

· 临床研究 ·

三叶因子 1 和环氧合酶-2 在 66 例胃癌组织中的表达*

赖铭裕¹, 廖晓霞¹, 梁志海², 石磊¹, 黄杰安², 唐国都²

(广西医科大学第一附属医院:1. 老年消化内科;2. 消化内科, 南宁 530021)

摘要:目的 观察三叶因子 1(TFF1)和环氧合酶-2(COX-2)在正常胃黏膜组织、癌旁组织和胃癌组织中的表达,探讨 TFF1 表达与胃癌发生的关系。方法 采用 S-P 免疫组化方法检测 42 例正常胃黏膜组织、66 例癌旁组织和 66 例胃癌组织中 TFF1 和 COX-2 的表达。结果 正常胃黏膜组织、癌旁组织、胃癌组织中, TFF1 表达呈逐渐减弱趋势, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 而 COX-2 的表达则呈逐渐上升趋势($P < 0.01$), 两者呈负相关($r = -0.891, P < 0.01$)。结论 COX-2 的表达增加可抑制 TFF1 的表达, 细胞增殖与凋亡失衡, 最终导致胃癌的发生。

关键词:三叶因子 1; 环氧合酶-2; 胃癌; 免疫组织化学

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.20.019

中图分类号:R735.2;R730.45

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)20-2744-02

Expression of Trefoil factor 1 and cyclooxygenase-2 in 66 gastric cancer tissues*

LAI Ming-yu¹, LIAO Xiao-xia¹, LIANG Zhi-hai², et al.

(1. Department of Geriatric Gastroenterology; 2. Department of Geriatrics

Gastroenterology, the First Affiliated Hospital, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of trefoil factor 1(TFF1) and cyclooxygenase-2(COX-2) in normal gastric mucosa, adjacent carcinoma and gastric carcinoma and to explore their role in pathogenesis of gastric cancer. **Methods** The expression of TFF1 and COX-2 was determined by immunohistochemical method in 174 gastric specimens including 42 normal gastric mucosa, 66 adjacent carcinoma and 66 gastric carcinomas. **Results** In normal control group, adjacent carcinoma and gastric carcinoma group, the level of TFF1 expression had a decreasing tendency($P < 0.01$), but the level of COX-2 expression had a increasing tendency($P < 0.01$). There was a negative correlation between the expression of TFF1 and COX-2($r = -0.891, P < 0.01$). **Conclusion** The increasing expressions of COX-2 inhibit the expression of TFF1, the balance between proliferation and apoptosis of cells is destroyed, which result in carcinogenesis.

Key words: trefoil factor 1; cyclooxygenase-2; gastric cancer; immunohistochemistry

环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)是前列腺素合成过程中一个重要的限速酶,其高表达与肿瘤发生、发展密切相关。近年来,关于胃癌发病机制的研究中,三叶因子(trefoil factors, TFFs)与胃癌的发生、发展逐渐引起研究者的关注。三叶因子 1(trefoil factor 1, TFF1)是三叶因子家族成员之一,其分子中具有特定的三叶草结构域,这种结构的稳定性使其具有明显的抗酸、抗蛋白酶和抗热分解特性,对胃肠道黏膜有保护和修复作用。TFF1 与胃癌之间的关系尚不十分明确,因此,用免疫组化方法研究 TFF1 和 COX-2 在正常胃黏膜组织、癌旁组织和胃癌组织中的表达情况,初步探讨其在胃癌发生、发展中的作用。

1 材料与方

1.1 材料 选取广西医科大学第一附属医院 2005 年 1 月至 2007 年 9 月接受胃大部切除术的胃癌标本 66 例,均经组织病理学检查证实。所有标本术前均未接受非甾体抗炎药治疗及放、化疗。其中男 44 例,女 22 例,年龄 29~74 岁,平均 55.9 岁。高、中分化腺癌 18 例,低、未分化腺癌 48 例;未侵及浆膜层者 26 例,侵及浆膜层及浆膜外者 40 例;发生局部淋巴结转移者 29 例,无局部淋巴结转移者 37 例。同时取距癌缘 3~5 cm 的癌旁组织 66 例、正常胃黏膜组织 42 例作为对照组。试剂采用鼠抗人 TFF1 单克隆抗体(即用型)、链霉菌抗生素蛋白-生物素-过氧化物酶(S-P)免疫组化试剂盒和二氨基联苯

(DAB)显色剂,均购自福建迈新生物技术开发公司;兔抗人 COX-2 单克隆抗体(工作浓度 1:200)购自美国 Santa Cruz 公司。

1.2 检测方法 所有标本均经 10% 甲醛固定,常规脱水、透明、渗蜡、包埋,4 μm 厚连续切片。常规脱蜡、水化,采用免疫组化染色超敏 2 步法(SP 染色),DAB 显色,苏木素复染,吹干,具体操作按 S-P 试剂盒说明书进行。阴性对照采用生理盐水磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗,其余步骤相同。

1.3 评判标准 阳性信号为细胞胞浆和胞膜上出现黄色或棕黄色染色。每例取 5 个高倍视野(400 倍),用病理图像分析仪测定阳性信号平均灰度值,灰度值越高, TFF1 和 COX-2 表达越弱。

1.4 统计学方法 使用 SPSS11.5 统计软件进行分析,采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TFF1 在不同胃组织中的表达 TFF1 在胃癌组织、癌旁组织和正常胃黏膜组织中的阳性信号平均灰度值分别为(209.40 \pm 16.00)、(199.12 \pm 16.68)和(189.17 \pm 16.20),各組间两两比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表 1、彩插 II 图 1~3。

2.2 COX-2 在不同胃组织中的表达 COX-2 在胃癌组织、癌旁组织和正常胃黏膜组织中的阳性信号平均灰度值分别为

* 基金项目:广西青年科学基金资助项目(0728075)。

(191.21±10.19)、(209.91±4.85)和(214.23±5.85),各组间两两比较,差异均有统计学意义($P<0.01$),见表 2、彩插 II 图 4~6。

表 1 TFF1 在不同胃组织中的表达($\bar{x}\pm s$)

组织	n	平均灰度值
胃癌组织	66	209.40±16.00
癌旁组织	66	199.12±16.68▲
正常胃黏膜组织	42	189.17±16.20△

与胃癌组织比较,▲: $P<0.01$;与癌旁组织比较,△: $P<0.01$ 。

表 2 COX-2 在不同胃组织中的表达($\bar{x}\pm s$)

组织	n	平均灰度值
胃癌组织	66	191.21±10.19
癌旁组织	66	209.91±4.85▲
正常胃黏膜组织	42	214.23±5.85△

与胃癌组织比较,▲: $P<0.01$;与癌旁组织比较,△: $P<0.01$ 。

2.3 TFF1 与 COX-2 的相关性分析 TFF1 与 COX-2 的表达呈负相关($r=-0.891, P<0.01$)。

3 讨 论

COX-2 是前列腺素合成过程中一个重要的限速酶。生理状态下,COX-2 基因在绝大多数组织细胞中不表达,只有在细胞内外广泛的刺激下才呈诱导性表达。近年来研究发现 COX-2 高表达与肿瘤发生、发展密切相关。COX-2 在肿瘤细胞的增殖、凋亡过程中起重要作用^[1-2],它的表达延长了癌细胞的生存期,有利于癌细胞发生浸润与转移,同时在正常组织细胞中 COX-2 的表达则有利于细胞基因突变的累积,增加细胞癌变的可能性;肿瘤细胞中 COX-2 的表达可通过上调黏附因子、基质金属蛋白酶等促进肿瘤细胞发生浸润与转移^[3]。马丹等^[4]研究发现 COX-2 在胃癌组织中的表达阳性率为 76.74%,COX-2 蛋白的表达可作为反应胃癌侵袭转移的生物学指标。本研究结果显示在正常胃黏膜组织、癌旁组织、胃癌组织中,COX-2 表达呈逐渐上升趋势,差异有统计学意义($P<0.01$)。提示随着 COX-2 表达的不断增加,促进细胞的无限增殖、分化,抑制细胞凋亡,最终发展成为胃癌。

TFF1 于 1982 年由 Masiakowski 等^[5]在雌激素诱导的人乳腺癌细胞系 MCF-7 中获得。TFF1 在正常组织中主要由胃窦和胃体的隐窝及表层上皮的黏膜细胞产生,而在食管、结肠、胰腺、肝脏、前列腺、卵巢等组织中低水平表达甚至不表达。大量研究发现 TFF1 表达于正常胃黏膜,在胃黏膜肠化、不典型增生到胃癌的发展过程中 TFF1 表达逐渐降低,50%甚至更多的胃癌组织 TFF1 表达缺失^[6-7]。提示 TFF1 进行性缺失参与了早期胃癌的发生。Park 等^[8]对基因图谱分析时发现,原发性胃癌发生时,人染色体 21q22 常有复位基因的缺失,而此位点正是 TFF1 的基因所处位置,表明 TFF1 在胃癌发生的早期起作用,进而可能影响相关癌基因及抑癌基因的改变,促进胃癌的发生。本研究结果显示在正常胃黏膜组织、癌旁组织、胃癌组织中,TFF1 表达呈逐渐减弱趋势,差异有统计学意义($P<0.01$)。

Milne 等^[9]研究发现在传统胃癌组织中 COX-2 过表达而 TFF1 表达缺失,提示 2 种分子之间可能存在相互作用并引起 TFF1 的下调、COX-2 的上调以及通过 2 种分子所特有的途径共同在胃癌的发生、发展中发挥作用。Regalo 等^[10]研究证实,C/EBP- β 作为 COX-2 的一个转录因子,通过其与 COX-2 的关系而在胃癌的发生中扮演重要角色。而现已知 C/EBP- β 是 TFF1 下调的一个转录因子^[11]。有研究发现 TFF1 可通过依

赖 src 的自体活化环调控前列腺素和 TXA-2 表达,抑制 COX-2 能阻断 TXA-2R 途径,抑制 TFF1 诱导的侵袭和血管生成^[12]。本研究相关性分析显示 TFF1 与 COX-2 的表达呈负相关($r=-0.891, P<0.01$),可认为在胃癌的发生过程中,TFF1 和 COX-2 之间可能存在相互作用或是通过 2 种分子共有的途径引起 TFF1 的下调、COX-2 的上调。COX-2 的表达增加可抑制 TFF1 的表达,使 TFF1 表达减弱,细胞增殖与凋亡失衡,最终导致胃癌的发生。

参考文献:

- [1] Tsujii M, DuBois RN. Alteration in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2[J]. Cell, 1995, 83(3): 493.
- [2] Jones MK, Wang H, Peskar BW, et al. Inhibition of angiogenesis by non-steroid anti-inflammatory drugs: insight into mechanisms and implications for cancer growth and ulcer healing[J]. Nat Med, 1999, 5: 1418.
- [3] Tsujii M, Kawano S, Du Bois RN, et al. Cyclooxygenase-2 expression in human colon cancer cells increases metastatic potential[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94(7): 3336.
- [4] 马丹, 刘敏, 梁平, 等. COX-2 在人胃癌中的表达及与胃癌临床病理特征的关系[J]. 重庆医学, 2009, 38(3): 290.
- [5] Masiakowski P, Breathnach R, Bloch J, et al. Cloning of cDNA sequences of hormone-regulate genes form the MCF-7 human breast cancer cell line[J]. Nucleic Acids Res, 1982, 10(24): 7895.
- [6] Luqmani Y, Bennett C, Paterson I, et al. Expression of the pS2 gene in normal, benign and neoplastic human stomach[J]. Int J Cancer, 1989, 44(5): 806.
- [7] Leung WK, Yu J, Chan FK, et al. Expression of trefoil peptides (TFF1, TFF2, TFF3) in gastric carcinomas, intestinal metaplasia, and non-neoplastic gastric tissues[J]. J Pathol, 2002, 197(5): 582.
- [8] Park WS, Oh RR, Park JY, et al. Mapping of a new target region of allelic loss at 21q22 in primary gastric cancers[J]. Cancer Lett, 2000, 159(1): 15.
- [9] Milne AN, Carvalho R, Morsink FM, et al. Early-onset gastric cancers have a different molecular expression profile than conventional gastric cancers[J]. Mod Pathol, 2006, 19(4): 564.
- [10] Regalo G, Canedo P, Suriano G, et al. C/EBP beta is overexpressed in gastric carcinogenesis and is associated with COX-2 expression[J]. J Pathol, 2006, 210(4): 398.
- [11] Sankpal NV, Moskaluk CA, Hampton GM, et al. Overexpression of C/EBP beta correlates with decreased TFF1 in gastric cancer[J]. Oncogene, 2006, 25(4): 643.
- [12] Rodrigues S, Nguyen QD, Faivre S, et al. Activation of cellular invasion by trefoil peptides and src is mediated by cyclooxygenase-2 and thromboxane A2 receptor-dependent signaling pathways[J]. FASEB J, 2001, 15(9): 1517.