

· 论 著 ·

TGF- β 1、T β R II 及 P38 蛋白在胃癌发生发展中的意义冯传波, 夏春咸[△], 何治军, 邵 华, 苗永昌

(蚌埠医学院附属连云港医院, 江苏 连云港 222002)

摘 要:目的 检测 TGF- β 1、T β R II 和 P38 蛋白在不同时期胃癌组织中的表达,探讨它们在胃癌发生、发展中的意义。方法 采用免疫组化 SP 法检测 60 例胃癌、15 例胃腺瘤及 30 例正常胃组织中 TGF- β 1、T β R II 和 P38 蛋白的表达情况。结果 胃癌组织中 TGF- β 1、P38 蛋白的表达高于正常胃组织, T β R II 在胃癌组织中的表达低于正常胃组织, 它们在胃腺瘤中的表达介于胃癌和正常胃组织之间。TGF- β 1 和 P38 蛋白两者在胃癌中表达水平成正相关 ($P < 0.05$), TGF- β 1 与 T β R II 及 T β R II 与 P38 蛋白之间在胃癌中表达均为负相关 ($P < 0.05$)。TGF- β 1 和 P38 的表达与胃癌浸润深度、临床分期及有无淋巴结转移相关 ($P < 0.05$), T β R II 的表达与胃癌分化程度、浸润深度、临床分期以及有无淋巴结转移相关 ($P < 0.05$)。结论 TGF- β 1、T β R II 和 P38 蛋白的表达与胃癌的发生、发展、生物学行为及预后密切相关, 检测 TGF- β 1、T β R II 和 P38 蛋白的表达对于胃癌的早期诊断及评估预后有重要意义。

关键词: 胃癌; 转化生长因子- β 1; 转化生长因子受体 II; P38; 免疫组织化学

中图分类号: R735.2

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)12-1511-03

Significance of TGF- β 1, T β R II and P38 in the occurrence and development for gastric carcinomaFENG Chuan-bo, XIA Chun-xian[△], HE Zhi-jun, et al.

(Department of General Surgery, Lianyungang Hospital of Bengbu Medical College, Lianyungang, Jiangsu 222002, China)

Abstract: **Objective** To study the expression of TGF- β 1, TGF- β II and p38 in the different stages of gastric carcinoma and evaluate their significance in pathogenesis and development of gastric carcinoma. **Methods** Immunohistochemical SP method was used to examine the expression TGF- β 1, T β R II and P38 in 60 cases of gastric carcinoma, 15 cases of gastric adenoma, and 30 cases of normal gastric tissues. **Results** Compared with those in normal gastric tissues, the expression levels of TGF- β 1 and P38 increased in the gastric carcinoma, while that of T β R II decreased. The expression of TGF- β 1 correlated positively with that of P38 in the gastric carcinoma, there exist a negative correlation of the positive expression between TGF- β 1 and T β R II ($P < 0.05$), and there also exist a negative correlation of the positive expression between T β R II and P38 ($P < 0.05$). The expression of TGF- β 1 and P38 is related with invasion depth, clinical stage and lymphatic metastases. The expression of T β R II is related with histological differentiation, invasion depth, clinical stage and lymphatic metastases. **Conclusion** The expression of TGF- β 1, T β R II and P38 is correlated with the development, biologic behavior and prognosis of gastric carcinoma. Determination of TGF- β 1, T β R II and P38 is very helpful in early diagnosis and evaluating the prognosis of gastric carcinoma.

Key words: gastric carcinoma; TGF- β 1; TGF- β R II; P38MAPK; immunohistochemistry

现代研究进展表明,肿瘤是多基因变化引起细胞周期紊乱,细胞失控性生长所导致的一类疾病。胃癌是最常见的恶性肿瘤之一,它的病因相当复杂,与多种因素有关,其中相关分子的信号转导通路在胃癌的发生、发展、浸润和转移过程具有重要意义。本研究通过对转化生长因子- β 1 (TGF- β 1)、TGF- β II 型受体(T β R II)和 P38 蛋白在胃癌中的表达情况进行分析,以探讨它们在胃癌发生发展中的意义。

1 材料与方法

1.1 材料 60 例胃癌标本来源于连云港市第二人民医院 2006 年 1 月至 2008 年 8 月手术患者,所有病例均经病理组织学证实,其中男 40 例,女 20 例,年龄 38~79 岁,中位年龄 64 岁。按照组织学分级分为分化较好组 36 例(高分化+中分化组)、分化较差组 24 例(低分化组),按照癌细胞的浸润深度分为癌细胞侵及浆膜层及以上组 42 例,未侵及浆膜层组 18 例,按照有无淋巴结转移分为有淋巴结转移组 37 例,无淋巴结转移组 23 例,按 TNM 分期可以分为 I 期+II 期组 17 例,III 期+IV 期组 43 例。15

例胃腺瘤标本均经过病理学证实。正常胃组织取自切端胃黏膜,经病理镜检证实无癌组织及癌前病变存在。

1.2 主要试剂和方法 兔抗人 TGF- β 1、T β R II、P38 多克隆抗体购于武汉博士德生物公司,SP 试剂盒、DAB 染色剂购于上海长岛生物技术有限公司。采用免疫组化 SP 法检测转化 TGF- β 1、T β R II 和 P38 蛋白在 60 例胃癌组织、15 例胃腺瘤和 30 例正常胃组织标本中的不同表达情况。操作步骤严格按照说明书进行,阴性对照为 PBS 代替一抗的空白对照,阳性对照为已知明确阳性的乳腺癌组织。

1.3 染色结果判定 免疫组化结果通过双盲法经 2 位有经验的病理科专家独立评估。TGF- β 1、T β R II 蛋白主要分布于胞浆,P38 蛋白表达主要分布于胞浆,部分分布于胞核。按细胞免疫组化染色深浅打分:无显色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。高倍镜下计数 5 个视野中 1 000 个细胞,按阳性率打分:阴性为 0 分,阳性细胞率 $< 10\%$ 为 1 分, $11\% \sim 50\%$ 为 2 分, $> 50\%$ 为 3 分。染色强度与阳性细胞率的

[△] 通讯作者, E-mail: xiayouyou@yahoo.com.cn.

表 1 TGF-β1、TβR II 及 P38 蛋白表达水平与胃癌临床病理因素的关系

临床病理因素	n	TGF-β1		阳性率 (%)	χ ²	P	TβR II		阳性率 (%)	χ ²	P	P38		阳性率 (%)	χ ²	P
		+	—				+	—				+	—			
年龄(岁)																
≥64	34	22	12	64.71	0.064	0.801	17	17	50.00	0.350	0.554	33	1	97.06	1.750	0.186
<64	26	16	10	61.54			11	15	42.31			23	3	88.46		
性别																
男	44	27	17	61.36	0.276	0.600	20	24	45.46	0.097	0.755	42	2	95.46	0.257	0.612
女	16	11	5	68.75			8	8	50.00			14	2	87.50		
分化程度																
高+中分化	36	20	16	55.56	2.344	0.126	21	15	58.33	4.922	0.027	35	1	97.22	0.904	0.342
低分化	24	18	6	75.00			7	17	29.17			21	3	87.50		
浸润深度																
达浆膜层	42	33	9	78.57	13.999	0.000	15	27	35.71	6.747	0.009	42	0	100.00	6.747	0.009
未达浆膜层	18	5	13	27.78			13	5	72.22			14	4	77.78		
淋巴结转移																
有	37	30	7	81.08	13.092	0.000	12	25	32.43	7.858	0.005	37	0	100.00	4.383	0.036
无	23	8	15	34.78			16	7	69.57			19	4	82.61		
临床分期																
I+II	17	5	12	29.41	11.754	0.001	14	3	82.35	12.137	0.000	13	4	76.47	7.389	0.007
III+IV	43	33	10	76.74			14	29	32.56			43	0	100.00		

乘积:≤2 分为(-),≥3 分为(+).

1.4 统计学方法 所有资料均采用 SPSS17.0 统计软件包进行统计学分析,对所得数据进行 χ² 检验或 Fisher 确切概率法做组间阳性表达率的比较分析,检验水准取 α=0.05(文中另有说明除外)。采用 Spearman 非参数相关检验做相关性分析。

2 结 果

2.1 TGF-β1、TβR II 及 P38 与胃癌病理特征的关系(表 1) 分析显示,胃癌组织中 TGF-β1、TβR II 及 P38 表达水平与浸润深度、有淋巴结转移以及临床分期均有相关性(P<0.05),而与年龄及性别均无相关性(P>0.05),TGF-β1、P38 表达水平和分化程度无相关性(P>0.05),而 TβR II 表达水平则与分化程度相关(P<0.05)。

2.2 TGF-β1、TβR II 及 P38 与胃癌、胃腺瘤及正常胃组织的关系(彩插 II 图 1)。

2.2.1 TGF-β1 与胃癌、胃腺瘤及正常胃组织的关系 TGF-β1 的阳性染色主要见于癌组织,胃癌中 TGF-β1 的阳性表达率为 63.33%,胃腺瘤中的阳性表达率为 53.33%,正常胃组织中的阳性表达率为 36.67%。TGF-β1 在胃癌中高表达,与胃腺瘤的比较差异无统计学意义(P>0.017),与正常胃组织的比较差异有统计学意义(P=0.017),胃腺瘤与正常胃组织的比较差异无统计学意义(P>0.017)。涉及多个率的多重比较时,要对原来的检验水准 α(0.05)进行校正,本例校正后的 α=0.017,大于该数认为差异无统计学意义。

2.2.2 TβR II 与胃癌、胃腺瘤及正常胃组织的关系 TβR II 的阳性染色主要见于正常胃组织,胃癌中 TβR II 的阳性表达率为 46.67%,胃腺瘤中的阳性表达率为 60.00%,正常胃组织

中的阳性表达率为 93.33%。TβR II 在正常胃组织中高表达,与胃癌的比较差异有统计学意义(P<0.017),与胃腺瘤的比较差异无统计学意义(P>0.017),胃癌与胃腺瘤的比较差异无统计学意义(P>0.017)。

2.2.3 P38 与胃癌、胃腺瘤及正常胃组织的关系 P38 的阳性染色主要见于癌组织,胃癌中 P38 的阳性表达率为 93.33%,胃腺瘤中的阳性表达率为 80.00%,正常胃组织中的阳性表达率为 40.00%。P38 在胃癌中高表达,与胃腺瘤的比较差异无统计学意义(P>0.017),与正常胃组织的比较差异有统计学意义(P<0.017),胃腺瘤与正常胃组织的比较差异有统计学意义(P<0.017)。

2.3 TGF-β1、TβR II 及 P38 表达水平的相关性(表 2) 采用 Spearman 非参数相关检验做相关性分析显示,TGF-β1 与 TβR II 在胃癌和正常胃组织中表达均有相关性(P<0.05),在胃腺瘤中这二者表达无相关性(P>0.05)。TGF-β1 与 P38 在这三种组织中表达均有相关性(P<0.05)。TβR II 与 P38 在胃癌组织中表达有相关性(P<0.05),而在胃腺瘤和正常胃组织中表达均无相关性(P>0.05)。

表 2 TGF-β1、TβR II 及 P38 蛋白表达水平的相关性

组织学分型	n	TGF-β1 vs TβR II		TGF-β1 vs P38		TβR II vs P38	
		r	P	r	P	r	P
胃癌	60	-0.328	0.010	0.351	0.006	-0.316	0.014
胃腺瘤	15	-0.218	0.435	0.535	0.040	-0.418	0.131
正常胃组织	30	-0.400	0.029	0.559	0.001	-0.138	0.466

3 讨 论

胃癌的发生是一个多基因、多途径相互作用的过程, TGF- β 1 信号转导通路的异常是胃癌发生、发展以及浸润和转移的重要因素, Liang 等^[1]通过研究认为 P38 信号转导通路的激活与胃癌的形成有密切的关系。本研究结果显示 TGF- β 1 与 P38 蛋白在胃癌组织中高表达, T β R II 则低表达, 与正常胃组织相比, 差异均有统计学意义 ($P < 0.017$), 而在胃腺瘤中三者表达介于胃癌与正常胃组织之间。这些结果提示 TGF- β 1 和 P38 蛋白的增加及 T β R II 的减少可能在胃癌的形成过程中发挥重要作用。

到目前为止, 对于 TGF- β 1 与胃癌的生物学行为有无相关性, 能否促进胃癌发生和转移的研究仍有分歧, 国内有研究发现, TGF- β 1 的表达与胃癌组织分化程度、浸润深度、有无淋巴结转移相关^[2-3]。另外国外有文献报道^[4-5], TGF- β 1 增加与肿瘤生物学行为无相关性。本实验研究发现, 在胃癌组织中 TGF- β 1、T β R II 及 P38 蛋白之间均有相关性 ($P < 0.05$)。另外本研究还提示在胃癌组织中 TGF- β 1、T β R II 及 P38 表达水平与年龄及性别均无相关性 ($P > 0.05$), 而与浸润深度、有无淋巴结转移以及临床分期均有相关性 ($P < 0.05$), 提示这三者在胃癌的发生、发展及转移过程中起到重要作用。作者认为胃癌组织中 TGF- β 1 及 P38 蛋白表达增多的原因是由于 T β R II 表达减少导致二者反馈性升高, 同时推断由于 T β R II 的减少, 导致增加的 TGF- β 1 所产生的抑制肿瘤细胞生长的信号不能传递到胞内, 从而导致肿瘤的发生、发展。有研究认为^[6], 肿瘤晚期 TGF- β 1 可诱导表达 VEGF、金属蛋白酶 MMP-2 和 MMP-9, 负调控金属蛋白酶抑制因子, 从而提供蛋白酶丰富的微环境, 有利于肿瘤细胞的迁移和浸润到适当的血管上皮细胞, 这与本实验中 TGF- β 1 在有无淋巴结转移的胃癌组织中的表达差异有统计学意义 ($P < 0.05$) 的结果是一致的。但在胃癌组织中只有 T β R II 表达水平与分化程度有相关性 ($P < 0.05$), 而 TGF- β 1、P38 表达水平和分化程度无相关性 ($P > 0.05$), 故 TGF- β 1、T β R II 及 P38 蛋白在胃癌组织分化过程中的确切作用有待于进一步探讨。

细胞的失控性增殖是肿瘤组织最显著的特点, 有研究表明^[7-10], TGF- β 1 信号转导通路与其他信号转导通路如 (P38MAPK 通路) 之间存在着串话现象 (Cross-talk) 现象, 结合本实验, 作者认为 TGF- β 1 通过 T β R II、P38 传递信号的通路可成为包括胃癌在内的各类恶性肿瘤诊断、治疗的新靶点, 这与 Deacu 等^[11]研究表明 T β R II 基因转入肿瘤细胞后可抑制其生长, 说明 T β R II 具有潜在的肿瘤治疗意义的结果是一致的。

综上所述, TGF- β 1 和 P38 的高表达与 T β R II 的低表达与胃癌的发生、发展以及恶性程度是密切相关的, 三者均可作为独立反映胃癌生物学行为的指标, 临床上同时分析这些标志物

在肿瘤细胞中的表达, 有助于判断胃癌的病理学分级, 并有助于进一步评估预后及指导临床治疗。

参考文献:

- [1] Liang B, Wang S, Zhu XG, et al. Increased expression of mitogen-activated protein kinase and its upstream regulating signal in human gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11: 623.
- [2] 唐华, 张才全. 胃癌 TGF- β 1 蛋白表达及与细胞增殖和血管生成的关系[J]. 重庆医学, 2004, 33(7): 1020.
- [3] 王先升, 陈建, 周涛, 等. TGF- β 1 在胃癌中的表达及意义[J]. 山东医药, 2006, 46(16): 49.
- [4] Von Rahden BH, Stein HJ, Feith M, et al. Overexpression of TGF-beta1 in esophageal Barrett's adenocarcinoma is associated with advanced stage of disease and poor prognosis[J]. MolCarcinog, 2006, 45(10): 786.
- [5] Shariat SF, Meneses-Diaz A, Kim IY, et al. Tissue expression of transforming growth factor-beta1 and its receptors: correlation with pathologic features and biochemical progression in patients undergoing radical prostatectomy[J]. Urology, 2004, 63 (6): 11912.
- [6] Pasche B. Role of transforming growth factor beta in cancer[J]. J Cell Physiol, 2001, 186(2): 153.
- [7] Javelaud D, Mauviel A. Cross talk mechanisms between the mitogen-activated protein kinase pathways and Smad signaling downstream of TGF-beta: implications for carcinogenesis[J]. Oncogene, 2005, 24(37): 5742.
- [8] Furukawa F, Matsuzaki K, Mori S, et al. P38MAPK mediates fibrogenic signal through Smad3 phosphorylation in rat myofibroblasts[J]. Hepatology, 2003, 38(4): 879.
- [9] Noht U, Tuli R, Seghatolleslami R, et al. Activation of p38 and Smads mediates BMP-2 effects on human trabecular bone-derived osteoblasts[J]. Exp Cell Res, 2003, 291(1): 201.
- [10] Fu Y, O'Connor LM, Shepherd TG, et al. The P38 MAPK inhibitor, PD169316, inhibits transforming growth factor beta-induced Smad signaling in human ovarian cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 310(2): 391.
- [11] Deacu E, Mori Y, Sato F, et al. Activin type II receptor restoration in ACVR2-deficient colon cancer cells induces transforming growth factor-beta response pathway genes[J]. Cancer Res, 2004, 64(21): 7690.

(收稿日期: 2009-05-06 修回日期: 2009-11-29)

(上接第 1510 页)

LR, et al. Regulation of GLUT-3 glucose transporter in the hippocampus of diabetic rats subjected to stress[J]. Am J Physiol, 1999, 276(5Pt1): E879.

[19] Miyazawa T, Hossmann KA. Methodological requirement

for accurate measurement of brain and body temperature during global fore brain ischemia of rat[J]. J Cereb Flow Metab, 1996, 12: 817.

(收稿日期: 2009-09-21 修回日期: 2009-11-20)