论著

文章编号:1000-5404(2007)08-0740-03

MIF在食管鳞癌组织和癌旁组织中的表达

赵劲松,廖克龙 (第三军医大学西南医院胸心外科,重庆 400038)

提 要:目的 研究巨噬细胞移动抑制因子(MIF)在食管鳞状细胞癌组织和癌旁组织中的表达及与临床病理的关系。**方法** 用免疫组化方法检测80例食管鳞癌标本和80例食管癌旁组织中MIF的表达水平。**结果** MIF在食管鳞癌组织中的表达呈明显增加,并与癌细胞的分化程度、肿瘤的TNM分期密切相关,MIF在癌旁组织的黏膜生发层细胞中表达也有少量的增加。**结论** MIF参与调节细胞的生长周期,在人食管鳞状细胞癌的发病机制中起着重要的作用,与食管鳞癌TNM分期有关。

关键词:巨噬细胞移动抑制因子;食管鳞癌;免疫组织化学

中图法分类号:R392.11;R730.43;R735.1 **文献标识码**:A

Expression of macrophage migration inhibitory factor in esophageal squamous cell carcinoma and normal esophageal tissue

ZHAO Jin-song, LIAO Ke-long (Department of Cardiothoracic Surgery, Southwest Hospital, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and in normal tissues around the esophageal cancer and determine whether there exists a relationship between MIF expression and clinicopathologic features. Methods The expression levels of MMIF in 80 ESCC specimens and 80 normal tissues around esophageal cancer by immunohistochemical staining. Results MIF was overexpressed in ESCC specimens and closely correlated with tumor differentiation and TNM staging. In normal esophageal tissues we found a small amount increment of MIF in the malpighian layer of mucous membrane. Conclusion MIF participates in the accommodation of cell growth cycle, plays an important role in the pathogenesis of ESCC and correlates with TNM staging.

Key words: macrophage migration inhibitory factor; esophagus squamous cell carcinoma; immunohistochemistry

食管癌在恶性肿瘤中的发病率居第6位,在我国的河南省等地区有着更高的发病率。食管鳞癌是我国主要的食管癌病理类型。目前已经开展了很多关于食管鳞癌形态学和临床病理特征的相关性研究[1],但是到目前为止还没有找到一种具有临床实用价值的因子。

巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)最初作为一种致炎因子被发现在内毒素性休克、肾小球肾炎以及动脉粥样硬化的病理过程中起着免疫调节和整合的作用[2],目前越来越多的研究表明MIF在细胞增殖的调控、细胞凋亡以及生长因子的表达、恶性肿瘤的演进等方面起着重要的作用[3],MIF在肺腺癌、前列腺癌以及肝癌组织中的表达水平远远超过正常组织[4],说明它与恶性肿瘤的发病机制有着密切的关系。本实验采用免疫组化染色方法研究MIF在食管鳞癌组织和食管正常组织中的表达,以及这种表达与临床病理特征的相关性。

1 资料与方法

1.1 标本的收集和处理

食管鳞癌组织和食管癌旁组织的标本取自第三军医大学西南医院胸心外科2005年3月至2006年4月食管鳞癌接受手术治疗的80例患者,年龄40~68岁,术前均未接受放疗或者化疗。食管鳞癌大体形态病理分类为:髓质型25例,溃疡型34例,蕈伞型19例,缩窄型2例。按临床病理分期分为:早期的原位癌2例,中晚期78例。每例标本取癌组织和距离癌块边缘5 cm以上的正常食管组织各2块,经过10%的甲醛固定24 h,石蜡包埋,连续切片4张,厚度为4 μm,进行HE染色和免疫组化染色。

作者简介:赵劲松(1975-),男,四川省江安县人,硕士研究生,主治医师,主要从事食管癌方面的研究。电话:(023)687765331

通讯作者:廖克龙,电话:(023)68765329

收稿日期:2006-05-19;修回日期:2006-10-10

1.2　免疫组化染色

1.2.1　主要的试剂　　兔抗人的 MIF 多抗购自于 Santa Cruz 公司，S-P 9000 试剂盒和 DAB 显色盒购于北京中山金桥生物技术公司。

1.2.2　基本步骤　　采用 S-P 三步法，染色步骤按 S-P 9000 试剂盒的说明书进行，组织切片用 PBS（pH 7.4）冲洗，在滴加 3% 过氧化氢溶液前使用微波炉抗原修复，加热 0.01 mol/L 枸橼酸钠缓冲溶液（pH 6.0）至 95 ℃左右，放入组织切片加热 20 min；常规 DAB 显色，显微镜下观察，在背景颜色过深以前终止反应，MIF 的抗体效价为 1∶400。

1.2.3　实验结果的判别　阳性细胞的显色部位在细胞质，为棕黄色，采用 Image Pro Plus 5.0 图像分析软件，阳性细胞 <5% 为（－），5% ~25% 为（＋），26% ~50% 为（＋＋），50% ~75% 为（＋＋＋），76% ~100% 为（＋＋＋＋）。

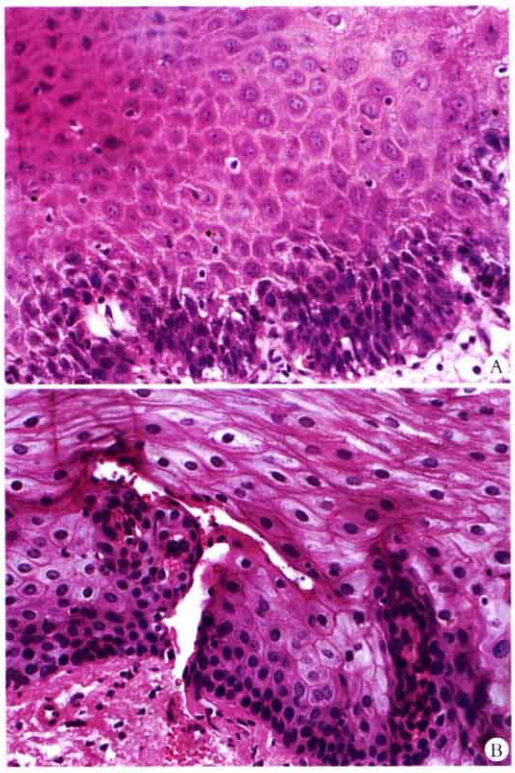
1.3　统计学处理

采用 SPSS 10.0 统计软件行 χ^2 检验和列联表分析。

2　结果

2.1　组织病理学观察

80 例食管鳞癌组织标本均经西南医院病理科进行 HE 染色确诊（图 1A），按分化程度分级，其中原位癌 2 例，1 级 4 例，2 级 28 例，3 级 46 例，食管吻合口两端均无癌组织残留。

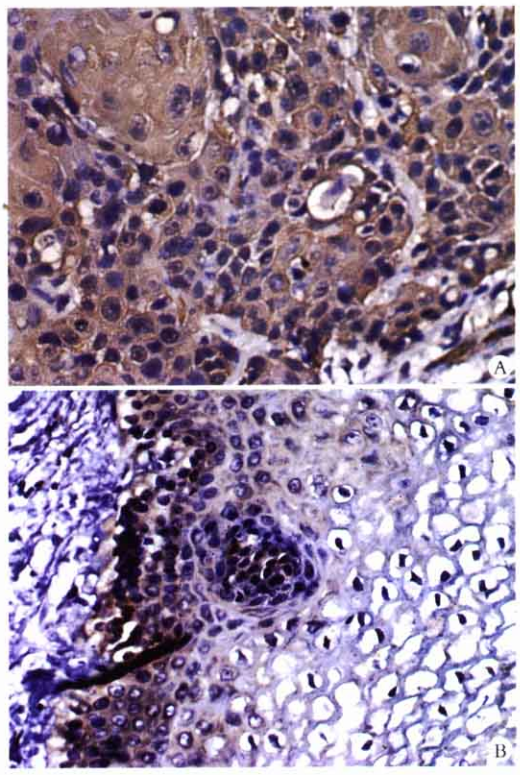


A：食管癌；B：食管癌旁组织

图 1　食管癌、食管癌旁组织光镜观察结果　（HE ×400）

2.2　MIF 阳性表达以及分布的特点

2.2.1　食管癌旁组织　　在食管癌旁组织的上皮细胞中，MIF 的表达主要集中在生长分裂旺盛的生发层细胞，阳性物质也存在于细胞质中，在成熟的上皮细胞中则基本上不表达（图 1B，图 2B）。



A：食管癌；B：食管癌旁组织

图 2　食管癌旁、食管癌组织 MIF 阳性表达免疫组化染色结果

（S-P ×400）

2.2.2　食管鳞癌组织　　MIF 广泛的高水平表达于癌细胞中，呈灶状或者弥漫性分布，部位主要在细胞质，也有少数表达于细胞核（图 2A）。

2.3　食管癌旁组织和癌组织中的阳性率

正常食管组织以及食管鳞癌组织中 MIF 的阳性率见表 1，经 χ^2 检验结果 MIF 在癌组织中表达的水平明显高于癌旁食管组织（$P<0.01$）。

表 1　MIF 在食管癌旁组织及鳞癌组织中的阳性率比较

组织类型	阳性例数	阴性例数	合计	阳性率（%）
正常食管组织	15	65	80	23.08[a]
食管鳞癌组织	78	2	80	97.50
合计	93	67	160	58.13

a：$P<0.01$，与食管鳞癌组织比较

2.4　MIF 的表达与临床病理特征的关系

食管鳞癌患者的临床病理特征和 MIF 表达之间的关系见表 2，采用列联表分析的方法，MIF 的表达与患者的性别、年龄、区域淋巴结转移情况在统计学上无直接的关系，但与患者有无吸烟史，肿瘤的分化程度以及肿瘤的 TNM 分期的关系密切。在 MIF 高表达的患者群体中食管癌细胞的分化程度一般较低，TNM 分期一般在 Ⅱ_B ~ Ⅲ期，预后较差。

表2 MIF的表达与临床病理特征的关系

病理特征	MIF染色结果						P
	总共	-	+	++	+++	++++	
性别							
男	66	1	5	15	23	22	
女	14	1	1	3	5	4	0.221
吸烟史							
有	68	0	4	16	25	23	
无	12	2	2	2	3	3	0.001
分化							
1级	6	1	4	1	0	0	
2级	28	1	1	8	13	5	0.044
3级	46	0	1	9	15	21	
T分级							
T_1	9	1	4	4	0	0	
T_2	17	1	2	10	4	0	0.182
T_3	30	0	0	4	14	12	
T_4	24	0	0	0	10	14	
N分级							
N_0	34	1	5	6	12	10	0.828
N_1	46	1	1	12	16	16	
M分级							
M_0	78	2	6	18	27	25	0.820
M_1	2	0	0	0	1	1	
TNM分期[a]							
0期	5	1	1	3	0	0	
1期	8	1	3	4	0	0	0.001
2期	30	0	2	3	9	16	
3期	37	0	0	8	19	10	
淋巴结癌转移							
无	54	2	6	15	20	13	
有	26	0	0	3	8	13	0.320

a：食管癌的TNM分期采用的是国际抗癌联盟(UICC)1987年的分期标准

3 讨论

人巨噬细胞移动抑制因子(MIF)的基因位于第22号染色体长臂(22q11.2)的保守区内，由3个外显子和2个内含子组成，编码相对分子质量约12.5×10^3的非糖基化蛋白，单核/巨噬细胞系统是体内MIF的主要来源，体内的MIF分泌受下丘脑和垂体系统的调控，而糖皮质激素也能调节它的合成与分泌。

最近研究表明作为致炎因子研究的MIF在多种恶性肿瘤组织中存在过量的表达[5]，通过本实验我们发现MIF在食管鳞癌组织中也存在广泛的高水平的表达，在生长分裂活动旺盛的正常的食管黏膜上皮生发层细胞也有少量的表达，但其表达水平远远低于癌组织，并且MIF的表达水平与患者的吸烟史、肿瘤的分化程度以及肿瘤的TNM分期密切相关，但是肿瘤细胞上调MIF表达的机制还不清楚，目前的研究证明，生长失控和分化受阻是恶性肿瘤细胞的特征，这与细胞周期中的许多因素有关，野生型P53基因主要通过与P21基因、Bax基因的相互作用促进细胞的凋亡，参与调节细胞的生长周期，目前的研究表明MIF通过对ERK、PLA2、Cox-2以及PGE2等系列细胞因子的激活来拮抗P53基因引起的细胞凋亡，抑制myc诱导的P53依赖的细胞凋亡，也能使NO诱导的巨噬细胞凋亡明显的减少，而NO能使细胞内的P53蛋白聚集，增加细胞的凋亡[6]，在低分化的食管鳞癌组织中MIF阳性染色的细胞比例高，而且低分化的鳞癌组织中癌细胞凋亡率较低，较低的凋亡率可以使肿瘤的生长速度加快，缩短了患者的生存时间。食管癌的TNM分期是影响患者预后的重要的因素之一，本实验表明MIF的表达水平和食管鳞癌TNM分期密切相关，说明MIF在食管鳞癌的发病机制中可能发挥重要的作用，为食管鳞癌进行MIF的基因治疗提供了初步的实验依据。Mitchell等[7]研究表明MIF对ERK/MAPK的持续性激活可以增加细胞周期素D1与CDKs的结合，促进细胞的分裂增殖，而且CDK4对Rb基因的转化是控制细胞分裂、增殖的重要途径，在实验中我们发现MIF在生长分裂活动旺盛的正常的食管黏膜上皮生发层细胞也有少量的表达，这也说明MIF参与了调节细胞周期，并且起着促进细胞分裂增殖的作用，它在食管鳞癌细胞中的过量表达加快了癌细胞的分裂增殖，并提示可能与患者预后有关系，有可能成为预测患者预后的潜在指标。

参考文献：

[1] 汪 斌，李俊材，傅仲学，等. 食管鳞癌转移淋巴结蛋白质双向凝胶电泳图谱差异分析[J]. 第三军医大学学报，2007，29(4)：354-356.

[2] Bozza M, Satoskar A R, Lin G, *et al*. Targeted disruption of migration inhibitory factor gene reveals its critical role in sepsis[J]. J Exp Med, 1999, 189(2): 341-346.

[3] Fingerle-Rowson G, Petrenko O, Metz C N, *et al*. The p53-dependent effects of macrophage migration inhibitory factor revealed by gene targeting[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(16): 9354-9359.

[4] Bando H, Matsumoto G, Bando M, *et al*. Expression of macrophage migration inhibitory factor in human breast cancer: association with nodal spread[J]. Jpn J Cancer Res, 2002, 93(4): 389-396.

[5] Ren Y, Tsui H T, Poon R T, *et al*. Macrophage migration inhibitory factor: roles in regulating tumor cell migration and expression of angiogenic factors in hepatocellular carcinoma[J]. Int J Cancer, 2003, 107(1): 22-29.

[6] Hudson J D, Shoaibi M A, Maestro R, *et al*. A proinflammatory cytokine inhibits p53 tumor suppressor activity[J]. J Exp Med, 1999, 190(10): 1375-1382.

[7] Mitchell R A, Liao H, Chesney J, *et al*. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) sustains macrophage proinflammatory function by inhibiting p53: regulatory role in the innate immune response[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(1): 345-350.

(编辑 陈聪连)