

文章编号:1005-6947(2005)10-0789-03

· 简要论著 ·

# TRAIL 在胃癌中的表达及其意义

刘胜雄, 汤明, 吴飞跃

(湖南省肿瘤医院 腹部外科, 湖南 长沙 410006)

**摘要:**应用免疫组织化学 SP 法检测 40 例胃癌、14 例胃平滑肌瘤和 10 例良性胃病组织中肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配基 (TRAIL) 的表达, 并与临床病理参数进行相关性分析。结果显示: TRAIL 在胃癌、胃平滑肌瘤和良性胃病组织中的表达率依次为 35.0%, 71.4%, 80.0%; TRAIL 的表达与胃癌患者的性别、年龄、肿瘤部位无关 ( $P > 0.05$ ), 与胃癌细胞的生物学行为有关 ( $P < 0.05$ ); TRAIL 的表达与胃癌患者的预后有一定关系, 其表达高者预后较好。提示 TRAIL 可能在胃癌的发生、发展和预后方面起一定的作用。

**关键词:**胃肿瘤/病理学; 平滑肌瘤/病理学; 凋亡诱导配基

**中图分类号:** R735.2; R730.21

**文献标识码:** B

肿瘤的发生和发展与细胞凋亡关系密切, 近年来对肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体 (TNF-related apoptosis inducing ligand, TRAIL) 的研究已成为热点, 主要集中在 TRAIL 在病理条件下尤其是肿瘤中的表达。本研究应用免疫组织化学 SP 法检测胃癌中 TRAIL 的表达情况, 以探讨其在胃癌发生、发展及预后方面所起的作用。

## 1 材料与方 法

### 1.1 分组及标本来源

1.1.1 胃癌组 选取 1997 年 6 月~1999 年 6 月在我院行胃癌根治术患者 215 例, 按癌细胞分化程度高低进行分层抽样, 得到 40 例标本 (术前未经化疗、放疗及免疫治疗, 术后经病理证实, 临床资料完整) 作为胃癌组。其中男 30 例, 女 10 例; 中位年龄 58.8 (25~78) 岁。随访至 2004 年 6 月。

1.1.2 胃平滑肌瘤组 (肌瘤组) 选取同期手术切除的胃平滑肌瘤患者 14 例, 其中男 4 例, 女 10 例; 中位年龄 50.5 (23~70) 岁。

1.1.3 良性胃病对照组 (对照组) 选取胃溃疡行胃大部切除术患者 10 例的胃组织, 其中男 8 例, 女 2 例, 中位年龄 49.2 (22~71) 岁。

### 1.2 主要试剂

鼠抗人 TRAIL 单克隆抗体 (Santa Cruz 公司); SP 免疫组化染色试剂盒 (北京中山生物技术有限公司)。

### 1.3 免疫组化染色方法

石蜡切片常规脱蜡至水; 3% 过氧化氢阻断内源性过氧化酶活性; 微波修复抗原, 加封闭用羊血清, 37℃ 孵育 15 min; 加 TRAIL 单克隆抗体 (4 μg/mL) 4℃ 孵育过夜; 滴加生物素标记羊抗小鼠 IgG (1:150), 37℃ 孵育 30 min; 每张切片滴加 50 μL SP 复合物, 于 37℃ 孵育 30 min; 以新鲜配制的 DAB 显色, 苏木素复染, 封片, 显微镜下观察。镜下可见阳性染色主要位于胞浆内, 少数为细胞膜, 呈浅黄、棕黄或棕褐色颗粒。结果判定依据细胞显色的有无及深浅, 按半定量方法判断: (1) 按显色深浅评分。0 分, 细胞不显色; 1 分, 浅黄色显色; 2 分, 棕黄色显色; 3 分, 棕褐色显色。(2) 按显色比例评分。1 分, 显色癌细胞占癌细胞总数  $< 1/4$ ; 2 分, 显色癌细胞占癌细胞总数  $1/4 \sim 1/2$ ; 3 分, 显色癌细胞占癌细胞总数  $1/2 \sim 3/4$ ; 4 分, 显色癌细胞占癌细胞总数  $> 3/4$ 。最后以 (1) × (2) 的乘积划定标准: (-) 为 0 分; (+) 为 1~4 分; (++) 为 5~9 分; (+++) 为  $> 10$  分。

### 1.4 统计学处理

在 SPSS 软件 10.0 中完成。TRAIL 在不同组间比较采用 q 检验; TRAIL 与临床病理参数的相关性用  $\chi^2$  检验和 Logistic 回归; 生存率比较用 Log-Rank

收稿日期: 2005-03-02; 修订日期: 2005-07-12。

作者简介: 刘胜雄 (1967-), 男, 湖南衡阳人, 湖南省肿瘤医院副主任医师, 主要从事胃肠、肝胆方面的研究。

通讯作者: 刘胜雄 13975162718 (手机); E-mail: Liushengxiong-11@126.com。

检验及 Cox 模型。

## 2 结果

### 2.1 TRAIL 在各组中的表达

TRAIL 在胃癌组的表达率明显低于对照组和肌瘤组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 而肌瘤组与对照组之间无差异 ( $P > 0.05$ ) (表 1)。

表 1 TRAIL 在胃癌、平滑肌瘤和胃正常组织中的表达

组别	例数	TRAIL		阳性率 (%)
		(-)	(+) ~ (++++)	
对照组	10	2	8	80.0 <sup>†</sup>
胃癌组	40	26	14	35.0
肌瘤组	14	4	10	71.4 <sup>†</sup>

注: † 与胃癌组比较,  $P < 0.05$

### 2.2 TRAIL 表达与胃癌临床病理参数的关系

TRAIL 的表达水平与胃癌患者的年龄、性别及肿瘤的部位无关 ( $P > 0.05$ ), 与胃癌的生物学行为关系密切, 有浆膜浸润、低分化及有淋巴转移者 TRAIL 表达水平较低 ( $P < 0.05$ )。Logistic 回归分析显示胃癌组织分化程度、是否淋巴结转移及浆膜浸润与 TRAIL 的表达呈显著性正相关, 按密切性大小依次为淋巴结转移 ( $r = 0.42$ ), 分化程度 ( $r = 0.41$ ), 浆膜浸润 ( $r = 0.39$ )。COX 模型分析显示, 影响患者预后的因素从大到小依次为淋巴结转移 ( $\text{expb} = 21.56$ ), 浆膜浸润 ( $\text{expb} = 4.22$ ), 年龄 ( $\text{expb} = 2.31$ ) 以及 TRAIL ( $\text{expb} = 0.40$ ) (表 2)。

表 2 TRAIL 表达与胃癌的临床病理参数的关系

临床病理参数	TRAIL		$\chi^2$	P
	(-)	(+)		
年龄 (岁)				
≥60	16	8	0.07	>0.05
<60	10	6		
性别				
男	18	12	0.59	>0.05
女	8	2		
部位				
胃小弯、胃窦	17	7	3.37	>0.05
胃底、胃贲门	3	5		
胃体、胃大弯	6	2		
浆膜浸润				
有	18	4	6.08	<0.05
无	8	10		
分化程度				
低中	20	5	6.59	<0.05
高	6	9		
淋巴转移				
有	23	7	5.28	<0.05
无	3	7		

### 2.3 TRAIL 表达与胃癌患者预后的关系

TRAIL 表达与患者的预后密切相关, 经单因素时序检验 (Log-Rank 简化法) 显示, 阳性表达组预后优于阴性组 ( $P < 0.05$ ) (表 3)。TRAIL 阳性表达组平均生存时间为 3.50 (3.50 ± 1.70) 年, 阴性表达组为 2.31 (2.31 ± 1.58) 年。

表 3 TRAIL 的表达与患者生存时间 (年) 的关系 (n, %)

TRAIL	例数	≤1年	~2年	~3年	~4年	≥5年
(-)	26	18(69.2)	10(38.5)	4(15.4)	2(7.7)	2(7.7)
(+)	14	13(92.9)	10(71.4)	6(42.9)	6(42.9)	5(35.7)
P值		>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	>0.05

## 3 讨论

TRAIL 在体内广泛存在, 且具有复杂的功能; 它可以诱导衰老、突变的细胞凋亡, 起到免疫监视的作用, 有助于维持内环境的稳定。研究表明: TRAIL 可诱导胆管癌细胞<sup>[1]</sup>、结肠癌细胞<sup>[2]</sup>凋亡, 而对正常细胞作用极弱<sup>[3,4]</sup>; TRAIL 具有抗肿瘤的重要作用<sup>[5,6]</sup>。本研究结果显示, TRAIL 在胃平滑肌瘤及胃正常组织中的表达较高, 而在胃癌中的表达显著性下调 ( $P < 0.05$ ), 此结果与 Takamizawa 等<sup>[7]</sup>报道 TRAIL 在儿童肾肉瘤和肾癌中的表达明显低于正常肾组织, 且与肿瘤的临床行为相适应的结果一致。TRAIL 在胃癌中的表达下调, 可能通过改变死亡受体方式<sup>[8]</sup>或通过改变线粒体膜电位等途径<sup>[9,10]</sup>, 使癌变细胞凋亡不足, 以致癌变细胞大量增殖, 逃避宿主的免疫监视, 最终导致胃癌的发生。可见, TRAIL 的表达下调与胃癌发生关系密切。

本研究结果还显示, TRAIL 的表达与胃癌患者的性别、年龄、肿瘤的部位无关, 而与胃癌的生物学行为有密切关系, TRAIL 表达下调与浆膜有浸润、分化程度差、有淋巴结转移关系密切, 同一参数的组间差异有显著性 (均  $P < 0.05$ ), 提示 TRAIL 在胃癌的发展与演变中起重要作用。

据报道胃癌的预后主要取决于患者的年龄、病期、肿瘤的大小、组织类型、肿瘤部位、手术方式以及是否浆膜侵犯和淋巴结转移等, 尤以后两因素为重要<sup>[11]</sup>。本研究通过 COX 模型分析, 其结

果与之一致。TRAIL 表达阳性组生存时间长于表达阴性组。提示 TRAIL 是一个保护性因素,其表达的高低可能影响患者的预后。

总之,TRAIL 的表达与胃癌的发生、发展及预后有关,对 TRAIL 的研究可能为胃癌发生的病因、早期诊断、分子生物学治疗及预后的判断等提供新的思路。关于 TRAIL 的具体作用机制尚待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] Tanaka S , Sugimachi K , Shirabe K , *et al.* Expression and antitumor effects of TRAIL in human cholangiocarcinoma [ J ] . *Hepatology* , 2000 , 32 ( 3 ) : 523 - 527 .
- [2] Goke R , Goke A , Goke B , *et al.* Regulation of TRAIL-induced apoptosis in breast cancer by transcription factors [ J ] . *Cell Immunol* , 2000 , 201 ( 1 ) : 77 - 82 .
- [3] Fanger NA , Maliszewski CR , Schooler K , *et al.* Human dendritic cells mediate cellular apoptosis via tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand ( TRAIL ) [ J ] . *Exp Med* , 1999 , 190 ( 8 ) : 1155 - 1164 .
- [4] Walczak H , Miller RE , Arial K , *et al.* Tumoricidal activity of recombinant soluble tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand ( TRAIL ) in vivo [ J ] . *Nat Med* , 1999 , 5 ( 2 ) :

157 - 163 .

- [5] Takeda K , Hayakawa Y , Smyth MJ , *et al.* Involvement of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in surveillance of tumor metastasis by liver natural killer cells [ J ] . *Nat Med* , 2001 , 7 ( 1 ) : 94 - 100 .
- [6] Griffith TS , Wiley SR , Kubin MZ , *et al.* Monocyte-mediated tumoricidal activity via tumor necrosis factor-related cytokine, TRAIL [ J ] . *Exp Med* , 1999 , 189 ( 8 ) : 1343 - 1354 .
- [7] Takamizawa S , Okamoto S , Bishop W , *et al.* Differential apoptosis gene expression in pediatric tumors of the kidney [ J ] . *Pediatr Surg* , 2000 , 35 ( 2 ) : 390 - 395 .
- [8] Jean-Luc Buder , Holler N , Rieser E , *et al.* TRAIL receptor-2 signals apoptosis through FADD AND caspase-8 [ J ] . *Nat Cell Biol* , 2000 , 2 ( 2 ) : 241 - 243 .
- [9] Thomas WD , Zhang XD , Franco AV , *et al.* TNF-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis of melanoma is associated with changes in mitochondrial membrane potential and perinuclear clustering of mitochondria [ J ] . *Immunology* , 2000 , 165 ( 10 ) : 5612 - 5620 .
- [10] Yamada H , Tada-Oikawa S , Uchida A , *et al.* TRAIL causes cleavage of bid by caspase-8 and loss of mitochondrial membrane potential resulting in apoptosis in BJAB cells [ J ] . *Biophys Res Commun* , 1999 , 265 ( 1 ) : 130 - 133 .
- [11] Yokota T , Ishiyama S , Saito T , *et al.* Is tumor size a prognostic indicator for gastric ? [ J ] . *Anticancer Res* , 2002 , 22 ( 6 B ) : 3673 - 3677 .

## 国际肝胆胰协会中国分会第二届全国学术研讨会暨第三届全国普通外科主任论坛

在各方面的大力支持下,国际肝胆胰协会中国分会第一届学术研讨会已于2004年12月在武汉成功举办,与会代表一千余人,中国人大副委员长吴阶平院士、国际肝胆胰协会前主席刘允怡教授、Jim Tooli 教授,国际肝胆胰协会候任主席 Büechler 教授和欧洲肝胆胰协会主席 Broelsch 教授等亲自到会。会议受到国内外专家及到会代表的一致赞赏,并受到国际肝胆胰协会的通报好评,会议取得巨大成功。

按照国际肝胆胰协会惯例,学术会议每2年召开1次。第二届国际肝胆胰协会中国分会学术会议将于2006年11月底或12月初在武汉举行。本次会议将邀请国外和国内著名专家做专题讲座,针对国际国内肝胆胰外科进展及近年来的热点、难点问题进行讨论;并交流诊治经验,推广新理论、新技术、新方法,了解国内外肝胆胰疾病诊断、治疗发展趋势;同时放映手术录像。大会热烈欢迎全国各地肝胆胰领域的内科、外科、影像科各级医师以及科研人员积极投稿和报名参加。

会议同时召开第三届全国普外科主任论坛,因此也欢迎从事医疗卫生管理的各级医院正、副院长及正、副主任积极投稿和报名参加。

本次会议已列入2006年国家继续医学教育项目,参会代表均授予国家级继续医学教育学分10分。

来稿要求:寄全文及500~800字论文摘要,同时寄论文的软盘一份或发电子邮件。以附件的形式发送至 chenxp @ medmail . com . cn ,也可将稿件打印后寄至:武汉市解放大道1095号,武汉华中科技大学附属同济医院肝胆胰外科研究所张志伟、黄志勇副教授(收),邮编:430030;联系电话:027-83662599。