维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2007)01-0052-03

食管鳞癌组织中 MIFmRNA 的表达及其意义

赵劲松[1],廖克龙[2]

(第三军医大学附属西南医院胸心外科,重庆 400038)

【摘 要】目的:探讨巨噬细胞移动抑制因子(MIF)mRNA 在食管鳞癌及正常食管组织中的表达及其与临床病理特征的关系。方法:采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法检测 MIFmRNA 在 80 例手术切除的食管鳞癌组织及正常食管组织中的表达。结果:MIFmRNA 表达率在食管鳞癌中为 85%(68/80),而在正常食管组织中为 15%(15/80),有显著性差异($P<0.01$)。MIFmRNA 的阳性表达率与肿瘤细胞分化程度及 TNM 分期有关($P<0.05$),而与患者年龄、性别、肿瘤大小以及有无淋巴结转移无关($P>0.05$)。结论:MIFmRNA 的高水平表达说明其参与了食管鳞癌的发病机制.并将可能为食管鳞癌的早期诊断和治疗提供一种新的手段。

【关键词】巨噬细胞移动抑制因子;逆转录聚合酶链反应;食管鳞癌

【中国图书分类法分类号】R655 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-07-11

Expression and Significance of macrophage migration inhibitory factor mRNA in esophagus squamous cell carcinoma

ZHAO Jinsong, et al

(*Department of Cardiothoracic Surgery, Southwest Hospital, the Third Military Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To explore the mRNA expression of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in esophageal squamous cell carcinoma and its relationship with the clinical pathologic characteristics of that carcinoma. *Methods*: The expressions of MIF mRNA in esophageal carcinoma tissues and normal esophageal tissues were detected by RT-PCR in eighty patients. *Results*: MIF mRNA expression rate in esophageal carcinoma was 85%(68/80), while in the normal esophageal tissues it was 15%(15/80). the difference was significant ($P<0.01$). The positive expression rate of MIF mRNA was correlated with differentiation degree and TNM stage of carcinoma ($P<0.05$), but not with patient age, patient sex, or lymph node metastasis ($P>0.05$). *Conclusion*: Increased MIFmRNA expression contributed to carcinogenesis of esophageal squamous cell carcinoma, which might provide a new way for early diagnosis and therapy of esophageal carcinoma.

【Key words】Macrophage migration inhibitory factor; Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR); Esophageal squamous cell carcinoma

我国是食管癌高发区之一,目前综合治疗的 5 年生存率约 30%[1]。MIF (macrophage migration inhibitory factor) 是 1966 年在 IV 超敏反应中发现的致炎前因子,参与内毒素性休克、肾小球肾炎以及动脉粥样硬化的病理过程,MIF 蛋白与细胞增殖、调亡的调控以及肿瘤的发生发展有着密切的关系。我们的前期实验结果已经证实 MIF 蛋白在食管鳞癌组织中的表达有明显的增加,现在我们利用 RT-PCR 法检测手术切除的食管鳞癌标本中 MIFmRNA 表达,探讨 MIF 在转录水平的表达与食管鳞癌临床病理特征之间的关系。

1 材料和方法

1.1 材料

80 例食管鳞癌组织及 80 例正常食管组织分别取自第三军医大学附属西南医院胸心外科 2005 年 3 月到 2006 年 4 月食管鳞癌接受手术治疗的患者,80 例患者的临床病理特征见表 1,术前均未接受新辅助治疗。取食管癌组织与正常食管组织,放入经二乙基焦碳酸酯(DEPC)处理过的 Ep 管内,置于 -70℃低温冰箱保存备用。TriPure 分离试剂(Roche),RT-PCR 试剂盒(上海 PROMEGA 公司),MIF 引物及 β-actin 引物(上

作者介绍:赵劲松(1975-),男,硕士生,主治医师,主要研究方向:食管癌发病机制的研究。

维普资讯 http://www.cqvip.com

海基康生物有限公司合成)、DNA marker Ⅰ (北京天为时代)、紫外分光光度计(DU-640 型,美国)、PCR 扩增仪(2700 型,PE 公司,美国)、ZF-90 型多功能暗箱式紫外透射仪(上海顾村电光仪器厂)、凝胶成像仪(Bio-Rad 公司,美国)。

1.2 方法

采用 TriPure 一步法提取组织总 RNA,操作方法按试剂说明进行。将提取的总 RNA 用 DEPC 处理过的去离子水重悬 RNA 颗粒,紫外分光光度计(Bio-Rad)下进行核酸定量。RT-PCR 检测食管鳞癌及正常食管组织中 MIF mRNA 的表达,采用两步法试剂盒(上海 PROMEGA 公司),MIF 与 β-actin 引物序列根据电脑软件 Primer5.0 版设计,其上游序列:5'-GTT CCT CTC CGA GCT CAC CCA GCA GC-3';下游序列:5'-GCA GCT TGC TGT AGG AGC GGT TCT G-3'。PCR 产物片段约为 350bp,以 β-actin 为内参照,其上游引物序列:5'-ATG GAA TTC CCG TGG AAC AAG AAT GAG ATC AG-3';下游引物序列:5'-CGT CAT ACT CCT GCT TGC TGA TCC ACA TCA GC-3',PCR 产物片段约为 100bp。RT-PCR 的操作步骤参照试剂盒说明进行,先将以上所提取的总 RNA 反转录成 cDNA,PCR 扩增反应:取 2μl 反转录 cDNA PCR 扩增,反应体积为 50μl,并按以下参数在 PCR 扩增仪(2400 型,PE 公司,美国)上进行:94℃预变性 5 分钟,94℃变性 50s,58℃退火 50s,72℃延伸 2min,35 个循环,72℃最终延伸 8min,4℃贮存备用。取 5μl PCR 产物经 1.2%琼脂糖凝胶电泳,溴化乙锭染色后,紫外透射仪下观察结果,并在凝胶成像仪上照相,以 DNA-Maker Ⅰ为标准,在约 350bp 位置出现条带为 MIF 表达阳性,而 β-actin 在 100bp 位置上出现条带为表达阳性。

统计学处理:采用 SPSS10.0 软件进行 χ^2 检验分析。

2 结 果

2.1 MIFmRNA 的检出率

80 例食管癌患者中有 68 例的 MIFmRNA 呈阳性表达,总阳性率为 85%。正常食管组织中有 12 例(15%)表达为阳性或弱阳性。两者具有统计学差异($P<0.01$)(图 1)。

2.2 MIFmRNA 表达与临床病理

MIFmRNA 阳性表达率与患者年龄、性别、肿瘤大小、及有无淋巴结转移无关($P>0.05$),与肿瘤分化程度及 TNM 分期有关($P<0.05$)(表 1)。

3 讨 论

巨噬细胞移动抑制因子(MIF)是研究较早的一种细胞因子,最初的实验发现它能有效抑制巨噬细胞的游走而得名。近年的研究发现作为致炎因子研究的 MIF 在非小细胞肺癌、前列腺癌等多种恶性肿瘤组织中存在过量的表达[2,3],现在我们通过 RT-PCR 实验半定量检测食管鳞癌组织 MIFmRNA 的表达,并发现其表达水平远远高于正常食管组织,这就从转录水平证实在食管鳞癌组织中 MIF 确实存在高水平表达,但是肿瘤细胞上调 MIFmRNA 表达的机制目前还不清楚,需要进一步的研究探索。就目前的研究资料而言 MIF 可能通过以下几个途

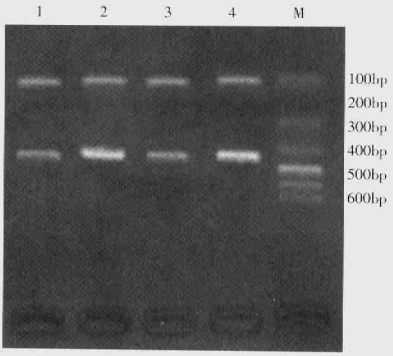


Fig 1

M:DNA marker Ⅰ;1,3:normal tissues;2,4:esophageal cancerous tissues

图 1 食管鳞癌及正常食管组织 MIF mRNA 片段表达

表 1 MIFmRNA 表达与食管鳞癌临床病理参数的关系

Clinical pathologic parameter		n	MIF expression		P value
			Positive	Negative	
Gender	Male	66	58	8	0.117
	Female	14	10	4	
Age	<60	48	42	6	0.588
	≥60	32	26	6	
Lymph node Metastasis	No	45	36	9	0.156
	Yes	35	32	3	
Differentiation	Well	6	5	1	0.026
	Moderate	28	24	4	
	Poor	46	39	7	
TNM stage	0 and 1	14	12	2	0.048
	2	31	26	5	
	3	35	30	5	

维普资讯 http://www.cqvip.com

径参与了肿瘤的发病机制：1.MIF 促进肿瘤细胞的分裂增殖：肿瘤细胞的增殖受多种因素的影响，其中 ERK/MAPK、细胞周期素 D1 以及转录因子 E2F 家族都起着重要的作用，Mitchell 等研究发现 MIF 通过持续、快速磷酸化激活 ERK1/ERK2/MAPK 信号转导，使处于生长静止期的 NIH/3T3 纤维母细胞活化增殖 [4]，MIF 对 ERK/MAPK 的持续性激活也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。MIF 通过抑制 myc 基因诱导的 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，Petrenko O[5]等报道在 P53 基因剔除的细胞系中，MIF 能直接与 Rb-E2F 的相互作用来调控细胞的增殖。2.MIF 促进肿瘤血管生成：目前已有关于 MIF 与肿瘤微血管密度（MVD）、血管内皮生长因子（VEGF）以及 IL-8 等多种与肿瘤血管形成有关因素的相关性研究，其中包括非小细胞肺癌[6,7]，结肠癌[8]等，报道证实 MIF mRNA 的表达程度与 MVD、以及 VEGF 成正相关。对诱导肿瘤血管形成起主要作用的 MIF 可能更多的来源于肿瘤细胞本身的自分泌，Bacher 等[9]报道在缺氧和低血糖的条件下星状细胞瘤的瘤细胞可以诱导自身表达更多的 MIF，而缺氧和低血糖是诱导血管形成的最根本的因素，而且 MIF 与 VEGF 的表达程度呈现为强烈的正相关。3.MIF 对其他抑癌基因的转化：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，MIF 可以通过对 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，参与调节细胞的生长周期。综上所述，MIFmRNA 在食管鳞癌组织中的过量表达说明 MIF 参于了食管鳞癌的发病机制，而且 MIFmRNA 的表达水平和食管鳞癌 TNM 分期以及肿瘤的分化程度密切相关，食管癌的 TNM 分期是影响患者预后的重要的因素之一，这提示应用 MIFmRNA 的 RT-PCR 检测不仅可以帮助判断肿瘤的分化程度，指导临床治疗，还能判断患者的预后，为食管鳞癌的早期诊断和治疗提供一种新的手段。

（通讯作者：廖克龙，地址：第三军医大学附属西南医院胸心外科，电话 023-68765329）

参 考 文 献

[1] Harry Hua-Xiang Xia,Shu Tian Zhang,Shiu Kum Lam,et al. Expression of macrophage migration inhibitory factor in esophageal squamous cell carcinoma and effects of bile acids and NSAIDs[J]. Carcinogenesis,2005;26(1):11-15.

[2] Takahashi N,Nishihira J,Sato Y,et alInvolvement of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in the mechanism of tumor cell growth[J].Mol Med,1998;4(11):707-714.

[3] Meyer-Siegler K,Fattor RA,Hudson PB.Macrophage migration inhibitory factor (MIF):a novel tumor marker for prostate cancer[J]. Diagn Mol Pathol,1998;7(1):44-55.

[4] Mitchell RA,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 USA,2002;99(1):345-350.

[5] Petrenko O,Moll UM.Macrophage migration inhibitory factor MIF interferes with the Rb-E2F pathway [J].Mol Cell,2005;17(2): 225-236.

[6] Kamimura A,Kamachi M,Nishihira J,et al.Intracellular distribution of macrophage migration inhibitory factor predicts the prognosis of patients with adenocarcinoma of the lung Cancer[J].2000;89 (2):334-341.

[7] White ES,Flaherty KR,Carskadon S,et al.Macrophage migration inhibitory factor (MIF)and CXC chemokine expression in human non-small cell lung cancer (NSCLC):Role in Angiogenesis and Prognosis[J].Clin Cancer Res,2003;9(2):853-861.

[8] Ogawa H,Nishihira J,Sato Y,et al.An antibody for macrophage migration inhibitory factor suppresses tumour growth and inhibits tumour-associated angiogenesis [J].Cytokine,2000;12(4):309-314.

[9] Bacher M,Schrader J,Thompson N,et al.Up-Regulation of Macrophage Migration Inhibitory Factor Gene and Protein Expression in Glial Tumor Cells during Hypoxic and Hypoglycemic Stress Indicates a Critical Role for Angiogenesis in Glioblastoma Multiforme[J].Am J Pathol,2003;162(1):11-17.