

TFF1 在正常及损伤胃黏膜中的表达改变

任建林, 卢雅丕, 王琳, 陈建民, 施华秀, 叶震世, 吴艳环, 钟燕, 林逊汀, 林辉, 潘金水, 罗金燕

任建林, 卢雅丕, 王琳, 陈建民, 施华秀, 叶震世, 吴艳环, 钟燕, 林逊汀, 林辉, 潘金水, 厦门大学医学院第一临床学院消化内科 福建省厦门市 361004
罗金燕, 西安交通大学第二医院消化内科 陕西省西安市 710004
项目负责人: 任建林, 361004, 福建省厦门市湖滨南路 201 号, 厦门大学医学院第一临床学院. jianlinr@msn.com
电话: 0592-2292017 传真: 0592-2292017
收稿日期: 2003-08-07 接受日期: 2003-10-17

摘要

目的: 通过观察TFF1在人消化性溃疡及阿司匹林诱导的兔胃溃疡中的表达, 探讨TFF1在胃黏膜保护中的作用。

方法: 采用免疫组化方法测定正常及消化性溃疡患者、正常及阿司匹林诱导的兔胃溃疡模型中胃黏膜TFF1的表达, 通过图像分析软件分析其阳性信号平均光密度值了解其表达情况。

结果: (1)消化性溃疡患者胃黏膜中TFF1的表达高于正常胃黏膜($P < 0.01$), 其中, 多发/复合性溃疡表达高于单发消化性溃疡($P < 0.05$). (2)阿司匹林诱导的兔胃溃疡周围黏膜TFF1表达高于正常兔胃黏膜($P < 0.05$).

结论: TFF1在人消化性溃疡及药物诱导的兔胃溃疡中的表达较正常升高, 提示其在胃黏膜保护及上皮重建机制中具有重要的作用。

任建林, 卢雅丕, 王琳, 陈建民, 施华秀, 叶震世, 吴艳环, 钟燕, 林逊汀, 林辉, 潘金水, 罗金燕. TFF1在正常及损伤胃黏膜中的表达改变. 世界华人消化杂志 2003;11(11):1809-1810

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1809.asp>

0 引言

TFF1是三叶因子家族成员之一。三叶因子家族(trefoil factor family, TFF)是一群主要由胃肠道黏液细胞分泌的小分子多肽。在正常组织中, TFF1主要在胃体及胃窦黏膜上皮表面细胞表达, 当胃肠道黏膜发生损伤时, 这种表达专一性消失, 他可在整个胃肠黏膜损伤部位表达, 且较正常黏膜表达明显升高。本组试验采用免疫组化方法观察TFF1在正常及损伤胃黏膜中的表达改变, 以探讨TFF1在胃黏膜保护及上皮重建机制中的作用, 明确其药理学意义。

1 材料和方法

1.1 材料 (1)厦门大学医学院第一临床学院 2002-01/2002-12 期间存档的 126 例患者的胃镜活检标本蜡块, 年龄 40-70 岁(50.3 ± 7.8)。其中, 正常胃窦黏膜 35 例, 均行胃镜检查未见胃及十二指肠黏膜有异常病变, 病理示大致正常胃黏膜; 胃溃疡患者溃疡周围黏膜 35 例;

十二指肠球部溃疡患者胃窦黏膜 37 例; 多发/复合性溃疡患者胃溃疡周围黏膜 19 例。(2)新西兰纯种大白兔 15 只, 对照组 5 只, 试验组 10 只, 体重 2.8-3.5kg, 雌雄不拘, 置于有网眼的铁丝笼, 防止自食粪便, 禁食 24 h, 自由饮水。试验组每只予阿司匹林 1.0 g 溶于 20 mL 生理盐水灌胃 1 h 后空气栓塞处死, 对照组以生理盐水 20 mL 灌胃后处死。剖腹取胃, 沿大弯侧剪开, 生理盐水冲洗后观察胃黏膜。对照组黏膜光滑, 未见溃疡, 取胃窦部 1.0 × 0.3 cm 组织块 1 块, 试验组可见 2-5 条纵行溃疡, 取溃疡周边 1.0 × 0.3 cm 组织块 2 块 (优先选取胃窦部), 迅速放入 10 % 甲醛溶液中固定。
1.2 方法 试剂: 鼠抗人 TFF1 单克隆抗体、S-P 超敏试剂盒及 DAB 显色试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司。所有标本均经 10 % 甲醛固定, 常规脱水、透明、渗蜡、包埋, 制成 4 微米厚连续切片。常规脱蜡至水, 采用 SP 法染色, DAB 显色, 苏木素复染, 吹干, 具体操作按照 S-P 试剂盒说明书进行。阴性对照采用 PBS 代替一抗, 余步骤相同。

统计学处理 采用 SPSS10.0 统计分析软件进行分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验。

2 结果

2.1 结果评估 每张切片于 100 × 高倍镜下显微照相, 阳性细胞胞质为棕黄色, 随机选取 20 个腺体, 采用 Motic Images Advanced 3.0 图像分析软件检测其阳性信号平均光密度值以反映 TFF1 表达的强弱, 光密度值越高, TFF1 的表达就越强。

表 1 TFF1 在生理及不同病理条件下胃黏膜中的表达

分类	n (男/女)	平均光密度值
正常	17/18	0.44±0.06
胃溃疡	19/16	0.51±0.06
十二指肠球部溃疡	20/17	0.50±0.06
单发消化性溃疡	39/33	0.50±0.06
多发性/复合性溃疡	11/8	0.54±0.05

2.2 十二指肠球部溃疡患者胃窦部黏膜 TFF1 表达明显高于正常胃窦黏膜, 二者差异具有显著性(0.50±0.06 vs 0.44±0.06, $P < 0.001$). 胃溃疡患者溃疡周围黏膜 TFF1 表达亦明显高于正常胃窦黏膜, 差异具有显著性(0.51±0.06 vs 0.44±0.06, $P < 0.001$). 多发/复合性溃疡患者溃疡周围黏膜阳性信号平均光密度值高于单发的胃溃疡或十二指肠球部溃疡患者, 差异具有统计学意义(0.54±0.05 vs

0.50±0.06, $P < 0.05$). 胃溃疡患者溃疡周围黏膜与十二指肠球部溃疡患者胃窦黏膜的表达对比无统计学差异 ($P > 0.05$)(表 1).

2.3 阿司匹林诱导的兔胃溃疡周边黏膜 TFF1 表达高于正常兔胃黏膜, 差异具有显著性(0.25±0.05 vs 0.38±0.09, $P < 0.05$), 且越靠近溃疡边缘的黏膜染色越深(表 2).

表 2 TFF1 在正常及阿司匹林诱导的兔损伤胃黏膜中的表达

分类	n	平均光密度值
正常兔	5	0.25±0.05
损伤兔	10	0.38±0.09

3 讨论

三叶因子家族是一群主要由胃肠道黏液细胞分泌的小分子多肽. TFF1 是三叶因子家族成员之一, 于 1982 年由 Masiakowski *et al*^[1] 在雌激素诱导的人乳腺癌细胞系 MCF-7 中获得. 在人正常组织中, TFF1 主要在胃体及胃窦黏膜上皮表面细胞表达, 但在病理条件下, 这种表达专一性消失^[2, 3], 他可在胃肠道黏膜损伤部位表达^[4]. 许多学者研究发现, 在哺乳动物进化过程中, 三叶肽表现了高度保守性, 人与其他哺乳动物三叶肽在基因次序及定位方面是相同的^[5], 因此, 本研究采用鼠抗人单克隆抗体来检测兔胃黏膜中的 TFF1.

在本研究中, 人消化性溃疡 TFF1 表达较正常明显升高, 且多发/复合性溃疡表达较单发消化性溃疡表达升高, 说明胃黏膜损伤程度愈重, TFF1 表达上调愈明显, 提示 TFF1 在胃消化性溃疡修复方面具有重要的作用. 三叶因子是一种运动因子, 能与表皮生长因子(EGF)及转化生长因子 α (TGF- α)协同作用, 参与损伤组织的上皮重建过程, 即促进受损黏膜周围完好的上皮细胞向损伤黏膜表面迁移覆盖, 促进损伤黏膜的修复, 但并不促进细胞分裂^[6]. 许多学者研究发现, 在胃肠道慢性溃疡(如 Crohn's 病、溃疡性结肠炎、胃十二指肠溃疡等)周围有一种溃疡相关细胞系(ulcer associated cell lineage, UACL), 在此细胞系中三叶因子表达明显上调, 且与黏液素的表达明显相关^[7].

在本研究中, 兔胃在阿司匹林诱导后 1 h 即已出现应激性溃疡, 且溃疡周围黏膜 TFF1 表达较正常兔胃黏膜升高, 证明三叶肽在胃肠道黏膜保护中发挥了重要的作用, 且这种保护作用在黏膜损伤早期即可见发挥. 三叶肽的胃黏膜保护作用机制目前有 2 种假说: (1)与黏液中的糖蛋白结合形成稳定的凝胶复合物, 加强黏液凝胶层, 减少胃表面有害物质及机械应力等因素对黏膜的损伤. 体内、外研究发现, 三叶肽可提高黏液凝胶层的粘性, 降低 H^+ 穿透胃黏液凝胶层的能力, 减少胃黏膜损伤^[8]. (2) 三叶肽可能通过与其受体或转运蛋白结合而发挥生理功能. 寻找这种可能的受体或转运蛋白并探索其作用机制, 是当今国际上三叶肽研究的一大热点^[9-11]. 另外, 最近有研究表明, TFF1 可通过延迟

细胞从 G1 期向 S 期转变参与胃肠道细胞分化过程, 减少细胞凋亡^[12]. 另有学者研究发现缺乏 TFF2 大鼠的胃黏膜中, 活性壁细胞数目及胃酸分泌量升高 2 倍, 且 NSAID 所诱导的胃溃疡损伤级别明显升高^[13], 说明三叶肽在抑制胃酸分泌方面亦有一定的作用.

三叶因子具有胃黏膜保护与上皮重建作用, 这使其具有重要的药理学价值. 国外有学者采用口服、皮下或静脉内给药的方式, 发现三叶因子蛋白对 NSAID 类药物诱导鼠胃黏膜损伤具有明显的预防及治疗作用^[14, 15], 这为可能的生物制药提供了依据, 为消化性溃疡、胃炎、及炎症性肠病等胃肠黏膜损伤性疾病的预防和治疗开辟了一条新的途径.

4 参考文献

- Masiakowski P, Breathnach R, Bloch J, Gannon F, Krust A, Chambon P. Cloning of cDNA sequences of hormone regulated genes from the MCF-7 human breast cancer cell line *Nucleic Acids Res* 1982;10:7895-7903
- Ribieras S, Tomasetto C, Rio MC. The pS2/TFF1 trefoil factor, from basic research to clinical applications. *Bioch Biophys Acta* 1998;1378:F61-77
- 王蔚, 口如琴, 李令媛, 茹炳根. 三叶肽: 从结构到功能. *生命科学* 2001;13:100-102
- Pera M, Heppell J, Poulson R, Teixeira FV, Williams J. Ulcer associated cell lineage glands expressing trefoil peptide genes are induced by chronic ulceration in ileal pouch mucosa. *Gut* 2001;48:792-796
- Ribieras S, Lefebvre O, Tomasetto C, Rio MC. Mouse trefoil factor genes: genomic organization, sequences and methylation analyses. *Gene* 2001;266:67-75
- Wong WM, Poulson R, Wright NA. Trefoil peptides. *Gut* 1999;44:890-895
- Longman RJ, Douthwaite J, Sylvester PA, Poulson R, Corfield AP, Thomas MG, Wright NA. Coordinated localization of mucins and trefoil peptides in the ulcer associated cell lineage and the gastrointestinal mucosa. *Gut* 2000;47:792-800
- Tanaka S, Podolsky DK, Engel E, Guth PH, Kaunitz JD. Human spasmolytic polypeptide decreases proton permeation through gastric mucus in vivo and in vitro. *Gastrointest Liver Physiol* 1997;4:G1473-1480
- Thim L, Mortz E. Isolation and characterization of putative trefoil peptide receptors. *Regul Pept* 2000;90:61-68
- Tan XD, Hsueh W, Chang H, Wei KR, Gonzalez-Crussi F. Characterization of a putative receptor for intestinal trefoil factor in rat small intestine: identification by *in situ* binding and ligand blotting. *Bioch Biophys Res Comm* 1997;237:673-677
- Newton JL, Allen A, Westley BR, May FE. The human trefoil peptide, TFF1, is present in different molecular forms that are intimately associated with mucus in normal stomach. *Gut* 2000;46:312-320
- Bossenmeyer-Pourie C, Kannan R, Ribieras S, Wendling C, Stoll I, Thim L, Tomasetto C, Rio MC. The trefoil factor 1 participates in gastrointestinal cell differentiation by delaying G1-S phase transition and reducing apoptosis. *J Cell Biol* 2002; 157:761-770
- Farrell JJ, Taupin D, Koh TJ, Chen D, Zhao CM, Podolsky DK, Wang TC. TFF2/SP-deficient mice show decreased gastric proliferation, increased acid secretion, and increased susceptibility to NSAID injury. *J Clin Invest* 2002;109:193-204
- Cook GA, Thim L, Yeomans ND, Giraud AS. Oral human spasmolytic polypeptide protects against aspirin-induced gastric injury in rats. *J Gastroenterol Hepatol* 1998;13:363-370
- Poulsen SS, Thulesen J, Christensen L, Nexø E, Thim L. Metabolism of oral trefoil factor 2(TFF2) and the effect of oral and parenteral TFF2 on gastric and duodenal ulcer healing in the rat. *Gut* 1999;45:516-522