

大肠癌患者血清中 TGF-β1 表达的意义

袁 艇¹, 袁宏银², 杨国梁², 熊 斌²

摘要:目的 研究大肠癌患者血清中转化生长因子 β1(TGF-β1)表达意义及其与癌胚抗原(CEA)、肿瘤分期的关系。方法 以酶联免疫法检测血清中 TGF-β1 的含量。结果 患者组血清 TGF-β1(40.36±17.60ng/ml)高于对照组(19.2±7.98ng/ml)($P<0.01$), TGF-β1 的含量随着肿瘤分期增加而升高($P<0.05$)且与血清中 CEA 含量有关($r=0.392, P<0.01$)。结论 大肠癌患者血清 TGF-β1 含量与肿瘤的发生、发展有关。

关键词:大肠癌;转化生长因子 β1;酶联免疫粘附试验;血清

中图分类号:R735.3+4 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-8578(2002)01-0057-03

The significance of serum TGF-β1 expression in colorectal carcinoma patients

YUAN Ting, YUAN Hong-yin, YANG Guo-liang, et al

Department of oncology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China

Abstract: **Objective** To investigate the levels of the transforming growth factor-β1(TGF-β1) in serum and the relationship with CEA and tumor stage in order to detect the role of TGF-β1 in patients with colorectal carcinoma. **Methods** Serum levels of TGF-β1 were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay in 50 consecutive patients with the colorectal and compared with the ones in 30 healthy volunteers. **Results** Serum levels of TGF-β1 in patients with colorectal carcinoma(40.36±17.60ng/ml) were significantly higher than those in the health control group(19.2±7.98ng/ml)($P<0.01$). Serum levels of TGF-β1 increased with increasing tumor stage ($P<0.05$). Serum levels of TGF-β1 were correlated significantly with depth of tumor invasion, lymph node metastasis, distant metastasis and serum levels of carcinoembryonic antigen(CEA). Serum levels of TGF-β1 tend to increase with increasing CEA($r=0.392; P<0.01$). **Conclusion** Serum levels of TGF-β1 in colorectal carcinoma patients may be associated with disease progression.

Key words: Transforming growth factor (TGF-β1); Colorectal carcinoma; Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA); Serum

转化生长因子 β1(Transforming growth factor-β1 TGF-β1)是细胞生长和肿瘤发展的一种有效的抑制因子,失去这种负性调节将导致肿瘤的发生、发展^[1]。许多实验证明体外培养的恶性肿瘤细胞中 TGF-β1 表达增加,体内实验也证明肿瘤组织中 TGF-β1mRNA 和血清或血浆中 TGF-β1 的含量增加^[4,13]。然而,关于大肠癌患者血清 TGF-β1 的表达情况及其临床意义(肿瘤的发展和生存期)的研究较少。我们通过测量正常人群与大肠癌患者血清 TGF-β1 的水平,研究两者之间有无差异,以及血清 TGF-β1 与 CEA 的表达、肿瘤分期有无相关性。

1 材料和方法

1.1 试剂 TGF-β1ELISA 试剂盒购自美国 Quantikine 公司,CEA 试剂盒购自海南华美生化有限公司。

1.2 仪器 酶标仪等。

1.3 实验对象 全部病例为 1999~2000 年期间武汉大学中南医院肿瘤科收治并经病理证实的大肠癌患者。男性 32 人,女性 18 人。平均 52.08 岁。正常对照组为健康志愿者,男性 17 人,女性 13 人,平均 45.26 岁。

1.4 实验方法 被检者术前一周取空腹周围静脉血 2ml,在 4℃ 储存 3h,离心 20min(3000g),分离血清,在 -70℃ 储存。

TGF-β1 测定步骤:a. 在 ELISA 试剂盒每孔中加入 200ul 标准液或活化标本,室温下孵育 3h。b. 彻底冲洗后,加入 TGF-β1 耦合剂(TGF-

收稿日期:2001-02-18 修回日期:2001-05-08

作者单位:1. 430071 武汉大学第二临床学院 98 级研究生;
2. 武汉大学中南医院肿瘤科

β1Conjugate), 室温下孵育 1.5h. c. 冲洗后, 加入 200ul 底物液 (Substrate Solution) 孵育 20min. d. 最后加入 50ul 终止液. e. 用酶标仪在 490nm 下测定.

TGF-β1 的结果判断: 绘出标准曲线, 利用在同一条件下测得的患者血清 OD 值, 即可在标准曲线上找出其 TGF-β1 的血清浓度. 以正常对照组的均值+2 倍的标准差作为正常范围的上限^[2].

血清 CEA 测定按试剂盒方法操作.

1.5 统计学方法 *t* 检验, 方差分析, 直线相关回归分析, $P < 0.05$ 为显著性检验水准.

2 结果

大肠癌患者血清 TGF-β1 的含量(40.36±17.60ng/ml)比正常对照组(19.2±7.98ng/ml)显著增高($P < 0.01$). Dukes A、B、C、D 期患者血清 TGF-β1 的含量分别为 29.17±7.26ng/ml、39.45±11.93ng/ml、43.08±15.80ng/ml、57.84±16.23ng/ml. 各期患者 TGF-β1 含量之间的差异有显著性($P < 0.05$) (B 期和 C 期之间差异无显著性). 各期患者血清 TGF-β1 水平均比正常对照组有显著性增高($P < 0.05$).

表 1 大肠癌患者血清 CEA 和 TGF-β1 的阳性率 (%)

大肠癌 DUKES 分期	A	B	C	D
TGF-β1(+)	31	69	64	86
CEA(+)	23	33	36	43
TGF-β1(+) or CEA(+)	38	75	71	86

表 2 TGF-β1 表达与大肠癌病人临床病理指标的关系

项目	TGF-β1	P 值
年龄	<60	28.4+/-17.1
	>60	41.8+/-17.5
性别	男	41.5+/-17.5
	女	38.4+/-18.1
部位	结肠	37.4+/-18.4
	大肠	41.0+/-17.5
浸润深度	肌层	30.8+/-12.0
	浆膜	43.7+/-17.9
淋巴结转移	阴性	34.9+/-14.1
	阳性	47.5+/-20.4
远处转移	无	37.6+/-16.0
	有	57.2+/-18.9
分化	高	38.0+/-15.0
	中	37.6+/-17.0
	低	39.3+/-23.3
CEA	<5ng/ml	35.1+15.9
	>5ng/ml	51.0+16.1

血清 TGF-β1 的表达在男、女之间差异无显著性($P > 0.05$). 低分化的病人与高分化的病人 TGF-β1 表达无显著性差异($P > 0.05$). 血清 TGF-β1 的水平随着癌细胞浸润深度($P = 0.012$)、淋巴结的转移($P = 0.023$)以及远处转移的发生($P = 0.005$)而增高. 血清 TGF-β1 与 CEA 的表达之间呈正相关关系($r = 0.392; P < 0.01$).

TGF-β1 以正常对照组的均值+2 倍的标准差作为标准(35.14ng/ml), 大肠癌患者中血清 TGF-β1 的阳性率为 60%. 而血清 CEA 增高的有 33% (CEA>5ng/ml). 而患者血清中 CEA 或 TGF-β1 增高为 66%, 见表 1.

TGF-β1 表达与大肠癌病人临床病理指标的关系, 见表 2.

3 讨论

TGF-β1 是具有广泛生物作用的一类蛋白, 能促进血管生成, 促使细胞粘附蛋白和细胞外糖蛋白基质的积聚, 抑制免疫细胞、上皮细胞的生长和刺激间叶细胞的生长^[3], 在多种细胞和组织内表达. TGF-β1 以自分泌、旁分泌方式通过与细胞表面的 TGF-β1 的 I、II 型受体综合体结合来起作用^[4].

研究发现 TGF-β1 与肿瘤的发生有关. Kong 等^[5]发现在肺癌患者血浆中 TGF-β1 水平高于正常人, 并认为血清 TGF-β1 的含量可作为预测肿瘤治疗后复发和进展的指标. 还有人发现在肾细胞癌和前列腺癌病人的尿液中 TGF-β1 的水平亦可作为一种生物标记物^[6,7]. 但有些研究者发现, 尽管肿瘤患者的血清 TGF-β1 的水平与瘤组织中 TGF-β1 的表达之间以及血清 TGF-β1 的水平与疾病的发展程度之间缺乏相关性^[8,9], 但患者组比正常对照组的血清 TGF-β1 含量有显著性增高. 因此, 不论 TGF-β1 表达与疾病的发展程度是否相关, 癌症患者血清 TGF-β1 水平都要高于正常人. 我们对大肠癌患者血清 TGF-β1 的研究所得出的结论与之相同.

研究发现 TGF-β1 的过度表达, 可能对肿瘤的转化、发展方面起促进作用^[10,11]. Cui 等发现高度恶性的肿瘤, 特别是进展期的肿瘤不被 TGF-β1 抑制^[12]. TGF-β1 调控的生长抑制作用的消失, 可能导致肿瘤发生^[13]. 而一旦 TGF-β1 抑制生长作用消失, TGF-β1 将通过其促进血管的形成、调节基质特性或抑制免疫反应的作用来促进肿瘤细胞的浸润和转移^[14]. 因此, TGF-β1 在瘤组织内, 特别是进展期的瘤组织内的表达被认为是高度恶性肿瘤的表现.

Tsushima^[3]、shim^[2]等人发现在大肠癌患者体内 TGF-β1 的水平升高, 且随着肿瘤进展 TGF-β1 的表达增加. 我们研究发现, 大肠癌患者血清 TGF-β1 的含量与疾病的发展程度密切相关. 大肠癌患者血清 TGF-β1 的含量比对照组显著性升高, 且随着 DUKES 分期的增加, 肿瘤浸润深度的加深, 淋巴结的转移及远处转移的出现, 血清 TGF-β1 含量也增加($P < 0.05$). 这说明随着肿瘤的进展, 瘤组织分泌的 TGF-β1 就越多, TGF-β1 的表达与肿瘤

的发生、发展机制是有关联的。

研究显示大肠癌患者 CEA 和 TGF- β 1 有相关性^[2,15]。我们也发现血清中 CEA 的水平随着 TGF- β 1 的水平升高而升高。TGF- β 1 的分泌机制可能与 CEA 的分泌机制相互影响, TGF- β 1 可以刺激人结肠癌细胞表达和分泌 CEA^[2]。因此, TGF- β 1 在监测肿瘤进展上可能会发挥与 CEA 相似作用。至于 TGF- β 1 是如何调节 CEA 的表达, 以及 TGF 能否作为一个独立的肿瘤指标还须进一步的研究。

许多研究报道 TGF- β 1 的表达与肿瘤患者的生存期有关, 但常常因为方法不同而有不同的结果。Robson^[16] 等人发现肿瘤患者 TGF- β 1 阴性表达的 3 年生存率为 80%, 而 TGF- β 1 阳性表达的患者的 3 年生存率为 40%。但有研究发现, 在乳腺癌^[17]、肺癌^[18]、胰腺癌^[19] 等患者中 TGF- β 1 的阳性表达者往往有较长的生存期。我们的研究由于随访时间较短, 尚不能就 TGF- β 1 的表达对患者生存期的意义作出评价。需要进一步的研究来探讨大肠癌患者的血清 TGF- β 1 的表达与肿瘤预后的关系。

综上所述, 血清 TGF- β 1 的升高往往提示肿瘤的进展和转移。我们研究证实血清 TGF- β 1 的表达与肿瘤的发生、发展机制是有关联的, 可作为了解肿瘤发展的一个生物学指标。

参考文献:

- [1] Markowitz SD, Roberts AB. Tumor suppressor activity of the TGF- β 1 pathway in human cancers. *Cytokine Growth Factor Rev*, 1996, 7:93-102.
- [2] Shim KS, Kim Han WS, Woon SH, et al. Elevated serum levels of transforming growth factor- β 1 in patients with colorectal carcinoma. *Cancer*, 1999, 85(3):554-561.
- [3] Tsushima H, Kawata S, Tamura S, et al. High levels of transforming growth factor beta 1 in patients with colorectal cancer. *Gastroenterology*, 1996, 110(2):375-382.
- [4] Alan DL, Harinder SG. Transforming growth factor-beta 1. *Cancer*, 1999, 85(3):517-519.
- [5] Kong FM, Washington MK, Jirtle RL, et al. TGF-beta 1 reflect disease status in patients with lung cancer after radiotherapy. *Lung cancer*, 1996, 16:47-59.
- [6] Tsai JF, Jeng JE, Chuang LY, et al. Elevated urinary transforming growth factor-beta 1 level as a tumour marker and predictor of poor survival in cirrhotic hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer*, 1997, 76(2):244-250.
- [7] Thompson TC, Truong LD, Timme TL, et al. Transforming growth factor beta 1 as a biomarker for prostate cancer. *J Cell Biochem Suppl*, 1992, 16H:54-61.
- [8] Eder IE, Stenzl A, Hobisch A, et al. Expression of transforming growth factors beta 1, beta 2 and beta 3 in human bladder carcinomas. *Br J Cancer*, 1997, 75(12):1753-1760.
- [9] Chopra V, Dihn TV, Hannigan EV, et al. Serum levels of interleukins, growth factors and angiogenin in patients with endometrial cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1997, 123:167-172.
- [10] Huang F, Newman E, Theodorescu D, et al. Transforming growth factor beta 1 is an autocrine positive regulator of colon carcinoma U9 cells in vivo as shown by transfection of a TGF beta 1 antisense expression plasmid. *Cell Growth Differ*, 1995, 6:1635-1642.
- [11] Mackay SL, Yaswen LR, Tarnuzzer RW, et al. Colon cancer cells that are not growth inhibited by TGF-beta lack functional type I and II TGF-beta receptor. *Ann Surg*, 1995, 221:767-776.
- [12] Cui W, Kemp CJ, Duffie E, et al. Lack of transforming growth factor-1 expression in benign skin tumours of p53 null mice is prognostic for a high risk of malignant conversion. *Cancer Res*, 1994, 54:5831-5836.
- [13] Hus S, Huang F, Hafez M, et al. Colon carcinoma cells switch their response of transforming growth factor beta 1 with tumor progression. *Cell Growth Differ*, 1994, 5:267-275.
- [14] Torre-Amione G, Beauchamp RD, Koeppen H, et al. A highly immunogenic tumour transfected with a murine transforming growth factor type-1 cDNA escapes immune surveillance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87:1486-1490.
- [15] Chkrabarty S, Tobon A, Varani J, et al. Induction of carcinoembryonic antigen secretion and modulation of protein secretion/expression and fibronectin/laminin expression in human colo carcinoma cell by transforming growth factor-beta 1. *Cancer Res*, 1988, 48:4059-4064.
- [16] Robson H, Anderson E, James RD, et al. Transforming growth factor beta 1 expression in human colorectal tumors. *Br J Cancer*, 1996, 74(5):753-758.
- [17] Murray PA, Barrett-Lee P, Travers M, et al. The prognostic significance of transforming growth factors in human breast cancer. *Br J Cancer*, 1993, 67(6):1408-1412.
- [18] Ionue T, Ishida T, Takenoyama M, et al. The relationship between the immunodetection of transforming growth factor beta in lung adenocarcinoma and longer survival rates. *Surg Oncol*, 1996, 4:51-57.
- [19] Friess H, Yamanaka Y, Buchler M, et al. Enhanced expression of transforming growth factor beta isoforms in pancreatic cancer correlates with decreased survival. *Gastroenterology*, 1993, 105(6):1846-1856.

(周永红校对)