

神经胶质瘤患者血浆中 TF、TFPI-1 及 TFPI-2 的表达及意义

Expression of Detection of Plasma TF, TFPI-1 and TFPI-2 and Their Significance in Patients with Glioma // ZHOU Rui-fang, JIN Jian-ming, YE Jun, et al.

周瑞芳¹, 金建明¹, 叶军², 张拥黎³, 孙佳俊³, 陈圆圆⁴, 卢仁泉³

(1.泰州职业技术学院, 江苏 泰州 225300; 2.泰州市人民医院临床医学研究所, 江苏 泰州 225300; 3.复旦大学附属肿瘤医院, 上海 200032; 4.复旦大学附属华山医院, 上海 200040)

摘要: [目的] 探讨组织因子(tissue factor, TF)、组织因子途径抑制物-1(tissue factor pathway inhibitor-1, TFPI-1)和 TFPI-2 的检测在神经胶质瘤患者诊疗中的意义。[方法] 采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定 45 例神经胶质瘤患者及 42 例健康对照者血浆中的 TF、TFPI-1 及 TFPI-2 表达情况。[结果] 神经胶质瘤患者血浆中的 TF、TFPI-1 及 TFPI-2 的水平分别为 105.50 ± 37.61 pg/ml, 39.21 ± 7.51 ng/ml, 11.16 ± 3.96 ng/ml, 高于健康对照组的 82.13 ± 23.45 pg/ml, 28.16 ± 5.60 ng/ml, 7.10 ± 3.07 ng/ml ($P=0.02, 0.01, 0.01$); 且高级别胶质瘤患者血浆中的 TF 水平(117.33 ± 31.19 pg/ml)显著高于低级别胶质瘤患者(95.23 ± 27.69 pg/ml, $P=0.03$), 但其 TFPI-2 的水平(7.96 ± 2.99 ng/ml)低于低级别胶质瘤组(13.78 ± 3.53 ng/ml, $P=0.01$), 两组 TFPI-1 水平差异无统计学意义。[结论] TF、TFPI-1 及 TFPI-2 在神经胶质瘤患者血浆中的水平明显高于健康人群, 随着神经胶质瘤的恶性程度的增高, 血浆 TFPI-2 的水平反而降低。

关键词: 组织因子; 组织因子途径抑制物-1; 组织因子途径抑制物-2; 神经胶质瘤

中图分类号: R730.264 **文献标识码:** B **文章编号:** 1671-170X(2018)02-0168-03

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2018.02.B018

组织因子(tissue factor, TF)是外源性凝血途径的启动因子, 在调控生理性及病理性凝血反应中起重要作用。除此之外, TF 还参与肿瘤的生长、转移等^[1-3]。组织因子途径抑制物(tissue factor pathway inhibitor, TFPI)是体内最强的生理性抗凝物质, 可抑制 TF 诱导的血栓形成。TFPI 有两种同族异形体: TFPI-1 和 TFPI-2。TFPI-1 主要由微血管内皮细胞产生, 作为凝血反应上游启动物 TF-FV IIa 的抑制剂, 抑制血栓形成, 同时还具有抗炎和调节细胞凋亡效应; TFPI-2 主要存在于细胞外基质, 通过抑制基质金属蛋白酶和纤溶酶发挥抑制凝血的作用^[4-5]。TFPI-2 还在血管形成、肿瘤侵袭转移和动脉粥样硬化等一系列病理生理过程中发挥至关重要的作用^[6]。Guan 等^[7]通过免疫组化实验证实组织因子在神经胶质瘤组织细胞中的表达水平与其恶性程度分级相

关。但是, 神经胶质瘤的组织标本不容易获取, 而血液标本相对容易获取, 且易于反复采集。另外, 已有研究显示在胃癌、食管癌、肺癌、结肠癌患者的血清中检测到 TF 的表达明显升高, 对疾病病情的判断有一定的意义^[8]。本次研究, 我们通过检测神经胶质瘤患者血浆标本中 TF、TFPI-1、TFPI-2 的表达, 分析探讨可能成为神经胶质瘤的病情进展的特异性、易操作性均较高的检测项目。

1 材料与方法

1.1 研究对象

经医院伦理委员会同意, 收集 2014 年 3 月至 2016 年 8 月期间在复旦大学附属华山医院和江苏省泰州市人民医院确诊为神经胶质瘤的住院患者 45 例, 其中, 男性 22 例, 女性 23 例, 年龄 41~71 岁, 平均 50.3 岁, 全部病例经影像学、病理或细胞学确诊。按照 WHO 的病理分级标准 I 级、II 级、III 级、IV 级分别为 2 例、25 例、2 例、16 例。排除标准: 高血

基金项目: 泰州职业技术学院 2015 年度科研项目(TZYKY-15-10)
通讯作者: 卢仁泉, 主任助理, 副教授, 副主任技师, 博士; 复旦大学附属肿瘤医院检验科, 上海市徐汇区东安路 270 号(200032); E-mail: lurenquan@126.com
收稿日期: 2017-01-04; **修回日期:** 2017-02-27

压、糖尿病患者;合并肝脏、肾脏及造血系统疾病;妊娠或哺乳期妇女;周围血管疾病;感染、高热;风湿性疾病或其他自身免疫性疾病。正常对照组 42 名,其中男性 20 名,女性 22 名,年龄 43~72 岁,平均 50.6 岁,均为无器质性病变的健康体检者,且近期均无明显的炎症感染。

1.2 标本收集与检测

所有患者在采集标本前均未接受化疗或放疗。采集晨间空腹静脉 1.8ml,放入含 0.109mol/L 枸橼酸钠抗凝剂 0.2ml 的试管中,轻摇,分离血浆并保存于-80℃低温冰箱待测。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血浆 TF、TFPI-1、TFPI-2 (试剂盒由美国 ADL 公司提供),检测仪器为美国 Dynex 公司的 OpSys.MR 酶标仪。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计学软件分析,计量资料以均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示,组间比较采用 *t* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 胶质瘤组、正常对照组血浆 TF、TFPI-1 和 TFPI-2 水平比较

神经胶质瘤患者血浆中的 TF 水平为 105.50±37.61pg/ml,高于健康对照组的 82.13±23.45pg/ml (*P*<0.05)。神经胶质瘤患者血浆中的 TFPI-1 及 TFPI-2 的水平分别为 39.21±7.51ng/ml、11.16±3.96ng/ml,均高于健康对照组 (28.16±5.60ng/ml、7.10±3.07ng/ml, *P* 均<0.05),见 Table 1。

Table 1 Comparison of plasma TF, TFPI-1 and TFPI-2 levels in glioma group and healthy control group

Groups	n	TF (pg/ml)	TFPI-1 (ng/ml)	TFPI-2 (ng/ml)
Healthy control	42	82.13±23.45	28.16±5.60	7.10±3.07
Glioma	45	105.50±37.61	39.21±7.51	11.16±3.96
<i>t</i>	—	2.38	4.89	3.14
<i>P</i>	—	0.02	0.01	0.01

2.2 低级别胶质瘤组、高级别胶质瘤组血浆 TF、TFPI-1 和 TFPI-2 水平比较

本次实验组中按照 WHO 的分级标准被诊断为 I 级和 III 级神经胶质瘤患者的例数均比较少,因此,统计分析时将 I 级和 II 级的患者合并为低级别胶质

瘤组,将 III 级和 IV 级的患者合并为高级别胶质瘤组。低级别胶质瘤组患者血浆中的 TF 水平为 95.23±27.69pg/ml,低于高级别胶质瘤组患者血浆中的 TF 水平 (117.33±31.19pg/ml, *P*<0.05)。低级别及高级别胶质瘤患者血浆中的 TFPI-1 的水平分别为 38.02±6.07 ng/ml、41.75±8.40ng/ml,两组相比差异无统计学意义 (*P*>0.05)。而高级别胶质瘤患者血浆中的 TFPI-2 的水平为 7.96±2.99ng/ml,低于低级别胶质瘤组 (13.78±3.53ng/ml, *P*<0.05)。见 Table 2。

Table 2 Comparison of plasma TF, TFPI-1 and TFPI-2 levels in patients with low-grade glioma or high-grade glioma

Groups	n	TF (pg/ml)	TFPI-1 (ng/ml)	TFPI-2 (ng/ml)
Low-grade glioma	27	95.23±27.69	38.02±6.07	13.78±3.53
High-grade glioma	18	117.33±31.19	41.75±8.40	7.96±2.99
<i>t</i>	—	2.10	1.38	2.85
<i>P</i>	—	0.03	0.19	0.01

3 讨 论

胶质瘤起源于神经系统的胶质细胞,是迄今人类发病率最高的原发性颅脑肿瘤,约占颅脑肿瘤的 46%,其中位生存时间约为 1 年^[9]。胶质瘤的发生发展过程是多步骤、多因素的,其确切的发病机制尚未明确。近些年,随着分子遗传学、分子生物学等学科的迅速发展和检测方法的不断更新,研究人员发现很多与胶质瘤发生发展紧密相关的基因,为进一步认识胶质瘤发生发展的机制、界定胶质瘤的分级分型、开展生物靶向治疗和判断预后等奠定基础^[10]。

近年来,TF、TFPI-1 和 TFPI-2 被认为在多种肿瘤细胞的生长和转移中扮演一定的角色。本研究显示神经胶质瘤患者血浆中的 TF、TFPI-1 和 TFPI-2 水平均高于健康对照组,且 TF 的表达水平随着肿瘤的恶性程度增加而增加。已有诸多研究发现在原发性结直肠癌、乳腺癌和胰腺癌、非小细胞肺癌、胃癌等多种类型肿瘤中,TF 的表达水平升高,并且 TF 的水平与肿瘤的侵袭性相关^[11],且在多个实验模型中也证实 TF 表达升高可以促进肿瘤生长和转移^[12]。本研究中,神经胶质瘤患者血浆 TFPI-1 和 TFPI-2 的水平升高可能是肿瘤细胞自行合成,肿瘤浸润使内皮细胞受损,促使 TFPI 过度表达^[13],也可能是由增高的 TF 反馈所引起。

本次研究也发现,随着胶质瘤恶性程度的增高,高级别胶质瘤组患者血浆的 TFPI-1 水平无显著变化,而 TFPI-2 水平却显著低于低级胶质瘤组患者。这提示,神经胶质瘤细胞的侵袭和转移可能和 TFPI-2 更相关。在体外培养的 9 株高级别胶质瘤细胞系中,有 5 株存在 TFPI-2 的表达缺失;经腺病毒介导敲除 TFPI-2 基因后,曾表达 TFPI-2 的胶质瘤细胞出现明显的增殖、侵袭和转移的恶性生物学行为,且出现 MMP-1 和 MMP-2 蛋白表达下降^[14]。TFPI-2 的对神经胶质瘤细胞的抑制作用可能与其抑制 TF 的促肿瘤组织内的血管形成作用有关,同时它还可以直接抑制纤溶酶,从而减低肿瘤细胞对基质的蛋白水解,阻碍肿瘤细胞的转移^[15]。

当前,越来越多的研究致力于以 TF 为靶点的肿瘤免疫治疗研究,并取得了一定的进展。如在小鼠的肿瘤模型中可以通过运用 TF 抑制剂(包括 TFPI)^[16]、TF 敲除^[17]等来控制 TF 活性,进而抑制肿瘤细胞的生长和转移。最近的两项研究都指出了以 TF 作为靶点的治疗在神经胶质瘤中取得了一定的效果^[18,19]。因而,本研究也为今后以 TF、TFPI-2 作为靶点进行治

疗在冠心病发展过程中的变化意义[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2015, 13(12):1369-1371.]

参考文献:

- [1] Kocatürk B, Versteeg HH. Tissue factor isoforms in cancer and coagulation: May the best isoform win [J]. *Thromb Res*, 2012, 129 Suppl 1(4): S69-S75.
- [2] Schaffner F, Yokota N, Ruf W. Tissue factor proangiogenic signaling in cancer progression[J]. *Thromb Res*, 2012, 129 Suppl 1(4): S127-S131.
- [3] Magnus N, Garnier D, Meehan B, et al. Tissue factor expression provokes escape from tumor dormancy and leads to genomic alteration [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(9): 3544-3549.
- [4] Liu RL, Li J, Ni HC, et al. Clinical study of the association between tissue factor pathway inhibitor 2 (TFPI-2) gene polymorphisms and acute coronary syndrome [J]. *Fudan Univ J Med Sci*, 2013, 40(6): 685-693. [刘荣乐, 李剑, 倪唤春, 等. 组织因子途径抑制物 2(TFPI-2) 基因多态性与急性冠脉综合征的关联性 [J]. 复旦学报 (医学版), 2013, 40(6): 685-693.]
- [5] Lu MF, Lin Y, Wang JJ, et al. The changes of plasma TF, TFPI-1 and TFPI-2 in the development of coronary heart disease [J]. *Chinese Journal of Integrative Medicine on Cardio/Cerebrovascular Disease*, 2015, 13(12): 1369-1371. [卢明芳, 林毅, 王建军, 等. 血浆 TF、TFPI-1 和 TFPI-2 在冠心病发展过程中的变化意义[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2015, 13(12): 1369-1371.]
- [6] Chand HS, Foster DC, Kiesel W. Structure, function and biology of tissue factor pathway inhibitor-2 [J]. *Thromb Haemost*, 2005, 94(6): 1122-1130.
- [7] Guan M, Jin J, Su B, et al. Tissue factor expression and angiogenesis in human glioma [J]. *Clin Biochem*, 2002, 35(4): 321-325.
- [8] Lu YL, Fan LH. Progression of tissue factor in the malignant tumor [J]. *Journal of Modern Oncology*, 2015, 23(5): 709-712. [卢彦霖, 范理宏. 组织因子在恶性肿瘤中的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(5): 709-712.]
- [9] Ostrom QT, Gittleman H, Farah P, et al. CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2006-2010 [J]. *Neuro Oncol*, 2013, 15(S2): 1-56.
- [10] Thomas L, Di Stefano AL, Ducray F. Predictive biomarkers in adult gliomas: the present and future [J]. *Curr Opin Oncol*, 2013, 25(6): 689-694.
- [11] Rickles FR, Brenner B. Tissue factor and cancer [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2008, 34(2): 143-145.
- [12] Ruf W. Tissue factor and PAR signaling in tumor progression [J]. *Thromb Res*, 2007, 120(S2): S7-S12.
- [13] Yu JL, May L, Lhotak V, et al. Oncogenic events regulate tissue factor expression in colorectal cancer cells implication for tumor progression and angiogenesis [J]. *Blood*, 2005, 105(4): 1734-1741.
- [14] Gessler F, Voss V, Seifert V, et al. Knockdown of TFPI-2 promotes migration and invasion of glioma cells [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 497(1): 49-54.
- [15] Yanamandra N, Kondraganti S, Gondi CS, et al. Recombinant adeno-associated virus (rAAV) expressing TFPI-2 inhibits invasion, angiogenesis and tumor growth in a human glioblastoma cell line [J]. *Int J Cancer*, 2005, 115(6): 998-1005.
- [16] Zhao J, Aguilar G, Palencia S, et al. rNAPc2 inhibits colorectal cancer in mice through tissue factor [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(1): 208-216.
- [17] Wang X, Wang M, Amarzguioui M, et al. Downregulation of tissue factor by RNA interference in human melanoma LOX - L cells reduces pulmonary metastasis in nude mice [J]. *Int J Cancer*, 2004, 112(6): 994-1002.
- [18] Barboza T, Gomes T, Mizurini DM, et al. (99m)Tc-ixolaris targets glioblastoma-associated tissue factor: In vitro and pre-clinical applications [J]. *Thromb Res*, 2015, 136(2): 432-439.
- [19] Magus N, Meehan B, Garnier D, et al. The contribution of tumor and host tissue factor expression to oncogene-driven gliomagenesis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 454(2): 262-268.