

垂体肿瘤转化基因和碱性成纤维细胞生长因子的表达及其与胆管癌临床病理特征的关系

王华杰¹, 苏醒¹, 孙乐瑾²

(1. 海南省人民医院重症医学科, 海南 海口 570311;

2. 海口市人民医院重症医学科, 海南 海口 570208)

【摘要】 目的 分析垂体肿瘤转化基因(PTTG)和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的表达及其与胆管癌临床病理特征的关系, 探讨其临床适用性。方法 选取 2010 年 3 月至 2015 年 6 月于我院就诊的 46 例胆管癌患者的病理标本作为试验组, 另选择同时期的 40 例正常肝外胆管组织作为对照组。应用免疫组织化学法, 观察 PTTG 和 bFGF 在两种组织中的表达差异, 同时分析 PTTG 和 bFGF 表达与胆管癌临床病理指标的相关性, 运用 Spearman 等级相关分析 PTTG 和 bFGF 表达的相关性。结果 试验组中 PTTG 基因蛋白表达阳性 38 例, 阳性表达率为 82.61%, 对照组中 PTTG 基因蛋白表达阳性 19 例, 阳性表达率为 47.50%, 两组阳性率比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 试验组中 bFGF 表达阳性 34 例, 阳性表达率为 73.91%, 对照组中 bFGF 表达阳性 10 例, 阳性表达率为 25.00%, 两组阳性率比较, 差异也有统计学意义($P < 0.05$); 试验组组织中 PTTG 和 bFGF 表达阳性率与肿瘤分化程度、TNM 分期、淋巴结转移及肿瘤浸润深度有关($P < 0.05$), 而与性别、年龄、肿瘤直径、肿瘤位置均无关($P > 0.05$); Spearman 等级相关分析结果显示胆管癌表达水平中 PTTG 与 bFGF 表达情况呈等级正相关($r = 0.29, P < 0.05$)。结论 垂体肿瘤转化基因和碱性成纤维细胞生长因子在胆管癌中的表达显著, 与肿瘤分化程度、TNM 分期、淋巴结转移及肿瘤浸润深度有关, 两种指标联合监测临床价值较高。

【关键词】 垂体肿瘤转化基因; 碱性成纤维细胞生长因子; 胆管癌; 临床病理特征

【中图分类号】 R735.8 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2016)02-0189-03

Expression of pituitary tumor transforming gene and basic fibroblast growth factor and its relationship with clinicopathological features of cholangiocarcinoma. WANG Hua-jie¹, SU Xing¹, SUN Le-jin². 1. Department of Critical Care Medicine, People's Hospital of Hainan Province, Haikou 570311, Hainan, CHINA; 2. Department of Critical Care Medicine, Haikou People's Hospital, Haikou 570208, Hainan, CHINA

【Abstract】 Objective To analyze the expression of pituitary tumor transforming gene (PTTG) and basic fibroblast growth factor (bFGF) and its relationship with clinicopathological features of cholangiocarcinoma. **Methods** The pathological specimens of 46 patients with cholangiocarcinoma were selected from March 2010 to June 2015 in our hospital as the test group, and 40 specimens of normal extrahepatic bile duct tissue were selected at the same period as the control group. Immunohistochemical method was used to observe the expression of PTTG and bFGF in the two groups. The correlation between PTTG and bFGF expression and clinicopathological features of cholangiocarcinoma were analyzed. **Results** PTTG gene was positively expressed in 38 patients (with the positive expression rate of 82.61%) in the test group and in 19 patients (47.50%) in the control group, showing statistically significant difference in positive expression rate between the two groups ($P < 0.05$). bFGF was positively expressed in 34 patients (with the positive expression rate of 73.91%) in the test group and in 10 patients (25.00%) in the control group, with statistically significant difference in positive expression rate between the two groups ($P < 0.05$). In the test group, the positive expression rates of PTTG and bFGF were correlated with tumor differentiation degree, TNM stage, lymph node metastasis and tumor depth of invasion ($P < 0.05$), but not with gender, age, tumor size, tumor location ($P > 0.05$). Spearman rank correlation analysis showed that expression of PTTG and bFGF in cholangiocarcinoma were positively correlated ($r = 0.29, P < 0.05$). **Conclusion** Pituitary tumor transforming gene and basic fibroblast growth factor are significantly expressed in cholangiocarcinoma, which are related to tumor differentiation, TNM stage, lymph node metastasis and depth of invasion. Monitoring of the two indexes has high clinical value.

【Key words】 Pituitary tumor transforming gene (PTTG); Basic fibroblast growth factor (bFGF); Cholangiocarcinoma; Clinicopathological features

胆管癌是一种发生于胆管的恶性肿瘤,也是消化系统比较常见的恶性肿瘤之一^[1]。胆管癌患者通常起病隐匿,病情发展迅速,对周围组织侵袭性也比较强,普通的手术治疗难以起效,临床预后较差。目前临床上发现多数胆管癌患者除出现临床症状外,还合并一些生物因子的变化,这对疾病的早期诊断非常重要^[2]。因此,有早期症状的患者联合监测相关生物学指标有

助于疾病的早期诊断。碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)是目前胆管癌研究较多的相关因子,参与血管新生的调控^[3]。目前临床上发现垂体肿瘤转化基因(PTTG)也是一种相关因子,其对肿瘤的发生发展也有非常重要的作用^[4]。故此,我院结合自身病例分析了 PTTG 和 bFGF 这两种指标的表达及其与胆管癌临床病理特征的关系,现将结果报道如下:

基金项目:海南省自然科学基金(编号:814321)

通讯作者:王华杰。E-mail: wanghuajie1981@sina.com

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2010年3月至2015年6月于我院就诊的46例胆管癌患者的病理标本作为试验组,另选择同时期的40例正常肝外胆管组织(其他良性疾病行胆管切除患者)作为对照组。试验组患者男性27例,女性19例,年龄55~75岁,平均(69.9±6.1)岁,对照组患者男性26例,女性14例,年龄55~75岁,平均(70.0±6.0)岁。两组患者的性别、年龄等一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法 应用免疫组织化学法,实验材料采用博士德公司生产的特异性抗人PTTG多克隆抗体,福州迈新生物技术公司生产的鼠抗人bFGF单克隆抗体、SP试剂盒、DAB显色系统。其中PTTG多抗及bFGF单抗的工作浓度均为1:100。操作步骤严格按照说明书进行:常规切片脱蜡和水化后,用高温高压柠檬酸缓冲液修复抗原,用过氧化氢溶液反应10 min,消除内源性过氧化物酶,后通过稀释的羊血清封闭10 min,加入一抗在湿盒中4℃放置24 h,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤后加二抗,后用第二代辣根酶标记链霉菌素工作液各孵育10 min,再冲洗3次,最后在DAB中显色5 min,用自来水冲洗,苏木素复染,乙醇梯度脱水,封片观察。观察PTTG和bFGF在两种组织中的表达差异。

1.3 统计学方法 应用SPSS13.0统计软件进行数据分析,等级资料比较采用两样本比较的Wilcoxon法,临床病例指标资料检验比较采用 χ^2 检验,运用Spearman等级相关分析PTTG和bFGF表达的相关关系,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PTTG和bFGF在两种组织中的表达差异比较 免疫组化结果显示,PTTG基因蛋白表达产物主要分布于细胞浆,细胞核无染色,其中阳性染色为均匀一致的棕褐色细颗粒;而bFGF同样遍布于细胞浆,可见部分胞核和血管内皮细胞着色,见图1、图2。试验组中PTTG基因蛋白阳性表达率为82.61%(38/46),对照组中

PTTG基因蛋白阳性表达率为47.50%(19/40),两组阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2=5.21, P=0.00$),试验组中bFGF阳性表达率为73.91%(34/46),对照组中bFGF表达阳性表达率为25.00%(10/40),两组阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2=4.51, P=0.00$),见表1。

表1 PTTG和bFGF在两种组织中的表达差异(例)

组别	例数	PTTG				bFGF			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++
试验组	46	8	6	10	22	31	1	2	16
对照组	40	21	13	6	0	30	8	2	0

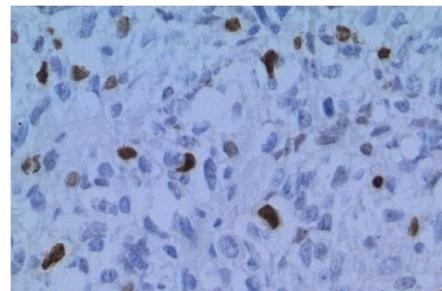


图1 PTTG基因蛋白表达免疫组化图

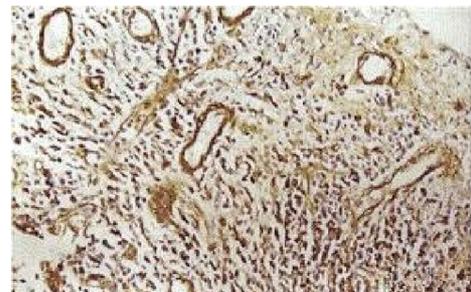


图2 bFGF表达免疫组化图

2.2 PTTG和bFGF表达与胆管癌临床病理指标的关系 试验组组织中PTTG和bFGF表达阳性率与肿瘤分化程度、TNM分期、淋巴结转移及肿瘤浸润深度有关($P<0.05$),而与性别、年龄、肿瘤直径、肿瘤位置均无关($P>0.05$),见表2。

表2 PTTG和bFGF表达与胆管癌临床病理指标的关系[例(%)]

项目	类别	PTTG			bFGF		
		阳性	χ^2 值	P 值	阳性	χ^2 值	P 值
性别	男($n=27$)	23(85.19)	0.3957	0.8649	21(77.78)	0.0384	0.7818
	女($n=19$)	15(78.95)			13(68.42)		
年龄(岁)	<60 ($n=26$)	23(88.46)	0.8947	0.7110	20(76.92)	0.0037	0.8369
	≥ 60 ($n=20$)	15(75.00)			14(70.00)		
肿瘤直径(cm)	<2 ($n=26$)	22(84.62)	0.3847	0.8993	22(84.62)	0.1984	0.4601
	≥ 2 ($n=20$)	16(80.00)			12(60.00)		
肿瘤部位	肝门部($n=28$)	23(82.14)	0.3857	0.9744	21(75.00)	0.0008	0.9353
	中下段($n=18$)	15(83.33)			13(72.22)		
分化程度	高分化($n=30$)	30(100.00)	5.3947	0.0259	30(100.00)	3.7549	0.0485
	中分化($n=8$)	0(0)			1(12.50)		
	低分化($n=8$)	8(100.00)			3(37.50)		
TNM分期	I、II期($n=9$)	1(11.11)	6.0383	0.0171	1(11.11)	5.2947	0.0262
	III、IV期($n=37$)	37(100.00)			33(89.19)		
淋巴结转移	有($n=36$)	36(100.00)	4.9852	0.0317	32(88.89)	4.0275	0.0496
	否($n=10$)	2(20.00)			2(20.00)		
肿瘤浸润深度	T1~T2 ($n=8$)	1(12.50)	5.3828	0.0295	1(12.50)	4.0268	0.0432
	T3~T4 ($n=38$)	37(97.37)			33(86.84)		

2.3 PTTG 和 bFGF 在胆管癌中表达的等级相关关系 Spearman 等级相关分析结果显示,胆管癌表达水平中 PTTG 与 bFGF 表达情况呈等级正相关($r=0.29, P<0.05$), 见表 3。

表 3 PTTG 和 bFGF 在胆管癌中表达的等级相关性[例(%)]

PTTG	bFGF				合计
	-	+	++	+++	
-	4(8.70)	1(2.17)	1(2.17)	1(2.17)	7(15.22)
+	2(4.35)	5(10.87)	1(2.17)	2(4.35)	10(21.74)
++	1(2.17)	3(6.52)	1(2.17)	3(4.35)	8(17.39)
+++	2(4.35)	4(8.70)	4(8.70)	11(23.91)	21(45.65)
合计	9(19.57)	13(28.26)	7(15.22)	17(36.96)	46(100.00)

3 讨论

胆管癌的具体发病机制不明,早期确诊病例可以通过手术切除治疗,同时辅以术后放疗及化疗来巩固和提高手术治疗效果。但是现在临床上面临的通常是错过最佳手术时间^[5]。主要原因是由于胆管癌的起病不典型,临床症状无特异性,加之患者耐受,一般在就诊时多已处于中晚期^[6]。且胆管癌病情进展通常比较快,也较易发生浸润转移,给临床治疗带来挑战^[7]。而对于胆管癌的早期诊断仍然是一项研究重点。患者出现临床症状后,再结合较为特异性的检查对于疾病的早期诊断有帮助。

bFGF 是碱性成纤维细胞生长因子,多数临床研究发现它是一个传递发育信号,能刺激细胞增殖、迁移,具有强烈的血管生成作用,是促进血管新生的一个重要参与因子^[8]。而血管新生则是肿瘤转移和生长必不可少的步骤^[9]。因此对于 bFGF 的早期监测是对于胆管癌的早期诊断的一项重要指标。而现在进一步的研究发现一种新的转化基因,即 PTTG,为垂体肿瘤转化基因,能对 bFGF mRNA 及其的蛋白质进行调控,使其表达水平显著上升,进一步又刺激 bFGF 蛋白分泌、合成,因此是 bFGF 的上一级调控^[10-11]。而 PTTG 在胆管癌中的诊断价值的报道尚比较少,缺乏可靠依据。故此我院分析了 PTTG 和 bFGF 这两种指标在胆管癌的表达情况,结果发现:①免疫组化结果显示,PTTG 基因蛋白表达产物主要分布于细胞浆,细胞核无染色,其中阳性染色为均匀一致的棕褐色细颗粒。而 bFGF 同样遍布于细胞浆,可见部分胞核和血管内皮细胞着色,提示临床实验研究主要在细胞浆内观察两种蛋白因子。试验组中 PTTG 基因蛋白阳性表达率为 82.61%,而选择的对照组中 PTTG 基因蛋白阳性表达率为 47.50%,试验组中 bFGF 阳性表达率为 73.91%,对照组中 bFGF 阳性表达率为 25.00%,差异均有统计学意义。说明 PTTG 和 bFGF 在胆管癌中也均有特异性的表达情况,且监测的阳性率均比较高。这项研究结果于医师的研究结果类似^[12];②胆管癌患者病理组织中 PTTG

和 bFGF 表达阳性率与肿瘤分化程度、TNM 分期、淋巴结转移及肿瘤浸润深度有关,而与性别、年龄、肿瘤直径、肿瘤位置无关,提示 PTTG 和 bFGF 对胆管癌发病,病情进展有诊断意义。在病情的不同时期,表达有差异,且从数据中可看出,肿瘤分化程度越低、TNM 分期级别越高、合并淋巴结转移及周围组织肿瘤浸润的病理组织中 PTTG 和 bFGF 均强表达,说明胆管癌的发生发展与 PTTG 和 bFGF 的特异性表达有关;③ Spearman 等级相关分析结果显示胆管癌表达水平中 PTTG 与 bFGF 表达情况呈等级正相关,不难解释,PTTG 是对 bFGF 的上一级调控,直接影响 bFGF 的表达情况。

综上所述,垂体肿瘤转化基因和碱性成纤维细胞生长因子在胆管癌中的表达显著,与肿瘤分化程度、TNM 分期、淋巴结转移及肿瘤浸润深度有关,两种指标联合监测临床价值较高。

参考文献

- [1] 刘长征, 刘卫, 李静静, 等. 肝内及肝外胆管癌组织表达上调 microRNAs 表达谱的鉴定[J]. 中华肝胆外科杂志, 2012, 18(6): 466-469.
- [2] 刘子沛, 郑燕华, 白洁, 等. 多种肿瘤标志物检测在胆管癌诊断中的临床意义[J]. 中华肝胆外科杂志, 2013, 19(9): 657-660.
- [3] Wang ZS, Wu GF, Bai SZ, et al. MAPs/bFGF-PLGA microsphere composite-coated titanium surfaces promote increased adhesion and proliferation of fibroblasts [J]. Biomedical Materials, 2014, 9(3): 350061-350072.
- [4] 胡苈, 朱润庆, 李丹, 等. 垂体肿瘤转化基因 Pttg 和碱性成纤维细胞生长因子 Bfgf 在胆管癌中的表达及相互关系[J]. 医药前沿, 2012, 2(9): 152-153.
- [5] 张文杰, 王雪峰, 顾钧, 等. 胆管活检组织 K-ras 基因突变与胆管癌的相关性[J]. 中华肝胆外科杂志, 2014, 20(2): 97-100.
- [6] 黄朝君, 黄强, 刘臣海, 等. 胆管癌组织中信号转导及转录激活因子 3 信号通路相关基因的表达与意义[J]. 中华消化外科杂志, 2014, 13(12): 971-976.
- [7] 王斐, 杨宁, 张海斌, 等. MTSS1 在胆管癌组织中的表达及其与预后关系[J]. 中华消化外科杂志, 2013, 12(5): 383-387.
- [8] 刘伟良, 褚言琛, 刘伟莉, 等. 串珠素对成纤维细胞增殖的影响及其与碱性成纤维细胞生长因子的关系[J]. 中华实验外科杂志, 2013, 30(4): 804-807.
- [9] 闫长青, 赵玉沛, 刘三光, 等. 碱性成纤维细胞生长因子小干扰 RNA 对胰腺癌细胞血管内皮细胞生长因子表达的调节作用[J]. 中华实验外科杂志, 2012, 29(11): 2219-2221.
- [10] Lewy GD, Ryan GA, Read ML, et al. Regulation of pituitary tumor transforming gene (PTTG) expression and phosphorylation in thyroid cells [J]. Endocrinology, 2013, 154(11): 4408-4422.
- [11] Zhang J, Yang Y, Chen L, et al. Overexpression of pituitary tumor transforming gene (PTTG) is associated with tumor progression and poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. Acta Histochemica: Zeitschrift fur Histologische Topochemie, 2014, 116(3): 435-439.
- [12] 陈恩碧, 张耀明, 陈博艺, 等. PTTG 和 bFGF 在胆管癌中表达及意义[J]. 医学信息(中旬刊), 2011, 24(8): 3622-3623.

(收稿日期: 2015-09-02)