文章编号:1000-5404(2009)10-0945-03

论著

Endoglin在评价卵巢上皮性肿瘤血管生成中的意义

王 丹,梁志清,徐惠成,陈 勇 (第三军医大学西南医院妇产科,重庆 400038)

摘 要:目的 探讨Endoglin在卵巢上皮性肿瘤血管生成中的意义。**方法** 采用免疫组织化学方法,对本院2000年12月至2003年12月手术切除的70例卵巢上皮肿瘤标本分别标记CD34和Endoglin,并分别进行微血管密度(microvessel density,MVD)计数。**结果** CD34标记的MVD在良性和恶性卵巢上皮性肿瘤间无统计学差异($P>0.05$),而Endoglin标记的MVD在良性和恶性肿瘤间差异有统计学意义($P<0.05$);恶性卵巢上皮性肿瘤临床Ⅰ~Ⅱ期CD34和Endoglin标记的MVD均高于Ⅲ~Ⅳ期;CD34标记的MVD在恶性卵巢上皮性肿瘤病理分级Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级间无统计学差异($P>0.05$),而病理分级Ⅲ级Endoglin标记的MVD明显高于Ⅰ~Ⅱ级。**结论** Endoglin标记计数的MVD优于CD34、CD31和Von Willebrand因子等标记的MVD,可作为肿瘤血管生成状态的评价指标。

关键词: Endoglin;肿瘤血管生成;卵巢肿瘤
中图法分类号: R730.23;R730.43;R737.31 **文献标识码:** A

Endoglin in assessing angiogenesis of epithelial ovarian tumor: report of 70 cases

WANG Dan, LIANG Zhi-qing, XU Hui-cheng, CHEN Yong (Department of Obstetrics and Gynecology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the significance of endoglin in the angiogenesis of ovarian carcinoma. **Methods** Immunohistochemical assay was used to investigate 70 tissue samples of pathologically identified epithelial ovarian tumor (including 31 specimen of benign and 39 of malignant) from December 2000 to December 2003 in our department using monoclonal antibodies against CD34 and endoglin. Microvessels density (MVD) was counted by experienced pathologists. **Results** No significant difference of MVD for CD34 was observed in the ovarian cystadenoma and ovarian carcinoma. In contrast, an increment of MVD for endoglin from low-grade to high-grade dysplasia and that from earlier stage to later stage was statistically significant. **Conclusion** Endoglin may be a valuable marker for assessing neovascularization in the process of ovarian carcinoma development and for predicting the risk of ovarian carcinoma development.

Key words: endoglin; angiogenesis; ovarian tumor

卵巢癌是妇科常见恶性肿瘤之一,死亡率居妇科肿瘤首位。卵巢上皮性癌占卵巢恶性肿瘤的60%~90%。血管生成是肿瘤组织生长和转移的重要基础,对卵巢上皮性肿瘤的生长和转移亦发挥重要作用。微血管密度(microvessel density,MVD)是评价肿瘤血管生成的"金指标",常通过标记CD31、CD34和Von Willebrand因子3种内皮细胞抗原进行MVD计数,评价肿瘤血管生成状况[1]。本研究采用免疫组织化学方法,对本院70例卵巢上皮性肿瘤标本分别标记CD34和Endoglin,并进行MVD计数,旨在为评价卵巢上皮性肿瘤血管生成状态寻找更可靠的指标,并为恶性卵巢上皮性肿瘤的抗血管治疗寻找新的靶点。

1 材料与方法

1.1 材料

收集我院2000年12月至2003年12月手术切除的70例卵巢上皮性肿瘤标本。患者年龄17~71(平均45.07)岁。患者术前均未行任何化疗或放射治疗。经病理确诊,良性肿瘤31例,恶性肿瘤39例。卵巢上皮性恶性肿瘤中Ⅰ~Ⅱ期11例,Ⅲ~Ⅳ期28例;Ⅰ级8例,Ⅱ级14例,Ⅲ级17例;浆液性癌25例,黏液癌14例。

1.2 方法

标本10%甲醛常规固定,石蜡包埋,3~4 μm厚连续切片,

基金项目:国家自然科学基金(30271360,30600673)
Supported bu the National Natural Science Foundation(30271360,30600673)
作者简介:王 丹,女,黑龙江省哈尔滨市人,硕士,主治医师,主要从事卵巢肿瘤方面的研究。电话:(023)68754411
通信作者:梁志清,电话:(023)68754409,E-mail: zhi.lzliang@gmail.com
收稿日期:2009-01-20;修回日期:2009-02-26

应用免疫组化 EnVision™二步法染色。EnVision™二步法显色系统及 CD34 单克隆抗体购自丹麦 DAKO 公司,Endoglin 单克隆抗体购自北京中山公司。EnVision™免疫组化染色方法参照使用说明书进行。阳性对照采用扁桃体组织,以 PBS 液作阴性对照。

1.3 结果判断

病理科医师对切片进行双盲评价,计数 MVD 时,先用低倍物镜(×4)进行观察,寻找微血管最多的"热点"区域,然后用高倍物镜(×40)计数 3 个视野 MVD,计算平均值。微血管可分为单个或一簇棕色的内皮细胞,可有或无管腔,凡血管腔直径大于 8 个红细胞或血管壁带有明显的肌层以及纤维硬化、炎症及坏死的微血管均不计入总数。

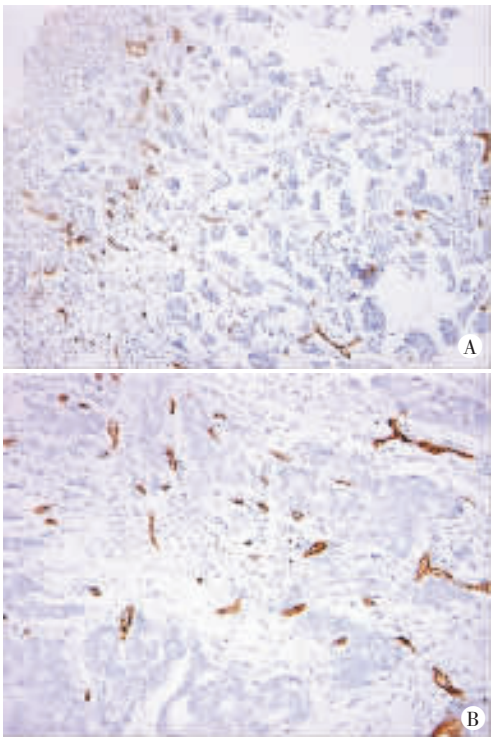
1.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件行独立样本 t 检验。

2 结果

2.1 CD34 和 Endoglin 的阳性分布

CD34 阳性表达定位于肿瘤血管内皮细胞细胞膜及细胞质,Endoglin 阳性表达定位于肿瘤血管内皮细胞细胞膜,均呈棕黄色颗粒状,弥漫分布(图 1)。



A:Endoglin 血管标记;B:CD34 血管标记

图 1 Ⅳ期卵巢腺癌免疫组化染色结果 (EnVision ×200)

2.2 CD34 与 Endoglin 标记血管 MVD 计数

CD34 标记良性肿瘤 MVD 为(28.4 ± 7.2),恶性肿瘤 MVD 为(32.7 ± 6.9),两者比较无统计学差异($P > 0.05$);Endoglin 标记的恶性肿瘤 MVD(39.7 ± 10.2)明显高于良性肿瘤(32.6 ± 11.1),差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 CD34 与 Endoglin 标记血管 MVD 计数与卵巢上皮性癌临床分期、组织类型、病理分级的关系

CD34 标记的 MVD 在恶性卵巢上皮性肿瘤病理Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级之间均无统计学差异($P > 0.05$),而 Endoglin 标记的 MVD 在病理分级Ⅰ、Ⅱ级之间无统计学差异($P > 0.05$),Ⅰ、Ⅲ级之间,Ⅱ、Ⅲ级间有统计学差异($P < 0.05$);CD34 的 MVD 在浆液性和黏液性之间无统计学差异($P > 0.05$),而 Endoglin 标记 MVD 在两者之间有统计学差异($P < 0.05$),恶性卵巢上皮性肿瘤临床分期Ⅰ ~ Ⅱ期 CD34 和 Endoglin 标记的 MVD 均高于Ⅲ ~ Ⅳ期($P < 0.05$, 表 1)。

表 1 MVD 与 39 例恶性卵巢上皮性肿瘤临床病理分级的关系 ($\bar{x} \pm s$)

病理参数	n	CD34	Endoglin
病理分级			
Ⅰ	8	25.625 ± 4.658	30.375 ± 2.066
Ⅱ	14	26.071 ± 5.091	31.429 ± 5.584[a]
Ⅲ	17	30.059 ± 8.969	35.294 ± 4.455[b]
组织学分类			
浆液性	25	27.480 ± 6.456	31.560 ± 4.528[c]
黏液性	14	28.143 ± 8.493	35.286 ± 4.921
临床分期			
Ⅰ ~ Ⅱ	11	23.727 ± 5.237[d]	30.000 ± 3.162[d]
Ⅲ ~ Ⅳ	28	29.286 ± 7.262	34.036 ± 5.103

a: $P < 0.05$,与Ⅲ级比较;b: $P < 0.05$,与Ⅰ级比较;c: $P < 0.05$,与黏液性比较;d: $P < 0.01$,与Ⅲ ~ Ⅳ期比较

3 讨论

肿瘤组织中的 MVD 与肿瘤的血管生成状态密切相关。既往多数学者采用 CD31、CD34 或 Von Willebrand 因子对肿瘤组织中的血管内皮细胞进行微血管密度计数,评价肿瘤血管生成状态。这 3 种血管内皮相关抗原在评价血管生成状态时存在不同程度的缺点与不足。Von Willebrand 因子在较小的血管内皮表达较差,有时会在淋巴管内皮细胞中表达,因此 Von Willebrand 标记的微血管相对较少,特异性也较差[1]。而 CD31 和 CD34 虽然在小血管中表达良好,且不在淋巴内皮细胞中表达,但它们的缺点是与纤维细胞以及某些肿瘤细胞有轻度反应,与浆细胞的反应可能更为强烈[2]。Endoglin 是近年来新发现的一种血管内皮相关抗原,在有血管生成的组织、肿瘤组织的内皮细胞中特异性高表达,是内皮细胞增殖的相关标记物[3]。

Endoglin 不同于以上 3 种血管内皮相关抗原,其抗体优先结合于激活的内皮细胞和正在参与血管形成的内皮细胞,这些细胞均高表达 Endoglin。经放射线照射过的人脐静脉内皮细胞 Endoglin 表达明显高于未经照射的内皮细胞[4],所以有人认为可采用 Endoglin 抗体作为肿瘤特异血管标记物,用 CD31 抗体标记解剖性血管[5]。研究证实 Endoglin 表达与下颌骨[6]、头颈部的鳞状细胞癌[7]的恶性肿瘤预后关系密切。有

学者用免疫组化分析结直肠腺瘤和腺癌标本中发现,两者 Endoglin 表达差异有统计学意义,而腺瘤与分化较低腺癌相比,统计学上显示更明显差异,提示 Endoglin 可能与结直癌进展有关,是预测预后的 1 个较好指标[8]。除此以外,还有其他一些恶性肿瘤也有类似报道[9]。

恶性卵巢上皮性肿瘤主要转移途径为种植转移,肿瘤复发病灶也常为腹膜上广泛粟粒状结节,血管丰富、血管增生活跃的肿瘤生长速度快,易发生远处转移,预后差。本实验发现 Endoglin 标记的 MVD 在良恶性之间、各病理分级之间有差异,晚期恶性卵巢上皮性肿瘤的 MVD 高于早期,证实了 Endoglin 标记的 MVD 可作为卵巢上皮性肿瘤血管增生状态的评价指标,说明 Endoglin 与肿瘤血管增生状态之间的关系。细胞分级和临床分期是影响恶性卵巢上皮性肿瘤预后的重要因素,分级低、分期晚者预后差。本实验Endoglin 标记的 MVD 在分级低、分期晚的肿瘤中计数高,所以 Endoglin 有可能成为判断恶性卵巢上皮性肿瘤预后的重要指标。Endoglin 与恶性卵巢上皮性肿瘤血管增生密切相关,通过干预 Endoglin 相关信息通路,也可能为恶性卵巢上皮性肿瘤抗血管治疗提供新途径、新方法。

参考文献:

[1] Emoto M, Iwasaki H, Mimura K, *et al*. Differences in the angiogenesis of benign and malignant ovarian tumors, demonstrated by analyses of color Doppler ultrasound, immunohistochemistry, and microvessel density[J]. Cancer, 1997, 80(5): 899 - 907.

[2] Dellas A, Moch H, Schultheiss E, *et al*. Angiogenesis in cervical neoplasia: microvessel quantitation in precancerous lesions and invasive carcinomas with clinicopathological correlations[J]. Gynecol Oncol, 1997, 67(1): 27 - 33.

[3] 毕仙民, 梁志清, 侍立峰. Endoglin 特异性结合短肽筛选及功能分析[J]. 重庆医科大学学报, 2007, 32(3): 232 - 235.

[4] Wang J M, Kumar S, van-Agthoven A, *et al*. Irradiation induces up-regulation of E9 protein(CD105) in human vascular endothelial cells [J]. Int J Cancer, 1995, 62(6): 791 - 796.

[5] Ding I, Sun J Z, Fenton B, *et al*. Intratumoral administration of endostatin plasmid inhibits vascular growth and perfusion in MCa-4 murine mammary carcinomas[J]. Cancer Res, 2001, 61(2): 526 - 531.

[6] Chien C Y, Su C Y, Hwang C F, *et al*. Clinicopathologic significance of CD105 expression in squamous cell carcinoma of the hypopharynx [J]. Head Neck, 2006, 28(5): 441 - 446.

[7] Kyzas P A, Agnantis N J, Stefanou D. Endoglin (CD105) as a prognostic factor in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Virchows Arch, 2006, 448(6): 768 - 775.

[8] Akagi K, Ikeda Y, Sumiyoshi Y, *et al*. Estimation of angiogenesis with anti-CD105 immunostaining in the process of colorectal cancer development [J]. Surgery, 2002, 131(1 Suppl): S109 - S113.

[9] Chien C Y, Su C Y, Hwang C F, *et al* . High expressions of CD105 and VEGF in early oral cancer predict potential cervical metastasis[J]. J Surg Oncol, 2006, 94(5): 413 - 417.

(编辑　吴培红)

《临床医学工程》杂志欢迎投稿

《临床医学工程》(Clinical Medical Engineering)是经国家新闻出版总署批准(批准文号:新出报刊[2008]946号),由国家医疗保健器具工程技术研究中心主办的学术期刊,国内统一刊号:CN 44 - 1655/R,国际标准刊号:ISSN 1674 - 4659,邮发代号:46 - 130。刊号查询:http://www.gapp.gov.cn(国家新闻出版总署)。

《临床医学工程》刊名由全国人大常委会副委员长,九三学社中央主席,中国科学技术协会主席,北京大学医学部主任、教授,中国科学院院士韩启德题写。

《临床医学工程》被国内重要科技文献检索系统收录,如中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊(编号GD084),中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊(编号 ZY0849),中国知网(CNKI)全文收录期刊,中文科技期刊数据库(全文版)收录期刊(编号 06 - 1063)等。

根据《继续医学教育学分授予与管理办法》,在我刊发表论文和综述,第一作者至第三作者可授予继续医学教育Ⅱ类学分 6 ~ 4 学分。

主要栏目:专家述评(特别报道),论著(临床研究、实验研究、基础研究、调查研究、卫生管理),临床护理,中医中药,医学工程,医学教研,综述,短篇论著(论著摘要),临床个案(病例报告)。

本刊文章不连排,不转版,方便查阅,方便复印。

欢迎临床医护、医学工程等人士预约投稿。

优先刊登基金课题论文,硕士和博士研究生毕业论文。

地址:广东省广州市广州大道北 507 号　　**邮编**:510500

电话:(020)36013508,13719192771　　**网址**:http://www.lcyxgc.com

E-mail:lcyxgc001@126.com