

较氨茶碱干预组的为少。诱喘后,虎杖苷干预组大鼠相比于氨茶碱干预组大鼠相应的症状轻微,不见其呼吸困难,静息期间也无哮鸣音。研究结果显示,虎杖苷吸入剂具有平喘疗效,能够有效改善大鼠模型的哮喘症状。

参考文献

- 1 张骅,刘琨.虎杖临床应用研究进展.临床肺科杂志,2007,12(1):62-63
- 2 江庆澜,李瑜元,潘锦瑶,等.虎杖提取液对非酒精性脂肪肝大鼠肿瘤坏死因子 α 基因表达的影响.中药材,2005,28(10):917-919
- 3 伍晓春.虎杖的药理作用及临床应用研究进展.中医药信息,2005,22(2):22-25
- 4 许雄伟,邱光清,李美珠,等.虎杖苷注射液的溶血、过敏及刺激

试验.中药新药与临床药理,2008,19(3):174-177

- 5 Saetta M, Turato G. Airway pathology in asthma. Eur Respir J Suppl 1, 2001, 34:18-23
- 6 林耀广.支气管哮喘发病机制的新认识.当代医学,2009,6(9):17-31
- 7 Matthew SH, Sankar G. Signaling to NF- κ B. Genes and Development, 2004, 18: 2195-2224
- 8 朱述阳,吕丽丽,夏春伟,等. Eotaxin 和 CCR3 在哮喘豚鼠肺和骨髓组织的表达和调控.细胞与分子免疫学杂志,2007,23(6):543-545
- 9 方向明,王军.平喘宁对哮喘豚鼠肺组织中嗜酸性粒细胞趋化因子 mRNA 表达的影响.中华中医药杂志,2007,22(1):55-57

(收稿:2010-01-15)

(修回:2010-04-07)

尿液中转化生长因子 β_1 和层粘连蛋白含量与乳腺癌的相关性研究

陈东祥 许汝青 盛波 陈洪俊

摘要 目的 探讨尿液中转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) 和层粘连蛋白 (LN) 与乳腺浸润性导管癌的相关性。方法 采用夹心法酶联免疫吸附技术 (ELISA) 分别检测 60 例乳腺癌患者、32 例乳腺良性疾病患者及 32 例健康对照者尿液 TGF- β_1 及 LN 的含量。结果 乳腺癌组尿液 LN 含量高于良性病变组和对照组,差异均有显著性 ($P < 0.05$),乳腺癌组尿液 TGF- β_1 含量与良性病变组和对照组相比,差异无显著性 ($P > 0.05$)。但在乳腺癌进展期患者尿液 TGF- β_1 含量均明显升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。等级相关分析:尿液 TGF- β_1 和 LN 含量与临床分期和淋巴结转移状况呈显著性正相关 ($r = 0.598/0.560, P = 0.001; r = 0.647/0.602, P = 0.000/0.000$);与雌激素受体、C-erbB-2 呈负相关 ($r = -0.263/-0.311, P = 0.042/0.016; r = -0.288/-0.330, P = 0.026/0.010$)。结论 乳腺癌患者尿液中 TGF- β_1 及 LN 含量与临床分期和淋巴结转移状况呈正相关,提示 TGF- β_1 和 LN 与乳腺癌的病理机制及浸润、转移等生物学行为有密切关系。

关键词 尿液 转化生长因子 β_1 层粘连蛋白 乳腺肿瘤

Correlation between Urine Levels of Transforming Growth Factor β_1 and Laminin and Breast Cancer. Chen Dongxiang, Xu Ruqing, Sheng Bo, et al. Department of Oncosurgery, The First Affiliated Hospital of Yangtze University, Hubei 434002, China

Abstract Objective To investigate the relationship between urinary transforming growth factor β_1 and laminin levels and breast cancer. **Methods** The urine levels of TGF- β_1 and LN were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in 60 patients with breast cancer, 32 patients with breast benign disease, and 32 healthy controls. **Results** The urine level of LN of the breast cancer group was significantly higher than those of the breast benign disease group and the control group ($P < 0.05$). Comparing the breast benign disease group and control group with the breast cancer group, the urine level of TGF- β_1 had no significant difference ($P > 0.05$). However, the urine levels of TGF- β_1 in patients with more advanced were significantly higher ($P < 0.05$). In Spearman rank correlation analysis, the urine levels of TGF- β_1 and LN were significantly positive correlated with the clinical stage and lymph node status ($r = 0.598/0.560, P = 0.001; r = 0.647/0.602, P = 0.000/0.000$), and meanwhile they were significantly negative correlated with the ER and C-

基金项目:湖北省荆州市科技发展计划项目(20071PE1-34)

作者单位:434002 荆州,长江大学附属第一医院肿瘤外科

通讯作者:陈东祥,电子信箱:chendongxiang7268@yahoo.com.cn

erbB-2($r = -0.263/-0.311, P = 0.042/0.016; r = -0.288/-0.330, P = 0.026/0.010$)。 **Conclusion** Urine TGF- β_1 and LN content in the Patients with breast cancer clinical stage and lymph node metastasis were positively correlated, suggesting that TGF- β_1 and LN we closely related to the pathogenesis, invasion and metastasis of breast cancer.

Key words Urine; TGF- β_1 ; LN; Breast tumor

乳腺癌是威胁妇女健康的主要恶性肿瘤之一,早期诊断、有效地判断病情的发展、评估预后对降低乳腺癌病死率十分重要。近年来,越来越多的证据表明转化生长因子 β_1 (transforming growth factor beta 1, TGF- β_1) 和层粘连蛋白 (laminin, LN) 与乳腺癌的发生、发展有关^[1-3]。以往多侧重于乳腺癌患者血清、肿瘤组织中 TGF- β_1 和 LN 含量的检测,但尿液中 TGF- β_1 和 LN 含量与乳腺癌的关系未见报道,我们拟通过对乳腺癌患者尿液 TGF- β_1 和 LN 含量的观察,探讨其与乳腺癌的相关性,以期为乳腺癌的防治提供依据。

资料与方法

1. 一般资料:乳腺癌组:选取 2007 年 3 月~2008 年 3 月长江大学附属第一医院肿瘤外科收治的 60 例乳腺癌患者为研究对象。60 例乳腺癌患者均经病理证实为浸润性导管癌。年龄 27~67 岁,平均 47.88 ± 8.11 岁。按 AJCC 公布的乳腺癌分期、分级标准^[4]进行分期、分级。TNM 分期(stage grouping): I 期 10 例、II 期 32 例、III 期 15 例、IV 期 3 例;组织学分级(histologic grade, G): G₁ 级 18 例、G₂ 级 23 例、G₃ 级 19 例;有淋巴结转移者 39 例,无淋巴结转移者 21 例。无乳腺癌家族遗传史,其肝功能正常、AFP、HBsAg、HCV 均阴性,排除肝炎、

急性慢性肾炎、高血压、糖尿病等疾病。良性病变组(乳腺腺病 12 例,纤维腺瘤 20 例);共 32 例,年龄 18~55 岁,平均 34 岁;均经病理证实,并排除影响 TGF- β_1 和 LN 水平的疾病。正常对照组:32 例为我院体检合格的健康者,年龄 30~75 岁,平均 44 岁。受试者按卫生部印发的《涉及人的生物医学研究伦理审查办法(试行)》规定进行了签名。全部病例均为女性,取样前均未接受任何治疗。

2. 试剂和方法:取清晨空腹尿液标本,以 1500r/min,离心 15min,取上清液置于 -20℃ 保存待检。采用夹心法酶联免疫吸附测定技术(ELISA)检测,TGF- β_1 和 LN 试剂盒均购自武汉博士德生物有限公司,实验步骤及操作按试剂盒说明书进行。

3. 统计学处理:采用 SPSS11.5 统计软件进行统计处理,所有检测结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验和 Wilcoxon 检验,相关性分析采用 Spearman 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 各组测定结果比较:乳腺癌组尿液 LN 含量高于良性病变组 and 对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);但乳腺癌组尿液 TGF- β_1 含量与良性病变组 and 对照组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 各组测定结果比较 (pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	TGF- β_1	<i>P</i>	LN	<i>P</i>
乳腺癌组	60	411.60 $\pm$ 164.79 [*]	>0.05 [*]	227.27 $\pm$ 96.98 [▲]	<0.01 [▲]
良性病变组	32	394.11 $\pm$ 125.06		169.45 $\pm$ 50.45 [△]	>0.05 [△]
对照组	32	395.11 $\pm$ 115.43		166.85 $\pm$ 52.71	

^{*}3 组间比较, $P > 0.05$; [▲]乳腺癌组与对照组、良性病变组相比, $P < 0.01$; [△]良性病变组与对照组相比, $P > 0.05$

2. 乳腺癌患者尿液 TGF- β_1 和 LN 含量与肿瘤生物学行为的关系:尿液 TGF- β_1 和 LN 含量与年龄、月经状况、孕激素受体均无关($P > 0.05$);与临床分期、组织学分级和淋巴结转移状况有关($P < 0.05$);在雌激素受体和 C-erbB-2 阴性患者中高于阳性患者($P < 0.05$)(表 2)。

3. 乳癌组各参数的相关性分析:60 例乳腺癌患者尿液中 LN 含量高于良性病变组 and 对照组;而尿液中 TGF- β_1 含量与良性病变组 and 对照组相比,差异无统计学意义,但在进展期 TGF- β_1 含量明显升高。

经 Spearman 等级相关分析,结果显示:尿液 TGF- β_1 和 LN 含量与临床分期和淋巴结转移情况相关($r = 0.598/0.560, P = 0.001; r = 0.647/0.602, P = 0.000/0.000$);与雌激素受体、C-erbB-2 呈负相关($r = -0.263/-0.311, P = 0.042/0.016; r = -0.288/-0.330, P = 0.026/0.010$)。组织学分级、淋巴结转移为影响 TGF- β_1 浓度的显著因素,*r* 值分别为 0.742 和 0.647;淋巴结转移、远处转移、C-erbB-2、肿块大小和组织学分级为影响 LN 浓度的显著因素,*r* 值分别为 0.602、0.662、0.724、0.766 和 0.803。

表 2 尿液中 TGF- β_1 和 LN 含量与临床病理因素的关系 (pg/ml)

临床病理因素		<i>n</i>	TGF- β_1 中位数值	<i>P</i>	LN 中位数值	<i>P</i>
年龄 (岁)	<50	35	441.89	0.056	240.09	0.457
	≥ 50	25	369.19		209.33	
月经状况	绝经前	38	430.92	0.236	229.64	0.806
	绝经后	22	378.23		223.18	
临床分期	I + II 期	42	347.62	<0.001	184.55	<0.001
	III + IV 期	18	560.88		326.96	
组织学分级	G ₁	18	<0.001	318.43	159.33	0.0004
	G ₂	23	390.60		246.00	
	G ₃	19	525.29		268.96	
淋巴结转移	有	39	0.0003	465.67	245.94	0.0411
	无	21	311.17		192.60	
雌激素受体	阴性	25	462.46	0.042	262.64	0.016
	阳性	35	375.27		202.01	
孕激素受体	阴性	28	414.87	0.887	232.67	0.690
	阳性	32	408.73		222.55	
C-erbB-2	阴性	37	448.71	0.026	252.26	0.01
	阳性	23	351.90		187.08	

讨 论

TGF- β_1 是一种具有多种功能的细胞因子,能使正常的成纤维细胞的表型发生转化。在肿瘤早期有抑制作用,在晚期则起促进作用。可能与其促进肿瘤血管生成和免疫逃逸,通过调节成纤维细胞和其他细胞产生胞外基质蛋白和细胞黏附蛋白,降低某些降解胞外基质的酶生成,增加某些抑制降解酶的蛋白生成来调节胞外基质的黏附性,并通过 Smad 途径调节细胞外基质有关^[5]。近年来有学者对乳腺癌患者血清、肿瘤组织中 TGF- β_1 进行研究,认为其升高,预后不良,可以作为判断恶性肿瘤的单一或多项指标之一^[6]。Biswas 等^[7]发现患乳腺癌的老鼠体内 TGF- β_1 含量明显升高,癌细胞加速扩散;经应用 TGF- β_1 抗体中和后,癌细胞转移现象消失,而体内 TGF- β_1 含量低的老鼠没有发生远处转移。

本研究发现乳腺癌组尿液中 TGF- β_1 含量与良性病变组和对照组相比,差异无显著性 ($P > 0.05$),但在进展期尿液 TGF- β_1 含量明显升高,并与临床分期、组织学分级和淋巴结转移状况呈显著性正相关。随着肿瘤浸润程度的增加,尿液 TGF- β_1 含量有升高的趋势。提示:尿液 TGF- β_1 含量变化与乳腺癌病理机制及细胞的浸润、转移等生物学行为密切相关。机体多种细胞均可分泌非活性状态的 TGF- β_1 ,在酸性环境下激活,而发挥生物学作用。一般在细胞分化活跃的组织常含有较高水平的 TGF- β_1 ,几乎所有肿瘤细胞内均可检测到 TGF- β mRNA。至于为何乳腺癌患者尿中 TGF- β_1 含量变化在晚期变化

才明显,原因不详,可能因肿瘤组织 TGF- β R 水平降低、功能丧失或基因突变^[8],而反馈调节分泌增加。有学者对血清的检测也有类似现象^[9]。

LN 是细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 中的一种非胶原糖蛋白,在正常血液及组织液中的浓度极低, LN 主要促进各种上皮细胞、内皮细胞黏着于构成基膜的 IV 型胶原并发生铺展,一般说来, LN 的出现往往预示从间质形成次发性上皮。它不仅维持基膜结构的完整性,在肿瘤血管化程度上也有关键作用^[10]。体外实验证明, LN 可促进瘤细胞移动。当 LN 浓度存在梯度时,瘤细胞朝高浓度定向移动,当 LN 浓度均一时则加速无定向移动。移动的速度依赖于 LN 的剂量^[11]。恶性肿瘤患者在肿瘤的浸润生长及扩散中基膜常遭到破坏,呈不同程度降解缺损, LN 可以从基膜中释出,导致血中 LN 含量增高^[12]。同时某些恶性肿瘤组织本身能够合成分泌 LN。本组结果显示:乳腺癌组尿液 LN 含量高于良性病变组和对照组,差异均有显著性 ($P < 0.05$),并与淋巴结转移、远处转移、C-erbB-2、肿块大小和组织学分级相关。提示乳腺癌细胞在增生、浸润过程中,可产生和分泌大量的内源性 LN,是肿瘤进一步恶化的标志之一。这说明 LN 可作为临床观察患者病情进展、判断其恶化的一种辅助手段,具有一定的临床意义。

参考文献

- 1 陈东祥,田夫. 转化生长因子 β_1 与乳腺癌的研究现状. 中华肿瘤防治杂志, 2008, 15(10): 796-798
- 2 Casey TM, Eneman J, Crocker A, et al. Cancer associated fibroblasts stimulated by transforming growth factor beta1 (TGF-beta 1) in-

- crease invasion rate of tumor cells; a population study. *Breast Cancer Res Treat*,2008,110(1):39-49
 - 3 Chia J, Kusuma N, Anderson R, *et al*. Evidence for a role of tumor - derived laminin - 511 in the metastatic progression of breast cancer. *Am J Pathol*,2007,170(6):2135-2148
 - 4 Singletary SE, Allred C, Ashley P, *et al*. Revision of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer. *J Clin Oncol*. 2002,20:3628-3636
 - 5 Verrecchia F, Mauviel A. Transforming growth factor - beta signaling through the Smad pathway: role in extracellular matrix gene expression and regulation. *J Invest Dermatol*,2002,118(2):211-215
 - 6 Baselga J, Rothenberg ML, Tabernero J, *et al*. TGF - beta signalling - related markers in cancer patients with bone metastasis. *Biomarkers*, 2008,13(2):217-236
 - 7 Biswas S, Guix M, Rinehart C, *et al*. Inhibition of TGF - beta with neutralizing antibodies prevents radiation - induced acceleration of metastatic cancer progression[J]. *J Clin Invest*, 2007,117(5):1305-1313
 - 8 Dong M, How T, Kirkbride K C, *et al*. The type III TGF - beta receptor suppresses breast cancer progression[J]. *J Clin Invest*, 2007,117(1):206-217
 - 9 Sheen - Chen SM, Chen HS, Sheen CW, *et al*. Serum Levels of Transforming Growth Factor β 1 in Patients With Breast Cancer. *Arch Surg*, 2001,136(8):937-940
 - 10 Holler E. Laminin isoform expression in breast tumors. *Breast Cancer Res*,2005,7(4):166-167
 - 11 Manthorpe M, Engvall E, Ruoslahti E, *et al*. Laminin promotes neuritic regeneration from cultured peripheral and central neurons. *J Cell Biol*,1983,97(6):1882-1890
 - 12 余莲,余丽珍,李玉闽. 中枢神经系统白血病患者治疗前后脑脊液中层黏蛋白、透明质酸水平变化的初步观察. *中华血液学杂志*, 2005,26(9):575
- (收稿:2010-01-18)
(修回:2010-04-07)

胃癌细胞 P53、P16 蛋白表达与化疗药物敏感性的关系

耿 明 王 琳 刘晓红 曹永成 景洪标

摘 要 **目的** 探讨胃癌对化疗药物的耐药性及其与 P53 和 P16 蛋白表达的关系。**方法** 收集 75 例新鲜胃癌标本,制备单细胞悬液,分别加入 HCPT、CDDP、ADM、5-FU 和 MMC 培养 48h,用 MTT 比色法检测胃癌细胞对化疗药物的敏感性;免疫组化技术检测 P53 和 P16 蛋白在胃癌组织中的表达。**结果** 胃癌细胞对不同化疗药物敏感性不同:5-FU (43.4 ± 9.2)、CDDP (41.9 ± 8.7) 和 HCPT (40.6 ± 8.3) 对胃癌细胞的抑制率与 ADM (31.6 ± 7.8) 和 MMC (28.7 ± 7.3) 比较有统计学意义 ($P < 0.05$)。胃癌组织中 P53 和 P16 蛋白的阳性率分别为 81.33% (61/75) 和 38.67% (32/75)。P53 阳性者显示对 5-FU、ADM、HCPT 有明显的体外耐药性 ($P < 0.05$),P16 在 5-FU 和 CDDP 耐药组阳性率低于敏感组 ($P < 0.05$)。**结论** P53 和 P16 蛋白参与了胃癌对化疗药物原发性耐药的产生。MTT 药敏检测有助于筛选有效化疗药物。

关键词 胃肿瘤 化疗药物 敏感性 MTT 比色

Relationship between Expression of P53, P16 and Chemosensitivity in Gastric Carcinoma. Geng Ming, Wang Lin, Liu Xiaohong, Cao Yongcheng, Jing Hongbiao. Department of Pathology, General Hospital of Jinan Military Unit, Shandong 250031, China

Abstract Objective To investigate the relationship between expression of P53, P16 and sensitivity to chemotherapeutic drugs in gastric carcinoma. **Methods** 75 samples of gastric cancer obtained from operating room were prepared to single-cell suspension and separately exposed to HCPT, CDDP, 5-Fu, ADM, MMC for 48 hours. The sensitivity of gastric cancer cells to chemotherapeutic drugs was evaluated with MTT assay. Expression of P53 and P16 was detected by immunohistochemistry. **Results** The sensitivity of gastric carcinoma cells to chemotherapeutic drugs was different. Inhibitory rate of tumor cells exposed to 5-FU (43.4 ± 9.2), CDDP (41.9 ± 8.7) and HCPT (40.6 ± 8.3) were significantly higher than those of cells exposed to ADM (31.6 ± 7.8) and MMC (28.7 ± 7.3) ($P < 0.05$). Positive rate of P53 and P16 in gastric cancer was 81.33% and 38.67% respectively. P53 positive cells showed resistance to 5-FU, ADM and HCPT. P16 expression was significantly lower in the resistance to 5-FU and CDDP than that in the sensitivity. **Conclusion** P53 and P16 may contribute to primary drug-resistance of gastric cancer. MTT chemosensitivity test could constitute the prediction on ap-

基金项目:济南军区“十一五”计划课题(J115Z004)

作者单位:250031 济南军区总医院病理科

通讯作者:耿明,电子信箱:gm2227@sina.com