

TGF- α 和Cyclin E在中医不同证型患者胃病变组织中的表达及相关性

梁卫江, 马业俊, 阎曦, 张万岱, 罗荣城

梁卫江, 罗荣城, 南方医科大学南方医院肿瘤中心 广东省广州市 510515
马业俊, 阎曦, 张万岱, 南方医科大学南方医院消化科 广东省广州市 510515
作者贡献分布: 梁卫江对本课题作主要贡献; 张万岱指导课题研究并提供经费和实验支持; 病例及标本收集由马业俊和阎曦完成; 罗荣城对文章内容进行审阅并修改。
通讯作者: 张万岱, 510515, 广东省广州市广州大道北1838号, 南方医科大学南方医院消化科. zhangwdcn@163.com
电话: 020-61641547 传真: 020-87280770
收稿日期: 2008-03-08 修回日期: 2008-04-07

Expression of transforming growth factor α and Cyclin E and their correlation in chronic gastric lesion tissues from patients with different TCM types

Wei-Jiang Liang, Ye-Jun Ma, Xi Yan, Wan-Dai Zhang, Rong-Cheng Luo

Wei-Jiang Liang, Rong-Cheng Luo, Cancer Center, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Ye-Jun Ma, Xi Yan, Wan-Dai Zhang, Department of Digestive Diseases, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Correspondence to: Wan-Dai Zhang, Department of Digestive Disease, Nanfang Hospital, Southern Medical University, 1838 Guangzhou Road, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. zhangwdcn@163.com
Received: 2008-03-08 Revised: 2008-04-07

Abstract

AIM: To explore the expression of transforming growth factor α (TGF- α) and Cyclin E in chronic gastric lesion tissues from patients with different types of traditional Chinese medicine (TCM), and analyze the correlation between TGF- α and Cyclin E expression.

METHODS: The patients ($n = 135$) with chronic gastric diseases were classified to 4 groups according to different TCM types such as disharmony between liver and stomach (group A), spleen-stomach cold deficiency (group B), stomach-yin deficiency

(group C), and mixed cold and heat (group D). Immunohistochemical staining was used to examine the expression of TGF- α and Cyclin E in the lesion tissues and the correlation between TGF- α and Cyclin E expression was also assessed.

RESULTS: The positive rates of TGF- α expression in the lesion tissues of group A, B, C and D were 25.0%, 18.6%, 47.1% and 42.1%, respectively, and there was significant difference between group B and C ($P < 0.05$). The positive rates of Cyclin E expression were 20.0%, 7.0%, 26.5% and 31.6%, respectively, and there was marked difference between group B and D ($P < 0.05$). Both TGF- α and Cyclin E expression were the lowest in group B, and there existed a positive correlation between the expression of TGF- α and Cyclin E.

CONCLUSION: TGF- α and Cyclin E are differentially expressed in chronic gastric lesion tissues of patients with different TCM types, and the expression of TGF- α and Cyclin E are positively correlated.

Key Words: Chronic gastric diseases; Traditional Chinese medicine type; TGF- α ; Cyclin E

Liang WJ, Ma YJ, Yan X, Zhang WD, Luo RC. Expression of transforming growth factor α and Cyclin E and their correlation in chronic gastric lesion tissues from patients with different TCM types. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(12): 1355-1358

摘要

目的: 探讨中医不同证型患者的慢性胃病变组织中TGF- α 和Cyclin E表达的变化, 并分析两者表达的相关性。

方法: 慢性胃病患者(慢性良性胃病变和胃癌)135例, 按中医分为肝胃不和、脾胃虚寒、胃阴不足和寒热夹杂4种证型。对患者慢性胃病变组织进行TGF- α 和Cyclin E表达的免疫组化染色, 对两者在各中医证型中表达的阳性率进行比较, 并进一步分析TGF- α 和

■背景资料

在疾病的发生发展中, 患者常表现为不同的中医证型。探讨中医证型与机体病理生理改变的关系, 是提高中西医结合辨证施治疗效的重要途径之一。

■同行评议者

黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科; 王学美, 研究员, 北京大学第一医院中西医结合研究室

■研究前沿

研究中医证型与病变组织的分子病理变化的关系,是中医的现代医学基础研究热点之一。

Cyclin E表达的相关性.

结果: TGF- α 在4种中医证型中表达的阳性率分别为25.0%、18.6%、47.1%和42.1%,在胃阴不足型与脾胃虚寒型中的表达,有显著性差异($P<0.05$). Cyclin E表达的阳性率则分别为20.0%、7.0%、26.5%和31.6%,在寒热夹杂型与脾胃虚寒型中表达的,有显著性差异($P<0.05$). TGF- α 和Cyclin E表达均在脾胃虚寒型最低. TGF- α 和Cyclin E表达存在显著的正相关关系.

结论: 在中医不同证型患者中, TGF- α 和Cyclin E在胃病变组织中的表达存在差异, TGF- α 和Cyclin E的表达存在正相关关系.

关键词: 慢性胃疾病; 中医证型; 转化生长因子 α ; Cyclin E

梁卫江, 马业俊, 阎曦, 张万岱, 罗荣城. TGF- α 和Cyclin E在中医不同证型患者胃病变组织中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2008; 16(12): 1355-1358

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/1355.asp>

0 引言

在慢性胃疾病的发病过程中, 几乎都出现不同的中医证型. 探索其中医证型的现代医学基础, 是提高中西医结合辨证施治疗效的重要途径之一. 研究认为, 中医分型与慢性胃疾病的病理生理改变有一定关系^[1]. 转化生长因子 α (transforming growth factor alpha, TGF- α)是重要的胃肠道生长因子之一, 与胃肠道慢性疾病关系密切^[2]. 在炎症、损伤修复中其促上皮组织增生, 使细胞发生转化, 但有潜在的致癌危险. 已发现其在胃癌前病变及胃癌中有较高表达, 可促进胃癌的发生发展. Cyclin E是重要的细胞周期调节蛋白, 在细胞由G₁向S期进程中起主要作用, 其促进细胞增殖. 已发现某些肿瘤Cyclin E基因扩增或蛋白高表达, 对肿瘤的发生发展起着促进作用^[3]. 本研究旨在探讨中医证型与促进细胞增殖的TGF- α 和Cyclin E表达之间的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 南方医院就诊的慢性胃病患者135例, 男87例, 女48例. 年龄16-72岁, 中位年龄46岁, 其中慢性浅表性胃炎61例, 肠上皮化生25例, 不典型增生18例, 胃溃疡8例、胃癌23例. 标本为胃镜活检组织, 每例取3-5块病变组织, 经40 g/L甲醛固定、石蜡包埋、3 μ m连续切片, 进行HE染色

及病理学检查, 并确定所选组织与诊断无误, 然后进行TGF- α 和Cyclin E的免疫组化染色.

1.2 方法

1.2.1 中医分型: 根据临床症状按以下标准把患者分为四型^[1]: (1)肝胃不和型主症: 胃脘胀痛, 窜及两肋, 暖气、泛酸、纳差、善叹气; 舌淡红, 苔薄白或薄黄; 脉弦或沉弦. (2)脾胃虚寒型, 主症: 胃脘隐痛, 喜暖喜按, 空腹痛重, 得食痛减, 吐清水, 神倦, 便溏; 舌胖、有齿印, 苔薄白; 脉细或虚软无力. 胃口差, 食后腹胀, 口燥唇干, 消瘦乏力; 副症: 五心烦热, 大便干结, 舌红少苔, 脉细数. (3)胃阴不足型, 主症: 胃脘隐痛或灼痛, 口干舌燥, 喜冷饮, 失眠多梦, 大便干结; 舌红干, 少苔、无苔或剥脱苔; 脉细数. (4)寒热夹杂型, 主症: 胃脘隐痛或胀痛, 喜暖喜按, 暖气泛酸, 口干失眠, 大便干结或时干时稀; 舌红胖有齿印, 苔白黄相间或黄腻; 脉弦细数或滑数.

1.2.2 免疫组化染色: 组织切片经二甲苯、梯度酒精脱蜡至水后, 浸入3 g/L H₂O₂内15 min, 以阻断内源性过氧化酶活性; 对TGF- α 抗原进行微波15 min修复; 山羊血清封闭10 min; 加一抗TGF- α (mAb, 武汉博士德生物工程公司, 1:50)或Cyclin E(pAb, Santa Cruz公司, 1:50), 37℃水浴孵育3 h, PBS漂洗5 min \times 3次; 37℃下分别与二抗(羊抗兔或羊抗鼠IgG, 1:100)反应20 min, PBS漂洗; 加三抗(辣根过氧化物酶标记的链卵白素, 1:100)37℃反应20 min, PBS漂洗5 min \times 3次; DAB显色2 min; 苏木素复染、脱水、透明、封片. 阴性对照的一抗用PBS代替, 阳性对照用已知阳性片进行染色.

1.2.3 结果评价: 染色结果分级参照Shimizu *et al*^[4]评分方法. 每张切片均观察整体染色情况, 选择5个有代表性的区域, 每区计算200个细胞. 阳性细胞数计分: 阳性数 \leq 5%: 0; 阳性数 $>$ 5%但 \leq 35%: 1; 阳性数 $>$ 35%但 \leq 70%: 2; 阳性数 $>$ 70%: 3. 阳性强度记分: 不着色: 0; 弱着色: 1; 强着色: 2; 阳性分级: 以上两项相加, 0: (-); 2: (\pm); (-)(\pm): 阴性; 3以上: (+), 阳性.

统计学处理 用SPSS10.0统计软件进行 χ^2 检验, $P<0.05$ 有显著性差异.

2 结果

TGF- α 和Cyclin E在细胞内表达部位不同. TGF- α 主要表达于胞质, Cyclin E主要表达于胞核. 两者在中医不同证型的胃病变组织的表达存在差异(表1). TGF- α 的阳性率在胃阴不足型最

表 1 慢性胃病、胃癌组织TGF- α 和Cyclin E表达与中医证型的关系

中医分型	n	TGF- α			Cyclin E		
		+	-	阳性%	+	-	阳性%
肝胃不和型	20	5	15	25.0	4	16	20.0
脾胃虚寒型	43	8	35	18.6	3	40	7.0
胃阴不足型	34	16	18	47.1 ^a	9	25	26.5
寒热夹杂型	38	16	22	42.1	12	26	31.6 ^a

^a $P < 0.05$ vs 脾胃虚寒型.

表 2 慢性胃病、胃癌组织TGF- α 和Cyclin E表达的相关性

TGF- α	Cyclin E		合计
	+	-	
+	25	13	38
-	4	93	97
合计	29	106	135

$P < 0.05$.

高, 在寒热夹杂型次之; 在胃阴不足型与脾胃虚寒型之间的比较, 有显著性差异($P < 0.05$). Cyclin E的表达则在寒热夹杂型最高, 胃阴不足型次之; 在寒热夹杂型与脾胃虚寒型之间的比较, 有显著性差异($P < 0.05$). 两者均在脾胃虚寒型表达最低. 在观察中发现, 同一标本如果TGF- α 阳性, Cyclin E也常会阳性(表2). 经统计学分析, TGF- α 和Cyclin E表达存在显著的正相关($P < 0.05$).

3 讨论

采用现代医学科学技术进行研究, 已发现中医证型不仅与患者机能状态有关, 而且与组织病变程度存在一定关系^[1-5]. 研究还发现, TGF- α 和Cyclin E可促进细胞增殖并与肿瘤的发生发展密切相关. TGF- α 对胃肠黏膜等细胞的增殖和分化, 以及许多组织器官的发生发展有促进作用^[6-7]; 但在肿瘤中常有较高表达, 可促进肿瘤自身增殖^[8-12]. Cyclin E在促进细胞周期进程中起重要作用^[13]; 在肿瘤组织中常高表达, 是候选的癌基因^[14-18].

本研究探讨慢性胃黏膜病变和胃癌患者的中医证型与具有促癌作用的TGF- α 和Cyclin E表达的关系. 结果发现不同中医证型的胃黏膜病变组织中, TGF- α 和Cyclin E的表达存在差异, TGF- α 的阳性率在胃阴不足型最高, 在寒热夹杂型次之; Cyclin E则在寒热夹杂型最高, 胃阴不足型次之; 两者表达均在脾胃虚寒型的最低.

应用要点

本文探讨中医证型与胃病变组织中促癌分子TGF- α 和Cyclin E的关系, 为指导临床治疗提供依据.

从组织病理学角度出发, 胃黏膜肠上皮化生、不典型增生和胃溃疡是癌前病变. 本研究结果提示, 胃癌前病变患者如属于胃阴不足和寒热夹杂型, 可能有较高的癌变危险. 胃癌患者如属于这两种证型, 可能有更高的恶性程度. 这提醒我们, 在临床工作中对这些患者应有更高的重视程度, 应采取更积极的治疗措施.

4 参考文献

- 张万岱, 谢国建, 杨海涛, 周殿元. 胃癌及胃癌前病变患者中医证型与病理及Hp感染的关系. 新消化病学杂志 1997; 5: 564-566
- Kosone T, Takagi H, Kakizaki S, Sohara N, Horiguchi N, Sato K, Yoneda M, Takeuchi T, Mori M. Integrative roles of transforming growth factor-alpha in the cytoprotection mechanisms of gastric mucosal injury. *BMC Gastroenterol* 2006; 6: 22
- Gourguechon S, Savich JM, Wang CC. The multiple roles of cyclin E1 in controlling cell cycle progression and cellular morphology of *Trypanosoma brucei*. *J Mol Biol* 2007; 368: 939-950
- Shimizu M, Saitoh Y, Itoh H. Immunohistochemical staining of Ha-ras oncogene product in normal, benign, and malignant human pancreatic tissues. *Hum Pathol* 1990; 21: 607-612
- 尹光耀, 何雪芬, 张武宁, 陈一. 脾虚证分型与胃黏膜细胞核及线粒体生物活性物质的量变关系. 中国中西医结合脾胃杂志 1999; 7: 145-148
- Celikel C, Eren F, Gulluoglu B, Bekiroglu N, Turhal S. Relation of neuroendocrine cells to transforming growth factor-alpha and epidermal growth factor receptor expression in gastric adenocarcinomas: prognostic implications. *Pathol Oncol Res* 2007; 13: 215-226
- Booth BW, Smith GH. Roles of transforming growth factor-alpha in mammary development and disease. *Growth Factors* 2007; 25: 227-235
- 梁卫江, 张万岱, 张亚历, 刘利民. 胃癌及癌前病变组织中TGF- α 和cyclin E的表达及两者关联性分析. 癌症 2004; 23: 259-263
- Wada Y, Yoshida K, Hihara J, Konishi K, Tanabe K, Ukon K, Taomoto J, Suzuki T, Mizuiri H. Sivelestat, a specific neutrophil elastase inhibitor, suppresses the growth of gastric carcinoma cells by preventing the release of transforming growth factor-alpha. *Cancer Sci* 2006; 97: 1037-1043
- Espinoza LA, Tone LG, Neto JB, Costa RS, Wang QJ, Ballejo G. Enhanced TGFalpha-EGFR expression and P53 gene alterations contributes to gastric

■同行评价

本文选题较新颖,研究方法较科学,结论明确,对临床工作有一定的参考价值。

- tumors aggressiveness. *Cancer Lett* 2004; 212: 33-41
- 11 Katori H, Nozawa A, Tsukuda M. Expression of epidermal growth factor receptor, transforming growth factor-alpha and Ki-67 in relationship to malignant transformation of pleomorphic adenoma. *Acta Otolaryngol* 2007; 127: 1207-1213
 - 12 Tampellini M, Longo M, Cappia S, Bacillo E, Alabiso I, Volante M, Dogliotti L, Papotti M. Co-expression of EGF receptor, TGFalpha and S6 kinase is significantly associated with colorectal carcinomas with distant metastases at diagnosis. *Virchows Arch* 2007; 450: 321-328
 - 13 Iacovelli J, Lopera J, Bott M, Baldwin E, Khaled A, Uddin N, Fernandez-Valle C. Serum and forskolin cooperate to promote G1 progression in Schwann cells by differentially regulating cyclin D1, cyclin E1, and p27Kip expression. *Glia* 2007; 55: 1638-1647
 - 14 Ma Y, Fiering S, Black C, Liu X, Yuan Z, Memoli VA, Robbins DJ, Bentley HA, Tsongalis GJ, Demidenko E, Freemantle SJ, Dmitrovsky E. Transgenic cyclin E triggers dysplasia and multiple pulmonary adenocarcinomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 4089-4094
 - 15 Bahnassy AA, Zekri AR, Alam El-Din HM, Aboubakr AA, Kamel K, El-Sabah MT, Mokhtar NM. The role of cyclins and cyclins inhibitors in the multistep process of HPV-associated cervical carcinoma. *J Egypt Natl Canc Inst* 2006; 18: 292-302
 - 16 Li Z, Pützer BM. Spliceosomal protein E regulates neoplastic cell growth by modulating expression of Cyclin E/CDK2 and G2/M checkpoint proteins. *J Cell Mol Med* 2008
 - 17 Berglund P, Stighall M, Jirstrom K, Ryden L, Fernö M, Nordenskjöld B, Landberg G. Cyclin E confers a prognostic value in premenopausal breast cancer patients with tumours exhibiting an infiltrative growth pattern. *J Clin Pathol* 2008; 61: 184-191
 - 18 Akli S, Van Pelt CS, Bui T, Multani AS, Chang S, Johnson D, Tucker S, Keyomarsi K. Overexpression of the low molecular weight cyclin E in transgenic mice induces metastatic mammary carcinomas through the disruption of the ARF-p53 pathway. *Cancer Res* 2007; 67: 7212-7222

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志作者署名要求

本刊讯 本刊论文署名作者不宜过多,一般不超过8人,主要应限于参加研究工作并能解答文章有关问题、能对文稿内容负责者,对研究工作有贡献的其他人可放入致谢中。作者署名的次序按贡献大小排列,多作者时姓名间用逗号,如是单名,则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格)。《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献。第一方面是直接参与,包括:(1)酝酿和设计实验;(2)采集数据;(3)分析/解释数据。第二方面是文章撰写,包括:(1)起草文章;(2)对文章的知识性内容作批评性审阅。第三方面是工作支持,包括:(1)统计分析;(2)获取研究经费;(3)行政、技术或材料支持;(4)指导;(5)支持性贡献。每个人必须在第一至第三方面至少具备一条,才能成为文章的署名作者。《世界华人消化杂志》不设置共同第一作者和共同通信作者。(常务副总编辑:张海宁 2008-04-28)