

TFF3 和 VEGF 表达与胃癌发生、浸润和转移的相关性

范立凤¹, 刘慧敏²

(1. 十堰市中医医院, 湖北 十堰 442000; 2. 湖北医药学院附属东风医院药学部, 湖北 十堰 442000)

摘要: [目的] 探讨 TFF3 和 VEGF 的表达与胃癌发生、浸润和转移的相关性。[方法] 采用免疫组织化学 SP 法检测 70 例胃癌组织及其癌旁组织、40 名健康体检者的正常胃黏膜组织中 TFF3 和 VEGF 的表达情况。[结果] TFF3 和 VEGF 在正常胃组织、癌旁组织和胃癌组织中的阳性表达率分别为 5.0%、40.0%、58.6% 和 2.5%、47.1%、67.10%, 同一指标组间比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。TFF3 在胃癌组织中的表达与局部淋巴结转移、TNM 分期、预后有关, VEGF 则与肿瘤分化程度、浆膜浸润程度、局部淋巴结转移、TNM 分期、预后有关 ($P < 0.05$)。TFF3 和 VEGF 在胃癌中的表达呈正相关 ($r = 0.532, P < 0.05$)。[结论] TFF3 和 VEGF 的表达可能与胃癌的发生、浸润、转移和预后有关, 两者在胃癌中的表达呈正相关, 对胃癌的发生可能有协同作用。

关键词: 胃肿瘤; 三叶因子 3; 血管内皮生长因子; 免疫组织化学

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2017)02-0125-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2017.02.B010

Expression of TFF3 and VEGF in Gastric Cancer and Their Clinicopathological Significance

FAN Li-feng¹, LIU Hui-min²

(1. Shiyan Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shiyan 442000, China;

2. Hubei Dongfeng Hospital Affiliated to Hubei Medical College, Shiyan 442000, China)

Abstract: [Objective] To investigate the expression of TFF3 and VEGF in gastric cancer and their clinicopathological significance. [Methods] The expression of VEGF and TFF3 were detected with SP immunohistochemical method in cancer and adjacent tissues of 70 gastric cancer patients and in normal gastric mucosa of 40 healthy subjects. [Results] There were significant differences in expression rates of TFF3 and VEGF among normal gastric mucosa, cancer-adjacent tissues and gastric carcinoma ($P < 0.05$). The expression of TFF3 in gastric cancer tissues was associated with lymph node metastasis, TNM staging and prognosis, while the expression of VEGF was associated with tumor differentiation, serosal infiltration, lymph node metastasis, TNM staging and prognosis ($P < 0.05$). The expressions of TFF3 and VEGF in gastric cancer were positively correlated with each other ($r = 0.532, P < 0.05$). [Conclusion] The results indicate that the expression of TFF3 and VEGF may be associated with the occurrence, invasion, metastasis and prognosis of gastric cancer.

Subject words: gastric neoplasms; trefoil factor 3; vascular endothelial growth factor; immunohistochemistry

胃癌是人类常见的消化道恶性肿瘤, 具有较高的发病率和死亡率, 其死亡率居全球肿瘤相关死亡

原因的第 2 位, 严重影响人类的生命健康和生活质量^[1]。目前临床胃癌治疗方法主要为手术、放疗与化疗等, 但其预后受肿瘤浸润和转移的影响^[2]。胃癌的浸润与转移是多基因及其蛋白表达产物共同作用的结果。三叶因子 3 (trefoil factor 3, TFF3) 是三叶肽家族的一员, 研究发现 TFF3 对胃肠道黏膜具有一

基金项目: 十堰市科学技术研究与开发项目 (14Y49)

通讯作者: 范立凤, 主治医师, 学士; 十堰市中医医院脾胃肺病科, 湖北省十堰市顾家岗丹江路 1 号 (442000); E-mail: fanlifeng390@163.com

收稿日期: 2016-07-13; **修回日期:** 2016-09-18

定的保护和修复作用^[3],并与多种肿瘤的发生、发展有密切关系^[4]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)作用于血管内皮细胞,具有内分泌生长功能,促进新生血管形成,并可促进肿瘤生长和转移^[5]。但 TFF3 和 VEGF 与胃癌的关系仍未明确,尤其是两者之间的相关性研究相对较少,本研究旨在探讨 TFF3 和 VEGF 的表达与胃癌发生、浸润和转移的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取我院 2014 年 11 月至 2015 年 11 月收治的 70 例行手术治疗胃癌患者的术后标本,均经病理学检查确诊。所有标本术前未接受放化疗及非甾体抗炎药物治疗。其中男性 38 例,女性 32 例;年龄 32~78 岁,平均 57.3 ± 10.6 岁;高、中分化胃癌 30 例,低、未分化胃癌 40 例;未侵及浆膜层 31 例,侵及浆膜层 39 例;无局部淋巴结转移 31 例,有局部淋巴结转移 39 例;根据国际抗癌联盟(UICC)中关于胃癌 TNM 分期标准:Ⅰ期 12 例,Ⅱ期 20 例,Ⅲ期 22 例,Ⅳ期 16 例。同时取该 70 例胃癌患者对应的距癌缘 3~5cm 的癌旁组织和 40 名健康体检者的正常胃黏膜组织进行对比研究。其中 40 名健康体检者中男性 21 例,女性 19 例;年龄 33~75 岁,平均 56.2 ± 10.9 岁。

1.2 实验试剂

鼠抗人 TFF3 单克隆抗体(工作浓度 1:100)、兔抗人 VEGF 单克隆抗体(即用型)、SP 免疫组化试剂盒、DAB 显色剂均购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 检测方法

采用 SP 免疫组织化学方法,所有标本均采用 10% 甲醛固定,常规组织处理,脱水、渗蜡、包埋,以 $4\mu\text{m}$ 厚连续切片。常规脱蜡、水化,采用 SP 染色方法进行免疫组化染色,DAB 显色,并以苏木素复染,吹干,具体操作严格按 SP 染色试剂盒的要求进行。阴性对照组采用生理盐水磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗,其余步骤同上。

1.4 判定标准

TFF3 和 VEGF 的阳性染色主要位于细胞质和(或)细胞膜,其中的淡黄色至棕黄色颗粒即为阳性

细胞。每份标本在高倍视野(400 倍)下取 5 个观察视野,观察每个视野的阳性细胞率,取平均值,按以下标准计分:阳性细胞 $\leq 5\%$ 计 0 分, $5\% \sim 25\%$ 计 1 分, $25\% \sim 50\%$ 计 2 分, $50\% \sim 75\%$ 计 3 分, $> 75\%$ 计 4 分。阳性细胞染色程度计分标准:基本无色计 0 分,淡黄色计 1 分,黄色计 2 分,棕黄色计 3 分。阳性表达的最终界定由以上两者计分乘积表示:阴性(-)为 0 分,弱阳性(+)为 1~4 分,中度阳性(++)为 5~8 分,强阳性(+++)为 9~12 分。

1.5 统计学处理

采用 SPSS18.0 对数据进行统计分析,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验进行分析;相关性分析采用 Spearman 等级相关分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 TFF3 和 VEGF 在不同胃黏膜组织中的表达情况

TFF3 和 VEGF 的阳性均主要定位在细胞质中,为棕黄色颗粒(Figure 1)。TFF3 和 VEGF 在正常胃组织、癌旁组织和胃癌组织中的阳性表达率见表 1。

Table 1 The expression of TFF3 and VEGF in different gastric mucosa tissues

Group	n	TFF3		VEGF	
		+	%	+	%
Normal tissues	40	2	5.0	1	2.5
Cancer adjacent tissues	70	28	40.0	33	47.1
Tumor tissues	70	41	58.6	47	67.1

癌旁组织与正常组织 ($\chi^2=15.720, P<0.001$)、胃癌组织与正常组织 ($\chi^2=30.681, P<0.001$)、胃癌组织与癌旁组织 ($\chi^2=4.830, P=0.028$) 中 TFF3 的阳性率比较差异均有统计学意义。

癌旁组织与正常组织 ($\chi^2=23.755, P<0.001$)、胃癌组织与正常组织 ($\chi^2=43.247, P<0.001$)、胃癌组织与癌旁组织 ($\chi^2=5.717, P=0.017$) 中 VEGF 的阳性率比较差异均有统计学意义。

2.2 TFF3 和 VEGF 的表达与胃癌临床病理特征间的关系

TFF3 在胃癌组织中的表达与局部淋巴结转移、TNM 分期、预后有关,VEGF 在胃癌中的表达则与肿瘤分化程度、浆膜浸润程度、局部淋巴结转移、TNM 分期、预后有关 ($P<0.05$) (Table 2)。

2.3 胃癌患者 TFF3 与 VEGF 表达的相关性

70 例胃癌患者中, TFF3 和 VEGF 均为阳性者 37



例,均为阴性者 19 例,经 Spearman 相关分析,两者在胃癌中的表达呈正相关($r=0.532, P<0.05$)(Table 3)。

3 讨 论

胃癌作为常见的消化道恶性肿瘤,具有早期发病隐匿,症状缺乏特异性的特点^[6],因此临床早期诊断的准确率并不高,多数患者就诊时已发展为中晚期,严重影响治疗效果及其预后。随着分子生物学和基因学的不断发展和进步,胃癌的肿瘤标志物和基因治疗靶点成为研究者们努力的方向。胃癌的发生是一个多阶段、多基因的复杂过程^[7],目前临床发现的生物标志物包括 TFF3、VEGF、COX-2、CD147 等。

TFF3 是 Suemori 等^[8]于 1991 年首次在大鼠空肠内发现,随后在唾液腺、乳腺、呼吸道、下丘脑等部位均发现其存在。已有研究证实^[9],正常胃黏膜中很

少甚至不表达 TFF3,但慢性胃炎或胃癌组织中 TFF3 的表达大量增加。提示 TFF3 的表达与慢性胃炎和胃癌密切相关。TFF3 是由小肠或大肠杯状细胞分泌,具有抗热性分解、抗蛋白酶、抗酸的特性,对保护胃肠道黏膜和修复损伤的上皮具有重要作用^[10]。随着对胃癌的研究日益深入,有学者发现,TFF3 与胃癌的发生、浸润和转移具有一定的关系^[11]。王臣臣等^[12]研究发现,TFF3 在胃癌中的阳性表达率为 56.1%,且其阳性率与临床 TNM 分期和淋巴结转移有关。本研究结果亦显示,TFF3 在正常组织、癌旁组织和胃癌组织中的阳性表达率比较,差异有统计学意义($P<0.05$);TFF3 在胃癌组织中的表达与局部淋巴结转移、TNM 分期、预后有关($P<0.05$)。

肿瘤细胞增殖、浸润和转移的基础是血管生成^[13]。VEGF 是所有血管生成促进因子中作用最强的促血管生成因子,可强烈诱导血管生成,并可特异性地作

Table 2 Relationship between the expression of TFF3 and VEGF with clinicopathological features in gastric cancer

Factors	n	TFF3			VEGF		
		Positive(%)	χ^2	P	Positive(%)	χ^2	P
Gender							
Male	38	22(57.9)	0.016	0.900	27(71.1)	0.576	0.448
Female	32	19(59.4)			20(62.5)		
Age(years)							
≥60	39	24(61.5)	0.319	0.572	26(66.7)	0.009	0.924
<60	31	17(54.8)			21(67.7)		
Degree of differentiation							
High, middle	30	19(63.3)	0.491	0.484	13(43.3)	13.491	<0.001
Low, non	40	22(55.0)			34(85.0)		
Serosal invasion							
Yes	39	24(61.5)	0.319	0.572	32(82.1)	8.872	0.003
No	31	17(54.8)			15(48.4)		
Lymph node metastasis							
Yes	39	28(71.8)	6.346	0.012	33(84.6)	12.187	<0.001
No	31	13(41.9)			14(45.2)		
TNM stages							
I + II	32	14(43.8)	5.337	0.021	16(50.0)	7.852	0.005
III+IV	38	27(71.1)			31(81.6)		
Prognosis							
Good	29	4(13.8)	40.913	<0.001	7(24.1)	41.507	<0.001
Bad	41	37(90.2)			40(97.6)		

Table 3 Correlation of TFF3 and VEGF expression in patients with gastric

TFF3	VEGF		Total
	+	-	
+	37	4	41
-	10	19	29
Total	47	23	70

用于内皮细胞,使其产生促分解、增生和趋化作用,增加血管内皮的通透性而促进浸润转移,并使肿瘤细胞逃脱免疫监视^[14]。本研究结果显示,VEGF在正常组织、癌旁组织和胃癌组织中的阳性表达率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。VEGF在胃癌中的表达与肿瘤分化程度、浆膜浸润程度、局部淋巴结转移、TNM分期、预后有关($P<0.05$)。提示VEGF与胃癌的浸润转移有重要关系,可能是胃癌预后不良的一个标志物,值得进一步研究探讨。本研究结果与李一鑫等^[15]的研究基本一致,其研究表明,VEGF在胃癌组织中的阳性表达率为75.3%,VEGF的高表达与淋巴结转移、远处转移和临床分期有关。

临床应用中较少研究TFF3和VEGF两者联合检测的关系,本研究结果显示,TFF3和VEGF在胃

癌中的表达呈正相关($r=0.532$, $P<0.05$)。提示两者在胃癌的发生、浸润、转移过程中可能存在协同作用。可能的原因,两者共同促进肿瘤新血管形成,从而导致肿瘤浸润转移。两者联合检测在胃癌组织中的表达可能较单一指标能更准确、更敏感地判定预后,对胃癌的早期诊断和早期干预有重要的指导价值,但目前国内将两者联合应用于临床的报道仍较少,有待进一步研究探讨。

综上所述,TFF3和VEGF的表达可能与胃癌的发生、浸润和转移有关,两者在胃癌中的表达呈正相关,对胃癌的发生可能有协同作用,临床可将两者作为诊断和预测胃癌发生转移的检测指标。

参考文献:

- [1] Ferro A, Peleteiro B, Malvezzi M, et al. Worldwide trends in gastric cancer mortality (1980–2011), with predictions to 2015, and incidence by subtype [J]. Eur Cancer, 2014, 50(7): 1330–1344.
- [2] Li XB, Mei LY, Che XM. Progress prognostic factors of gastric cancer[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2013, 22(4): 494–497. [李小宝, 梅乐园, 车向明. 影响胃癌预后因素的研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2013, 22(4): 494–497.]
- [3] Kaise M, Miwa J, Fujimoto A, et al. Influence of Helicobacter pylori status and eradication on the serum levels of trefoil factors and pepsinogen test; serum trefoil factor 3 is a stable biomarker[J]. Gastric Cancer, 2013, 16(3): 329–337.
- [4] Wang L, Huang JK. Study of TFF3 as the tumor biomarkers [J]. Cancer Research on Prevention and Treatment, 2015, 42(11): 1156–1160. [王琳, 黄建坤. TFF3作为肿瘤生物标志物的研究 [J]. 肿瘤防治研究, 2015, 42(11): 1156–1160.]
- [5] Schutz FAB, Je Y, Richards CJ, et al. Meta-analysis of randomized controlled trials for the incidence and risk of treatment-related mortality in patients with cancer treated with vascular endothelial growth factor tyrosine kinase in-

- hibitors[J]. J Clin Oncol, 2012, 30(8):871-877.
- [6] Choi J, Nam SK, Park DJ, et al. Correlation between microsatellite instability-high phenotype and occult lymph node metastasis in gastric carcinoma[J]. APMIS, 2015, 123(3):215-222.
- [7] Deng Y, Tang SX. Progress of relationship between Runx3 and gastric cancer[J]. Journal of Military Surgeon in Southwest China, 2015, 17(4):438-441.[邓燕, 唐世孝. Runx3与胃癌关系的研究进展[J]. 西南军医, 2015, 17(4):438-441.]
- [8] Shang YL, Qian YB. Expression and clinical significance of trefoil factor 3 in hepatocellular carcinoma tissue [J]. World Chinese Journal of Digestology, 2014, 22(8):1141-1145.[尚允利, 钱叶本. 三叶因子 3 在肝细胞癌组织中的表达及临床意义[J]. 世界华人消化杂志, 2014, 22(8):1141-1145.]
- [9] Yu JH, Zheng JB, Sun XJ. Progress of metaplasia in gastric intestinal epithelium [J]. Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(10):1444-1450.[余钧辉, 郑见宝, 孙学军. 胃黏膜肠上皮化生的研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2015, 24(10):1444-1450.]
- [10] Xue X, Nie SN. Progress of intestinal trefoil factor on protection of the gastrointestinal tract [J]. Journal of Medical Postgraduates, 2014, 27(4):439-443.[薛翔, 聂时南. 肠三叶因子对胃肠道保护作用的研究进展 [J]. 医学研究生学报, 2014, 27(4):439-443.]
- [11] Meng JR, Tang HZ, Zhou KZ, et al. TFF3 and survivin expressions associate with a lower survival rate in gastric cancer[J]. Clin Experiment Med, 2013, 13(4):297-303.
- [12] Wang CC, Gu XM, Wang Y, et al. Relationship between expression of TFF3 in gastric cancer and precancerous lesions with angiogenesis [J]. Journal of Shandong University (Health Science), 2013, 51(2):99-103.[王臣臣, 顾晓萌, 王妍, 等. TFF3 在胃癌、癌前病变中的表达及与血管生成的关系[J]. 山东大学学报 (医学版), 2013, 51(2):99-103.]
- [13] Zheng L, Qi T, Yang D, et al. microRNA-9 suppresses the proliferation, invasion and metastasis of gastric cancer cells through targeting cyclin D1 and Ets1 [J]. PLoS One, 2013, 8(1):e55719.
- [14] Yu JJ, Guo YL, Li GH, et al. The expression and correlation of vascular endothelial growth factor and tumor necrosis factor α in bladder cancer [J]. Chinese Journal of the Frontiers of Medical Science (Electronic Version), 2015, 7(6):153-155.[余家俊, 郭永连, 李国灏, 等. 血管内皮生长因子及肿瘤坏死因子- α 在膀胱癌中的表达及其相关性研究[J]. 中国医学前沿杂志 (电子版), 2015, 7(6):153-155.]
- [15] Li YX, Zhang N, Tao L, et al. Clinicopathological and prognostic significance of overexpression of VEGF and VEGFR2 in gastric cancer [J]. World Chinese Journal of Digestology, 2014, 22(29):4406-4414.[李一鑫, 张楠, 陶林, 等. 胃癌患者 VEGF, VEGFR2 高表达的临床病理学意义及其在胃癌进展与生存预后中的作用[J]. 世界华人消化杂志, 2014, 22(29):4406-4414.]

作者/通讯作者校对文稿须知

作者/通讯作者自校拟发排校样稿,是期刊出版工作中不可缺少的重要环节,也是确保期刊质量的重要手段。特此重申,请作者/通讯作者务必按以下要求进行校对:

1. 首先全面校对全文,对编辑提出的校样稿中需特别注意校对及需补充的内容,必须予以改正或解释。
2. 所有需修改和补充的内容,均请用红笔将正确的字符书写清楚(避免使用不规范的汉字);必须改动的字符,直接在校样稿的空白处写出,所增删字数最好相符。
3. 文题、作者、单位名称、邮政编码、通讯作者等信息,务必确认无误。
4. 对正文文字(包括外文字母及大小写)、标点符号、数据、图表、计量单位、参考文献等应认真细致逐一校对;请用规范的通用药品名称(不用商品名)和医学名词,认真核查并使用标准计量单位及药物剂量。
5. 参考文献缺项的部分,应按本刊规定的著录格式进行补充。请作者务必认真核实所引用文献是否正确,并核查正文中角码是否与文后所列参考文献序号对应。
6. 校对完毕请作者/通讯作者签名,并在规定的日期内将校样稿寄回编辑部。如有要求补充的资料,也需一并寄回。
7. 由于出版周期的限制,如作者/通讯作者不能在规定时间内校对寄回,请及时联系本刊编辑部说明原因,否则可能造成该文稿延期出版,或者取消刊发。

《肿瘤学杂志》编辑部