

# 大肠癌 TGF- $\beta$ 1 表达及与 肿瘤血管生成的关系

唐 华,张才全,向 征

**摘要:**目的 研究大肠癌组织转化生长因子 1(TGF- $\beta$ 1)表达和意义及在血管生成中的作用。方法 运用免疫组化 S-P 法检测 70 例大肠癌、10 例正常大肠粘膜组织标本 TGF- $\beta$ 1、血管内皮生长因子(VEGF)表达及微血管密度(MVD)。结果 大肠癌 TGF- $\beta$ 1 表达较正常大肠粘膜明显增强;TGF- $\beta$ 1 过度表达与淋巴结转移、Dukes 分期及预后密切相关;TGF- $\beta$ 1 表达与 VEGF 表达密切相关,与 MVD 无直接关系。结论 TGF- $\beta$ 1 促进大肠癌细胞浸润转移;TGF- $\beta$ 1 过度表达可作为判断大肠癌预后具有参考意义新指标;TGF- $\beta$ 1 通过上调大肠癌 VEGF 表达间接促进肿瘤血管生成。

**关键词:**大肠癌;转化生长因子 1;血管生成

**中图分类号:**R735.3<sup>+</sup>4 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-8578(2002)06-0468-03

## The expression of transforming growth factor- $\beta$ 1 and the correlation with the angiogenesis in colorectal carcinoma

TANG Hua, ZHANG Cai-quan, XIANG Zhen-g

Department of General Surgery, The Clinical College of  
Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

**Abstract: Objective** To investigate the expression of transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) and its significance as well as its effect on the angiogenesis in colorectal carcinoma (CRC). **Methods** The expression of TGF- $\beta$ 1, the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and microvessel density (MVD) in 70 patients with CRC and 10 normal colorectal mucosal tissues were examined by immunohistochemistry. **Results** Compared with the normal colorectal mucosal tissues, the expression of TGF- $\beta$ 1 in CRC is higher. The overexpression of TGF- $\beta$ 1 is associated with lymphatic metastasis, Dukes staging and poor prognosis. The expression of TGF- $\beta$ 1 is closely associated with VEGF expression other than MVD. **Conclusion** TGF- $\beta$ 1 stimulates CRC cells infiltration and metastasis. The overexpression of TGF- $\beta$ 1 is a new marker can predict prognosis in patients with CRC. TGF- $\beta$ 1 promotes angiogenesis indirectly through up-regulation of VEGF expression in CRC.

**Keywords:** Colorectal neoplasms; Transforming growth factor- $\beta$ 1; Angiogenesis

肿瘤生长依赖于血管生成。转化生长因子-1 (TGF- $\beta$ 1) 是一种血管生成因子。本实验采用免疫组化 S-P 法检测 70 例大肠癌组织 TGF- $\beta$ 1、血管内皮生长因子(VEGF)表达和肿瘤微血管密度(MVD),并分析 TGF- $\beta$ 1 表达与临床病理因素、预后、VEGF 表达及 MVD 间关系,旨在探讨 TGF- $\beta$ 1 表达在大肠癌的意义和在血管生成中的作用。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

1993~1995 年术前未经抗肿瘤治疗大肠癌切除标

本 70 例。据全国大肠癌病理研究统一规范<sup>[1]</sup>,按组织学类型分腺癌、粘液腺癌、印戒细胞癌;按组织学分化程度分高、中、低分化癌;按 Dukes 分期分 A、B、C 期。本组男 39 例、女 31 例,年龄 27~74 岁,中位年龄 51 岁;64 例获得随访,随访率 91.4%。另取 10 例病理证实正常大肠粘膜作对照,见表 2。

#### 1.2 方法和试剂

免疫组化染色用 S-P 法。SP 试剂盒、即用型抗 TGF- $\beta$ 1 多抗及抗 CD34 单抗购自福州迈新公司;浓缩型抗 VEGF 单抗购自北京中山公司,工作滴度 1:50。PBS 液代替一抗作阴性对照,已知阳性切片作阳性对照。染色结果判断:按 10% 以上细胞浆或胞膜棕黄染色为 TGF- $\beta$ 1 表达阳性<sup>[2]</sup>;按 10% 以上细胞浆或胞膜棕黄染色为 VEGF 表达阳性<sup>[3]</sup>;MVD 按

收稿日期:2001-12-20;修回日期:2002-04-17

作者单位:400016 重庆医科大学临床学院普外科

Weider<sup>[4]</sup> 标准,肿瘤区凡棕色单个内皮细胞或内皮细胞簇均作为一个血管计数,肌层较厚及管腔面积大于 8 个红细胞直径血管不计数;每张染色切片在低倍镜下选择 3 个血管最多的癌间质区,在 200 倍视野下行血管计数,每例标本分别计数 5 个视野,取其平均值。

1.3 统计学处理

各因素间关系判断用  $\chi^2$  和  $u$  检验。生存率分析用 Kaplan-Meier 乘积限法及 Log-rank 时序检验分析组间生存率差异。 $P < 0.05$  为有显著性差异。

2 结果

2.1 大肠癌 TGF-1 表达及与临床病理因素关系

TGF-1 阳性表达于癌细胞浆或胞膜。70 例肿瘤中 37 例(52.9%) TGF-1 表达阳性,较正常对照组表达显著增强。PBS 阴性对照组未染色。TGF-1 阳性表达率与组织学类型和分化程度无关;与有无淋巴结转移及临床病理分期(Dukes 分期)显著相关,见表 1、表 2。

表 1 TGF-1 在不同大肠组织中的表达

组织类别	例数	TGF-1 表达	
		阴性 (%)	阳性 (%)
正常粘膜	10	9(90.0)	1(10.0)*
癌组织	70	33(47.1)	37(52.9)

表 2 大肠癌 TGF-1 表达与临床病理因素的关系

因素	例数	TGF-1 表达	
		阴性 (%)	阳性 (%)
组织学类型			
腺癌	55	29(52.7)	26(47.3)
粘液腺癌	10	3(30.0)	7(70.0)
印戒细胞癌	5	1(20.0)	4(80.0)
分化程度			
高分化	28	20(52.6)	18(47.4)
中分化	15	7(46.7)	8(53.3)
低分化	17	6(35.3)	11(64.7)
淋巴结转移			
阳性	40	14(35.0)	26(65.0)*
阴性	30	19(63.3)	11(36.7)
Dukes 分期			
A 期	11	8(72.7)	3(27.3)
B 期	17	10(58.8)	7(41.2)**
C 期	42	15(35.7)	27(64.3)

注:与阴性组比较,\*  $P < 0.05$ ;A 期、B 期与 C 期比较,  $P < 0.05$

2.2 大肠癌 TGF-1 表达、VEGF 表达、MVD 间关系

VEGF 阳性表达于癌细胞浆或胞膜,强阳性染色癌细胞多见于肿瘤浸润前缘。本组 VEGF 阳性表达 47 例(67.1%),正常大肠粘膜未见表达。

CD34 标记肿瘤间质微血管,微血管大小、形态差异大,微血管丰富区多见于肿瘤浸润前缘。全组 MVD 范围 21 ~ 134 不等,  $\bar{x} \pm s$  为 73.2  $\pm$  20.6。

全组 37 例 TGF-1 阳性肿瘤中 34 例 VEGF 阳性,33 例 TGF-1 阴性肿瘤中 20 例 VEGF 阴性,示 TGF-1 表达与 VEGF 表达密切相关;TGF-1 阳性肿瘤组 MVD 值 79.4  $\pm$  23.3,较阴性组 71.3  $\pm$  19.8 有增高趋势,但两者间无显著差异。VEGF 阳性肿瘤组 MVD 值 91.3  $\pm$  23.5,阴性组 62.7  $\pm$  14.9,两者差异显著。TGF-1/VEGF 双阳性肿瘤组 MVD 值 92.5  $\pm$  22.8,较 TGF-1 阳性/VEGF 阴性和 TGF-1 阴性/VEGF 阳性组 80.8  $\pm$  24.3 及 TGF-1/VEGF 双阴性组 63.4  $\pm$  14.6 增高,且与双阴性组比较差异显著,见表 3、4。

表 3 大肠癌 TGF-1 表达与 VEGF 表达、MVD 计数的关系

因素	TGF-1 表达		P
	阳性 (n=37)	阴性 (n=33)	
VEGF 表达			
阳性 (n=23)	3	20	<0.05
阴性 (n=47)	34	13	
MVD 计数	79.4 $\pm$ 23.6	71.3 $\pm$ 19.8	>0.05

表 4 大肠癌 TGF-1 表达、VEGF 表达与 MVD 计数的关系

TGF-1 表达	MVD 计数
阳性/阳性 (n=29)	92.5 $\pm$ 22.8*
阳性/阴性、阴性/阳性 (n=26)	80.8 $\pm$ 24.3
阴性/阴性 (n=29)	63.4 $\pm$ 14.6*

注:阳性/阳性与阴性/阴比较,\*  $P < 0.05$

2.3 大肠癌 TGF-1 表达与预后

Kaplan-Meier 法分组计算 5 年生存率示 TGF-1 表达阳性肿瘤组 32.7%,阴性组 66.2%;Log-rank 检验示两组间 5 年生存率差异显著( $\chi^2 = 4.58, P < 0.05$ )。

3 讨论

TGF-1 是重要的上皮细胞生长负性调节因子,可诱导细胞凋亡;其以自分泌和旁分泌两种方式与靶细胞表面相应受体(TGF-R<sub>1</sub>)结合发挥生长抑制功能。文献报告 TGF-1 参与多种病理生理过程,并在肿瘤发生及发展中有重要作用。本实验发现大肠癌组织 TGF-1 过度表达,且阳性表达于胞浆或胞膜,因而从形态学和蛋白水平表明大肠癌细胞具有自分泌 TGF-1 功能;同时 TGF-1 表达与淋巴结转移、临床病理分期(Dukes 分期)及术后生存率相关,提示大肠癌细胞自分泌 TGF-1 对肿瘤生物学行为产生广泛影响,TGF-1 促进大肠癌细胞浸润转移并影响预后,故检测 TGF-1 表达可作为判断大肠癌预后具有参考意义的新指

标。目前认为 TGF- $\beta$ 1 促进大肠癌发生和进展的主要机制可能是大肠癌细胞表面 TGF- $\beta$ 1 受体表达缺失或大肠癌细胞通过下调 TGF- $\beta$ 1 受体表达而逃逸 TGF- $\beta$ 1 介导的生长抑制作用<sup>[5,6]</sup>。

TGF- $\beta$ 1 作为血管生成因子已被认识,但在大肠癌组织血管生成中的作用不清楚。本实验发现大肠癌组织 TGF- $\beta$ 1 表达与 VEGF 表达紧密相关,而 VEGF 表达与 MVD 值显著相关,并且 TGF- $\beta$ 1/VEGF 双阳性肿瘤组 MVD 值最高,故表明大肠癌细胞自分泌 TGF- $\beta$ 1 可能通过上调 VEGF 表达调控肿瘤血管生成。尽管本实验发现 TGF- $\beta$ 1 阳性肿瘤组 MVD 值较阴性组有增高趋势,但两者间并无统计学差异。目前认为低氧是诱导 VEGF 表达最重要因素,低氧通过激活 VEGF mRNA 转录并增加其稳定性而上调体外培养细胞 VEGF 表达<sup>[7,8]</sup>;还有报告突变型 P53、ras 基因、PDGF 等也可增强 VEGF 表达促进肿瘤血管生成<sup>[9-11]</sup>。由此可见 VEGF 表达上调是由多种因子共同介导而非单独由 TGF- $\beta$ 1 简单调控所致,因此本实验未识别出 TGF- $\beta$ 1 表达与 MVD 间的直接关系。TGF- $\beta$ 1 通过上调 VEGF 表达间接促进肿瘤血管生成可能也是 TGF- $\beta$ 1 促进大肠癌细胞增殖、浸润和转移的机制之一。

#### 参考文献:

- [1] 全国大肠癌病理协作组. 全国大肠癌病理研究统一规范[J]. 中华肿瘤杂志, 1986, 8 (2): 156-158.
- [2] 熊斌, 袁宏银, 冯茂辉, 等. 大肠癌中 TGF- $\beta$ 1、TGF- $\beta$ 2 蛋白的免疫组化检测[J]. 癌症, 2000, 19 (9): 945.
- [3] Saito H, Tsujitani S, Ikeguchi M, et al. Relationship between the expression of vascular endothelial growth factor and the density of dendritic cells in gastric adenocarcinoma tissue[J]. Br J Cancer, 1998, 78 (12): 1573-1577.
- [4] Weider N. Current pathological methods for measuring intratumoral microvessel density in breast carcinoma and other solid tumors[J]. Breast Cancer Res Treat, 1995, 36 (2): 169-180.
- [5] Lan gerak AD, Garewal HS. Transformin g growth factor - $\beta$ 1: a useful tumor marker in patients with colorectal carcinoma[J]? Cancer, 1999, 85 (3): 517-519.
- [6] Matsushita M, Matsuzaki K, Date M, et al. Down -regulation of TGF- $\beta$  receptors in human colorectal cancer: implications for cancer development[J]. Br J Cancer, 1999, 80 (1-2): 194-205.
- [7] Damert A, Ikeda E, Risau W. Activator -protein-1 binding potentiates the hypoxia-inducible factor-1-mediated hypoxia-induced transcriptional activation of vascular -endothelial growth factor expression in C6 glioma cells[J]. Biochem J, 1997, 327 (Pt 2): 419-423.
- [8] Ikeda E, Achen MG, Breier G, et al. Hypoxia-induced transcriptional activation and increased mRNA stability of vascular endothelial growth factor in C6 glioma cells[J]. J Biol Chem, 1995, 270 (34): 19761-19766.
- [9] Takahashi Y, Bucana CD, Cleary KR, et al. p53, vessel count, and vascular endothelial growth factor expression in human colon cancer[J]. Int J Cancer, 1998, 79 (1): 34-38.
- [10] Okada F, Rak JW, Croix BS, et al. Impairment of tumor angiogenesis: mutant K-ras p-regulation of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor is necessary, but not sufficient for tumorigenicity of human colorectal carcinoma cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95 (7): 3609-3614.
- [11] Wang D, Huan g HJ, Kazlauskas A, et al. Induction of vascular endothelial growth factor expression in endothelial cells by platelet-derived growth factor through the activation of phosphatidylinositol 3-kinase[J]. Cancer Res, 1999, 59 (7): 1464-1472.

(李奇明校对)

## 《中国肿瘤生物治疗杂志》征稿、征订启事

《中国肿瘤生物治疗杂志》由中国免疫学会和中国抗癌协会联合主办,中国科协主管,现为“中国科技论文统计源期刊”、“中国科学引文数据库”来源期刊、“中国学术期刊综合评价数据库”来源期刊、“中国医学文摘 肿瘤学”医学核心期刊,2002 年被《中国学术期刊文摘》收录为首批源期刊。本刊旨在交流学术、促进科研、面向应用,主要刊登与肿瘤生物治疗有关的基础理论与临床应用的研究论文、新实验技术及研究成果等。主要栏目有述评、论著、综述、短篇报道、研究简报和科技信息等。欢迎广大从事肿瘤生物治疗的科研工作者及相关临床医师踊跃投稿,本刊将公平公正、择优录取。

本刊为季刊,每期定价:8.00 元,全年定价:32.0 元,邮发代号:4-576。欢迎广大读者到当地邮局订阅。若错过,可从本刊编辑部补订,请将 40.00 元(含邮资)寄本刊编辑部并注明详细通讯地址及邮政编码。

联系地址:上海市翔殷路 800 号第二军医大学免疫楼《中国肿瘤生物治疗杂志》编辑部

联系人:厉永建 邮政编码:200433

联系电话:021-55620605 x22;25070316 x22