

三叶因子 1 表达与胃黏膜损伤及胃癌的关系

任建林 卢雅丕 陈建民 王琳 叶震世 施华秀 吴艳环 钟燕 罗金燕

【摘要】 目的 测定三叶因子 1(TFF1)在正常及病理条件下胃黏膜中的表达情况,探讨 TFF1 在胃黏膜损伤修复及胃癌抑制中的作用及意义。方法 应用免疫组化方法测定正常及不同病理条件下胃黏膜中 TFF1 的表达情况,通过图像分析软件分析阳性信号平均吸光度值以了解其表达情况。结果 胃炎、胃溃疡及十二指肠球部溃疡患者 TFF1 表达明显高于正常胃黏膜($0.51 \pm 0.05, 0.51 \pm 0.06, 0.50 \pm 0.06$ 比 0.44 ± 0.06 ; P 值均 <0.01)。胃腺癌患者癌旁组织表达(0.51 ± 0.07)明显高于正常胃黏膜,而腺癌组织的表达强度则与癌组织的分化程度呈正比,分化程度愈低,表达愈弱,低分化腺癌无阳性表达,中、高分化腺癌表达(0.41 ± 0.07)略低于正常黏膜,但差异无显著性($P > 0.05$)。结论 TFF1 表达随黏膜损伤程度的加重而表达增强,提示其在胃黏膜保护及促进上皮重建机制中具有一定的作用。TFF1 在癌旁组织中表达增强提示其可能与肿瘤抑制及分化机制有关,而在癌组织中表达减弱可能与其分泌减少有关。

【关键词】 三叶因子 1;胃黏膜保护;上皮重建;肿瘤抑制

Relationship between trefoil factor 1 expression and gastric mucosa injuries as well as gastric cancer REN Jianlin, LU Yapi, CHEN Jianmin, et al. Department of Gastroenterology, First Clinical Medical College, Xiamen University, Xiamen 361004, China

【Abstract】 Objective To determine whether trefoil factor 1 (TFF1) could be associated with healing of gastric mucosa and differentiation of gastric carcinoma. **Methods** TFF1 in normal and various pathologic gastric mucosa was assessed by immunohistochemical method and analyzed with Motic Images Advanced 3.0 software. **Results** Compared with normal mucosa, increased TFF1 was detected in gastritis, gastric ulcer and duodenal ulcer. TFF1 was in increased expression in multiple and compound ulcer than simple ulcer. There was no significant difference among gastric ulcer, duodenal ulcer, gastritis and simple ulcer. Increased TFF1 was detected in peripheral mucosa of the gastric adenocarcinoma as compared with normal mucosa. The expression of TFF1 in gastric adenocarcinoma was related to the differentiation of adenocarcinoma, that is, the more poorly differentiated, the lower expression of TFF1. **Conclusion** TFF1 may play a significant role in gastric mucosa protection and epithelial restitution. TFF1 may also contribute to the differentiation of gastric adenocarcinoma.

【Key words】 Trefoil factor 1; Gastric mucosa protection; Epithelial restitution; Carcinoma Suppression

三叶因子 1(trefoil factor 1, TFF1)是三叶因子家族成员之一。三叶因子家族是一群主要由胃肠道黏液细胞分泌的小分子多肽。在正常组织中, TFF1 主要在胃体及胃窦黏膜上皮表面细胞表达,当胃肠道黏膜发生损伤时,这种表达专一性消失,可在整个胃肠黏膜损伤部位表达,且较正常黏膜表达明显升高。为此,我们采用免疫组化方法研究 TFF1 在生理及不同病理条件下胃黏膜中的表达情况,以期揭

示其在维护胃黏膜完整性和连续性及肿瘤抑制中的作用。

材料与方法

1. 材料:本院 2002 年 1 月~12 月间存档的胃镜活检及胃癌根治术后标本蜡块 202 例,年龄 40~70 岁。其中,正常胃窦黏膜 35 例,胃镜检查均示正常胃黏膜,病理示轻度慢性浅表性胃炎;胃炎患者胃窦黏膜 18 例,胃镜下可见胃黏膜充血、糜烂,病理示中~重度慢性浅表性胃炎;胃溃疡患者溃疡周围黏膜 35 例;十二指肠球部溃疡患者胃窦黏膜 37 例;多发/复合性溃疡患者溃疡周围黏膜 19 例;胃腺癌患

作者单位:361000 厦门大学医学院第一临床学院消化内科(任建林、卢雅丕、陈建民、王琳、叶震世、施华秀、吴艳环、钟燕);西安交通大学第二医院消化科(罗金燕)

者胃癌及癌旁组织 38 例;食管鳞癌患者癌及癌旁组织 20 例。

2. 试剂:鼠抗人 TFF1 单克隆抗体、S-P 超敏试剂盒及 DAB 显色试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司。

3. 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。常规脱蜡至水,采用 S-P 法染色,DAB 显色,苏木精复染,吹干,具体操作按 S-P 试剂盒说明书进行。阴性对照采用 PBS 代替一抗,余步骤相同。

4. 结果评估:每张切片于 100 × 高倍镜下显微照相,阳性细胞胞质为棕黄色,随机选取 20 个腺体,采用 Motic Imaged Advanced 3.0 图像分析软件检测其阳性信号平均吸光度值以反映 TFF1 表达的强弱,吸光度值越高,TFF1 的表达就越强。采用 SPSS10.0 统计分析软件进行分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验。

结 果

TFF1 主要在胃黏膜腺体细胞质中表达,核周聚集最明显,阳性染色呈棕黄色,越接近腔面的细胞阳性染色越深,同一胃多发性溃疡患者在不同部位溃疡周围黏膜染色强弱无明显差异,说明在同一个体胃黏膜腺体中,TFF1 表达不因部位不同而改变。

胃炎、胃溃疡及十二指肠球部溃疡患者黏膜 TFF1 吸光度值明显高于正常胃窦黏膜,差异具有显著性 ($P < 0.001$);多发/复合性溃疡患者溃疡周围黏膜阳性信号平均吸光度值高于单发的胃溃疡或十二指肠球部溃疡,差异有显著性 ($P < 0.05$);胃腺癌患者癌旁组织黏膜表达明显高于正常胃窦黏膜,差异有显著性 ($P < 0.001$),但胃癌组织 TFF1 的表达则减少或缺如,其表达强度与癌组织的分化程度呈正比,分化程度愈低,表达愈弱,其中低分化腺癌均未见阳性表达,中、高分化腺癌 TFF1 表达略低于正常黏膜,但差异无显著性 ($P > 0.05$)。食管癌及癌旁组织均无阳性表达。见表 1。

讨 论

国内外大量实验证明,三叶肽在胃肠道黏膜保护中发挥重要作用。其作用机制目前有 2 种假说:

与黏液中的糖蛋白结合形成稳定的凝胶复合物,加强黏液凝胶层,减少胃表面有害物质及机械应力等因素对黏膜的损伤。Polshakov 等^[1]发现,在三叶肽第 2、3 环之间有一个 6A 的裂隙,裂隙周围的氨

表 1 TFF1 在生理及不同病理条件下胃黏膜中的表达

临床分类	例数	平均吸光度值
正常黏膜	35	0.44 ± 0.06
胃炎	18	0.51 ± 0.05 *
胃溃疡	35	0.51 ± 0.06 * #
十二指肠球部溃疡	37	0.50 ± 0.06 * #
多发性/复合性溃疡	19	0.54 ± 0.05
低分化胃癌	27	未表达
中、高分化胃癌	11	0.41 ± 0.07
胃癌旁组织	38	0.51 ± 0.07 *
食管癌	20	未表达
食管癌旁组织	20	未表达

注: * 与正常黏膜比较, $P < 0.01$; # 与多发性/复合性溃疡比较, $P < 0.05$

基酸均高度保守,形成一个疏水区域,这可能为黏液糖蛋白中的寡聚糖链或某些蛋白的疏水性侧链提供一个结合位点而发挥其生理功能。另外,TFF1 与黏液素的共同分泌亦证明了这一观点^[2]。三叶肽可能通过与其受体或转运蛋白结合而发挥生理功能。Newton 等^[3]发现,TFF1 在正常胃黏膜中有 3 种形式:单聚体、二聚体及一种相对分子质量为 25 000 的 TFF1 复合物。其中,TFF1 复合物浓度最高,而二聚体仅少量存在。已有大量实验证明,TFF1 二聚体在细胞迁移及黏膜保护方面较单聚体有更强的生物活性,而实验中发现二聚体含量甚微,由此推测该 25 000 的 TFF1 复合物可能由 TFF1 与某种蛋白结合而成,且发挥重要的生物作用,这一蛋白可能是 TFF1 受体或转运蛋白。

除保护作用外,一系列的实验已证明三叶肽也参与了损伤组织的上皮重建过程,即可能增强受损黏膜周围完好的上皮细胞向损伤黏膜表面迁移覆盖,促进损伤黏膜的修复。许多学者研究发现,在胃肠道慢性溃疡(如克罗恩病、溃疡性结肠炎、胃十二指肠溃疡等)周围有一种溃疡相关细胞系(ulcer associated cell lineage, UACL),在此细胞系中三叶因子表达明显上调,且与黏液素的表达明显相关^[4]。本实验中,胃炎及消化性溃疡 TFF1 表达较正常黏膜明显升高验证了这一观点。其中,多发/复合性溃疡表达较单发消化性溃疡表达升高提示胃黏膜损伤愈重,TFF1 表达上调愈明显。

在多种恶性肿瘤组织中均可见三叶肽表达上调,因此,肿瘤形成导致三叶肽过度表达或是三叶肽的过度表达导致肿瘤形成一度成为研究热点。

TFF1 基因敲除小鼠模型中,所有小鼠胃上皮细胞均表现为严重增生、高度发育不良及胃窦部腺瘤形成,部分发展为胃浸润型腺癌^[5]。另有研究发现,TFF1 可抑制胃腺癌细胞系 AGS 增殖,且其抑制作用呈剂量依赖性。其中,TFF1 二聚体较单聚体具有更显著的生物活性^[6]。这提示 TFF1 是一种肿瘤抑制因子。在本试验中,胃癌旁组织 TFF1 较正常明显升高,说明 TFF1 与肿瘤抑制作用有关,肿瘤形成促进机体分泌 TFF1 增多以抑制肿瘤生长。而癌组织表达减少或缺如,且分化程度越低表达越弱,考虑原因:某种原因引起 TFF1 表达减少而导致癌形成;癌组织腺体及细胞破坏,TFF1 的分泌减少。分化程度越低,腺体及细胞破坏越明显,TFF1 分泌越少,表达越弱。中、高分化腺癌患者表达略低于正常黏膜,但差异无显著性,考虑可能与样本量较少有关。另外,本试验还测定了 20 例食管癌组织及癌旁组织的 TFF1 表达,结果均为阴性,故考虑食管黏膜不表达三叶因子,食管癌的发生及抑制机制均与三叶因子无关。关于三叶肽与肿瘤的关系及其作用机制,目前尚无定论,需进一步研究明确。

参考文献

- 1 Polshakov VI, Williams MA, Gargaro AR, et al. High-resolution structure of human pNR-2/pS2: a single trefoil motif protein. *J Mol Biol*, 1997, 267: 418-432.
- 2 Wright NA, Poulson R, Stamp G, et al. Trefoil peptide gene expression in gastrointestinal epithelial cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 1993, 104: 12-20.
- 3 Newton JL, Allen A, Westley BR, et al. The human trefoil peptide, TFF1, is present in different molecular forms that are intimately associated with mucus in normal stomach. *Gut*, 2000, 46: 312-320.
- 4 Longman RJ, Douthwaite J, Sylvester PA, et al. Coordinated localization of mucins and trefoil peptides in the ulcer associated cell lineage and the gastrointestinal mucosa. *Gut*, 2000, 47: 792-800.
- 5 Lebevre O, Chenard MP, Masson R, et al. Gastric mucosa abnormalities and tumorigenesis in mice lacking the pS2 trefoil protein. *Science*, 1996, 274: 259-262.
- 6 Calnan DP, Westley BR, May FE, et al. The trefoil peptide TFF1 inhibits the growth of the human gastric adenocarcinoma cell line AGS. *J Pathol*, 1999, 188: 312-317.

(收稿日期:2003-03-19)

(本文编辑:沈洁)

病例报告

多发性海绵状血管瘤致下消化道出血 30 年一例

冯秀琼 陈文海

患者女,32 岁,因反复解鲜血便 30 年,加重 3 d 入院。患者自 1 岁左右开始反复解血便,每周 1~5 次不等,开始时量少,每次约 5~10 ml,随着年龄增长,出血次数渐频,出血量渐多,因经济原因限制,未引起重视。直到剖腹产时发现腹腔巨大海绵状血管瘤及脾肿大,在行脾切除术后未作其他处理。入院检查:体温、脉搏、呼吸、血压均正常,消瘦,中度贫血貌,心肺检查无异常,肝肋下未及,下腹部可触及约 20.0 cm × 20.0 cm × 6.8 cm 包块,活动性差,轻度触痛。B 超:腹腔巨大网络样包块(血管瘤),位于剑突下与耻骨上之间,约 23.0 cm × 20.0 cm × 6.4 cm,内部结构紊乱,形态不规则,边界不清,内可见动脉血流信号。肠镜:在降结肠、乙状结肠、

直肠中上段见 2~3 个直径 1.0~1.5 cm 大小红色血管瘤,个别血管瘤皮层糜烂渗血。入院时患者处于重度贫血状态,经输血、补液、止血等处理后未能止血,采用直肠内冰冻止血药灌注后止血。

讨论 本例患者自 1 岁起病,反复下消化道出血 30 年。以此为表现的腹腔内、肠腔内多发性海绵状血管瘤较为少见。剖腹产时发现腹腔巨大网络样血管瘤,但因体积过大而未能手术。近几年反复多次出现血便,海绵状血管瘤逐渐增大,止血效果欠佳。

(收稿日期:2003-07-21)

(本文编辑:杨学文)