

· 临床研究 ·

转化生长因子 β 诱导基因在胃癌中的表达及临床意义

陶嘉楠¹, 张宏琳¹, 王学红²

1. 青海大学研究生院, 青海 西宁 810016; 2. 青海大学附属医院消化内科, 青海 西宁 810000

摘要: **目的** 研究转化生长因子 β 诱导基因(TGFBI)在胃癌组织中的表达水平及临床意义。**方法** 收集2019年12月至2020年12月在青海大学附属医院经胃镜检查及病理活组织检查后明确诊断为胃腺癌的患者87例,取胃癌组织及配对癌旁组织标本,应用实时荧光定量PCR技术检测TGFBI在胃癌组织中的相对表达量,分析其与临床病理参数的关系。**结果** TGFBI在胃癌组织中的相对表达量[0.613(0.263,0.884)]显著高于配对癌旁组织中的相对表达量[0.282(0.141,0.353)],差异有统计学意义($Z=4.457, P<0.01$);胃癌组织中TGFBI的相对表达量在肿瘤不同分化程度、浸润深度间差异有统计学意义($P<0.05, P<0.01$)。**结论** TGFBI表达水平与胃癌的发生发展相关,可以作为一种胃癌的生物学术标记物,为胃癌的分子靶向治疗提供参考依据。

关键词: 转化生长因子 β 诱导基因; 胃癌; 表达; 临床意义

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2022)04-0531-04

Expression and its clinical significance of TGFBI in gastric cancer

TAO Jia-nan^{*}, ZHANG Hong-lin, WANG Xue-hong^{*} Graduate School of Qinghai University, Xining, Qinghai 810016, China

Corresponding author: WANG Xue-hong, E-mail: Lindawang0710@hotmail.com

Abstract: **Objective** To investigate the expression level and clinical significance of transforming growth factor β -induced gene (TGFBI) in gastric cancer tissue. **Methods** The samples of cancerous tissue and paired adjacent tissue were collected from 87 patients who were confirmed with gastric cancer after gastroscopy and pathological biopsy from December 2019 to December 2020 in Affiliated Hospital of Qinghai University. The relative expression levels of TGFBI in gastric cancer tissues were detected by RT-qPCR, and the correlation between TGFBI and clinicopathological parameters was analyzed. **Results** The relative expression of TGFBI in gastric cancer tissue [0.613 (0.263, 0.884)] was significantly higher than that in paired adjacent tissue [0.282 (0.141, 0.353)], and the difference was statistically significant ($Z=4.457, P<0.01$); The expression level of TGFBI in gastric cancer tissues was significantly associated with the degree of tumor differentiation and the depth of invasion ($P<0.05, P<0.01$). **Conclusion** TGFBI expression level is related to the occurrence and development of gastric cancer and may be used as a biological marker for gastric cancer, so as to provide theoretical basis for the therapeutic target in gastric cancer.

Keywords: Transforming growth factor- β -induced gene; Gastric cancer; Expression; Clinical significance

Fund program: Qinghai Clinical Medicine Research Center Project (2019-SF-L3)

胃癌(gastric cancer)在全球确诊恶性肿瘤中排在第五位,由于胃癌被诊断时通常处于进展期,所以预后不良,死亡率高,是癌症相关死亡的第三大原因^[1]。转化生长因子- β 诱导基因(transforming growth factor β -induced gene, TGFBI)又名 β ig-h3,最初是从肺腺癌细胞系中克隆的基因^[2]。研究表明

TGFBI的表达与肿瘤的发病和进展相关,主要作用是通过充当连接各种基质分子并促进细胞-胶原相互作用的接头来介导细胞黏附和迁移,在肿瘤血管生成中起着重要作用,从而影响肿瘤缺氧和免疫细胞浸润^[3]。Lv等^[4]发现胃癌患者腹腔冲洗液中的TGFBI水平显著高于良性疾病患者,并且随着疾病的进展而

DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2022.04.018

基金项目: 青海省临床医学研究中心项目(2019-SF-L3)

通信作者: 王学红, E-mail: Lindawang0710@hotmail.com

出版日期: 2022-04-20

升高。此外, TGFBI 还能诱导人胃癌细胞系 (SGC-7901) 细胞黏附, 并显著增加细胞的迁移和增殖能力^[5]。尽管现有的对 TGFBI 生物学作用的研究仍不全面, 但已有大量研究证实, 它充当细胞黏附底物, 调节细胞生长, 互连其他基质成分并转导 TGFBI 介导的信号^[6]。然而对其在胃癌中的表达研究还很有限, 本研究通过观察 TGFBI 在胃癌组织中的表达, 探讨 TGFBI 的相对表达水平与胃癌临床病理参数的关系。

1 资料与方法

1.1 病例选择与标本采集 选择 2019 年 12 月至 2020 年 12 月青海大学附属医院经过胃镜检查及病理活组织检查后被明确诊断为胃癌的患者共计 87 例。纳入标准: (1) 经胃镜和病理组织活检首次确诊为胃腺癌; (2) 术前未接受放射线治疗、化学疗法、分子靶向治疗、抗癌中药等相关治疗; (3) 自愿参与并签署知情同意书。排除标准: (1) 合并其他脏器恶性肿瘤; (2) 肝肾功能衰竭; (3) 近 1 月使用抑酸药、抗生素。患者在行胃镜检查时, 用胃镜活检钳钳取癌组织及癌旁组织各 1 块, 其中癌旁组织取自距离癌组织边缘大于 5 cm 的正常胃组织, 立即放入冻存管内, -80 °C 冰箱保存。同时设计表格, 记录患者姓名、年龄、性别、民族等一般信息。本课题所依托的 RHEC 编号: SL-2019058, 所有研究工作均受伦理委员会批准及监督。

1.2 实验方法

1.2.1 总 RNA 抽提 将胃癌组织在液氮中充分研碎, 在每 30~50 mg 的胃癌组织中加入 1 ml Trizol 并匀浆处理; 放入室温下静放 10 min; 随后加入氯仿 0.2 ml, 进一步将其剧烈振荡 30 s, 并静放室温下 3 min, 离心半径 8.5 cm, 以 12 000 rpm 4 °C 条件下离心 10 min; 取洁净离心管, 将离心后的上层水相放入离心管, 加 1/2 倍体积无水乙醇后进行混匀; 将吸附柱 (Spin Column TR) 置入收集管中, 再将离心管中的液体加入其中, 静放 2 min, 并以 12 000 rpm 离心共计 3 min, 再弃掉废液; 再将 500 μ l RPE Solution 加入其中, 静放 2 min 后以 10 000 rpm 离心 30 s 后再弃掉废液, 重复一次; 将吸附柱放回收集管中, 10 000 rpm 离心 3 min; 取一个容量为 1.5 ml 洁净的离心管并放入吸附柱, 将 30 μ l DEPC-treated dd H₂O 加到其膜中央, 静放 5 min, 12 000 rpm 离心 2 min, 保存在 -70 °C 下备用。

1.2.2 cRNA 合成 (1) 将 total RNA Xul、Random Primer p (dN) 6 (100 pmol) 1.0 μ l、dNTP Mix

(0.5 mM final concentration) 1.0 μ l、Rnase-free dd H₂O (固定容量到 14.5 μ l) 加到冰浴的 nuclease-free PCR 管中; (2) 将 (1) 摇匀后进一步离心 3~5 s, 再放到 65 °C 温浴 5 min, 再放置到冰水中冰浴 2 min, 最后一步是再离心 3~5 s; (3) 将 4.0 μ l 5 \times RT Buffer、0.5 μ l Thermo Scientific Ribo Lock RNase Inhibitor (20U)、1.0 μ l Revert Aid Premium Reverse Transcriptase (200U) 加入经过冰浴的试管, 并轻轻混匀后离心 3~5 s; (4) 在 PCR 仪上放置 (3) 行反转录, 反应条件为: 孵育 25 °C 10 min, cDNA 合成 50 °C 30 min, 终止反应 85 °C 5 min; (5) 反应完成后存于 -20 °C 下备用。

1.2.3 实时荧光定量聚合酶链反应 (RT-qPCR) 检测 由上海生工设计并合成引物, 内参基因 GAPDH 的正向引物序列为 5'-TGG GTG TGA ACC ATG AGA AGT-3', 目的基因的正向引物序列为 5'-GGG ACA TGC TCA CTA TCA ACG-3'。实验过程中采用相对定量法 (Δ Ct 法) 计算各基因的相对表达量: Δ Ct1 = Ct (目的基因, 癌组织) - Ct (内参基因, 癌组织); Δ Ct2 = Ct (目的基因, 癌旁组织) - Ct (内参基因, 癌旁组织); Δ Ct = Δ Ct1 - Δ Ct2; 表达倍数 = $2^{-\Delta$ Ct}。在实验过程中, 为减少误差, 取每个样本重复 3 次后的平均 Ct 值作为最终值。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 25.0 进行统计分析。先对数据进行正态性检验, 数据并不满足正态分布, 统计描述用中位数 (第 25 百分位数, 第 75 百分位数) [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示。配对样本采用 Wilcoxon 符号秩和检验, 两独立样本采用 Mann-Whitey U 检验, 多组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 收集胃癌组织及配对癌旁组织共计 87 例, 男性 52 例, 女性 35 例; 年龄 27~78 岁, 中位年龄 62 岁; 民族构成中有汉族 30 例, 藏族 28 例, 回族 29 例; 临床分期 I~II 期 41 例, III~IV 期 46 例, 分期标准参照国际抗癌联盟/美国癌症联合会制定的 TNM 分期标准 (第 8 版)。

2.2 TGFBI 在胃癌组织及配对癌旁组织中的表达 TGFBI 在胃癌组织中的相对表达量为 0.613 (0.263, 0.884), 配对癌旁组织中的相对表达量为 0.282 (0.141, 0.353), 胃癌组织中 TGFBI 的表达水平高于配对癌旁组织, 差异具有统计学意义 ($Z = 4.457, P < 0.01$)。

2.3 胃癌组织中 TGFBI 的表达水平和临床病理参数的关系 TGFBI 在胃癌组织中的表达水平在肿瘤不同的分化程度及浸润深度之间差异有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$), 而在不同性别、年龄、民族、是否远处转移及临床分期之间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 胃癌组织中 TGFBI 的表达水平和临床病理参数的关系
Tab. 1 The relationship between the expression level of TGFBI in gastric cancer tissues and clinicopathological parameters

临床病理特征	例数	TGFBI 相对表达量 [$M(P_{25}, P_{75})$]	Z/H 值	P 值
性别				
男	52	0.594(0.263,0.837)	0.667	0.505
女	35	0.631(0.226,1.015)		
年龄(岁)				
<60	40	0.598(0.250,0.762)	0.558	0.577
≥60	47	0.622(0.263,0.963)		
民族				
汉族	30	0.593(0.263,0.927)	0.618	0.734
藏族	28	0.622(0.227,1.014)		
回族	29	0.601(0.255,0.717)		
分化程度				
中低分化	43	0.622(0.371,1.058)	2.344	0.019
高分化	44	0.495(0.166,0.720)		
浸润深度				
T1、T2	40	0.406(0.141,0.661)	2.998	0.003
T3、T4	47	0.663(0.371,1.058)		
远处转移				
是	32	0.622(0.265,1.014)	0.731	0.465
否	55	0.601(0.263,0.735)		
临床分期				
I、II 期	41	0.592(0.246,0.735)	0.787	0.437
III、IV 期	46	0.622(0.258,1.013)		

3 讨论

TGFBI 最早是从 A549 肺腺癌细胞系中克隆的基因, 现已被证明能刺激多种类型细胞的增殖, 包括软骨细胞、间充质干细胞、某些条件下的成骨细胞、成纤维细胞及内皮细胞等^[7-8]。研究表明 TGFBI 是一种抑制或刺激细胞增殖的双功能调节剂, 其在间皮瘤、肺癌细胞中具有肿瘤抑制活性, 而在结肠癌、乳腺癌中, 却被证明有利于肿瘤细胞的外渗及转移^[9-10]。TGFBI 可以根据细胞培养条件在相同的细胞中诱导生长促进和生长抑制, 从而调节正常发育和生理中的多种关键事件^[11]。

TGFBI 调节失调与肿瘤的发生有关, 在肿瘤的早期阶段通过抑制细胞周期进程和促进细胞凋亡表现出肿瘤抑制作用, 然而在晚期能发挥肿瘤促进作用, 增加肿瘤侵袭性。此外, TGF 信号通路以协同或拮抗的方式与其他信号通路通信, 并调节细胞功能^[12-13]。本研究采用 RT-qPCR 检测技术检测 87 例胃癌患者

的癌组织及配对癌旁组织中 TGFBI 的相对表达量, 结果显示 TGFBI 表达水平在胃癌组织中较癌旁组织高。肿瘤是一种复杂的疾病, 胃癌的发生更是宿主和环境的相互作用以及遗传和表观遗传改变等相互作用的结果。TGFBI 能通过刺激肿瘤细胞经历所谓的上皮-间充质转化而发挥肿瘤促进剂的作用。已有许多关于 TGFBI 信号传导的研究, 据报道其在胃腺癌中的表达率较高。进一步胃癌临床病理参数分析结果显示, 不同分化程度、浸润深度的胃癌组织中 TGFBI 表达水平差异有统计学意义, 提示 TGFBI 可能参与肿瘤细胞的分化及侵袭过程。TGFBI 是细胞与细胞、细胞与细胞外基质之间黏附的桥梁, 能促进细胞黏附、增殖、分化, 可诱导胃癌细胞的黏附和迁移, 并有促进其增殖的作用。在不同临床分期及是否远处转移的胃癌组织中 TGFBI 表达水平差异无统计学意义, 提示胃癌患者 TGFBI 的表达可能与临床预后不相关。

综上所述, 尽管 TGFBI 的生物学作用在很大程度上是未知的, 但迄今为止关于 TGFBI 的文献表明, 它充当细胞黏附底物, 调节细胞生长, 连接其他基质成分并转导 TGF- β 介导的信号, 诱导胃细胞黏附、迁移和增殖^[14]。本研究结果表明 TGFBI 对胃癌的发展起着重要的作用, TGFBI 可能作为胃癌的生物学标记物, 未来可能成为一个作用靶点为新的靶向药物的开发提供理论指导。

参考文献

- [1] Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, et al. Gastric cancer[J]. *Lancet*, 2020, 396(10251): 635-648.
- [2] Skonier J, Neubauer M, Madisen L, et al. cDNA cloning and sequence analysis of beta ig-h3, a novel gene induced in a human adenocarcinoma cell line after treatment with transforming growth factor-beta[J]. *DNA Cell Biol*, 1992, 11(7): 511-522.
- [3] Fico F, Santamaria-Martínez A. TGFBI modulates tumour hypoxia and promotes breast cancer metastasis[J]. *Mol Oncol*, 2020, 14(12): 3198-3210.
- [4] Lv ZD, Na D, Liu FN, et al. Induction of gastric cancer cell adhesion through transforming growth factor-beta1-mediated peritoneal fibrosis[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29(1): 139.
- [5] Gu SC, Feng XH. TGF- β signaling in cancer[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2018, 50(10): 941-949.
- [6] Ruiz M, Toupet K, Maumus M, et al. TGFBI secreted by mesenchymal stromal cells ameliorates osteoarthritis and is detected in extracellular vesicles[J]. *Biomaterials*, 2020, 226: 119544.
- [7] Marie-José G, Gudrun V, Susumu I, et al. Balancing the activation state of the endothelium via two distinct TGF-beta type I receptors[J]. *EMBO J*, 2002, 21(7): 1743-53.

(下转第 538 页)

- health literacy and health behaviors in young and middle-aged stroke patients[J]. *Pract J Cardiac Cereb Pneumal Vasc Dis*, 2020, 28(6): 57-61.
- [14] 刘珍,张晗,张艳,等.郑州市农村老年人电子健康素养现状及影响因素分析[J].*现代预防医学*,2020,47(2):283-286,309.
Liu Z, Zhang H, Zhang Y, et al. Current situation and influencing factors of e-health literacy among rural older adults in Zhengzhou[J]. *Mod Prev Med*, 2020, 47(2): 283-286, 309.
- [15] Choi N. Relationship between health service use and health information technology use among older adults: analysis of the US National Health Interview Survey [J]. *J Med Internet Res*, 2011, 13(2): e33.
- [16] 李斌,王月红.个性化健康管理方案对老年高血压患者治疗依从性及焦虑情绪的影响[J].*中国临床研究*,2021,34(12):1730-1732,1735.
Li B, Wang YH. Effect of personalized health management program on treatment compliance and anxiety of elderly patients with hypertension[J] *Chin J Clin Res*, 2021,34(12): 1730-1732,1735.
- [17] 孟云蛟,徐旭娟,吴红莲,等.类风湿关节炎患者服药信念与服药依从性调查[J].*护理学杂志*,2019,34(14):22-24.
Meng YJ, Xu XJ, Wu HL, et al. Medication beliefs and adherence in patients with rheumatoid arthritis [J]. *J Nurs Sci*, 2019, 34(14): 22-24.
- [18] 崔宏博,童亦滨,杨敬源,等.贵阳市农村地区重性精神分裂症患者服药依从性现状及其影响因素分析[J].*现代预防医学*,2017,44(20):3720-3723.
Cui HB, Tong YB, Yang JY, et al. Analysis on current status of medication compliance and influencing factors for severe schizophrenic patients in Guiyang rural areas[J]. *Mod Prev Med*, 2017, 44(20): 3720-3723.
- [19] 何敏超.提高服药依从性后 Alzheimer's 病患者服药依从性的相关因素变化[J].*临床神经病学杂志*,2019,32(1):65-68.
He MC. The related factors change on medication compliance of Alzheimer's patients after improving medication adherence [J]. *J Clin Neurol*, 2019,32(1): 65-68.
- [20] 李丹丹.影响冠心病患者服药依从性的相关因素及其干预措施分析[J].*四川解剖学杂志*,2020,28(3):135-136.
Li DD. Analysis of related factors and intervention measures affecting medication compliance in patients with coronary heart disease [J]. *Sichuan J Anat*, 2020, 28(3): 135-136.
- [21] 范笑嫣,刘聪,钟海丹,等.社区组织服务对艾滋病抗病毒治疗者服药依从性的影响[J].*热带医学杂志*,2020,20(3):336-340.
Fan XY, Liu C, Zhong HD, et al. Impact of community-based organization services on adherence to medication among HIV/AIDS patients[J]. *J Trop Med*, 2020, 20(3): 336-340.
- [22] 黄传应,杨荣,廖晓阳.家庭社会支持对高血压治疗依从性影响的研究进展[J].*中华全科医学*,2021,19(3):466-470.
Huang CY, Yang R, Liao XY. Effects of family social support on treatment compliance of patients with hypertension[J]. *Chinese Journal of General Practice*, 2021,19(3):466-470.
- [23] 徐子棣,张帅,耿季,等.糖尿病高危人群电子健康素养与健康促进生活方式的相关性分析[J].*中华护理教育*,2020,17(9):849-853.
Xu ZD, Zhang S, Geng J, et al. The association between eHealth literacy and health promoting lifestyle in high risk population of type 2 diabetes [J]. *Chin J Nurs Educ*, 2020, 17(9): 849-853.
- [24] Mathijssen EG, Vriezokolk JE, Eijsbouts AM, et al. Support needs for medication use and the suitability of eHealth technologies to address these needs: a focus group study of older patients with rheumatoid arthritis[J]. *Patient Prefer Adherence*, 2018, 12: 349-358.
- [25] Pouls BPH, Vriezokolk JE, Bekker CL, et al. Effect of interactive eHealth interventions on improving medication adherence in adults with long-term medication: systematic review [J]. *J Med Internet Res*, 2021, 23(1): e18901.
- [26] Lin CY, Ganji M, Griffiths MD, et al. Mediated effects of insomnia, psychological distress and medication adherence in the association of eHealth literacy and cardiac events among Iranian older patients with heart failure: a longitudinal study [J]. *Eur J Cardiovasc Nurs*, 2020, 19(2): 155-164.

收稿日期:2021-07-28 修回日期:2021-09-30 编辑:石嘉莹

(上接第 533 页)

- [8] Jian HY, Shen X, Liu I, et al. Smad3-dependent nuclear translocation of β -catenin is required for TGF- β 1-induced proliferation of bone marrow-derived adult human mesenchymal stem cells [J]. *Genes Dev*, 2006, 20(6): 666-674.
- [9] Li BY, Wen GY, Zhao YL, et al. The role of TGFBI in mesothelioma and breast cancer: association with tumor suppression [J]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 239.
- [10] Ma CY, Rong Y, Radloff DR, et al. Extracellular matrix protein betaig-h3/TGFBI promotes metastasis of colon cancer by enhancing cell extravasation [J]. *Genes Dev*, 2008, 22(3): 308-321.
- [11] Morikawa M, Derynck R, Miyazono K. TGF- β and the TGF- β family: context-dependent roles in cell and tissue physiology [J]. *Gold Spring Harb Perspect Biol*, 2016, 8(5): a021873.
- [12] Hao Y, Baker D, Dijke PT. TGF- β -mediated epithelial-mesenchymal transition and cancer metastasis [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(11): 2767.
- [13] Colak S, Dijke PT. Targeting TGF- β signaling in cancer [J]. *Trends Cancer*, 2017, 3(1): 56-71.
- [14] Tang J, Wu YM, Zhao P, et al. Betaig-h3 interacts with alpha3beta1 integrin to promote adhesion and migration of human hepatoma cells [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2009, 234(1): 35-39.

收稿日期:2021-08-10 修回日期:2021-10-19 编辑:李方