

宫颈癌患者中期因子表达及与侵袭转移能力的关系探讨

刘芳¹⁾, 段钊²⁾

(1) 陕西中医学院第二附属医院病理科, 陕西 咸阳 712000; 2) 西安交通大学医学部第二附属医院妇产科, 陕西 西安 710004)

[摘要] **目的** 探讨宫颈癌患者中期因子表达及与侵袭转移能力的关系. **方法** 选择陕西中医学院第二附属医院妇产科就诊的91例宫颈鳞癌患者, I期34例, II期33例, III期患者24例, 对各期患者血清MK、MMP-2、TIMP-2进行检测并对宫颈癌组织行免疫组化染色. **结果** II期患者MK阳性率较I期出现显著升高 ($P < 0.05$), III期患者MK阳性率较I期、II期组均出现显著升高 ($P < 0.05$). 免疫组化染色可见随着分期的进展, 宫颈癌组织MK免疫组化染色强度逐渐增加. II期患者MK及MMP-2较I期均出现显著升高 ($P < 0.05$), TIMP-2出现下降 ($P < 0.05$). III期患者MK及MMP-2较I期、II期组均出现显著升高 ($P < 0.05$), TIMP-2出现显著下降 ($P < 0.05$). MK与MMP-2呈正相关 ($P < 0.05$), 与TIMP-2呈负相关 ($P < 0.05$). **结论** 随着宫颈癌分期的进展, 中期因子表达及与侵袭转移能力增强密切相关, 是反映宫颈癌侵袭能力的重要因子.

[关键词] 宫颈癌; MK抗体; 基质金属蛋白酶-2; 特异组织抑制物-2

[中图分类号] R737.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2015)02-0093-04

Expression of Midkine and Its Correlation with the Tumor Metastasis Ability in Cervical Cancer Patients

LIU Fang¹⁾, DUAN Zhao²⁾

(1) Dept. of Pathology, The Second Affiliated Hospital of Shaanxi Traditional Medicine College, Xi'an Shaanxi 712000; 2) Dept. of Obstetrics and Gynecology, The Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an Shaanxi 710004, China)

[Abstract] **Objective** To study the expression of midkine and its correlation with tumor metastasis ability in cervical cancer patients. **Methods** 91 cases of cervical squamous cell carcinoma patients were enrolled, there were 34 cases in stage I, 33 cases in stage II, 24 patients in stage III. The serum levels of MK, MMP-2 and TIMP-2 were tested and MK was stained by immunohistochemistry. **Results** Compared with stage I, MK positive rate in stage II showed significant rise ($P < 0.05$), MK positive rate in stage III were significant higher than stage I, II group ($P < 0.05$). Immunohistochemical staining showed that MK immunohistochemical staining intensity gradually increased with the progress of the cervical cancer staging. The serum levels of MK and MMP-2 in stage II were significantly higher ($P < 0.05$), while the serum levels of TIMP-2 were significantly lower ($P < 0.05$) than those in the stage I. The serum levels of MK and MMP-2 in stage III were significantly higher ($P < 0.05$), while the serum levels of TIMP-2 were significantly lower ($P < 0.05$) than those in the stage I and stage II. MK showed significant positive correlation with MMP-2 ($P < 0.05$), and negative correlation with TIMP-2 ($P < 0.05$). **Conclusion** With the progress of the cervical cancer staging, midkine expression is closely related to the invasion and metastasis ability enhancement, and may be an important factor reflecting the invasion ability of cervical cancer.

[Key words] Cervical cancer; MK antibody; MMP-2; TIMP-2

[基金项目] 陕西省自然科学基金资助项目 (2013JM4012)

[作者简介] 刘芳 (1982~), 女, 贵州遵义市人, 医学学士, 主治医师, 主要从事妇科肿瘤临床工作.

[通讯作者] 段钊. E-mail: duanzhao8@163.com

宫颈癌是女性生殖系统常见的恶性肿瘤之一,近年来,宫颈癌在国内发病率有逐年上升趋势,且发病人群表现出低龄化的特点^[1]。发病早期患者常无特异性的症状及体征,部分患者出现临床症状时已有远处转移。中期因子(midkine, MK)属于分泌型肝素结合生长因子的低分子量蛋白质, MK 正常状态下大量表达于妊娠中期且被限制在一定的组织中表达^[2]。但是在肿瘤发生、炎症和组织细胞修复的过程中, MK 的表达明显增强。基质金属蛋白酶-2(MMP-2)及其抑制剂 TIMP-2 是近年来发现的有效反应肿瘤恶性程度及侵袭能力的重要指标,但目前对两者之间的关系尚未明确。笔者自 2012 年 1 月至 2014 年 1 月对就诊于陕西中医学院第二附属医院的宫颈鳞癌 91 例患者进行了 MK 及 MMPs 家族检测,初步明确该类因子之间的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择自 2012 年 1 月至 2014 年 1 月期间陕西中医学院第二附属医院就诊的宫颈癌患者 91 例,年龄 41~68 岁,平均(54.5±13.6)岁,宫颈鳞癌诊断均依靠病理学检查明确,并除外已经接受放、化疗等治疗及合并心、脑、肾严重系统性疾病及其他部位恶性肿瘤患者。根据国际妇产科联盟(FIGO)^[3]提出的分期标准对所有入选患者进行分期,其中 I 期 34 例(I a 期 20 例, I b 期 14 例), II 期患者 33 例(II a 期 18 例, II b 期 15 例), III 期患者 24 例(III a 期 14 例, III b 期 10 例)。

1.2 检测指标

1.2.1 MK 免疫组化染色 MK 抗体(兔抗人)购自北京博奥森生物公司,采用 SABC 法行免疫组化

染色,封片后采用奥林巴斯 CX21 显微镜下观察并拍照。

1.2.2 血清 MK 及 MMP2、TIMP-2 检测 采用酶联免疫吸附实验(ELISA)法检测 MK、MMP-2 及 TIMP-2,检测检测由陕西中医学院第二附属医院检验科完成,操作严格按照说明进行,并保证在试剂有效期内使用且保证质控符合国家标准。

1.3 数据统计分析

应用 SPSS 软件进行统计分析,计量资料均采用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用方差分析,计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 MK 免疫组化结果比较

对各组各组 MK 免疫组化结果进行分析, II 期患者 MK 阳性率较 I 期出现显著升高($P < 0.05$), III 期患者 MK 阳性率较 I 期、II 期组均出现显著升高($P < 0.05$),见表 1。

免疫组化染色可见随着分期的进展,宫颈癌组织 MK 免疫组化染色强度逐渐增加,阳性染色部位处于癌细胞胞浆内,且呈弥散分布。在宫颈癌组织内,癌细胞聚集处及浸润区域呈现较强染色,血管密集区域内皮细胞也阳性染色(见图 1)。

表 1 各组 MK 免疫组化结果比较 [n (%)]

Tab. 1 Comparison of the immunohistochemistry for MK between groups [n (%)]

组别	n	阳性(%)	阴性(%)
I 期	34	19(55.89)	15(44.11)
II 期	33	26(78.78)*	7(21.22)*
III 期	24	23(95.83)**	1(4.17)**

与 I 期比较, * $P < 0.05$; 与 II 期比较, ** $P < 0.05$ 。

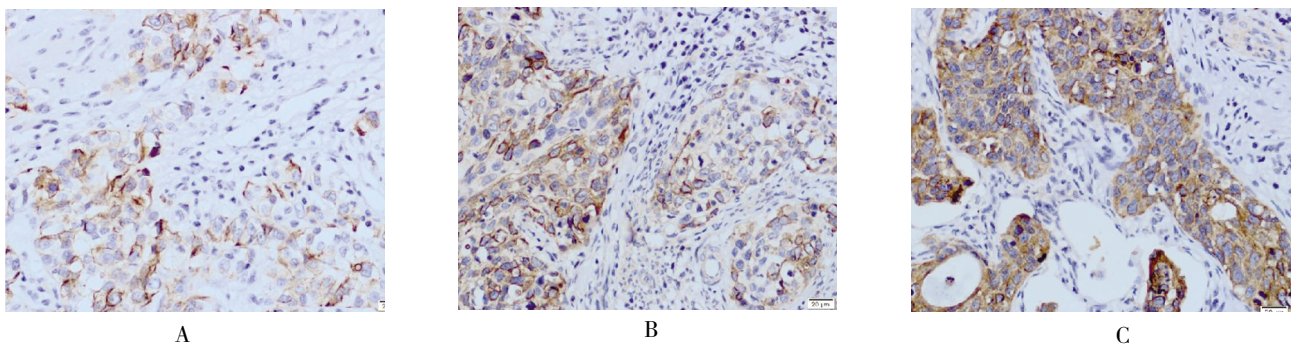


图 1 宫颈癌组织 MK 免疫组化染色 ($\times 400$)

Fig. 1 The immunohistochemistry for MK in cervical cancer tissues ($\times 400$)

A: I 期; B: II 期; C: III 期。

2.2 血清 MK 及 MMP-2、TIMP-2 水平比较

对各组 MK 及 MMP-2、TIMP-2 水平进行分析, II 期患者 MK 及 MMP-2 较 I 期均出现显著升高 ($P < 0.05$), TIMP-2 出现显著下降 ($P < 0.05$). III 期患者 MK 及 MMP-2 较 I 期、II 期组均出现显著升高 ($P < 0.05$), TIMP-2 出现显著下

降 ($P < 0.05$), 见表 2.

2.3 血清 MK 与 MMP-2 及 TIMP-2 相关性分析

分析 MK 与 MMP-2 及 TIMP-2 相关性, MK 与 MMP-2 呈正相关 ($P < 0.05$), 与 TIMP-2 负相关 ($P < 0.05$), 见表 3.

表 2 血清 MK 及 MMP2、TIMP-2 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of the serum levels of MK, MMP2 and TIMP-2 between groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MK ($\mu\text{g/L}$)	MMP-2 (ng/L)	TIMP-2 (ng/L)
I 期	34	1.23 \pm 0.46	36.15 \pm 9.47	341.68 \pm 43.79
II 期	33	1.56 \pm 0.57*	51.68 \pm 13.54*	297.74 \pm 37.28*
III 期	24	2.08 \pm 0.89**	79.41 \pm 25.98**	205.13 \pm 31.45**

与 I 期比较, * $P < 0.05$; 与 II 期比较, ** $P < 0.05$.

表 3 血清 MK 与 MMP-2 及 TIMP-2 相关性分析

Tab. 3 Correlation of the serum levels of MK, MMP2 and TIMP-2

项目	MMP-2	TIMP-2
MK		
r	0.485*	-0.591*

* $P < 0.05$.

3 讨论

宫颈癌目前已成为是常见的妇科恶性肿瘤之一, 发病率在女性恶性肿瘤中仅次于乳腺癌居第二位^[4]. 近年来宫颈癌发病尤其青年女性中发病率呈逐年增长趋势, 据统计我国每年约有 3 万名妇女死于子宫颈癌. MK 是近年来发现的肝素样结合因子, 随着对 MK 认识的深入, 目前发现 MK 可起到促进神经细胞突起生长及神经干细胞分化等作用^[5], 并有研究表明 MK 是刺激肿瘤发生、发展及转移的重要因子^[6]. 基质金属蛋白酶 -2 (MMP-2) 是参与细胞外基质降解的主要蛋白酶, 参与肿瘤的侵袭及转移^[7]. TIMP-2 是 MMPs 的特异性抑制因子, 其水平降低可加重细胞外基质降解. 但目前对 MK 与 MMP-2 及 TIMP-2 的关系尚未完全明确, 因此针对宫颈癌患者展开此类研究具有重要意义.

MK 可增强肿瘤细胞恶性表型的表达进而刺激肿瘤生长及演进. 由本研究可以看出, 随宫颈癌的进展, 患者 MK 阳性率出现显著升高, 免疫组化染色可见随着分期的进展, 宫颈癌组织 MK 免疫组化染色强度逐渐增加. MK 及 MMP-2 随着肿瘤的进展出现上升, TIMP-2 出现显著性下降. MK 对肿瘤发生及发展的影响, 可通过如下方面来实现: 一

方面, MK 表现出抗凋亡能力, 该过程可通过下调 Caspase-3 活性, 阻断细胞凋亡的过程^[8]; 另一方面, MK 是促进微血管的形成的重要因子, 其水平升高可增加肿瘤微血管密度, 成为肿瘤的生长及转移的重要诱发因素^[9]. 宫颈癌侵袭能力及是否发生远处转移涉及到蛋白水解酶对 ECM 降解及降解后的组织重塑^[10], MMPs 及抑制剂 TIMPs 是该类蛋白水解酶的重要成分^[11], MMP-2 是明胶酶 MMP 的重要组成部分, 主要针对 IV 型胶原进行降解, TIMP-2 水平的下降则可以增强 MMP-2 等的活性^[12]. 分析 MK 与 MMP-2 及 TIMP-2 相关性, MK 与 MMP-2 呈正相关, 与 TIMP-2 负相关. MMPs 家族所致细胞外基质平衡紊乱所导致宫颈癌进展及转移过程与 MK 存在密切关系, 该过程可能以 MMP-2/TIMP-2 水平失调为启动因子^[13], 引起下游细胞外基质合成及分解失调, 导致正常状态下隐藏的功能位点暴露, 而 MK 参与基膜降解及细胞外基质重塑、细胞迁移等过程, 加剧新生血管形成, 成为病情进展的重要机制.

综上所述, 随着宫颈癌分期的进展, 中期因子表达及与侵袭转移能力增强密切相关, 是反映宫颈癌侵袭能力的重要因子. 同时 MK 及 MMPs 家族作为新近发现反映宫颈癌病理状态的肿瘤标志物之一, 对两类因子进行监测对于探索该系列指标在宫颈癌病情诊断、治疗、治疗后病情变化具有重要临床意义.

[参考文献]

- [1] 田小维, 刘亚婷. 西安市东关南街社区妇女宫颈癌、HPV 筛查与性伴侣 HPV 筛查情况分析[J]. 国外医学(医学地理分册), 2013, 34(2):99-105.

- [2] VICENTE-RODRIGUEZ M, PEREZ-GARCIA C, HARO M, et al. Genetic inactivation of midkine modulates behavioural responses to ethanol possibly by enhancing GABA(A) receptor sensitivity to GABA(A) acting drugs [J]. *Behav Brain Res*, 2014, 274(2):258 - 263.
- [3] HEGAZY N, POTTER R, KIRISITS C, et al. High-risk clinical target volume delineation in CT-guided cervical cancer brachytherapy: impact of information from FIGO stage with or without systematic inclusion of 3D documentation of clinical gynecological examination [J]. *Acta Oncol*, 2013, 52(7):1 345 - 1 352.
- [4] 宋代琴, 张雪丽. 澳大利亚中年妇女宫颈癌筛查不足与伴侣暴力的关系 [J]. *国外医学(医学地理分册)*, 2012, 33(4):276 - 279.
- [5] HU X F, YAO J, GAO S G, et al. Midkine and syndecan1 levels correlate with the progression of malignant gastric cardiac adenocarcinoma [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(3): 1 409 - 1 415.
- [6] FUJIWARA K, MALIZA R, TOFRIZAL A, et al. In situ hybridization analysis of the temporospatial expression of the midkine/pleiotrophin family in rat embryonic pituitary gland [J]. *Cell Tissue Res*, 2014, 357(1):337 - 344.
- [7] SRIVASTAVA P, PANDEY S, MITTAL B, et al. No Association of Matrix Metalloproteinase [MMP]-2 (-735C > T) and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase [TIMP]-2 (-418G > C) Gene Polymorphisms with Cervical Cancer Susceptibility [J]. *Indian J Clin Biochem*, 2013, 28(1): 13 - 18.
- [8] YAO J, LI W Y, LI S G, et al. Midkine promotes perineural invasion in human pancreatic cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(11):3 018 - 3 024.
- [9] ZHAO S L, ZHANG Y J, LI M H, et al. Mesenchymal stem cells with overexpression of midkine enhance cell survival and attenuate cardiac dysfunction in a rat model of myocardial infarction [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2014, 5(2): 37 - 41.
- [10] CINCIK H, ERKUL E, PINAR D, et al. Evaluation of MMP-9 and TIMP-1 levels of the patients with nasal polyposis after corticosteroid therapies [J]. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*, 2013, 65 (Suppl 2):445 - 449.
- [11] LORENTE L, MARTIN M M, SOLE-VIOLAN J, et al. Association of sepsis-related mortality with early increase of TIMP-1/MMP-9 ratio [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4):e94 318.
- [12] DONG Z, XU X, DU L, et al. Leptin-mediated regulation of MT1-MMP localization is KIF1B dependent and enhances gastric cancer cell invasion [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(5):974 - 983.
- [13] SUN X P, DONG X, LIN L, et al. Up-regulation of survivin by AKT and hypoxia-inducible factor 1alpha contributes to cisplatin resistance in gastric cancer [J]. *FEBS J*, 2014, 281(1):115 - 128.

(2014 - 10 - 17 收稿)