMA(+)肌纤维母细胞取代; (2)肿瘤中存在一种未知的细胞群, 这种细胞群能够下调CD34表达, 相反却增加SMA的表达. 体外实验表明, TGF-β1能下调纤维母细胞CD34的表达, 促进CD34(+)纤维母细胞向表达SMA的肌纤维母细胞方向分化, 相反, 抑制TGF-β1信号则CD34的表达水平保持不变<sup>[14]</sup>, 我们发现, 胃癌中肿瘤细胞TGF-β1的表达与胃癌侵袭转移密切相关, 肿瘤细胞TGF-β1的表达和TAF SMA的表达呈正相关, 且两者的一致性较好, 提示我们在体内环境中, 内源性的TGF-β1可能在TAF蛋白表达改变过程中起到一定的促进作用. 胃癌细胞可能通过分泌TGF-β1作用于间质, 促进CD34(+)纤维母细胞增殖.

纤维母细胞转变为SMA(+)的肌纤维母细胞, 从而发挥其促进肿瘤浸润转移的作用.

#### 4 参考文献

- 1 Bhowmick NA, Neilson EG, Moses HL. Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression. *Nature* 2004; 432: 332-337
- 2 Tlsty TD. Stromal cells can contribute oncogenic signals. *Semin Cancer Biol* 2001; 11: 97-104
- 3 Desmouliere A, Guyot C, Gabbiani G. The stroma reaction myofibroblast: a key player in the control of tumor cell behavior. *Int J Dev Biol* 2004; 48: 509-517
- 4 Barth PJ, Ebrahimsade S, Ramaswamy A, Moll R. CD34+ fibrocytes in invasive ductal carcinoma, ductal carcinoma in situ, and benign breast lesions. *Virchows Arch* 2002; 440: 298-303
- 5 Chauhan H, Abraham A, Phillips JR, Pringle JH, Walker RA, Jones JL. There is more than one kind of myofibroblast: analysis of CD34 expression in benign, in situ, and invasive breast lesions. *J Clin Pathol* 2003; 56: 271-276
- 6 Barth PJ, Ramaswamy A, Moll R. CD34(+) fibrocytes in normal cervical stroma, cervical intraepithelial neoplasia III, and invasive squamous cell carcinoma of the cervix uteri. *Virchows Arch* 2002; 441: 564-568
- 7 施琳, 孙善珍, 王振光. 口腔侵袭性鳞癌间质中CD34和 $\alpha$ 平滑肌肌动蛋白的表达. *中华口腔医学杂志* 2006; 41: 106-107
- 8 Nakayama H, Enzan H, Miyazaki E, Kuroda N, Naruse K, Hiroi M. Differential expression of CD34 in normal colorectal tissue, peritumoral inflammatory tissue, and tumour stroma. *J Clin Pathol* 2000; 53: 626-629
- 9 Roh MS, Choi J W, Lee HW, Kwon HC, Park TH, Choi PJ, Lee CH, Cheon BK. Differential Expression of CD34 and Smooth Muscle Actin in the Stroma of Small Lung Adenocarcinoma with Mixed Bronchioloalveolar and Invasive Components. *The Korean J of Pathol* 2005; 39: 158-163
- 10 Nakayama H, Enzan H, Miyazaki E, Kuroda N, Naruse K, Kiyoku H, Toi M, Hiroi M. CD34 positive stromal cells in gastric adenocarcinomas. *J Clin Pathol* 2001; 54: 846-848
- 11 Nakayama H, Enzan H, Miyazaki E, Toi M. Alpha smooth muscle actin positive stromal cells in gastric carcinoma. *J Clin Pathol* 2002; 55: 741-744
- 12 Bucala R, Spiegel LA, Chesney J, Hogan M, Cerami A. Circulating fibrocytes define a new leukocyte subpopulation that mediates tissue repair. *Mol Med* 1994; 1: 71-81
- 13 Chesney J, Bacher M, Bender A, Bucala R. The peripheral blood fibrocyte is a potent antigen-presenting cell capable of priming naive T cells in situ. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 6307-6312
- 14 Espana EM, Kawakita T, Liu CY, Tseng SC. CD-34 expression by cultured human keratocytes is downregulated during myofibroblast differentiation induced by TGF-beta1. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 2985-2991

#### ■同行评价

本文应用免疫组织化学方法检测了胃癌组织中间质细胞——肿瘤相关纤维母细胞(被激活的纤维母细胞)胞质内CD34, SMA和TGF- $\beta$ 1的蛋白表达, 及其胃癌侵袭转移的关系. 文章内容较丰富, 方法得当, 得出的结果对判断预后有一定的临床意义.

编辑 程剑侠 电编 张敏

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

#### • 消息 •

### 中国学术期刊综合引证报告(2006)

**本刊讯** 根据《中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)》2005年6182种统计刊源析出的214万条中国期刊引文数据库及CNKI“中国期刊网”中心网站2005-01/12全文下载记录(1.5亿篇次)的大样本数据统计分析得到: 世界华人消化杂志[标准刊号: ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R; 类目名称: 医药科学\临床医学\呼吸及消化系统疾病(YK5.2.3)]总被引频次为2471, 影响因子为0.661, 5年影响因子为0.644, 即年指标为0.079, 他引总引比为0.73, 被引期刊数为491, 被引半衰期为4.6, 2005载文量为768, 基金论文比为0.44, Web即年下载率为0.6. [中国学术期刊(光盘版)电子杂志社; 中国科学文献计量评价研究中心].