

MK 和 CD105 在大肠癌中的表达及其临床意义

李伟芳, 史成章

Expression of Midkine and CD105 in Colorectal Carcinoma and Its Clinical Significance

LI Weifang, SHI Chengzhang

Department of Digestive Medicine, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between the expression of midkine (MK) and CD105 in colorectal carcinoma and the biological behavior and prognosis of colorectal carcinoma. **Methods** The expression of midkine (MK) and CD105 were detected by immunohistochemical technique in 50 colorectal carcinoma specimens. The relationship of their expression to clinicopathological characteristics was statistically analyzed. **Results** Of the 50 cases, the positive expression of MK was 36 cases (72%). When MK expression was positive in tumors, MVD (71.73 ± 6.99) signed with CD105 was significantly higher than the tumors with MK negative expression (66.09 ± 7.49) ($P < 0.05$). The expression of MK and CD105 were correlated closely with Duke's pathologic stage, lymph node metastasis and the depth of invasion. **Conclusion** MK positive expression is closely correlated with tumor development, progression and prognosis in colorectal carcinoma, so may be used as a valuable tumor marker and prognostic indicator together with CD105.

Key words: Colorectal carcinoma; Midkine; Microvessel; Prognosis

摘要: **目的** 探讨 MK 和 CD105 的表达与大肠癌生物学行为的关系及对预后的意义。 **方法** 采用免疫组织化学方法检测 50 例大肠癌组织 MK 和 CD105 表达水平, 并对其与大肠癌临床病理特征的关系进行统计学分析。 **结果** 本组 50 例中, MK 阳性表达率为 72%。 MK 为阳性时 CD105 标记的 MVD 值 (71.73 ± 6.99) 明显高于 MK 为阴性组的 MVD 值 (66.09 ± 7.49) ($P < 0.05$)。 两者的表达均与大肠癌的 Duke's 分期、淋巴结转移、浸润深度有关。 **结论** MK 的阳性表达与大肠癌的发生、发展和预后密切相关, 可联合 CD105 作为一组有价值的肿瘤标记和预后指标。

关键词: 大肠癌; 中期因子; 微血管; 预后

中图分类号: R735.3⁺4 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2006)06-0425-03

0 引言

中期因子 (midkine, MK) 是一个新的肝素结合性生长因子, 胚胎期 MK 在组织中广泛分布, 出生后其表达降低, 仅局限于某些特定部位, 它可影响肿瘤细胞的存活、增殖与分化^[1]。胃肠肿瘤中, 80% 病例癌组织中 MK 出现高表达, 而在相应正常组织中低表达或无表达。CD105 又名 endoglin, 是转化生长因子 (transform growth factor, TGF- β) 受体复合物的成分之一, 仅在增殖活跃的肿瘤内皮细胞上呈强表达^[2]。我们通过检测大肠癌标本中 MK 和 CD105 的表达, 探讨他们的表达水平与各临床病理指标的关系以及他们之间的相关性, 以期判断他们在大肠癌发生、发展及预后中的作用, 为临床预测预后, 选择合适的辅助治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 资料 50 例标本均选自我院 2000 ~ 2004 年病理科手术切除后经病理诊断明确的存档蜡块。其中男 31 例, 女 19 例; 直肠癌 20 例, 结肠癌 30 例; 组织类型: 高分化腺癌 8 例, 中分化腺癌 30 例, 低分化腺癌 12 例; Duke's 分期: A 期 9 例, B 期 16 例, C + D 期 25 例。浸及浆膜者 34 例, 伴淋巴结转移 17 例。另取 17 例癌旁正常组织作为对照。

1.2 主要试剂 兔抗人 MK 抗体购自美国 R & D 公司, 鼠抗人 CD105 单克隆抗体及免疫组织化学 SP 试剂均购自北京中山生物技术有限公司。

1.3 实验方法 免疫组织化学检测采用链霉素亲和素-生物素-过氧化酶复合物 (S/P) 法, 高压热修复。

1.4 结果判定 MK 以肿瘤细胞膜和/或细胞质出现清晰棕黄色染色的细胞即为阳性细胞, 否则为阴性细胞, 结果以阳性细胞数所占百分比表示, 即光镜 ($\times 400$) 下随机选取 10 个视野, 每个视野计数 100

收稿日期: 2005-11-21; 修回日期: 2006-01-17

作者单位: 450000 郑州大学第一附属医院消化内科

作者简介: 李伟芳 (1978-), 女, 硕士, 主要从事消化道肿瘤的研究

个细胞,阳性细胞数 < 20 % 者为阴性(-), 20 % ~ 50 % 之间者为弱阳性(+), > 50 % 者为强阳性(+++)。

CD105 以每一个染成棕黄色的、可以与周围血管、肿瘤细胞及其他结缔组织相分离的内皮细胞或内皮细胞簇,认定为一个单一的可计数的微血管。先在低倍镜下($\times 40$)扫视整个切片,寻找高血管密度区,即“热点”,然后在高倍镜下($\times 200$)记数被染成棕黄色的血管数目,结果用 3 个高倍镜视野下的血管数目的平均值作为微血管密度(MVD)值。

1.5 统计学处理 MK 与大肠癌临床病理因素之间的分析采用 χ^2 检验。CD105 标记 MVD 与临床病理因素的分析,在两组间比较采用成组 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,多组的两组间比较采用 LSD 方法检验。以 $\alpha = 0.05$ 作为检验水准, MVD 以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

2 结果

2.1 MK 在大肠癌中的表达 50 例大肠癌中, MK 表达阳性 36 例(72%), 17 例癌旁正常组织中 MK 仅 1 例阳性表达(5.90%), 两组差异有统计学意义($P < 0.01$)。MK 的阳性染色主要分布于癌细胞的细胞质内,细胞核无染色。新生血管内皮细胞基质细胞也有阳性染色,呈局灶或镶嵌型分布,见图 1。

2.2 大肠癌中 CD105 标记的 MVD 水平 50 例大肠癌组织中的 MVD 为(70.15 ± 7.51), 癌旁正常组织中的 MVD 为(16.29 ± 5.38), 两者比较有显著差异($P < 0.01$)。CD105 染色切片中,新生血管的分布不均匀,具有异质性,大多局限于肿瘤实质边缘的间质,新生血管的内皮细胞多排列不规则,较少见有明显的管腔,即使有管腔形成也不规则,壁薄且无平滑肌组织出现,见图 2。

2.3 MK、CD105 在大肠癌中的表达与各临床病理因素的关系

(1) MK 的表达与大肠癌淋巴结转移密切相关($P < 0.01$);与肿瘤分化程度无相关性($P > 0.05$);与大肠癌的浸润深度和 Duke's 分期有相关性($P < 0.05$),有淋巴结转移及浸及浆膜者 MK 表达高,随着 Duke's 分期的增加 MK 表达增加,其中 Duke's C + D 期阳性率明显高于 Duke's A 期,两组间比较有显著差异($P < 0.05$)。Duke's A 期与 Duke's B 期及 Duke's B 期与 Duke's C + D 期相比,二者差异均无统计学意义($P > 0.05$,见表 1)。

(2) CD105 的表达与大肠癌的 Duke's 分期、淋巴结转移和浸润深度密切相关($P < 0.01$);与肿瘤的分化程度无相关性($P > 0.05$)。随着 Duke's 分期

表 1 MK 的表达与大肠癌临床病理因素之间的关系

因素	例数	阳性数	阴性数	阳性率	χ^2	P
淋巴结转移						
有	17	15	2	88.2	6.866	< 0.01
无	33	15	18	45.5		
分化程度						
高	12	7	5	58.3	2.014	> 0.05
中、低	38	30	8	78.9		
浸润深度						
未及浆膜	16	7	9	43.8	5.191	< 0.05
浸及浆膜	34	26	8	76.5		
Duke's 分期						
A	9	3	6	33.3	6.934	< 0.05
B	16	9	7	56.3		
C+D	25	20	5	80.0		

注:表中的 Duke's 分期 P 值分析为 A、B、C + D 三组间的比较,经 χ^2 检验两组间的比较:A、B: $P > 0.05$; A、C + D: $P < 0.05$, B、C + D: $P > 0.05$

的增加,CD105 的表达随之升高,其中 CD105 在 Duke's C + D 期的表达高于 Duke's B 期($P < 0.05$),并明显高于 Duke's A 期($P < 0.01$),组间差异有统计学意义($P < 0.01$);有淋巴结转移及浸及浆膜者表达高,见表 2、3。

表 2 CD105 的表达与临床病理因素的关系

因素	例数	MVD	t	P
淋巴结转移				
有	17	73.61 ± 5.43	5.913	< 0.01
无	33	63.43 ± 6.40		
分化程度				
高	12	67.03 ± 10.06	1.334	> 0.05
中、低	38	71.14 ± 6.35		
浸润深度				
未及浆膜	16	62.88 ± 6.02	6.281	< 0.01
浸及浆膜	34	73.57 ± 8.97		

表 3 CD105 在大肠癌中不同 Duke's 分期的表达

Duke's 分期	例数	MVD	F	P
A	9	59.29 ± 5.48		
B	16	67.62 ± 1.89	54.484	< 0.01
C + D	25	75.68 ± 4.73		

注:表中的 P 值分析为 A、B、C + D 三组间的比较

2.4 MK、CD105 在大肠癌表达的相互关系

MK 与 CD105 在大肠癌中的表达有相关性($P < 0.05$)。MK 阳性组的 CD105 标记的 MVD 高于 MK 阴性组的 MVD,见表 4。

表 4 大肠癌中 MK、CD105 表达的关系

类别	例数	MVD	<i>t</i>	<i>P</i>
MK 阳性组	36	71.73 ±6.99	2.509	<0.05
MK 阴性组	14	66.09 ±7.49		

3 讨论

MK 是一个新的肝素结合性生长因子,成人的正常组织有 MK 的少量表达,大部分癌标本包括食管、胃、膀胱、胰腺、结直肠、乳腺、肺癌和 Wilms 瘤均以组织非依赖方式高水平表达 MK^[3,4]。Mashour 等^[5]的实验结果表明,MK 在肿瘤血管内皮细胞表达,而在正常血管内皮细胞不表达。Yin 等^[6]的实验结果也显示在肝癌中,MK 不仅表达在肝癌细胞,在肝癌细胞外间质中的血管内弹力膜层及内皮细胞也有表达,尤以密集的血管处明显。

肿瘤的血管内皮细胞增殖较正常组织高 20 ~ 2 000 倍,它形成的新生血管是肿瘤生长和转移的基础。CD105 是一种内皮细胞增殖的标志物,在增殖的内皮细胞和血管生成旺盛的肿瘤组织内新生血管内皮细胞中呈过表达,而在正常成熟组织的血管内皮细胞中表达弱或不表达^[2]。

为了探讨大肠癌中 MK 和 CD105 的表达情况及其表达与血管生成和预后的关系,本研究选择了 50 例大肠癌组织标本进行研究,结果显示二者在大肠癌中的表达均与 Duke's 分期、浸润深度及淋巴结状态密切相关,而与分化程度无明显相关性。由于肿瘤细胞通过新生的血管组织获得必要的养分,带走大量的代谢产物,同时肿瘤诱生的血管基底膜薄而易断裂,癌细胞易侵入血管,经由血液途径发生远处转移。上述实验结果提示,大肠癌的生长和转移有赖于血管生成,MK 和 CD105 可能参与了肿瘤的发生、生长和转移。我们还发现 MK 与代表肿瘤组织新生血管的 CD105 所标记的 MVD 值有明显相关性,同时 MK 在肿瘤组织的新生血管内皮细胞基

质细胞也有表达,因此可推测,MK 可能具有刺激内皮细胞增殖,促进肿瘤血管生成的作用。在胚胎形成时期,MK 在妊娠中期高表达的特点提示了它可能参与了癌的形成或至少象几个胚胎抗原如 CEA、AFP 一样是肿瘤标记物。由于 MK 是一个分泌性肝素结合蛋白,当组织中 MK 生成达一定量时,循环系统中 MK 水平开始升高。有结果显示在超过 60 % 的成人癌组织中可检测到升高的 MK 水平,去除肿瘤后血清 MK 水平即下降。同时 MK 和 CD105 在大肠癌的高水平表达及它们之间的相关性,在临床上我们可测定单独测定 MK 或者联合 CD105 作为大肠癌的诊断依据,提高正确诊断率,并预测预后。同时还可以二者作为大肠癌治疗的分子靶点,可能会提供一个新的癌症治疗方法。

(本文图见封 3)

参考文献:

- [1] Muramatsu T. Midkine and pleiotrophin: two related proteins involved in development, survival, inflammation and tumorigenesis[J]. J Biochem, 2002, 132(3):359-371.
- [2] Li C, Guo B, Wilson PB, et al. Plasma levels of soluble CD105 correlate with metastasis in patients with breast cancer[J]. Int J Cancer, 2000, 89(2):122-126.
- [3] 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.
- [4] Carver RI, Jr, Radford DM, et al. Midkine and pleiotrophin expression in normal and malignant breast tissue[J]. Cancer, 1994, 74(5):1584-1590.
- [5] Mashour GA, Ratner N, Khan GA, et al. The angiogenic factor midkine is aberrantly expressed in NF1 deficient Schwann cells and is a mitogen for neurofibroma derived cells[J]. Oncogene, 2001, 20(1):97-105.
- [6] Yin Z, Luo X, Kang X, et al. Correlation between midkine protein overexpression and intrahepatic metastasis in hepatocellular carcinoma[J]. Zhonghua Zhong Liu Za Zhi, 2002, 24(1):27-29.

[编辑:安凤]

siRNA 对生长抑素基因表达的抑制效应

(正文见 414 页)

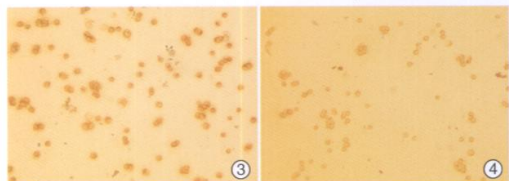


图3 胃癌细胞系 BGC-823 中 SOM 基因的表达呈强阳性

图4 siRNA 作用胃癌细胞系 24h 后 SOM 基因的表达明显受抑制

MK 和 CD105 在大肠癌中的表达及其临床意义

(正文见 425 页)

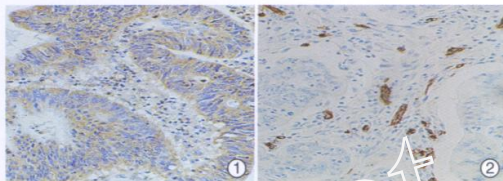


图1 MK 在大肠癌组织中的表达。棕黄色信号主要分布大肠癌组织细胞胞质内，细胞核呈阴性 (SP × 400)

图2 CD105 在大肠癌组织中的表达。染成棕黄色的阳性内皮细胞呈条索状或团簇状 (SP × 400)

多西他赛联合放疗对大鼠脊髓损伤的观察

(正文见 447 页)

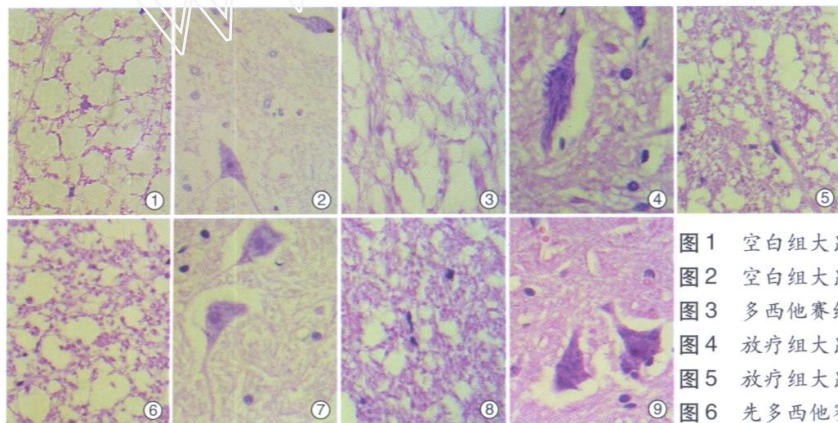


图1 空白组大鼠脊髓白质(HE × 400)

图2 空白组大鼠脊髓灰质(HE × 400)

图3 多西他赛组大鼠脊髓白质(HE × 400)

图4 放疗组大鼠脊髓灰质(HE × 400)

图5 放疗组大鼠脊髓白质(HE × 400)

图6 先多西他赛后放疗组大鼠脊髓白质(HE × 400)

图7 先多西他赛后放疗组大鼠脊髓灰质(HE × 400)

图8 先放疗后多西他赛组大鼠脊髓白质(HE × 400)

图9 先放疗后多西他赛组大鼠脊髓灰质(HE × 400)

直肠癌组织中 TAM 计数与 EMMPRIN、IL-8、MCP-1 表达的相关性

(正文见 436 页)

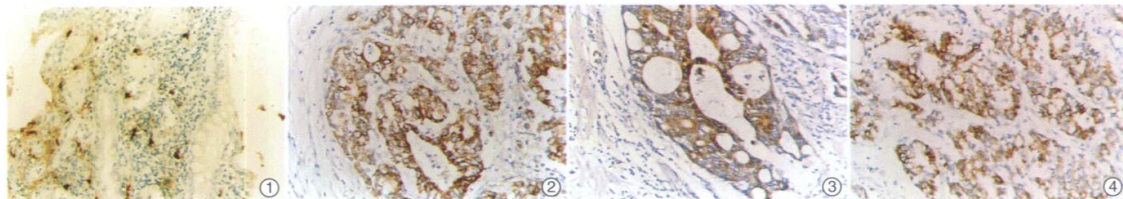


图1 TAM 计数为 23 个/HP, 高分化腺癌 (ABC × 200)

图2 EMMPRIN 阳性表达, 中分化腺癌 (ABC × 200)

图3 IL-8 阳性表达, 中分化腺癌 (ABC × 200)

图4 MCP-1 阳性表达, 中分化腺癌 (ABC × 200)