

Midkine 在食管鳞癌中的表达及其与微血管密度的关系

王 琼 , 赵永年 , 刘 钧 , 朱治键

Expression and Significance of Midkine(MK) in Esophageal Squamous Cell Carcinoma and Correlation with Microvessel Density

WAN G Qiong , ZHAO Yong-nian , LIU Jun , ZHU Zhi-jian

Department of Pathology of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, China

Abstract :Objective To study the expression of midkine in esophageal squamous cell carcinoma and the relation to angiogenesis. **Methods** A Immunohistochemical SP technique was used to detect the expression of MK in 45 cases who suffer from esophageal squamous cell carcinoma , Microvessel density(MVD) was also determined in endothelial as CD34. **Results** Positive MK Immunostaining was detected in 77.8 % of esophageal carcinoma ,MVD was 40.43 ± 6.27 in esophageal carcinoma positive for MK while it was 31.34 ± 3.89 in esophageal carcinoma negative for MK ($P < 0.01$). **Conclusion** Overexpression of MK in esophageal carcinoma , and correlation with angiogenesis of esophageal carcinoma.

Key words :Esophageal carcinoma ; Midkine ; Angiogenesis

摘要:目的 研究 MK 在食管鳞癌中的表达及与肿瘤血管形成的关系。方法 采用免疫组织化学 SP 法检测 45 例食管鳞癌组织中 MK 的表达, 同时以 CD34 标记微血管内皮细胞测定微血管密度 (microvessel density,MVD)。结果 45 例食管鳞癌组织中 MK 阳性表达率为 77.8 %, MK 阳性的食管鳞癌组织 MVD 为 40.43 ± 6.27 , MK 阴性的食管鳞癌组织 MVD 为 31.34 ± 3.89 , 两者有显著性差异 ($P < 0.01$)。结论 MK 在食管鳞癌中高表达并与血管形成有关。

关键词:食管癌 ; MK ; 血管生成

中图分类号:R735.1 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2006)01-0015-02

0 引言

近年来, 有报道 Midkine(MK) 对肿瘤新生血管生成具有明显的调控作用^[1]。在国内, MK 与食管鳞癌血管生成的有关报道较少。我们在对贲门癌血管生成及食管癌 MK 观察的基础上^[2,3], 应用免疫组化方法检测 45 例食管鳞癌组织中 MK 表达及与微血管密度的关系, 初步探讨 MK 与血管生成的可能关系。

1 资料与方法

1.1 资料 收集川北医学院附属医院病理科 2003 年 1 月 ~ 6 月间具有完整临床病理资料的手术切除食管鳞癌 45 例。男性 35 例, 女性 10 例, 年龄 38 ~ 72 岁(平均 57.9 岁)。组织学上: 高分化鳞癌 17 例, 中等分化 22 例, 低分化 6 例。术前均无放疗、化疗及其他治疗史。另选 10 例正常食管组织作对照研究。

1.2 方法

收稿日期:2004-12-15;修回日期:2005-10-31

基金项目:四川省教育厅青年基金资助课题(2003B012)

作者单位:637000 四川南充, 川北医学院病理教研室

1.2.1 试剂 羊抗人 MK 单克隆抗体及试剂盒购自美国 Santa Crue 公司, 鼠抗人 CD34 单克隆抗体及试剂盒购自福州迈新公式。

1.2.2 免疫组化染色方法 将原病理常规石蜡包埋的蜡块作 $4\mu\text{m}$ 切片, 每例作连续切片 3 张, 分别作 HE 染色、MK, CD34 免疫组织化学 SP 法染色。各组织切片常规脱蜡及水化后, 依次按说明书完成免疫组化染色各步骤。所有切片均在同一实验室, 由同一技术人员使用同一批号试剂完成免疫组织化学染色。用已知阳性对照片作阳性对照, 用 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判断 MK 阳性判断: 凡细胞质和/或细胞膜出现清晰的棕黄色染色的细胞即为阳性细胞。结果以阳性细胞所占百分比表示。无 MK 抗体免疫反应细胞存在为阴性(-), MK 抗体免疫反应细胞数 30 % 为弱阳性(+), MK 抗体免疫反应细胞 > 30 % 为强阳性(++)。每张切片随机选取 5 个代表性的视野计数 100 个细胞。肿瘤 MVD 测定方法: 按 Weidner^[4] 报道的方法进行, 即先在低倍镜($\times 100$)下观察 CD34 阳性染色的微血管, 选择染色最多的区域, 然后在高倍镜($\times 200$)下进行观察, 任

何被 CD34 抗体染成棕黄色的内皮细胞或内皮细胞簇,有或无管腔,只要与其他结缔组织成分有明显区别,均作为一个微血管计数,计数 5 个高倍镜下的微血管数,取其平均值作为微血管密度。

1.4 统计学处理 MK 蛋白表达与各临床病理指标间的关系处理采用 χ^2 检验,MVD 与临床病理指标间的关系处理采用方差分析。

2 结果

2.1 食管鳞癌组织中 MK 蛋白的表达特征与 MVD 的计数和分布特征 在正常食管黏膜组织及癌旁组织中未见 MK 蛋白表达或仅见微弱表达,而在食管鳞癌中明显表达,主要位于胞质和胞膜上(图略)。45 例食管鳞癌中 35 例为阳性,表达率为 77.8%,其中 14 例为强阳性。食管鳞癌细胞外间质中尚见纤维组织、小血管内皮细胞及弹力膜着色。血管密集处 MK 表达较高。食管鳞癌组织中血管内皮细胞阳性染色主要位于癌灶边缘(图略),且在肿瘤浸润前缘血管密度高于其他区域,MVD 均值为 37.31 ± 6.89 。

2.2 食管鳞癌组织中 MK 蛋白表达及 MVD 与临床病理的关系,见表 1。

表 1 MK 的表达及 MVD 与食管鳞癌的临床病理的关系

项目	例数	MK	χ^2	P	MVD($\bar{x} \pm s$)	F	P
细胞分化							
高	17	16(94.1)			31.91 ± 16.85		
中	22	16(72.7)			36.55 ± 6.14		
低	6	2(33.3)	9.5	<0.01	45.09 ± 4.35	14.4	<0.01
浸润深度							
黏膜层	7	3(42.9)			29.63 ± 2.85		
肌层	15	11(73.3)			35.91 ± 4.38		
全层	23	21(91.3)	7.97	<0.05	41.37 ± 6.35	7.34	<0.01
LN 转移							
有	14	10(71.4)			41.23 ± 5.80		
无	31	25(80.6)	0.46	>0.05	35.26 ± 6.25	6.25	<0.05

2.3 食管鳞癌组织中 MK 蛋白表达与 MVD 的关系 MK 表达阳性的食管鳞癌组织平均 MVD 为 40.43 ± 6.27 ,MK 表达阴性的食管癌组织 MVD 为 31.34 ± 3.89 ,F 值为 21.5,两者有显著性差异($P < 0.01$)。

3 讨论

中期因子(MK)是一个新发现的肝素结合性生长因子,已有报告指出,在 Wilms 瘤和其他许多人

类恶性肿瘤中均发现 MK mRNA 高水平表达,可能参与肿瘤发生、演进、生长及转移过程^[1,5,6],并且有人研究发现,中期因子对肿瘤新生血管的生成具有明显的促进作用^[7,8]。

我们在前期研究中发现,MK 在食管鳞癌中高表达,表达率为 77.8%。MK 蛋白的表达与食管鳞癌的淋巴结转移无相关性($P > 0.05$);与肿瘤分化程度密切相关($P < 0.01$),与癌浸润深度相关($P < 0.05$)。分化高与浸润深的食管鳞癌中表达高。这在一定程度上说明 MK 参与食管鳞癌的形成,因此,提示 MK 蛋白定量分析有可能成为食管鳞癌的一个实验室诊断指标。同时我们还发现,在食管鳞癌细胞外的间质血管内皮细胞呈 MK 阳性表达,提示 MK 可能具有刺激血管内皮细胞增殖,促进癌间质血管生成的作用。本研究表明,MK 表达阳性的食管鳞癌组织中 MVD 明显高于 MK 表达阴性的食管鳞癌组织,在浸润深的食管鳞癌中,MK 表达高,MVD 也高,且在浸润前缘血管密度高于其他区域,亦提示 MK 与食管鳞癌新生血管形成有关,并能促进肿瘤的浸润。但在肿瘤分化程度和转移方面,MK 表达和 MVD 表达不一致,这显示在食管癌的新生血管生成中,还可能有其他的因素在影响血管的生成。在食管鳞癌中,MK 究竟与哪些因素一道参与血管的生成,有待进一步探讨。

参考文献:

- Ikematsu S, Yano A, Aridome K, et al. Serum midkine levels are increased in patients with various types of carcinomas[J]. Br J Cancer, 2000, 83(6):701-706.
- 刘钧,赵永年,朱治健,等.微血管密度及血管内皮生长因子在贲门癌中的表达及其意义[J].肿瘤防治研究,2001,28(6):460-462.
- 王琼,赵永年,刘钧,等. Midkine(MK)在食管癌中的表达及其意义[J]. 肿瘤研究与临床,2004,16(5):292-293.
- Weider N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer [J]. Am J Pathol, 1995, 147(1):9-19.
- O'Brennan T, Cranslon D, Fugle S, et al. The angiogenic factor midkine is expressed in bladder cancer, and overexpression correlates with a poor outcome in patients with invasive cancer [J]. Cancer Res, 1996, 56(11):2515-2518.
- Konishi N, Nakamura M, Nakaoka S, et al. Immunohistochemical analysis of midkine expression in human prostate carcinoma[J]. Oncol, 1999, 57(3):253-257.
- 陆永良,姚行,戴利成,等. 中期因子在胰腺癌中的表达及其临床意义[J]. 中华普通外科杂志,2003,18(1):9-10.
- Chondheri R, Zhang HT, Donnini S, et al. An angiogenic role for the neurokines midkine and pleiotrophin in tumorigenesis [J]. Cancer Res, 1997, 57(9):1814-1819.

[编辑:安 凤]