

文章编号:1005-6947(2007)02-0180-03

· 简要论著 ·

TNF- α 及其受体 I 在胆管癌和先天性胆总管囊性扩张症中的表达及其意义

贾友鹏¹, 巩鹏², 王忠裕², 单显民³

(1. 辽宁省大连市中心医院 普通外科, 辽宁 大连 116033; 2. 大连医科大学附属一院 普通外科, 辽宁 大连 116011; 3. 辽宁省大连市甘井子区人民医院 普通外科, 辽宁 大连 116033)

摘要:为探讨胆管癌和先天性胆总管囊性扩张症中肿瘤坏死因子 α (TNF- α)及肿瘤坏死因子受体 I (TNFR-I)表达的差异。笔者选取经外科手术切除的胆管癌患者 48 例,先天性胆总管囊性扩张症 19 例,用免疫组化 SP 法检测 TNF- α 和 TNFR-I 的表达。结果显示, TNF- α 在胆管癌和先天性胆总管囊性扩张症中表达阳性率分别为 25.0% (12/48) 和 5.3% (1/19), 两者差异有显著性 ($P < 0.05$)。TNFR-I 在胆管癌和先天性胆总管囊性扩张症中表达阳性率分别为 75.0% (36/48) 和 42.1% (8/19), 两者差异有非常显著性 ($P < 0.01$)。提示胆管癌和先天性胆总管囊性扩张症组织中均可表达 TNF- α 和 TNFR-I, 但胆管癌中的表达明显增强。TNF- α 和 TNFR-I 可能参与先天性胆总管囊性扩张症的恶变过程, 其表达情况有可能可作为监测胆管良恶性病变的参考指标之一。

[中国普通外科杂志, 2007, 16(2): 180-182]

关键词: 胆管肿瘤; 先天性胆总管囊肿, 先天性; 肿瘤坏死因子 α ; 肿瘤坏死因子受体 I

中图分类号: R735.8

文献标识码: B

先天性胆总管囊性扩张症公认为是胆管癌的癌前病变, 本实验采用免疫组织化学方法检测 48 例手术切除的胆管癌组织和 19 例先天性胆总管囊性扩张症组织中肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 及肿瘤坏死因子受体 I (tumor necrosis factor receptor-I, TNFR-I) 的表达, 探讨两者在两种组织中表达的差异, 试图探讨其与先天性胆总管囊性扩张症恶变的关系。

1 资料与方法

1.1 标本及其一般资料

选取大连市中心医院和大连医科大学附属第一医院 1998 年 2 月 - 2005 年 4 月间手术切除且经病理诊断为胆管癌或先天性胆总管囊性扩张症的患者共 67 例。其中胆管癌 48 例: 男 33 例, 女 15 例; 年龄 38 ~ 78 (平均 60.6) 岁, 所有患者术前均未行抗肿瘤治疗。先天性胆总管囊性扩张症

19 例: 男 2 例, 女 17 例; 年龄 12 ~ 52 (平均 29.9) 岁。

1.2 试剂

鼠抗人 TNF- α (1E8-G6) 单克隆抗体 (Santa Cruz 公司); 鼠抗人 TNFR-I (H-5) 单克隆抗体 (Santa Cruz 公司); 超敏 SP 免疫组化试剂盒 (北京中山生物技术有限公司)。

1.3 实验方法

手术切除标本行 4 μ m 连续切片 3 张, 1 张行 HE 染色, 另 2 张行免疫组化染色 (载玻片用 APES 进行防脱片处理)。

1.3.1 常规病理学检查 HE 染色后, 镜下观察, 明确胆管癌及先天性胆总管囊性扩张症的诊断, 明确胆管癌组织的分化程度和浸润深度。

1.3.2 SP 免疫组化染色 石蜡切片常规脱蜡、水化, 3% 过氧化氢液室温下湿盒孵育 10 min, 以阻断内源性过氧化物酶活性; 用磷酸盐缓冲液 (pH = 7.2) 振荡清洗 3 min \times 3 次; 以 0.01 mol/L 柠檬酸缓冲液 (PBS 液) 为修复液 (pH = 6.0), 行高压抗原修复 2 min, PBS 液振荡清洗 3 min \times 3 次; 每张切片加入 50 μ L 非免疫动物血清封闭, 室温下湿盒孵育 10 min, PBS 液振荡清洗 3 min \times 1 次。

收稿日期: 2006-03-21; **修订日期:** 2006-12-15。

作者简介: 贾友鹏, 男, 辽宁大连人, 大连市中心医院普通外科主治医师, 主要从事肝胆外科研究及临床工作方面的研究。

通讯作者: 贾友鹏 E-mail: jia-youpeng@hotmail.com。

分别加入一抗(鼠抗人 TNF- α 单克隆抗体,1:80 倍稀释;鼠抗人 TNFR-I单克隆抗体,1:150 倍稀释);湿盒内4 $^{\circ}$ C冰箱过夜后,室温下再孵育1h,PBS 振荡清洗3min \times 3次。每张切片加入50 μ L生物素标记的二抗,室温下湿盒孵育10min,PBS液振荡清洗3min \times 3次。最后加入50 μ L链亲和素-过氧化物酶溶液,室温下湿盒孵育10min,PBS液振荡清洗3min \times 3次。用新配制的DAB液显色,显微镜下控制。自来水冲洗终止反应,苏木素复染,盐酸酒精分化,自来水冲洗返蓝。梯度酒精脱水,二甲苯透明,树胶封固。每种抗体均设阳性和阴性对照,并在同时、同一条件下染色及观察。

1.4 结果判定标准

根据细胞胞浆内染色程度及染色细胞百分率进行评分:基本不着色为0分,着淡黄色为1分,着棕色为2分,着深棕色为3分;着色细胞占总细胞数的百分率 \leq 5%为0分,6%~25%为1分,26%~50%为2分,

51%~75%为3分, \geq 75%为4分。以每张切片着色程度的得分与着色细胞百分率得分的乘积为其最后得分:0~1分为阴性(-),2~3分为(+),4~6分为(++),7~9分为(+++),10~12分为(++++)。

1.5 统计学处理

采用秩和检验进行差异性检验。 $P > 0.05$ 为差异无显著性; $P < 0.05$ 为差异有显著性; $P < 0.01$ 为差异有非常显著性。

2 结果

2.1 TNF- α 在胆管癌和胆管扩张症组织中的表达

TNF- α 定位于细胞胞浆中,胆管癌12例(25.0%)有表达(+~++++);胆管扩张症仅1例(5.3%)有表达(+),两者差异有显著性($P < 0.05$)(表1)。表达阳性细胞均呈散在、片状或灶状分布。

表1 TNF- α 在胆管癌及先天性胆总管囊性扩张症中的表达情况

TNF- α	例数	表达情况					阳性率(%)	P值
		(-)	(+)	(++)	(+++)	(++++)		
胆管癌	48	36	9	1	1	1	25.0	<0.05
胆管囊肿	19	18	1	0	0	0	5.3	

2.2 TNFR-I在胆管癌和胆管扩张症组织中的表达

TNFR-I定位于细胞胞浆及胞膜,胆管癌36例(75.0%)有表达(+~++++);胆管扩

张症8例(42.1%)有表达(+~++),两者差异有非常显著性($P < 0.01$)(表2)。阳性细胞均呈散在分布,未见片状或灶状分布。

表2 TNFR-I在胆管癌及先天性胆总管囊性扩张症中的表达情况

TNF- α	例数	表达情况					阳性率(%)	P值
		(-)	(+)	(++)	(+++)	(++++)		
胆管癌	48	12	15	11	6	4	75.0	<0.01
胆管囊肿	19	11	6	2	0	0	42.1	

3 讨论

先天性胆总管囊性扩张症被视为癌前病变。在胆管扩张的基础上,胆道结石、胰胆管合流异常所致胰酶反流、病理性瘀积的胆汁衍化为致癌物质^[1-2];这一系列刺激持续反复损害扩张的胆管上皮,导致胆管细胞产生病理变化,最终发生癌变。由于在癌变过程中无特殊临床表现,故一经发现多已是晚期。先天性胆道扩张症的癌变率约为2.4%~10.0%,成人甚至可高达

15%~20%^[3-4]。目前认为胆管先天畸形,胆道结石、感染及胆汁淤积等长期作用引起胆道微环境局部失衡是胆管癌的主要原因^[5];其中细胞因子失衡在胆管癌的发病机制中扮演着重要角色,例如TNF- α ,干扰素(IFN),白介素2(IL-2)及白介素6(IL-6)等抑制肿瘤生长的细胞因子水平下降,血管内皮生长因子(VEGF)、表皮生长因子(EGF)、转化生长因子(TGF)及白介素8(IL-8)等促进肿瘤生长的细胞因子水平增高等。先天性

胆总管囊性扩张症癌变的机制和早期诊断目前还没有确切有效的方法。

TNF- α 具有多种生物学功能, 不仅参与机体的免疫反应, 还参与肿瘤的发生和发展过程^[6]。TNFR- I 是 TNF- α 特异性的膜受体, 分子质量为 55 kD^[7], 又称 TNFR β , p55 抗原等。TNFR- I 广泛分布于多种上皮细胞系正常细胞和肿瘤细胞表面, 介导着 TNF- α 的生物学活性。体外实验证实, TNF- α 可抑制肿瘤细胞增殖并杀伤肿瘤细胞^[8]。因此, 患者体内的 TNF- α 水平、细胞表面的 TNFR- I 水平直接影响恶性肿瘤的发生和发展过程^[9]。本实验结果显示: TNF- α 在先天性胆总管囊性扩张症细胞中表达阳性率较低, 表达强度也较弱, 明显低于胆管癌。TNFR- I 在先天性胆总管囊性扩张组织中的表达与其在胆管癌中的表达相比较仍有很显著的差异。TNF- α 和 TNFR- I 在胆管良恶性组织之间表达的这种显著性差异提示在先天性胆总管囊性扩张症恶变过程中合并有 TNF- α 和 TNFR- I 表达情况的变化。故笔者认为, TNF- α 和 TNFR- I 可能参与先天性胆总管囊性扩张症的恶变过程, 其表达情况可以作为监测恶变的参考指标之一。利用这两种因子的变化, 结合癌基因、抑癌基因及其他细胞因子的研究, 有可能为先天性胆总管囊性扩张症恶变的早期诊断和早期治疗提供帮助。

参考文献:

- [1] Kato T, Matusda K, Kayabe H, *et al.* Pathology of anomalous junction of the pancreaticobiliary ductal system: mutagenicity of the contents of the biliary tract and nuclear atypia of the biliary epithelium [J]. *Keio J Med*, 1989, 38 (2): 167-176.
- [2] Qian D, Kinouchi T, Kunitomo K, *et al.* Mutagenicity of the bile of dogs with an experimental model of an anomalous arrangement of the pancreaticobiliary duct [J]. *Carcinogenesis*, 1993, 14 (4): 743-747.
- [3] 王友顺, 陈保华, 周宗芳. Carolis 病诊断治疗(附 39 例报告)[J]. *中华肝胆外科杂志*, 2001, 7 (10): 594-596.
- [4] Benhidjeb T, Chaoui R, Kalache K. Prenatal diagnosis of a choledochal cyst: a case report and review of the literature [J]. *Am J Perinatol*, 1996, 13 (4): 207-210.
- [5] Hildt E, Oess S. Identification of Grb 2 as a novel binding partner of tumor necrosis factor (TNF) receptor I [J]. *J Exp Med*, 1999, 189 (11): 1707-1714.
- [6] 巴德年. 当代免疫学技术与应用[M]. 北京: 北京医科大学, 中国协和医科大学出版联社, 1998. 52-54.
- [7] Tartaglia LA, Goeddel DV. Two TNF receptors [J]. *Immuno Today*, 1992, 13 (5): 151-153.
- [8] Utaisincharoen P, Ubol S, Tangthawornchaikul N, *et al.* Binding of tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) to TNF-RI induces caspase (s)-dependent apoptosis in human cholangiocarcinoma cell lines [J]. *Clin Exp Immunol*, 1999, 116 (1): 41-47.
- [9] Chinnaiyan AM, Dixit VM. Portrait of an executioner: the molecular mechanism of Fas/APO-1-induced apoptosis [J]. *Sem Immunol*, 1997, 9 (1): 69-76.

· 读者 · 作者 · 编者 ·

有关作者署名的要求

作者应具备以下 3 个条件:(1)参与选题和设计,或参与资料的分析和解释者;(2)起草或修改论文中关键性理论或其他主要内容者;(3)能对编辑部的修改意见进行核修,在学术界进行答辩,并最终同意该文发表者。作者中如列有外籍作者,应征得外籍作者本人书面同意。每篇论文作者的排序应在投稿时确定,并按排序签字,单位盖章,在编排过程中不作更动。作者姓名在文题下按序排列,一般不超过 6 位;文献标识码为 A,B,C,D 的文章,应标作者的工作单位,包括单位全称、所在省市及邮政编码。文章的第一作者应提供简介。简介内容为:出生年、性别、民族(汉族可省略)、籍贯、职称、学位、简历及研究方向。文章的通讯作者必须提供联系地址、电话、E-mail 等。