

转化生长因子 亚型在口腔鳞癌中的表达和意义

金晓明 李金荣 李祖兵 李雅馨

摘要 目的:探讨 TGF- 与口腔鳞癌发生和发展的关系。方法:采用 SABC 免疫组化法检测了 40 例口腔鳞癌术后标本和 20 例正常口腔粘膜中 TGF- 的表达。结果:口腔鳞癌和正常口腔粘膜中均表达 TGF-₁、TGF-₂、TGF-₃,但程度不同。TGF-₁、TGF-₂ 在口腔鳞癌中呈过表达。口腔鳞癌临床分期、有无颈淋巴结转移及病理分级与 TGF-₁、TGF-₂ 过表达有关,与 TGF-₃ 的表达无关。结论:TGF-₁ 和 TGF-₂ 可能参与了口腔鳞癌的发生发展及颈淋巴结转移过程,是口腔鳞癌发生发展及预后的一个指标。
关键词 转化生长因子 口腔肿瘤 肿瘤转移

Expression of Transforming Growth Factor beta(TGF-) Subtypes in Oral Squamous Cell Carcinoma

Jin Xiaoming, Li Jinrong, Li Zubin, et al

The College of Stomatology, Wuhan University

Abstract

Objective: The objective of this study was to determine the expression of transforming growth factor beta (TGF-) subtypes and their relationship with the mechanisms of squamous cell carcinoma (OSCC) growth. **Methods:** Totally 40 cases of surgical specimens of OSCC resected between 1998 and 2000 and 20 cases of normal human oral mucosa were investigated. Strepto-avidin complex (SABC) immunohistochemical staining was used to analyze the expression of TGF- protein subtypes and their relations with clinical prognosis of OSCC. **Results:** Semi-quantitative analysis revealed that the subtypes 1, 2 and 3 of TGF- protein could be found in OSCC cells and normal oral epithelial cells, however the intensity of protein expression was different. Comparing with those in normal oral mucosa epithelial cells, the subtypes 1 and 2 of TGF- were over-expressed in OSCC cells. The over-expression of subtypes 1 and 2 of TGF- protein were associated with their pathological grades, clinical stages and neck lymph node metastasis ($P < 0.05$), whilst the subtype 3 protein of TGF- was not. **Conclusion:** It will be useful to detect the expression of TGF- subtypes in OSCC, as the subtypes 1 and 2 of TGF- may play an important role in OSCC growth and metastasis.

Key words: transforming growth factor beta oral neoplasm metastasis

转化生长因子 (transforming growth factor, TGF-) 家族是由一组具有相似的生物活性、结构上密切相关的多肽组成。在哺乳动物细胞中主要表达 TGF-₁₋₃。近年来研究发现多种肿瘤组织存在 TGF- 过度表达¹,其不同亚型的表达与肿瘤的转变和预后密切相关²。在口腔鳞癌组织中 3 种 TGF- 的表达情形如何目前还少见报道。笔者应用免疫组织化学方法检测了武汉大学口腔医学院手

术切除的 40 例口腔鳞癌组织中 TGF- 的表达,并分析其与口腔鳞癌临床病理类型的关系。

1 材料和方法

1.1 材料

40 例口腔鳞癌选自武汉大学口腔医院 1998 年 5 月至 2000 年 3 月手术的患者,患者术前未经化疗、放疗或生物治疗。其中男 27 例,女 13 例,年龄 22~78 岁。按照原发灶部位,其中舌癌 21 例,颊癌 5 例,牙龈癌 9 例,口底癌 5 例。病理分级为高分化鳞癌 11 例,中分化鳞癌 20 例,低分化 9 例。有颈淋巴结转移者 13 例,无转移者 27 例,临床分期为 I 期 8 例, II 期 13 例, III 期 10 例, IV 期 9 例。所有原发灶及颈淋

作者单位:430079 武汉大学口腔医学院(金晓明,李金荣,李祖兵),青岛市口腔医院(李雅馨)

巴结转移灶均经病理证实。对照组 20 例正常口腔粘膜来自非肿瘤患者手术标本。

1.2 方法

鼠抗人 TGF-1、TGF-2、TGF-3 多克隆抗体,SABC 试剂盒,DAB 显色试剂盒均购自武汉博士德公司。手术切除的组织标本经石蜡包埋切片,连续切片 5 张,厚约 5 μm。采用 SABC 法,免疫组化染色程序按试剂盒说明书进行。阳性对照采用自身对照,用 PBS 代替一抗和二抗作阴性对照。

免疫组化结果判定:在不知任何背景资料的情形下,采用双盲法进行判定,以肿瘤细胞膜和(或)胞浆出现淡至深棕黄色颗粒为阳性。显微镜下观察,阳性细胞率大于 20% 为阳性,否则为阴性。将免疫组化片输入 MPIAS-500 多媒体图像分析仪,对细胞膜和胞浆内染色强度作区域性测定,采用随机法选取视野,每例测 5 个视野。用吸光度 A 表示染色强度,用吸光度平均值代表每组阳性细胞的 A 值。

1.3 统计学处理

采用 2 检验和四格表确切概率法。

2 结 果

2.1 3 种 TGF- 在癌组织中的分布特征

阳性细胞胞浆或胞膜呈棕黄色,阳性颗粒粗细不等;阴性细胞胞浆、胞膜不着色,胞核呈紫蓝色。3 种 TGF- 在癌组织和正常口腔粘膜中均有表达,正常口腔粘膜组织可见少量着色,癌组织中阳性分布呈异质性,且染色程度存在差异,TGF-1 表达最强,TGF-2 次之。TGF-3 最弱(图 1~3);和正常口腔粘膜染色相比,TGF-1、TGF-2 无论是阳性细胞的数量,还是在染色强度上都有明显增强;统计学分析表明,TGF-1、TGF-2 在口腔鳞癌中呈过表达。

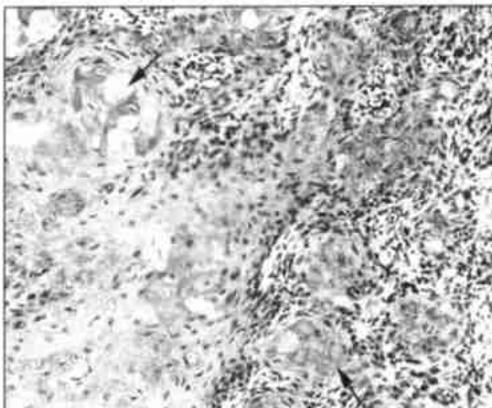


图 1 TGF-1 在口腔鳞癌中的阳性表达 SABC ×40

2.2 3 种 TGF- 与口腔鳞癌临床病理特征的关系

3 种 TGF- 表达情形与口腔鳞癌临床病理特征的关系见表 1。统计学分析表明,口腔鳞癌临床分

期、有无淋巴结转移、病理分级与 TGF-1、TGF-2 过表达有关,与 TGF-3 的表达无关。

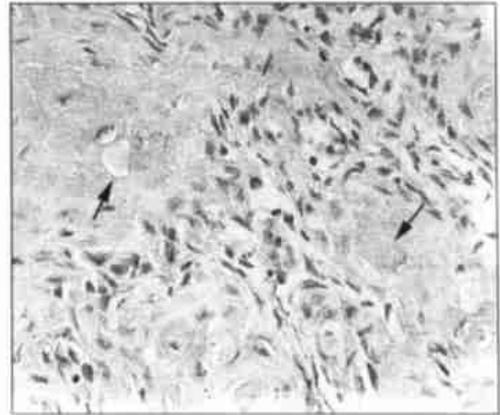


图 2 TGF-2 在口腔鳞癌中的阳性表达 SABC ×100

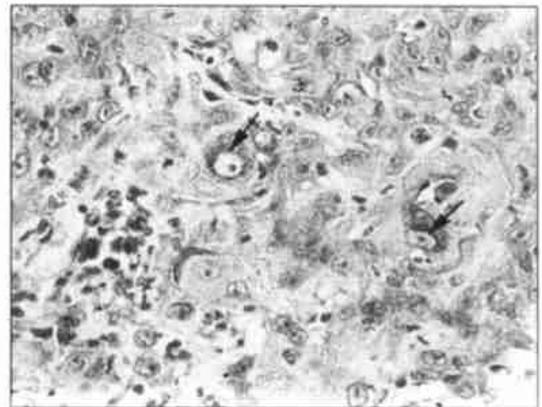


图 3 TGF-3 在口腔鳞癌中的阳性表达 SABC ×100

表 1 3 种 TGF- 表达与口腔鳞癌临床病理特征的关系

临床病理特征	例数	TGF-1 表达		TGF-2 表达		TGF-3 表达	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
病理分级	高分化	11	7	4	8	3	6
	中分化	20	14	6	10	10	13
	低分化	9	8	1*	7	2*	6**
转移与否	有转移	13	12	1	10	3	8
	无转移	27	4	23*	7	20*	12**
临床分期	Ⅰ、Ⅱ期	21	12	9	3	18	11
	Ⅲ、Ⅳ期	19	14	5*	15	4*	12**

注: * 组间比较 P<0.05 ** 组间比较 P>0.05

3 讨 论

TGF- 作为细胞生长、分化的负性调控因子,对细胞的增殖、分化起双重调节作用,还在血管形成、损伤修复等方面起重要作用。另外 TGF- 在肿瘤形成及其预后中所起的作用已开始引起人们的重视。已有报道,3 种 TGF- 的表达与黑色素瘤及胰

腺癌的进展相关^{3,4}。在肝癌组织中发现 TGF- β_1 mRNA 及蛋白质呈高水平表达,且 TGF- β_1 表达与肿瘤大小、血中甲胎蛋白水平无关,在组织分化较差的肝癌组织中,TGF- β_1 的表达水平最高⁵。Maxwell 等⁶ 研究发现 TGF- β_2 在脑胶质癌中有过量表达,而在正常组织中无过量表达,TGF- β_2 的过表达提示与肿瘤的进展、预后有关。本研究发现,3 种 TGF- β 在正常口腔粘膜和鳞癌组织中均有表达,但表达强度存在差异。与正常口腔粘膜比较,口腔鳞癌组织中 TGF- β_1 、TGF- β_2 呈过量表达,这与有关文献报道在其他恶性肿瘤中的研究结果相一致⁴,其过度表达可能与 TGF- β 分泌、合成增加或释放机制改变有关。本研究表明口腔鳞癌病理分级、临床分期、有无淋巴结转移与 TGF- β_1 、TGF- β_2 过量表达有关,与 TGF- β_3 的表达无关。结果提示,TGF- $\beta_{1,2}$ 表达越强,口腔鳞癌分化越差,其恶性程度越高,越易发生转移。TGF- $\beta_{1,2}$ 可能参与了口腔鳞癌的发生发展及淋巴结转移过程。

研究表明 TGF- β 能刺激纤维细胞增殖,基质蛋白的合成及沉积,在形态发生及再生过程中是上皮基质之间相互作用的调节剂⁷。TGF- β 在肿瘤恶性转化机制方面的作用目前还不完全清楚。研究发现 TGF- β 对于未转化的鳞状上皮及癌细胞具有强烈的抑制作用。Briskin 等⁸ 用 TGF- β 加入 4 种体外培养的鳞癌细胞系中发现其中 3 种表现出生长抑制。近年来研究表明,TGF- β 是重要的免疫功能调节剂,具有免疫抑制作用。Young 等⁹ 研究头颈部癌的免疫机制时发现,癌细胞释放的 TGF- β 等免疫抑制均能通过其抑制 CD8 阳性及 CD4 阳性的 T 细胞而抑制机体的免疫功能,从而间接地促进癌细胞的生长。因此笔者推测 TGF- β_1 、TGF- β_2 的过表达与口腔鳞癌临床病理特征的密切关系可能是 TGF- β_1 、TGF- β_2 抑制免疫功能,促进肿瘤的发生发展及转移的结果。结合笔者过去的研究工作¹⁰,TGF- β_1 、TGF- β_2 过表达可能是口腔鳞癌发生发展及预后的一个指标。

近年来研究表明,TGF- β 是细胞信号系统中的一个重要部分,TGF- β 的功能和作用是通过其表面

的型和型受体(TR)而起作用的。不仅 TGF- β 而且受体在控制肿瘤方面均起重要作用。型和型受体属于跨膜的丝氨酸和(或)苏氨酸激酶,TGF- β 与 TR β ,TR α 之间相互作用,对于完成 TGF- β 的作用是不可缺少的。因此,研究 TGF- β 与口腔鳞癌的关系时需从多方面做深入的研究。

参考文献

- 1 Kim IY, Ahn HJ, Zelter DJ, et al. Genetic changes in transforming growth factor (TGF- β) receptor type gene correlates with insensitivity to TGF- β_1 in human prostate cancer cells. *Cancer Res*, 1996,56(1):46~48
- 2 Eder E, Stenzl A, Hoblsch A, et al. Expression of transforming growth factor beta-1, beta-2 and beta-3 in human bladder carcinomas. *Br J Cancer*, 1997,75(2):1753~1760
- 3 Van Belle P, Rodeck U, Nuamah I, et al. Melanoma associated expression of transforming growth factor isoforms. *Am J Pathol*, 1996,148(6):1887~1894
- 4 Friess H, Yamanaka Y, Buchler M, et al. Enhanced expression of transforming growth factor isoforms in pancreatic cancer correlates with decreased survival. *Gastroenterology*, 1993,105(6):1846~1856
- 5 Ito N, Kawata S, Tamura S, et al. Elevated levels of transforming growth factor-beta messenger RNA and its polypeptide in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*, 1991,51(15):4080~4083
- 6 Maxwell M, Galanopoulos T, Neville-Golden J, et al. Effect of the expression of transforming growth factor- β_2 in primary human glioblastoma on immunosuppression and loss of immune surveillance. *J Neurosurg*, 1992,76(5):799~804
- 7 郭莉,蒋中华,陈光晔,等.膜形成骨结合蛋白在骨缺损修复的实验研究. *口腔医学纵横*,1995,11(3):145~147
- 8 Briskin KB, Fady C, Mickel RA, et al. A inhibition of head and neck squamous cell carcinoma cell lines by transforming growth factor beta. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 1995,112(5):728~734
- 9 Young MR, Wright MA, Lozano Y, et al. Mechanisms of immune suppression in patients with head and neck cancer: influence on the infiltrate of the cancer. *Int J Cancer*, 1996,67(5):333~338
- 10 李晓明,李金荣,李雅馨,等.口腔鳞癌根治性手术前后血浆 TGF- β_1 的变化. *临床口腔医学杂志*,2000,16(4):200~201

(2000-11-02 收稿,2001-04-10 修回)

(本文编辑 王 晴)