

中期因子在胃癌中的表达及其意义

石清涛, 宁晓明, 冯占军

Expression of Midkine in Gastric Cancer and Its Clinical Significance

SHI Qing-tao, NING Xiao-ming, FENG Zhan-jun

Department of Pathology, The Third Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin 150040, China

Abstract :Objective To study the expression of midkine in gastric cancer and the relationship with biological behaviors. **Methods** Immunohistochemical SP technique was used to detect the expression of MK in 88 cases of gastric cancer and paratumor tissues around gastric cancers. **Results** The expression of MK in cancer specimens was significantly higher than that in the relevant panatumor tissues. The correlation was observed between the expression of MK and degree of cellular differentiation, invasive extent and clinical stage. Whereas, there was no significant relation observed with gross size and metastasis node. **Conclusion**

MK protein may play a role in tumorigenesis and/or progression in gastric cancer. Moreover, MK protein seems to reflect the progression stage of gastric cancer.

Key words :Midkine ; Gastric cancer ; Immunohistochemistry

摘要:目的 探讨中期因子(midkine,MK)蛋白在胃癌组织中的表达及其临床意义。方法 采用免疫组织化学SP法检测88例胃癌及其相应癌旁组织中的MK表达情况,并结合临床病理进行统计学分析。结果 MK在胃癌组织中高表达(表达率为77.3%),且明显高于癌旁组织。MK的表达与肿瘤分化程度、浸润深度及临床分期具有统计学意义上的相关性,与胃癌肿瘤的大小、淋巴结转移无统计学意义上的相关性。结论 MK可能与胃癌的发生、发展有关,能反映出胃癌组织的恶性程度及侵袭能力。

关键词:中期因子;胃癌;免疫组织化学

中图分类号:R735.2 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2008)01-0030-04

0 引言

中期因子(midkine,MK)是一种新的肝素结合性生长分化因子。有研究表明,MK在多种人类恶性肿瘤中过度表达,并与肿瘤的发生、发展密切相关^[1,2]。MK在胃癌表达情况的研究国内鲜有报道,国外报道也不多,我们采用免疫组织化学法对88例胃癌进行研究,探讨MK的表达与胃癌生物学行为之间的关系。

1 资料与方法

1.1 资料

胃癌组织及其癌旁组织取自我院2005年4月~2006年2月行胃癌根治术切除的88例标本,所有病例均具有完整临床病理资料,且无术前放疗、化疗及其他抗癌治疗史,并经术前胃镜活检及术后病理证实。其中男性61例,女性27例,年龄29~86

岁(平均57.8岁)。病理组织类型:管状腺癌39例,乳头状腺癌1例,粘液腺癌7例,印戒细胞癌12例,低分化腺癌26例,类癌3例。肿瘤分化程度:高、中分化腺癌43例,低分化腺癌45例。临床分期(TNM),Ⅰ期39例,Ⅱ期49例。肿瘤大小:5厘米49例,>5厘米39例。浸润深度T₁9例,T₂35例,T₃34例,T₄10例。伴有淋巴结转移者53例,无淋巴结转移者35例。肿瘤标本取自原发灶,相应癌旁组织取自距肿瘤边缘1~2厘米附近的胃组织,经福尔马林固定,石蜡包埋。

1.2 方法

将病理常规石蜡包埋的蜡块作4μm切片,每例作连续切片2张,分别作HE染色,MK免疫组织化学SP法染色。羊抗人MK多克隆抗体购于美国Santa Cruz公司,各组织切片常规脱蜡及水化后,依次按试剂盒说明书进行,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 结果判定

以肿瘤细胞胞质内出现清晰棕黄色颗粒为MK阳性,结果以阳性细胞所占百分比来表示:MK抗

收稿日期:2007-03-06;修回日期:2007-07-12

基金项目:黑龙江省卫生厅科学基金资助项目(2005-65)

作者单位:150040 哈尔滨医科大学附属第三医院病理科

作者简介:石清涛(1970-),男,本科,主治医师,主要从事恶性肿瘤侵袭及转移机制的研究

体免疫反应细胞数 < 5% 为阴性(-), 5% ~ 15% 为弱阳性(+), > 15% 为强阳性(++)。在高倍镜下($\times 400$)随机选取 5 个有代表性的视野, 每个视野计数 50 个细胞。阳性率(%) = (弱阳性例数 + 强阳性例数) ÷ 总例数 × 100%。

1.4 统计学处理

各组间差异显著性用²检验进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组织化学染色结果

MK 在胃癌组织为高表达, 68 例表达阳性, 其中 32 例弱阳性, 36 例强阳性, 表达率为 77.3%, 88 例癌旁组织中仅有 16 例 MK 表达阳性, 其中 14 例弱阳性, 2 例强阳性, 阳性表达率为 10.2%, 见表 1。MK 染色主要位于细胞质, 见图 1~4。

表 1 MK 在胃癌组织及癌旁组织的表达情况

组别	例数	MK 蛋白			阳性率(%)	χ^2	P
		-	+	++			
癌组织	88	20	32	36	77.3		
癌旁组织	88	72	14	2	18.2	61.582	< 0.01
合计	176	92	46	38			

2.2 MK 蛋白表达与胃癌患者临床病理的关系

MK 蛋白的表达与胃癌分化程度、临床分期(TNM)相关, 高、中分化腺癌与低分化腺癌组间, 以

及 ~ 期与 ~ 期组间 MK 阳性表达率差异有统计学意义($P < 0.05$); 与浸润深度密切相关; T₁、T₂、T₃、T₄ 组间 MK 阳性表达率有统计学意义($P < 0.01$), 与性别及肿瘤的大小、淋巴结有无转移无相关性, 男女组间, 肿瘤最大径 5 厘米与 > 5 厘米组间, 以及有无淋巴结转移组间 MK 阳性表达率差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2。

表 2 MK 表达与胃癌患者的临床病理关系

临床特征	例数	MK 蛋白			阳性率 %	χ^2	P
		-	+	++			
分化程度							
高、中分化	30	3	10	17	90.0		
低分化	58	17	22	19	70.7	4.198	< 0.05
浸润深度							
T ₁	9	5	3	1	44.4		
T ₂	35	12	15	8	65.7		< 0.01
T ₃	34	2	12	20	94.1		
T ₄	10	1	2	7	90.0	14.518	
临床分期							
~	38	13	14	11	65.8		
~	50	7	18	25	86.0	5.022	< 0.05
肿瘤大小							
5 厘米	49	14	19	16	71.4		
> 5 厘米	39	6	13	20	84.6	2.150	> 0.05
淋巴结转移							
有	53	11	20	22	79.2		
无	35	9	12	14	74.2	0.295	> 0.05
性别							
男	61	12	25	24	80.3		
女	27	8	7	12	70.4	1.057	> 0.05

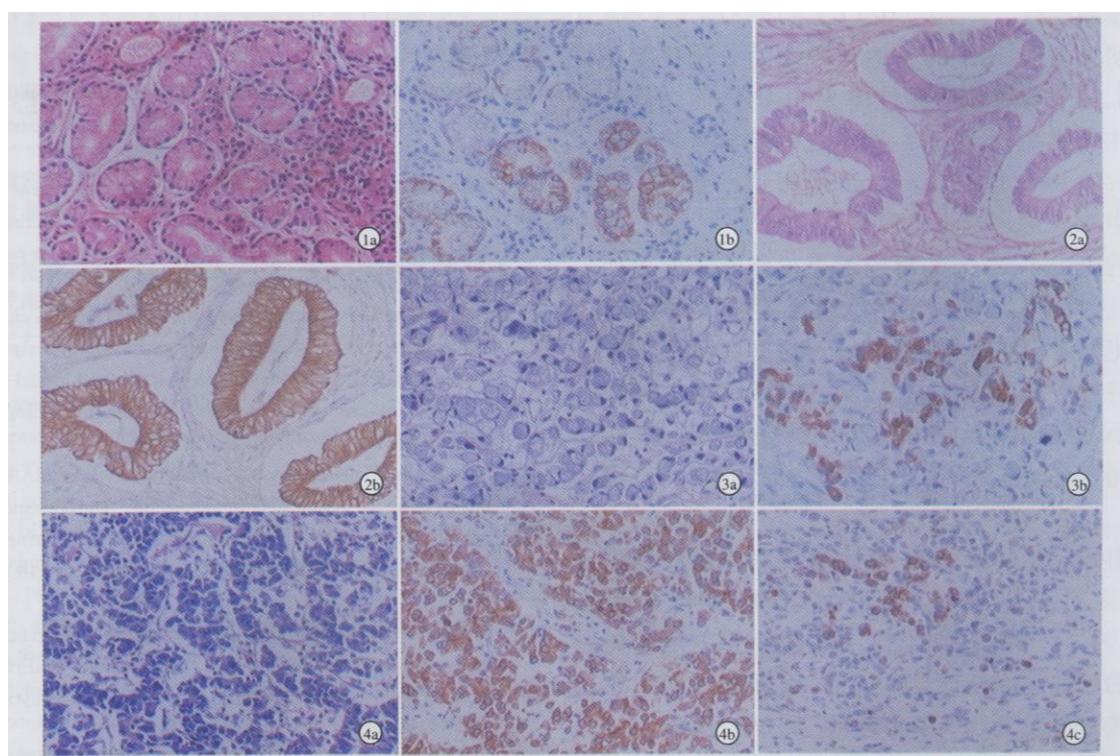


图 1a 癌旁组织 HE($\times 100$) 图 1b 癌旁组织 MK(+) ($\times 100$) 图 2a 高分化腺癌 HE($\times 100$)
图 2b 高分化腺癌 MK(++) ($\times 100$) 图 3a 印戒细胞癌 HE($\times 100$) 图 3b 印戒细胞癌 MK(+) ($\times 100$)
图 4a 低分化腺癌 HE($\times 100$) 图 4b 低分化腺癌 MK(++) ($\times 100$) 图 4c 低分化腺癌 MK(+) ($\times 100$)

3 讨论

中期因子是日本学者 Kadomatsu 等^[3]于 1988 年在视黄酸诱导的小鼠胚胎肿瘤细胞系 HM-1 细胞 cDNA 文库中发现的一种新基因, 属于肝素结合因子的一种多肽, 是一种对细胞的生长和分化起重要作用的细胞因子。相对分子量为 1.3×10^4 , 富含碱性氨基酸和半胱氨酸^[3,4]。人 MK 基因染色体 11p 11.2, 包括 5 个外显子: 一个非编码和 4 个编码的外显子^[5]。在小鼠胚胎形成中期, MK mRNA 高度表达于多种组织, 所以认为其功能涉及器官形成的调节, 成年后除肾脏组织外, 其他正常组织几乎测不出 MK mRNA 表达^[6]。早期研究认为, MK 的生物学功能主要表现为神经营养作用, 认为其可能是中枢神经系统发育过程中内源性轴突生长因子, 可以促进和影响神经元的存活和分化, 随着研究深入, 发现 MK 具有诱导细胞转化、促有丝分裂、血管生成、抗细胞凋亡及增强纤维蛋白溶解等多种生物学功能^[7], MK mRNA 在多种人类恶性肿瘤中都有过度表达, 可能与肿瘤的发生和生长有密切关系。

我们采用免疫组织化学方法, 检测了 MK 在胃癌组织及癌旁组织中的表达, 结果发现 MK 在癌旁组织中低表达, 表达率为 18.2% (16/88), 而在癌组织中高表达, 表达率为 77.3% (68/88), 两组间差异有统计学意义, 这在一定程度上显示 MK 在胃癌的发生和(或)发展中起作用, 提示 MK 可能作为胃癌的一个诊断指标。

本研究发现, MK 的表达与肿瘤的分化程度有关, 在高、中分化腺癌中阳性率为 90.0%, 而在低分化腺癌中阳性率为 70.7%, 两组之间差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 这与 Aridome 等报道一致^[8]。在食管癌中 MK 的表达也出现类似情况^[9,10]。鼠胚胎在妊娠的第 11~13 天的胃肠道上皮细胞强烈表达 MK^[11], 这些胚胎上皮细胞活跃增殖, 但仍然保留有紧密细胞间连接的上皮细胞形态, 这些胚胎性上皮细胞的特性同分化型胃癌一样, 强烈地表达 MK。但这并不是必然地意味着在组织类型和 MK 表达程度之间有某种联系, 这还需要进一步的研究来确认。

本组研究还发现, MK 表达与浸润深度和临床分期有关, T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4 阳性率分别为 44.4%、65.7%、94.1% 和 90.0%, MK 阳性表达率有随着浸润深度的增加而逐渐增高的趋势, 组间阳性表达率差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 说明 MK 可能促进胃癌组织的侵袭。这与 Rha SY 等^[12]的研究结果相吻合, 他们用软琼脂中集落形成实验研究发现, MK 表达阳性的胃癌细胞侵袭能力强于表达阴

性的细胞。与在 ~ 期胃癌的表达率相比(表达率 65.8%), MK 在 ~ 期胃癌中表达率增高(表达率 86.0%), 也提示 MK 有可能作为判断胃癌预后的一个参考指标。近年来, MK 血清学检测已逐渐成为研究热点, 由于 MK 前体 N 末端有信号肽, 是一种分泌性碱性肝素结合蛋白, 当组织中有 MK 产生且达到一定量时, 血清 MK 水平就会升高^[13,14]。有研究发现在早期和进展期胃癌中的 MK 浓度是不同的, 而且临床分期对 MK 浓度的影响要比分化程度的影响大得多, MK 表达在判断预后方面也许能够成为更有用的指标^[15]。Ikematsu 等^[16]通过 ELISA 方法研究发现, 70% 的恶性肿瘤患者的尿液中 MK 水平明显升高, 因为尿液检测比血液检测更方便易行, 将十分有利于肿瘤的早期诊断。

本组结果显示 MK 表达与胃癌淋巴结转移无相关性, 提示 MK 可能没有直接参与癌组织的转移, 当然也不排除与病例间病程及组织类型不同, 淋巴结转移发生率也有所不同等因素有关。MK 与肿瘤大小也没有相关性, 我们认为这同样主要与病程长短不一有关, 也正是如此, 肿瘤大小并不能准确反应出癌组织的恶性程度及侵袭能力。MK 与性别也没有相关性, 这与大多数肿瘤是一致的。

上述研究表明: MK 可能与胃癌的发生、发展有关, 并能反映出胃癌组织的恶性程度及侵袭能力, 提示可作为胃癌早期诊断及预后分析的指标之一。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] Tsutsui J, Kadomatsu K, Matsubara S, et al. A new family of heparin-binding growth/differentiation factors: increased midkine expression in Wilms' tumor and other human carcinomas [J]. Cancer Res, 1993, 53 (6): 1281-1285.
- [3] Kadomatsu K, Tomomura M, Muramatsu T. cDNA cloning and sequencing of a new gene intensely expressed in early differentiation stages of embryonal carcinoma cells and in mid-gestation period of mouse embryogenesis [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1988, 151 (3): 1312-1318.
- [4] Tomomura M, Kadomatsu K, Matsubara S, et al. A retinoic acid-responsive gene, MK, found in the teratocarcinoma system. Heterogeneity of the transcript and the nature of the translation product [J]. J Biol Chem, 1990, 265 (18): 10765-10770.
- [5] Uehara K, Matsubara S, Kadomatsu K, et al. Genomic structure of human midkine (MK), a retinoic acid-responsive growth/differentiation factor [J]. J Biochem (Tokyo), 1992, 111 (5): 563-567.
- [6] 罗详基, 殷正丰, 吴孟超. 中期因子及其与肿瘤的关系 [J]. 临床与实验病理学杂志, 1999, 15 (5): 441-442.
- [7] 李克, 张春妮, 施鸿飞, 等. 妊娠中肾细胞因子与肿瘤 [J]. 生命的化学, 2001, 21 (4): 174-176.

食管癌 DNA 倍体及增殖活性与病理特征的关系

沈玉光¹, 张瑞祥¹, 巴玉峰¹, 赵婷茹², 许金良¹

Relationship between DNA Content, Proliferative Activity and Pathological Feature in Oesophagus Carcinoma

SHEN Yuguang¹, ZHANG Rui-xiang¹, BA Yu-feng¹, ZHAO Ting-ru², XU Jin-liang¹

1. Department of Thoracic, Henan Tumor Hospital, Zhengzhou 450008, China, 2. Department of Pathology

Abstract :Objective To investigate the relationship between DNA, cell cycle analysis and the pathological feature in squamous cell carcinoma (SCC) of the esophagus. **Methods** Flow cytometry was used to measure DNA ploidy and synthesis-phase fraction (SPF) of the resected esophageal tissues from 98 patients with squamous cell carcinoma (SCC) of the esophagus. **Results** DNA aneuploidy was present in 66 (67.3%) of the 98 patients. There were no significant differences in DNA content and the clinicopathological features such as sex, pathological type, differentiation, TNM stage, lymph node involvement. However, we detected that the lymph node positive group had a significant higher SPF than that of the negative group ($P = 0.03$). **Conclusion** Although the DNA index (DI) in esophageal carcinoma has little clinical significance, the synthesis-phase fraction (SPF) can help to evaluate the involvement of lymph node.

Key words : Esophageal carcinoma; Flow cytometry; DNA content; Proliferative activity; Pathological feature

摘要: 目的 探讨食管癌组织 DNA 含量(DI)、合成期细胞比例(SPF)、增殖指数(PI)与临床病理特征间的关系。方法 应用流式细胞仪测定 98 例新鲜食管癌组织细胞的 DI、SPF、PI 值, 研究其和食管癌临床病理的关系。结果 (1) 异倍体率、DI、SPF、PI 等指标在以患者性别、肿瘤大体类型、分化程度、TNM 分期等病理特征为分组对象的各组间没有发现差异有统计学意义;(2) 食管组织淋巴结阳性组的 SPF 明显大于淋巴结阴性组($P = 0.03$)。结论 (1) 食管组织一旦癌变后其细胞 DNA 的改变和临床分期等病理指标没有明显关系;(2) 食管癌淋巴结转移和食管癌组织合成期细胞比例(SPF)有关。

关键词: 食管癌; 流式细胞术; DNA 倍体; 增殖活性; 病理

中图分类号:R735.1 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2008)01-0033-03

收稿日期:2007-01-12;修回日期:2007-07-12

作者单位:1. 4500081 郑州, 河南省肿瘤医院胸外科, 2. 病理科

作者简介: 沈玉光 (1972-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事胸部肿瘤临床工作

0 引言

我们采用流式细胞术(FCM)测定 98 例食管癌新鲜组织细胞 DNA 含量、肿瘤增殖活性, 探讨它们和病理学特征之间的关系以及食管癌细胞生物学特点。

- [8] Aridome K, Tsutsui J, Takao S, et al. Increased midkine gene expression in human gastrointestinal cancers[J]. Jpn J Cancer Res, 1995, 86(7): 655-661.
- [9] Miyauchi M, Shimada H, Kadomatsu K, et al. Frequent expression of midkine gene in esophageal cancer suggests a potential usage of its promoter for suicide gene therapy[J]. Jpn J Cancer Res, 1999, 90(4): 469-475.
- [10] 王琼, 赵永年, 刘钧, 等. 中期因子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.
- [11] Kadomatsu K, Huang RP, Suqanuma T, et al. A retinoic acid responsive gene MK found in the teratocarcinoma system is expressed in spatially and temporally controlled manner during mouse embryogenesis[J]. J Cell Biol, 1990, 110(3): 607-616.
- [12] Rha SY, Noh SH, Kwak HJ, et al. Comparison of biological phenotypes according to midkine expression in gastric cancer

cells and their autocrine activities could be modulated by pentosan polysulfate[J]. Cancer Lett, 1997, 118(1): 37-46.

- [13] Shimada H, Nabeya Y, Taqawa M, et al. Preoperative serum midkine concentration is a prognostic marker for esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cancer Sci, 2003, 94(7): 628-632.
- [14] Ikematsu S, Nakagawara A, Nakamura Y, et al. Correlation of elevated level of blood midkine with poor prognostic factors of human neuroblastomas[J]. Br J Cancer, 2003, 88(10): 1522-1526.
- [15] Obata Y, Kikuchi S, Lin Y, et al. Serum midkine concentrations and gastric cancer[J]. Cancer Sci, 2005, 96(1): 54-56.
- [16] Ikematsu S, Okamoto K, Yoshida Y, et al. High levels of urinary midkine in various cancer patients[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 306(2): 329-332.

[编辑:安 凤;校对:周永红]