

肺腺癌组织中 TGF- α 、p53、Ki-67、E-cadherin 蛋白表达水平及其相关性

卢柳, 程钰

安康市中心医院病理科, 陕西 安康 725000

【摘要】 目的 研究肺腺癌组织中转化生长因子- α (TGF- α)、抑癌基因(p53)、细胞核增殖抗原(Ki-67)、上皮钙黏蛋白(E-cadherin)表达水平及其相关性。方法 收集 2018 年 1 月至 2020 年 12 月期间安康市中心医院手术切除的 87 例肺部肿瘤标本作为观察组, 根据组织病理学的分级增高顺序将上述 87 例患者分为原位腺癌(AIS, 35 例), 微浸润性腺癌(MIA, 23 例)和贴壁生长为主的浸润性腺癌(LPA, 29 例), 并选择其中的 87 例肺部肿瘤标本的癌旁正常肺组织作为对照组。采用免疫组化 S-P 法检测肺部肿瘤及正常肺组织中 TGF- α 、p53、Ki-67 以及 E-cadherin 的表达, 比较四种蛋白在肺腺癌组织和正常肺组织的阳性率及在 AIS、MIA 及 LPA 的阳性率。采用 Spearman 分析法分析 TGF- α 、p53、Ki-67 和 E-cadherin 蛋白的相关性。结果 观察组组织的 TGF- α 、p53、Ki-67 及 E-cadherin 阳性率为 59.77%、42.53%、48.28%、36.78%, 正常肺组织分别为 20.69%、19.54%、19.54%、90.80%, 四种蛋白在肺腺癌组织和正常肺组织中的表达水平比较差异均具有统计学意义($P < 0.05$); TGF- α 在 AIS、MIA 及 LPA 中的阳性率分别为 42.86%、78.26% 和 86.21%, p53 的阳性率分别为 25.71%、47.83% 和 68.97%, Ki-67 的阳性率分别为 34.29%、52.17% 和 72.41%, E-cadherin 的阳性率分别为 48.57%、47.83% 和 20.69%, 四种蛋白在 AIS、MIA 及 LPA 组织的表达水平比较差异均具有统计学意义($P < 0.05$); 经 Spearman 相关分析结果显示, 肺腺癌组织中 TGF- α 、p53 及 Ki-67 表达与 E-cadherin 均呈负相关($r = -1.984$ 、 -2.045 、 -2.320 , $P < 0.05$)。结论 相较于正常肺组织, TGF- α 、p53、Ki-67、E-cadherin 蛋白在肺腺癌组织中表达异常, 联合检测这四种蛋白可能有利于肺腺癌的早期诊断、分型和预后。

【关键词】 肺腺癌; 免疫组织化学; 转化生长因子- α ; 抑癌基因; 细胞核增殖抗原; 上皮钙黏蛋白

【中图分类号】 R734.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2022)13-1668-03

Expression levels of transforming growth factor- α , tumor suppressor gene p53, nuclear proliferation antigen Ki-67, and epithelial cadherin in lung adenocarcinoma and their correlation. LU Liu, CHENG Yu. Department of Pathology, Ankang Central Hospital, Ankang 725000, Shaanxi, CHINA

【Abstract】 Objective To study the expression levels of transforming growth factor- α (TGF- α), tumor suppressor gene p53 (p53), nuclear proliferation antigen Ki-67 (Ki-67), and epithelial cadherin (E-cadherin) in lung adenocarcinoma tissues and their correlation. **Methods** Eighty-seven specimens surgically resected from 87 lung tumor patients in Ankang Central Hospital from January 2018 to December 2020 were collected as an observation group. According to the order of histopathological grading, the above 87 patients were divided into adenocarcinoma *in situ* (AIS, $n=35$), microinvasive adenocarcinoma (MIA, $n=23$), and adherent growth-based invasive adenocarcinoma (LPA, $n=29$), and 87 cases of normal paracancerous tissue in the same period were randomly selected as a control group. Immunohistochemical SP method was used to detect the expression of TGF- α , p53, Ki-67, and E-cadherin protein in lung tumors and normal lung tissues, and the positive rates of the four proteins in lung adenocarcinoma tissues and normal lung tissues, and the positive rates in AIS, MIA, and LPA were compared. Spearman analysis was used to analyze the correlation between TGF- α , p53, Ki-67 and E-cadherin proteins. **Results** The positive rates of TGF- α , p53, Ki-67, and E-cadherin in the observation group were 59.77%, 42.53%, 48.28%, and 36.78%, respectively, and those in normal lung tissue were 20.69%, 19.54%, 19.54%, and 90.80%, respectively. There were significant differences in the expression levels of four proteins between lung adenocarcinoma and normal lung tissues ($P < 0.05$). The positive rates of TGF- α in AIS, MIA, and LPA were 42.86%, 78.26%, and 86.21%, respectively, the positive rates of p53 were 25.71%, 47.83% and 68.97%, respectively, the positive rates of Ki-67 were 34.29%, 52.17%, and 72.41%, respectively, and the positive rates of E-cadherin were 48.57%, 47.83%, and 20.69%, respectively. There were significant differences in the expression levels of the four proteins in AIS, MIA and LPA ($P < 0.05$). Spearman correlation analysis showed that the expression of TGF- α , p53 and Ki-67 in lung adenocarcinoma tissue were negatively correlated with E-cadherin ($r = -1.984$, -2.045 , -2.320 , $P < 0.05$). **Conclusion** Compared with normal lung tissues, TGF- α , p53, Ki-67, and E-cadherin proteins are abnormally expressed in lung adenocarcinoma tissues. Combined detection of the four proteins may be beneficial to the early diagnosis, classification and prognosis of lung adenocarcinoma.

【Key words】 Lung adenocarcinoma; Immunohistochemistry; Transforming growth factor- α (TGF- α); Tumor suppressor gene p53 (p53); Nuclear proliferation antigen Ki-67 (Ki-67); Epithelial cadherin (E-cadherin)

肺腺癌属非小细胞癌,是肺癌的一种,约占肺癌总数的 55%。肺癌的发病率呈现逐年上升趋势,寻找更加有效精确的标志物是肿瘤医疗的重要课题。在 2011 年,肺腺癌共识意见重新确定了原位腺癌(AIS)、微浸润性腺癌(MIA)和贴壁生长为主的浸润性腺癌(LPA)的病理类型。此外,MIA 和腺瘤样增生(AAH)由于组织学特征不够典型也给疾病的诊断带来困扰^[1-2]。转化生长因子- α (TGF- α)是一种促进细胞有丝分裂的有效因子,其在机体中的过度表达会导致肿瘤的发生。抑癌基因(p53)是重要的抑癌基因,其表达与肿瘤的分化程度有关^[3]。细胞核增殖抗原(Ki-67)是一种与细胞增殖相关的核蛋白,是细胞增殖的标志基因。上皮钙黏蛋白(E-cadherin)则会密切参与肿瘤的侵袭和转移过程,是一种重要的黏附因子^[4]。本研究主要探讨肺腺癌组织中 TGF- α 、p53、Ki-67 以及 E-cadherin 蛋白的表达水平及其相关性,现报道如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2018 年 1 月至 2020 年 12 月期间在安康市中心医院行手术切除的 87 例肺腺癌患者的肺部标本(观察组)进行研究,并选择 87 例肺部肿瘤标本的癌旁正常肺组织标本作为对照组。纳入标准:①经两名病理医师联合诊断,病理切片确诊;②行手术切除前,患者未服用免疫制剂;③行手术切除前,患者未进行化疗或放疗;④临床资料齐全。87 例患者中男性 19 例,女性 68 例;年龄 46~75 岁,平均(57.63 \pm 8.85)岁;根据组织病理学分级的增高顺序进行分类^[5],其中原位腺癌(AIS) 35 例,微浸润性腺癌(MIA) 23 例,贴壁生长为主的浸润性腺癌(LPA) 29 例;肿瘤直径 6~18 cm,平均(8.66 \pm 4.02) cm。本研究经本院伦理委员会批准。

1.2 检测方法 ①试剂:小鼠抗人 TGF- α 、Ki-67、p53 及 E-cadherin 多克隆抗体(北京中杉金桥公司),DAB 显色液(福州迈新生物技术开发有限公司)。②检测方法:本院的专业人员严格按照试剂盒的操作说明进行所有的检测操作。应用免疫组化 MaxVision 法检出标本中的 p53、TGF- α 、Ki-67 及 E-cadherin 的表达水平。首先用 10%的中性缓冲福尔马林液进行标本固定,脱水后用石蜡进行包埋,用切片机将石蜡切片 4~5 μ m,行连续厚切片,磷酸盐缓冲液(PBS)清洗,3%过氧化氢甲醇消化内源性过氧化物酶,加入血清封闭并滴加生物学一抗,室温孵育 60 min 后经 PBS 清洗,滴加生物学二抗,再次孵育 5 min 后经 PBS 清洗和 DAB 显色、梯度乙醇脱水,制片封闭。以 PBS 代替一抗作为阴性对照,镜下观察是否为阳性。

1.3 结果判定 所有的结果均由两名病理医生独立观察后再取平均值作为最终结果,若两者相差较大,则报上级医师判定。定位标准:TGF- α 阳性在细

胞质定位,p53 和 Ki-67 阳性在细胞核定位,E-cadherin 阳性则在细胞膜定位。判断标准:阳性判断需综合考虑阳性细胞的染色强度以及切片所观察细胞中的阳性细胞所占的百分比计分^[6],采用半定量判断法。计分标准:(1)阳性细胞染色强度:细胞未着色记 0 分,显示为淡黄色记 1 分,棕黄色记 2 分,黄褐色记 3 分;(2)阳性细胞所占百分比:无阳性细胞记 0 分,占百分比<25%记 1 分,26%~50%记 2 分,51%~75%记 3 分,>76%记 4 分。将两个分数相乘为最终判定得分,0~3 分判定为阴性(-),>3 分则判定为阳性(+)

1.4 观察指标 比较肺腺癌组织标本以及正常肺组织标本的 TGF- α 、p53、Ki-67 及 E-cadherin 表达水平;比较 AIS、MIA 以及 LPA 组织的 TGF- α 、p53、Ki-67 及 E-cadherin 表达水平;比较肺腺癌组织中的 TGF- α 、p53、Ki-67 及 E-cadherin 蛋白表达水平的相关性。

1.5 统计学方法 应用 SPSS18.0 软件进行数据统计学分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料比较采用 χ^2 检验;相关性分析采用 Spearman 非参数相关分析法进行。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺腺癌组织和正常肺组织的 TGF- α 、p53、Ki-67 及 E-cadherin 表达水平比较 相较于正常肺组织,肺腺癌组织的 TGF- α 、p53 及 Ki-67 阳性率明显较高,E-cadherin 阳性率则明显较低,差异均具有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 肺腺癌组织和正常肺组织的 TGF- α 、p53、Ki-67 及 E-cadherin 表达水平比较[例(%)]

组别	标本数	TGF- α (+)	p53 (+)	Ki-67 (+)	E-cadherin (+)
观察组	87	52 (59.77)	37 (42.53)	42 (48.28)	32 (36.78)
对照组	87	18 (20.69)	17 (19.54)	17 (19.54)	79 (90.80)
χ^2 值		27.630	10.7401	16.028	54.964
<i>P</i> 值		0.001	0.001	0.001	0.001

2.2 AIS、MIA 及 LPA 组织 TGF- α 、p53、Ki-67 及 E-cadherin 表达水平比较 随着肺腺癌组织病理学分级的增高,TGF- α 、p53 及 Ki-67 的阳性率升高,E-cadherin 的阳性率下降;AIS、MIA 及 LPA 组织的 TGF- α 、p53、Ki-67 及 E-cadherin 阳性率比较差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 AIS、MIA 及 LPA 组织的 TGF- α 、p53、Ki-67 及 E-cadherin 表达水平比较[例(%)]

组别	标本数	TGF- α (+)	p53 (+)	Ki-67 (+)	E-cadherin (+)
AIS	35	15 (42.86)	9 (25.71)	12 (34.29)	17 (48.57)
MIA	23	18 (78.26)	11 (47.83)	12 (52.17)	11 (47.83)
LPA	29	25 (86.21)	20 (68.97)	21 (72.41)	6 (20.69)
χ^2 值		15.302	11.987	9.236	6.183
<i>P</i> 值		0.001	0.003	0.001	0.045

2.3 肺腺癌组织中 TGF- α 、p53、Ki-67 及 E-cadherin 蛋白表达的相关性 经 Spearman 相关分析结果显示,肺腺癌组织中,TGF- α 表达与 E-cadherin 呈负相关($r=-1.984, P=0.001$), p53 表达与 E-cadherin 呈负相关($r=-2.044, P=0.001$), Ki-67 表达与 E-cadherin 呈负相关($r=-2.320, P=0.000$)。

3 讨论

转化生长因子- α (TGF- α)是一种产生于巨噬细胞的肿瘤环境因子。与正常的组织和细胞相比,肿瘤细胞中的 TGF- α 水平明显较高^[5]。据 TGF- α 转基因小鼠研究结果显示,TGF- α 的过度表达可导致组织中的细胞增生,还可导致肝肿瘤和乳腺肿瘤。TGF- α 的表达在正常组织、非典型增生以及腺癌组织中呈现增强趋势,这表明 TGF- α 能够促进细胞分化,刺激细胞癌变^[6-7]。我院本次研究的结果与上述结论相符,结果显示,肺腺癌组织的 TGF- α 阳性率显著高于正常肺组织,且随着肺腺癌组织病理学分级的增高,TGF- α 蛋白的阳性率呈现升高趋势。

在所有恶性肿瘤中,约有 50% 以上都会出现 p53 的突变^[8]。由 p53 编码的蛋白质是一种转录因子,控制细胞周期的启动,突变后,细胞的生长凋亡过程不再受其调控,细胞增殖失控,最终导致细胞恶变^[9-10]。本次研究结果显示,肺腺癌组织的 p53 阳性率显著高于正常肺组织,随着肺腺癌组织病理学分级增高,p53 阳性率也升高。这一结论同时也可能在提示 p53 突变能够促进肺腺癌的浸润发展过程。

Ki-67 是一种与细胞增殖有关的核蛋白,并与核糖体 RNA 转录密切相关。其不仅在细胞周期的 G1, S, G2 和 M 期均有表达,并且能够很好地评估某一细胞群的增殖比例,因此能够作为细胞增殖的标志物^[11]。国内外研究显示,Ki-67 的阳性表达不仅与前列腺癌、乳腺癌等肿瘤患者的生存期密切相关,还会影响癌症的复发风险,阳性率越高,肿瘤生长就越快,机体的组织分化能力就越差,患者的预后较差,很难完全治愈^[12]。本次研究中,肺腺癌组织的 Ki-67 阳性率显著高于正常肺组织,并肺腺癌组织病理学分级增高,这一点与 Ki-67 的增殖随着肿瘤细胞的恶性程度增高而增加的临床结论也相符合。

E-cadherin 蛋白在保持上皮细胞间的同质黏附方面作用显著,是一种重要的细胞黏附因子^[13]。有研究发现,E-cadherin 蛋白在乳腺癌和胃癌中呈现出低表达^[14-15]。本次结果显示,E-cadherin 的阳性率随着组织病理学分级的增高而降低,这可能是由于 E-cadherin 表达下调会降低细胞间的连接,使得肺上皮细胞发生癌变,并且会促进癌细胞浸润,引发病期恶化。本次的相关性分析则显示,TGF- α 、p53 及 Ki-67 与

E-cadherin 蛋白之间可能存在共同的细胞调控通路,在肺腺癌的发展和侵袭转移方面发挥共同作用,但确切的共同作用机制有待新的研究进一步证实。

综上所述,TGF- α 、p53 及 Ki-67 的表达上调与 E-cadherin 表达下调可能通过共同的调控通路促进肺腺癌的发生和发展,联合诊断该四种蛋白可能有利于肺腺癌的早期确诊,并在肺腺癌的分型和预后方面发挥作用。本次研究仍存在不足,四种蛋白的联合作用机制仍待更大样本容量的研究进行明确。

参考文献

- [1] 胡文铎, 吴爱兵, 李媛媛, 等. Ki-67 在肺非典型腺瘤样增生、原位腺癌、微浸润性腺癌及浸润性腺癌中的表达差异[J]. 中国医药科学, 2020, 10(13): 188-190, 202.
- [2] 邓凯琳, 张瑰红, 杨枫, 等. 浸润性肺腺癌国际多学科分类与预后的关系及 TTF-1、NapsinA 的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2018, 34(5): 553-556.
- [3] 黄程, 吴正升, 吴强. 肺腺癌基因谱分析及 p53、KRAS 的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2019, 35(12): 1387-1390, 1394.
- [4] 仲林, 关宏伟, 张朋新, 等. 早期肺腺癌中 TGF- β_1 、p53、E-cadherin 的表达及其相关性[J]. 临床与实验病理学杂志, 2020, 36(7): 854-856.
- [5] 韩祺蕾, 李凯. 转化生长因子 α (TGF- α)在肿瘤治疗中的应用现状及展望[J]. 复旦学报(医学版), 2019, 46(5): 696-699.
- [6] 邓陶然, 林丹丹, 钟波, 等. TGF- α 、TGF- β_1 、TIMP-2 mRNA 在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J]. 临床肺科杂志, 2016, 21(11): 2063-2066, 2067.
- [7] 柳惠斌, 郭骏, 蒲艳, 等. 转化生长因子- β_1 诱导人肺腺癌细胞侵袭迁移的机制[J]. 中华实验外科杂志, 2018, 35(4): 706-709.
- [8] 唐微, 谭凌峰, 以敏. EGFR、ALK、p53 蛋白的表达在肺腺癌预后评估中的价值[J]. 海南医学, 2020, 31(7): 821-825.
- [9] 李静, 张中冕, 程留奇, 等. 肺腺癌组织 EGFR 突变与 p53 和 COX-2 表达相关性及其临床意义[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2017, 24(4): 247-251.
- [10] 卞春安, 蒋琰华, 陆世民, 等. p53 和 p16 基因过表达对人肺腺癌细胞株 H1299 生物学功能影响实验研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2018, 25(5): 307-314.
- [11] 陈威, 冯维忠, 王刚. 肺腺癌 MSCT 征象与 EGFR 突变、Ki-67 表达水平的相关性研究[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2020, 18(7): 45-47, 69.
- [12] GEEWON L, HYUNJIN P, INSUK S, et al. Comprehensive computed tomography radiomics analysis of lung adenocarcinoma for prognostication [J]. Oncologist, 2018, 23(7): 806-813.
- [13] 张继朋, 卢强, 陈鹏, 等. 雌激素对肺腺癌 SPC-A-1 细胞上皮间质转化标志物 Vimentin、E-cadherin 表达量的影响[J]. 医学临床研究, 2020, 37(10): 1450-1453.
- [14] 王超, 舒诚荣, 曹爱玲, 等. 乳腺癌患者血清 E-cadherin、sE-cadherin 水平与临床分期及化疗疗效的相关性[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2020, 17(5): 159-162.
- [15] HOU HL, ZHU H, ZHAO H, et al. Comprehensive molecular characterization of young Chinese patients with lung adenocarcinoma identified a distinctive genetic profile [J]. Oncologist, 2018, 23(9): 1008-1015.

(收稿日期:2021-06-10)