

Ghrelin在食管腺癌、Barrett's食管黏膜中的表达

甄云飞, 曲海霞, 王青

甄云飞, 曲海霞, 王青, 青岛大学医学院附属青岛市立医院消化科(东院) 山东省青岛市 266071

甄云飞, 硕士, 主要从事食管癌方向的研究。

作者贡献分布: 甄云飞与王青对此文所作贡献均等; 此课题由甄云飞、曲海霞及王青设计; 研究过程由甄云飞与王青操作完成; 研究所用试剂及分析工具由王青提供; 数据分析由甄云飞完成; 本论文的写作由甄云飞、曲海霞及王青完成。

通讯作者: 王青, 主任医师, 266071, 山东省青岛市东海中路5号, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院东区消化科。

qingwangqingdao@yahoo.com.cn.

电话: 0532-88905630

收稿日期: 2011-11-04 修回日期: 2012-02-08

接受日期: 2012-02-27 在线出版日期: 2012-03-28

Ghrelin expression in esophageal adenocarcinoma and Barrett's esophagus

Yun-Fei Zhen, Hai-Xia Qu, Qing Wang

Yun-Fei Zhen, Hai-Xia Qu, Qing Wang, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Correspondence to: Qing Wang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, 5 Donghai Middle Road, Qingdao 266071, Shandong Province, China. qingwangqingdao@yahoo.com.cn

Received: 2011-11-04 Revised: 2012-02-08

Accepted: 2012-02-27 Published online: 2012-03-28

Abstract

AIM: To investigate the expression of Ghrelin in the esophageal mucosa of patients with esophageal adenocarcinoma and those with Barrett's esophagus (BE).

METHODS: Thirty patients with esophageal adenocarcinoma, 35 patients with BE, and 35 normal controls were enrolled in the study. The expression of Ghrelin in specimens taken from the above subjects was detected by immunohistochemistry.

RESULTS: The expression of Ghrelin in esophageal adenocarcinoma was lower than that in normal controls and patients with BE. The expression of Ghrelin in the BE group was higher than that in the control group (1.34 ± 0.51 vs 4.86 ± 0.82 vs 3.54 ± 0.79 , $F = 27.21$, $P < 0.05$). In the

esophageal adenocarcinoma group, the expression of Ghrelin in moderately and well differentiated specimens were higher than that in poorly differentiated specimens ($Z = 4.60$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The expression of Ghrelin in the esophageal adenocarcinoma is different from that in BE. The level of Ghrelin changes during the evolution of esophageal cancer. Disruption of the esophageal Ghrelin-producing mechanism may occur during esophageal carcinogenesis. There is an association between the degree of esophageal carcinoma differentiation and Ghrelin production.

Key Words: Esophageal adenocarcinoma; Barrett's esophagus; Ghrelin; Immunohistochemistry

Zhen YF, Qu HX, Wang Q. Ghrelin expression in esophageal adenocarcinoma and Barrett's esophagus. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(9): 781-783

摘要

目的: 研究Ghrelin在食管腺癌、Barrett's食管(barrett esophagus, BE)和正常食管黏膜中的表达。

方法: 选取30例食管腺癌患者、35例BE患者及35例健康对照, 所有受试者均行胃镜检查, 记录内镜下表现, 在食管部位四象限活检取材, 标本经10%甲醛固定, 石蜡包埋, 连续切片, 分别用于改良HE染色及免疫组织化学, 采用免疫组织化学方法检测Ghrelin在食管黏膜组织中的表达水平。

结果: Ghrelin在食管腺癌组食管黏膜中的表达水平低于健康对照组和BE组, 在BE组食管黏膜中的表达高于健康对照组, 差异有统计学意义(1.34 ± 0.51 vs 4.86 ± 0.82 vs 3.54 ± 0.79 , $F = 27.21$, $P < 0.05$)。食管腺癌组中, Ghrelin在中高分化腺癌患者食管黏膜的表达水平高于低分化腺癌, 差异有统计学意义($Z = 4.60$, $P < 0.05$)。

结论: Ghrelin在BE、食管腺癌黏膜中的表达不同, 提示了Ghrelin在食管癌变前和癌变后的变化。食管腺癌组织恶变过程中其Ghrelin

■背景资料

Ghrelin是生长激素促分泌物受体的内源性配体, 生物作用极为广泛, 他与GHS-R几乎表达于人体所有的正常组织中, 此外多种肿瘤组织中也已检测到Ghrelin及其受体, 大量证据显示Ghrelin/GHS-R轴在细胞增殖及癌症发生中起着重要作用。

■同行评议者

程英升, 教授, 主任医师, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

■相关报道

Konturek等报道 Ghrelin可能通过抗炎作用防止BE向食管癌方向发展。

的分泌机制发生了改变, 且与食管腺癌细胞分化程度有关。

关键词: 食管腺癌; Barrett's食管; Ghrelin; 免疫组织化学

甄云飞, 曲海霞, 王青. Ghrelin在食管腺癌、Barrett's食管黏膜中的表达. 世界华人消化杂志 2012; 20(9): 781-783
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/781.asp>

0 引言

Ghrelin是由28个氨基酸组成的多肽, 能够刺激人类及其他哺乳动物的垂体释放生长激素。他主要由胃黏膜组织分泌^[1], 同时存在于其他多种组织中, 包括正常组织及癌变组织。食管癌是发生在食管上皮组织的恶性肿瘤, 我国是食管癌的高发区, 约90%为鳞状细胞癌, 少数为腺癌, 来自Barrett's食管(barrett esophagus, BE)或食管异位胃黏膜的柱状上皮^[2]。BE作为一种公认的癌前病变, 其腺癌发生率较正常人高30-50倍。本实验将通过免疫组织化学染色法检测Ghrelin在食管活检黏膜中的表达, 以探讨Ghrelin在食管腺癌、BE发病过程中所起的生物学作用, 为预防及治疗食管腺癌、BE提供进一步的依据。

1 材料和方法

1.1 材料 病例入选标准: 食管腺癌: 病理诊断为食管腺癌, 且病灶位于胃食管交界(gastroesophageal junction, GEJ)齿状线上方, 未行化疗、放疗等治疗。Barrett's食管: 依据2006年10月三亚《中国胃食管反流病共识意见》^[3], 内镜检查发现食管远端有明显的柱状上皮化生并得到病理学检查证实。健康对照组: 无反酸、异物感、胸痛等临床表现, 胃镜检查结果食管部分正常, 胃黏膜活检正常或仅有轻度炎症, 无其他系统溃疡或癌症。选择青岛市市立医院东西两院、青医附院2006-01/2011-02符合入选标准的食管腺癌患者30例, 男16例, 女14例, 年龄为53-87岁, 平均65.8岁±8.3岁; BE患者35例, 男19例, 女16例, 年龄为39-71岁, 平均60.6岁±9.1岁; 选择同期健康对照组35例, 男18例, 女17例, 年龄为32-79岁, 平均59.8岁±9.6岁。所有患者均知情同意。各组间的年龄分布及性别构成差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 胃镜检查与病理活检: 所有患者均行胃镜检查, 记录内镜下表现, 食管腺癌组在病变明显

处12、3、6、9点方向每隔2 cm做四象限活检取材, BE组在鳞柱状上皮交界与GEJ之间沿病变的整个长轴四象限活检取材, 对照组在食管近GEJ端四象限活检取材。共取4块。标本经10%甲醛固定, 石蜡包埋, 连续切片, 分别用于改良HE染色及免疫组织化学检查。

1.2.2 Ghrelin的检测: 应用SABC免疫组织化学方法检测, DAB染色, 苏木素复染。用已知阳性片作阳性对照, 以PBS代替一抗作为阴性对照。胞浆内含棕黄色颗粒沉积为阳性。根据阳性细胞所占的比率和染色强度进行半定量评分。在400倍高倍镜下, 随机选择10个视野, 计算10个视野评分的平均值作为细胞阳性染色的最终评分。按阳性细胞比例将0-25%、26%-50%、51%-75%、76%-100%分别计为1-4分, 按染色强度将阴性着色、浅黄色、浅褐色、深褐色分别计为0-3分, 最后综合两部分得分。试剂来自于北京博奥森生物技术有限公司。

统计学处理 定量资料应用mean±SD表示, 两组间均数比较采用 t 检验, 多组间均数比较采用方差分析, 部分数据采用秩和检验。所有数据处理均采用SPSS13.0统计软件包进行。

2 结果

2.1 Ghrelin在食管黏膜组织中的表达 Ghrelin在食管腺癌、BE、健康对照食管黏膜中有不同水平的表达, 食管腺癌组的Ghrelin评分较BE组和健康对照组减少, BE组的Ghrelin评分较健康对照组增加, 差异有统计学意义(1.34 ± 0.51 vs 4.86 ± 0.82 vs 3.54 ± 0.79 , $F=27.21$, $P<0.05$)。

2.2 Ghrelin在食管腺癌不同病理分级中的表达 30例食管腺癌患者中有13例中-高分化腺癌, 17例低分化腺癌, Ghrelin在中-高分化腺癌中的表达高于低分化腺癌, 差异有统计学意义($Z=4.60$, $P<0.05$)。

3 讨论

Ghrelin是生长激素促分泌物受体(GHS-R)的内源性配体, 首先由Kojima和Kangawa在大鼠体内发现^[4]。大部分循环Ghrelin(高达60%-70%)由胃产生, 小部分(约30%)由小肠产生。Ghrelin生物作用极为广泛, 与多种激素的分泌有关^[5], 还能调控摄食、能量平衡, 促进胃肠动力, 增加胃酸分泌, 调节糖代谢及胰岛素分泌^[6]。Ghrelin与GHS-R几乎表达于人体所有的正常组织中, 此外多种肿瘤组织中也已检测到Ghrelin及其受

体, 大量证据显示Ghrelin/GHS-R轴在细胞增殖及癌症发生中起着重要作用。目前Ghrelin分子及其受体在各种恶性肿瘤中的表达问题一直存在争议, 争议的焦点集中在Ghrelin在肿瘤发展方面是致癌还是预防癌症发生。据报道, Ghrelin在甲状腺癌、肺癌等肿瘤中的表达增加, 而在胃癌^[7]、结直肠癌^[8]等肿瘤中的表达降低, 但在食管肿瘤中的研究却涉及较少。研究者曾报道血清中较高浓度的Ghrelin能够预防食管腺癌的发生, 尤其是超重人群^[9]。本实验通过免疫组织化学方法测定Ghrelin在入选食管腺癌患者食管黏膜中的表达, 发现Ghrelin在食管腺癌中的表达较健康对照组减少($P<0.05$), 且与腺癌细胞的分化程度有关, Ghrelin在中-高分化腺癌中的表达要明显高于低分化腺癌($Z = 4.60, P<0.05$)。据报道, Ghrelin在垂体腺瘤^[10]、乳腺癌^[11]等肿瘤中的表达水平与癌细胞分化程度有关。

BE是指食管远端黏膜的复层鳞状上皮被化生的柱状上皮所替代。目前认为BE是食管腺癌的一种癌前病变, 早期发现早期治疗对降低食管癌的发病率具有重要意义^[12,13]。已有的研究显示, 在肥胖人群中, 与正常食管鳞状上皮相比, BE食管上皮细胞中GHS-R的表达明显上调, 可能与肥胖者Ghrelin分泌减少有关^[14]。本实验BE患者食管黏膜中, Ghrelin的表达较对照组明显增加($P<0.05$), 这种差异可能与本试验未限制样本体质指数范围有关, 下一步研究可考虑将BE分为肥胖组和正常体质量组, 进行对照研究。

BE组的Ghrelin评分较健康对照组增加, 食管腺癌组的Ghrelin评分较BE组减少, 而且中-高分化腺癌的Ghrelin评分高于低分化腺癌, 这说明从正常食管到BE到食管腺癌过程中, Ghrelin的表达经历了从上升到下降的过程, 而且随着细胞恶性程度的增高, 其表达水平进一步下降。目前这一变化的具体机制尚不明确, 有研究表明, 将食管癌细胞系OE-19暴露于TNF α 下培养, COX-2和IL-1 β 表达增多, Ghrelin能够减弱这一过程, 从而推测Ghrelin可能通过抗炎作用防止BE向食管癌方向进展^[14]。当Ghrelin抗炎作用过度或缺乏时, 可能会出现非可控炎症, 非可控炎症对癌症发病机理意义深远^[15]。

总之, 食管腺癌组织恶变过程中其Ghrelin的分泌机制发生了改变, 且与食管腺癌细胞分化程度有关, 具体机制有待进一步研究。

4 参考文献

- 1 Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Suda M, Koh T, Natsui K, Toyooka S, Shirakami G, Usui T, Shimatsu A, Doi K, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4753-4758
- 2 陆再英, 钟南山. 内科学. 第7版. 北京: 北京人民卫生出版社, 2010: 376-377
- 3 中国胃食管反流病共识意见专家组. 中国胃食管反流病共识意见(2006•10三亚). 中华内科杂志 2007; 46: 170-173
- 4 Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-660
- 5 Hosoda H, Kojima M, Kangawa K. Biological, physiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *J Pharmacol Sci* 2006; 100: 398-410
- 6 van der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev* 2004; 25: 426-457
- 7 An JY, Choi MG, Noh JH, Sohn TS, Jin DK, Kim S. Clinical significance of ghrelin concentration of plasma and tumor tissue in patients with gastric cancer. *J Surg Res* 2007; 143: 344-349
- 8 D'Onghia V, Leoncini R, Carli R, Santoro A, Giglioni S, Sorbellini F, Marzocca G, Bernini A, Campagna S, Marinello E, Vannoni D. Circulating gastrin and ghrelin levels in patients with colorectal cancer: correlation with tumour stage, Helicobacter pylori infection and BMI. *Biomed Pharmacother* 2007; 61: 137-141
- 9 de Martel C, Haggerty TD, Corley DA, Vogelstein JH, Orentreich N, Parsonnet J. Serum ghrelin levels and risk of subsequent adenocarcinoma of the esophagus. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 1166-1172
- 10 Kim K, Arai K, Sanno N, Osamura RY, Teramoto A, Shibasaki T. Ghrelin and growth hormone (GH) secretagogue receptor (GHSR) mRNA expression in human pituitary adenomas. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001; 54: 759-768
- 11 Cassoni P, Papotti M, Ghè C, Catapano F, Sapino A, Graziani A, Deghenghi R, Reissmann T, Ghigo E, Muccioli G. Identification, characterization, and biological activity of specific receptors for natural (ghrelin) and synthetic growth hormone secretagogues and analogs in human breast carcinomas and cell lines. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1738-1745
- 12 中华医学会消化病学分会. Barrett食管诊治共识(2011修订版. 重庆). 中华消化内镜杂志 2011; 28: 421-422
- 13 史学森, 王立金, 郝慧菁, 王丽娟, 张永玉, 马春玉. 反流性食管炎、Barrett食管和食管腺癌的研究. 胃肠病学 2010; 15: 233-236
- 14 Konturek PC, Burnat G, Rau T, Hahn EG, Konturek S. Effect of adiponectin and ghrelin on apoptosis of Barrett adenocarcinoma cell line. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 597-605
- 15 Nathan C, Ding A. Nonresolving inflammation. *Cell* 2010; 140: 871-882

■同行评价

本研究证明Ghrelin与食管癌的发生存在一定关联, 对临床上这一疾病的诊疗提供了一定的参考价值。

编辑 张姗姗 电编 闫晋利