

间皮素、骨桥蛋白在女性腹膜恶性间皮瘤组织中的表达及意义

杨春林, 高志斌, 邵华江, 邹云峰, 马建婷

余姚市人民医院, 浙江 宁波 315400

腹膜恶性间皮瘤是一种少见疾病, 目前病因不明, 多数报道与石棉接触有关。在工业化的国家发病率呈上升趋势, 由于接触石棉后有 15 ~ 50 年的潜伏期, 即使是美国这样已经禁止石棉生产的国家, 每年仍有 2 000 ~ 3 000 人死于恶性间皮瘤。有学者预测, 到 2020 年左右我国将会出现一个恶性间皮瘤的发病高峰。女性腹膜恶性间皮瘤发病隐匿, 临床表现复杂且无特异性, 极易误诊, 确诊时多为晚期, 恶性程度极高, 大多数患者生存时间不超过 12 个月, 从发病初出现症状到死亡, 中位生存时间为 5.8 ~ 6.2 个月^[1]。至今无论是本病的临床诊断还是病理诊断均有一定难度^[2]。我们采用免疫组织化学的方法检测正常腹膜、腹膜恶性间皮瘤患者肿瘤组织中间皮素(MSLN)、骨桥蛋白(OPN)的表达情况, 以探讨 MSLN、OPN 与腹膜恶性间皮瘤的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

将 2010 年 1 月至 2014 年 12 月余姚市人民医院收治的 20 例行手术治疗的女性腹膜恶性间皮瘤患者作为观察组, 患者年龄 42 ~ 74 岁, 平均为 55.6 岁。均为农村妇女, 其中 12 例有 5 ~ 16 年石棉接触史, 其他 8 例否认石棉接触史。患者均由 2 名病理医师采用双盲法确诊, 术前均未行放、化疗或免疫治疗。另外, 将该院同期收治的经病理确诊的 20 例卵巢良性肿瘤患者作为对照组, 患者年龄 39 ~ 76 岁, 平均为 53.1 岁。均为农村妇女, 否认有石棉接触史。其中卵巢子宫内膜异位囊肿、卵巢浆液性囊腺瘤、卵巢黏液性囊腺瘤、卵巢成熟

畸胎瘤各 5 例。两组患者年龄比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经患者及其亲属知情同意并经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

MSLN、OPN 多克隆抗体及免疫组化试剂盒均购于北京博奥森生物工程有限公司。

免疫组织化学采用 SP 法, 采用微波抗原修复, 德国莱卡显微镜观察。

1.3 结果判断

MSLN、OPN 阳性反应为淡黄至棕黄色颗粒, MSLN 主要定位于肿瘤细胞的细胞膜和胞质, OPN 在肿瘤细胞的胞质中表达。每例标本随机选取 10 个高倍镜视野, 计数 1 000 个细胞, 根据着色强度及阳性细胞百分率结果进行半定量分析^[3]。首先对阳性细胞着色强度记分: 无色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 棕黄色 2 分, 深棕色 3 分。然后再对阳性细胞所占百分比进行评分: $\leq 10\%$ 为 1 分, $11\% \sim 50\%$ 为 2 分, $51\% \sim 75\%$ 为 3 分, $> 75\%$ 为 4 分。两者相乘为每份切片记分, 所得分数 0 ~ 1 分为阴性, 2 ~ 3 分为弱阳性(+), 4 ~ 5 分为中度阳性(2+), > 5 分为强阳性(3+)。

1.4 统计学分析

应用 SPSS 13.0 统计软件对数据进行统计学处理, 计数资料用 χ^2 检验或 Fisher 精确概率法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MSLN、OPN 在腹膜恶性间皮瘤组织中的表达情况

MSLN 主要定位于肿瘤细胞的细胞膜和胞质, 阳性表达为浅黄色颗粒, 表达较强时为棕黄色颗粒。OPN 在肿瘤细胞的胞质中表达, 呈弥漫的颗粒状表达, 间质中不表达(图 1, 图 2)。对照组正

【基金项目】浙江省医药卫生平台骨干人才计划项目 (2012RCA047)

【作者简介】杨春林(1975—), 女, 副主任医师, 硕士

常腹膜中 MSLN、OPN 几乎不表达。观察组、对照组的 MSLN 阳性表达率分别为 90.0% (18/20)、5.0% (1/20), 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 28.972, P < 0.05$)。观察组、对照组的 OPN 阳性表达率分别为 55.0% (11/20)、5.0% (1/20), 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 11.905, P < 0.05$)。观察组患者的 MSLN、OPN 阳性表达率比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 6.144, P < 0.05$)。

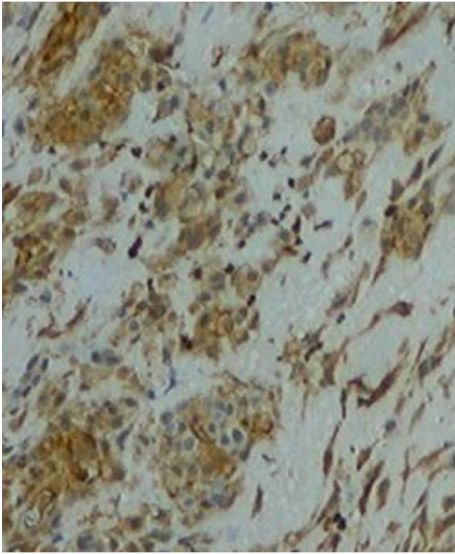


图 1 腹膜恶性间皮瘤间皮素强阳性表达

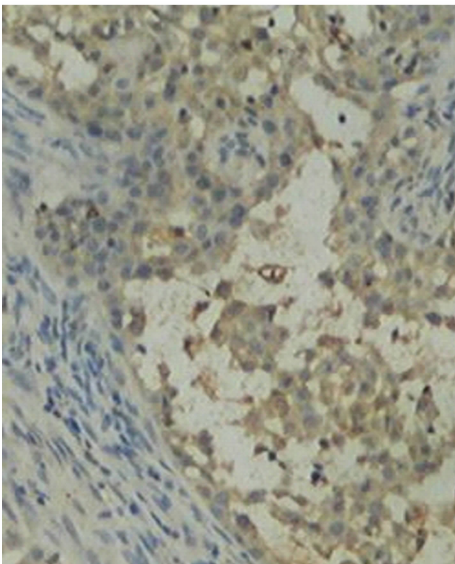


图 2 腹膜恶性间皮瘤骨桥蛋白强阳性表达

2.2 MSLN、OPN 阳性表达与腹膜恶性间皮瘤临床病理学参数的关系

MSLN、OPN 的表达与腹膜恶性间皮瘤患者的年龄、腹水量、CA125 水平、组织学类型、病灶大小

均无关 (Fisher 精确概率法, P 均 > 0.05)。见表 1。

表 1 间皮素、骨桥蛋白阳性表达与腹膜恶性间皮瘤临床病理学参数的关系

类别	例数	间皮素阳性表达		P 值	骨桥蛋白阳性表达		P 值
		例数	百分比 (%)		例数	百分比 (%)	
年龄 (岁)							
<50	12	11	91.7	1.000	7	58.3	1.000
≥50	8	7	87.5		4	50.0	
腹水量 (mL)							
<500	7	6	85.7	1.000	3	42.8	0.642
≥500	13	12	92.3		8	61.5	
CA125 水平 (U/mL)							
<35	10	8	80.0	0.474	3	30.0	0.070
≥35	10	10	100.0		8	80.0	
组织学类型							
上皮型	14	13	92.8	0.521	9	64.3	0.336
混合型	6	5	83.3		2	33.3	
病灶大小 (cm)							
<5	5	4	80.0	0.447	3	60.0	1.000
≥5	15	14	93.3		8	53.3	

2.3 MSLN 和 OPN 在腹膜恶性间皮瘤肿瘤组织中表达的相关性

18 例 MSLN 阳性表达标本中有 10 例 OPN 呈阳性, 占 55.6%, 2 例 MSLN 阴性表达标本中有 1 例 OPN 呈阴性表达, 占 50.0%。腹膜恶性间皮瘤中 MSLN 表达和 OPN 表达之间无相关性 (表 2)。

表 2 间皮素、骨桥蛋白在腹膜恶性间皮瘤肿瘤组织中的表达

间皮素表达	骨桥蛋白表达		合计
	阴性	阳性	
阴性	1	1	2
阳性	8	10	18
合计	9	11	20

3 讨论

随着工业化程度的提高, 全球腹膜恶性间皮瘤的发病呈上升趋势。流行病学调查发现, 约 80% 的恶性间皮瘤患者有明确的石棉暴露史。20 世纪 70 年代初起, 余姚市成为国内石棉的主要加工区之一, 部分农民转为从事石棉加工行业 (纺纱或织布)。余姚市腹膜恶性间皮瘤有较高的发病率, 2000—2010 年女性的年发病率为 5.7/100 万。因还未建立恶性间皮瘤的诊断标准, 腹膜恶性间皮瘤诊断非常困难, 需要活检组织进行病理检查确诊。

MSLN 是相对分子质量约为 40 000 的细胞表

面糖蛋白,通常只在体腔表面的间皮细胞表达,在良性肿瘤中不表达或低表达,而在恶性间皮瘤、卵巢癌、胰腺癌、肺癌、子宫颈癌等一些恶性肿瘤中异常升高^[4-6]。MSLN 可以增强多种恶性肿瘤细胞的增殖、黏附能力,但是其确切机制还不为人知。毕淑娜等^[7]研究发现,MSLN 在上皮性卵巢癌中表达增高,且分期越高表达越高,提示 MSLN 在卵巢癌的黏附转移过程中起重要作用,MSLN 的存在可能促进腹水的形成并进一步促进癌细胞在腹腔的种植。Servais 等^[8]证实 MSLN 高表达促进间皮细胞侵蚀和 MMP-9 的分泌,提示 MSLN 在恶性间皮瘤的发生和发展过程中起重要作用。目前有关 MSLN 在腹膜恶性间皮瘤肿瘤组织中的研究报道少见。本研究通过免疫组化方法发现,腹膜恶性间皮瘤肿瘤组织中 MSLN 阳性表达率明显高于正常腹膜,但 MSLN 的表达与腹膜恶性间皮瘤患者的年龄、腹水量、CA125 水平、组织学类型、病灶大小均无关。提示 MSLN 高表达可能是腹膜恶性间皮瘤进程中常见的分子事件,MSLN 可能参与了腹膜恶性间皮瘤的发生和发展。

OPN 是一种酸性分泌型蛋白,属于细胞外基质蛋白。研究表明,OPN 有广泛的生物学功能,通过与其受体相互作用,在骨转换、炎症反应、创面愈合、免疫应答和肿瘤发生等过程中发挥重要作用。Huang 等^[9]发现在局部晚期宫颈鳞癌中,射线不敏感者 OPN 表达高于射线敏感者,并且 OPN 高表达者往往 5 年生存率低下,提示 OPN 是负面的独立的预后因素。本研究结果显示,OPN 在腹膜恶性间皮瘤肿瘤组织中的阳性表达率高于正常腹膜组织中的表达,说明 OPN 与腹膜恶性间皮瘤的发生有一定相关性。

但 MSLN 与 OPN 没有相关性,提示两者的作用机制可能不同。在腹膜恶性间皮瘤患者肿瘤组织中 OPN 的表达率低于 MSLN 的表达,差异有统计学意义。这可能意味着 MSLN 对腹膜恶性间皮瘤的鉴别诊断以及评价肿瘤的恶性程度和预后等具有更积极的临床意义。

综上所述,研究 MSLN、OPN 与腹膜恶性间皮

瘤的关系,有助于了解腹膜恶性间皮瘤的发生、发展机制,有望为腹膜恶性间皮瘤的早期诊断及预后评价提供一个新指标。但因腹膜恶性间皮瘤发病率低,本研究的样本量有限,且目前关于 MSLN、OPN 与腹膜恶性间皮瘤的相关性报道较少见,其在腹膜恶性间皮瘤诊断、治疗及预后评估方面的价值有待进一步研究。

参考文献

- [1] 邵华江,马建婷,杨秀儿,等. 女性腹膜恶性间皮瘤 26 例诊治分析[J]. 中华医学杂志,2011,91(33):2336-2339.
- [2] 楼建林,高志斌,蒋兆强,等. 中日专家对恶性间皮瘤病理诊断的对比研究[J]. 中华劳动卫生职业病杂志,2015,33(1):33-36.
- [3] 许良中,杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判定标准[J]. 中国癌症杂志,1996,6(4):229-231.
- [4] 毕波,潘逸茹,周慧敏,等. 卵巢癌患者血清和肿瘤组织 CA125 和 SMRP 表达的临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2015,36(1):22-24.
- [5] BHARADWAJ U, MARIN-MULLER C, LI M, et al. Mesothelin overexpression promotes autocrine IL-6/sIL-6R trans-signaling to stimulate pancreatic cancer cell proliferation[J]. Carcinogenesis,2011,32(7):1013-1024.
- [6] KACHALA S, BOGRAD AJ, VILLENA-VARGAS J, et al. Mesothelin overexpression is a marker of tumor aggressiveness and is associated with reduced recurrence-free and overall survival in early-stage lung adenocarcinoma[J]. Clin Cancer Res,2014,20(4):1020-1028.
- [7] 毕淑娜,李晓林,王纯,等. 间皮素 mRNA 及蛋白在上皮性卵巢癌中的意义研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2014,22(6):21-23.
- [8] SERVAIS EL, COLOVOS C, RODRIGUEZ L, et al. Mesothelin overexpression promotes mesothelioma cell invasion and MMP-9 secretion in an orthotopic mouse model and in epithelioid pleural mesothelioma patients[J]. Clin Cancer Res,2012,18(9):2478-2489.
- [9] HUANG XQ, QIAN YJ, WU HN, et al. Aberrant expression of osteopontin and e-cadherin indicates radiation resistance and poor prognosis for patients with cervical carcinoma[J]. J Histochem Cytochem,2015,63(2):88-98.

(收稿日期:2015-10-13)