

巨噬细胞移动因子在骨肉瘤患者血清中的表达及临床意义

蔡 滕,流小舟,樊根涛,周光新,施 鑫,吴苏稼
(南京军区南京总医院,江苏 南京 210002)

摘 要: [目的] 评价巨噬细胞移动因子(MIF)在骨肉瘤患者血清中的表达及临床意义。[方法] 应用酶联免疫吸附分析(ELISA)方法,检测 30 名健康人(对照组)和 32 例骨肉瘤患者(病例组)初次入院、术后化疗前、术后化疗结束时血清 MIF 水平,分析 MIF 的表达与骨肉瘤临床病理特征的关系以及化疗对 MIF 水平的影响。[结果] 病例组患者入院时血清 MIF 为 (1.521 ± 0.520) ng/ml,显著高于对照组的 (1.149 ± 0.284) ng/ml($t=3.452, P=0.001$)。MIF 的血清水平与骨肉瘤临床分期、肿瘤大小和转移存在相关性。患者化疗前血清中 MIF 水平显著高于化疗后($P<0.05$)。[结论] MIF 在骨肉瘤患者血清中高表达,可能为骨肉瘤的重要预后因子及潜在的治疗靶点。

关键词: 骨肉瘤;巨噬细胞移动抑制因子;化疗;转移

中图分类号:R738.1 文献标识码:A 文章编号:1004-0242(2012)07-0552-04

Expression of Serum MIF in Patients with Osteosarcoma and its Clinical Significance

CAI Teng, LIU Xiao-zhou, FAN Gen-tao, et al.

(Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, PLA, Nanjing 210002, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the expression of serum macrophage migration inhibitory factor (MIF) in patients with osteosarcoma and its clinical significance. [Methods] The level of serum MIF of 30 healthy person (control group) and 32 cases with osteosarcoma (case group) at initial hospitalization, before and after chemotherapy was detected by Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The relationship of MIF expression with clinicopathological features of osteosarcoma, and the effect of chemotherapy with the level of serum MIF were analyzed. [Results] The level of serum MIF of case group at initial hospitalization [(1.521 ± 0.520) ng/ml] was significantly higher than that in control group [(1.149 ± 0.284) ng/ml] ($t=3.452, P=0.001$). The level of serum MIF was related to osteosarcoma clinical stages, tumor size and metastasis. The level of serum MIF in patients pre-chemotherapy was significantly higher than that in patients post-chemotherapy. [Conclusion] MIF is high expression in patients with osteosarcoma, it may as a prognostic marker and a potential therapeutic target for osteosarcoma.

Key words: osteosarcoma; macrophage migration inhibitory factor; chemotherapy; metastasis

骨肉瘤是最常见的原发性骨肿瘤,呈高度恶性,转移率极高,约 80%骨肉瘤患者在确诊时已出现不同程度的转移^[1]。出现转移的骨肉瘤患者预后很差,5 年生存率不到 30%^[2]。巨噬细胞移动因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)是一种炎症诱发因子,在免疫系统中发挥重要作用^[3]。最近

研究发现, MIF 在多种肿瘤中表现出致癌作用^[4-6]。MIF 在多方面参与肿瘤生长,包括肿瘤细胞增殖,肿瘤血管形成,抑制肿瘤细胞的凋亡^[7]。而且 MIF 在多种肿瘤中可以对生存率作出预测,如肝癌、肺癌、前列腺癌、食管癌^[5,6,8,9]。本文分析 MIF 在不同临床病理特征骨肉瘤患者血清中的表达,探讨骨肉瘤患者血清中 MIF 表达与转移的关系,以及 MIF 预测预后的价值等,为骨肉瘤的临床治疗提供参考依据。

收稿日期:2012-02-09;修回日期:2012-04-06

基金项目:江苏省自然科学基金(BK 2010461)

通讯作者:吴苏稼, E-mail: wusujia@yahoo.com.cn

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2008 年 3 月至 2009 年 8 月在南京军区南京总医院住院的骨肉瘤患者共 32 例(病例组)。年龄 8~47 岁(平均 17 岁);男性 20 例,女性 12 例。临床分期按 Enneking 临床分期法(1986 年修订):ⅡB 期 28 例,Ⅲ期 4 例;组织学分型参照 Dahlin 组织学分型法:骨母细胞型 19 例,纤维母细胞型 6 例,软骨母细胞型 5 例,恶纤维组型及小细胞型各 1 例;骨肉瘤原发部位:股骨下段 15 例,胫骨上段 9 例,其他部位 8 例;肿瘤大小:直径 ≥ 5 cm 为 19 例, <5 cm 13 例。根据肿瘤发生转移情况将患者分为 3 组:治疗前转移组、治疗期间转移组、未发生转移组。30 名志愿者(对照组)来源于 2009 年 11 月至 2010 年 6 月期间来我院献血的健康志愿者,男性 22 名,女性 8 名,年龄 18~32 岁。

1.2 方法

骨肉瘤患者术前 3 次化疗及术后 6~8 次化疗方案参照全国骨肉瘤化疗座谈会推荐化疗方案^[10]。

采集骨肉瘤患者首次入院时血样、术后化疗前一日血样、术后化疗 6 次结束时血样及健康人血样,所有血样经离心后保留血清,保存于 -70°C 冰箱待检。检测方法按 ELISA 试剂盒说明书操作。

1.3 统计学处理

采用 SPSS17.0 软件,计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,多组间比较采用方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

32 例骨肉瘤患者首次入院时血清 MIF 水平为(1.521 ± 0.520)ng/ml,30 例对照组血清 MIF 水平为(1.149 ± 0.284)ng/ml。骨肉瘤患者血清中 MIF 水平明显高于对照组($t=3.452, P=0.001$)。

2.1 血清 MIF 水平与骨肉瘤临床病理特征的关系

骨肉瘤ⅡB 期患者血清中 MIF 水平显著低于Ⅲ期患者($t=2.930, P=0.006$)。肿瘤直径 <5 cm 的患者血清中 MIF 水平明显低于肿瘤直径 ≥ 5 cm 的患者($t=3.412, P=0.002$)。不同 Dahlin 组织学分型组间($F=1.404, P=0.262$),不同肿瘤原发部位组间($F=0.038, P=0.963$)

表 1 不同临床病理特征患者的血清 MIF 水平

临床病理特征	例数	MIF 水平 (ng/ml)	t/F	P 值
Enneking 临床分期			2.930	0.006
ⅡB 期	28	1.429 ± 0.491		
Ⅲ期	4	2.160 ± 0.115		
Dahlin 组织学分型			1.404	0.262
骨母细胞型	19	1.373 ± 0.508		
纤维母细胞型	6	1.754 ± 0.501		
软骨母细胞型	5	1.550 ± 0.591		
恶纤维组型、小细胞型	2	1.929 ± 0.167		
肿瘤直径(cm)			3.412	0.002
≥ 5	19	1.744 ± 0.449		
<5	13	1.119 ± 0.450		
原发部位			0.038	0.963
股骨下段	15	1.510 ± 0.605		
胫骨上段	9	1.561 ± 0.508		
其他部位	8	1.494 ± 0.414		
是否发生转移			17.63	0.0001
治疗前转移	4	2.160 ± 0.115		
治疗期间转移	11	1.818 ± 0.352		
未发生转移	17	1.118 ± 0.396		

患者血清中 MIF 水平无明显差异。见表 1。

2.2 化疗对骨肉瘤患者血清中 MIF 的表达水平的影响

32 例患者均接受骨肉瘤保肢手术及术前、术后新辅助化疗,结果表明,患者术后化疗前血清中 MIF 水平为 1.503 ± 0.338 ng/ml,显著高于术后化疗结束时血清中 MIF 水平的 1.162 ± 0.434 ng/ml,差异有显著性($t=3.349, P=0.001$)。见表 1。

2.3 血清 MIF 水平与肿瘤转移的关系

对治疗前转移组、治疗期间转移组及未发生转移组患者血清中 MIF 水平分析比较,结果显示治疗前转移组 MIF 水平最高,有转移的患者血清中 MIF 水平显著高于未发生转移组,差异有统计学意义($F=17.63, P=0.0001$)。见表 1。

3 讨论

MIF 是一种含有 115 个氨基酸残基的蛋白质,广泛存在于人体组织中。MIF 可通过 ERK 及 JNK 信号通路途径,最终激活丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK),进而促进肿瘤细胞生长、增殖及凋亡^[11]。MIF 还可激活 PI3K-Akt 信号通路,发挥抗凋亡作用,其机制主要包括:直接

调节凋亡 Bcl-2 家族成员的促凋亡因子 Bad^[12];直接或间接影响转录因子家族 (Forkhead、NF- κ B、p53 等) 发挥细胞存活调控作用^[13];防止线粒体释放凋亡因子^[14]。CD74 是一种 II 型跨膜蛋白,与 MIF 具有高度亲和力,MIF 可与 CD74、CD44 分子共同作用,引起 ERK1/2 磷酸化,促进细胞凋亡^[15];MIF 可与 CD74 胞外域结合,激活 Rho,再激活 Rho 激酶,在细胞周期的 G₁/S 期进下激活 ERK/MAPK 途径,上调细胞周期蛋白 D1 的表达,促进 Rb 磷酸化,并上调转录因子 E2F,促进细胞增殖^[16]。

最近有研究表明,一些慢性炎症性疾病与各种肿瘤的形成有关,如 Barrett 食管^[17],幽门螺杆菌感染^[18],炎症性肠病^[19],乙型病毒性肝炎^[20]。炎症有利于抵御感染及损伤,同时也能够促进肿瘤生长及转移的微环境形成^[21]。MIF 在炎症发生中发挥着重要作用,减少体内 MIF 的表达可以防止内毒素休克发生^[7]。Conroy 等^[22]研究表明,表现为慢性损害性炎症倾向的个体,可能面临较大的肿瘤发生风险。MIF 不仅可以直接促进肿瘤生成,而且可以间接促进局部肿瘤微环境的形成,同时,对于可能演变为癌症的慢性扩张性炎症,MIF 可作为主要治疗靶点^[22]。因此考虑 MIF 在炎症过程及肿瘤发生之间起着直接联系的作用。

MIF 在多种恶性肿瘤中呈高表达,如结肠癌、恶性胶质瘤、非小细胞肺癌、肝细胞肝癌^[4,6,8,9,23,24]。大量研究^[4,6,8,9]表明,MIF 的表达与肿瘤血管生成及转移相关。MIF 可以促进血管生成因子生成及肿瘤细胞迁移^[9,25]。在恶性胶质瘤中,MIF 的表达水平增高,且与 VEGF 表达呈正相关^[26]。Han 等^[27]用免疫组织化学法检测高度恶性骨肉瘤患者活检组织标本,发现 MIF 的表达与微血管密度有关,且 MIF 可预示患者总生存期及无转移生存期;同时,在体外进行的骨肉瘤细胞株实验表明,MIF 呈剂量依赖性地显著增加 VEGF 的表达,而敲除 MIF 可导致肿瘤细胞侵袭力下降;认为 MIF 不仅可作为骨肉瘤重要的预后标志物,而且可能是一种针对骨肉瘤靶向治疗的新方法。本研究中骨肉瘤患者 MIF 水平与转移的显著相关性进一步证实了 MIF 在骨肉瘤的恶性侵袭和转移中的作用,是影响预后的重要因素。

本研究结果显示,MIF 在骨肉瘤患者血清中表达水平高于健康人,表明骨肉瘤患者血清中存在明

显的 MIF 蛋白过度表达,对于骨肉瘤的诊断具有重要的意义。MIF 表达与肿瘤大小及临床分期相关,而肿瘤侵袭浸润的程度是通过临床分期及肿瘤大小来衡量^[28],提示 MIF 与骨肉瘤的发生、发展有关。另本研究结果表明化疗可下调骨肉瘤细胞 MIF 水平,可能由于化疗改变相应的生物学活性,从而促进骨肉瘤患者血清中 MIF 水平下降,因此,血清 MIF 水平可能成为判断骨肉瘤化疗效果和预后的指标。

本研究还有很多不足之处,如样本量较少,MIF 是否可以作为骨肉瘤患者预后的评价指标还需要大规模的人群长期随访。

参考文献:

- [1] Marina N, Gebhardt M, Teot L, et al. Biology and therapeutic advances for pediatric osteosarcoma[J]. *Oncologist*, 2004, 9(4):422-441.
- [2] Kager L, Zoubek A, Potschger U, et al. Primary metastatic osteosarcoma: presentation and outcome of patients treated on neoadjuvant Cooperative Osteosarcoma Study Group protocols[J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(10):2011-2018.
- [3] Mitchell RA. Mechanisms and effectors of MIF-dependent promotion of tumorigenesis [J]. *Cell Signal*, 2004, 16(1): 13-19.
- [4] Hira E, Ono T, Dhar DK, et al. Overexpression of macrophage migration inhibitory factor induces angiogenesis and deteriorates prognosis after radical resection for hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer*, 2005, 103(3):588-598.
- [5] Ren Y, Law S, Huang X, et al. Macrophage migration inhibitory factor stimulates angiogenic factor expression and correlates with differentiation and lymph node status in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Ann Surg*, 2005, 242(1):55-63.
- [6] White ES, Flaherty KR, Carskadon S, et al. Macrophage migration inhibitory factor and CXC chemokine expression in non-small cell lung cancer: role in angiogenesis and prognosis[J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(2):853-860.
- [7] Bach JP, Rinn B, Meyer B, et al. Role of MIF in Inflammation and Tumorigenesis [J]. *Oncology*, 2008, 75 (3-4): 127-133.
- [8] Meyer-Siegler K, Hudson PB. Enhanced expression of macrophage migration inhibitory factor in prostatic adenocarcinoma metastases[J]. *Urology*, 1996, 48(3):448-452.
- [9] Ren Y, Tsui HT, Poon RT, 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.
- [10] 胡永成.全国骨肉瘤化疗座谈会纪要[J]. *中华骨科杂志*, 1999, 19(1):7-10.

- [11] 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.
- [12] Song G, Ouyang GL, Bao SD. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival [J]. *J Cell Mol Med*, 2005, 9(1): 59-71.
- [13] Burgering BM, Medema RH. Decisions on life and death: FOXO forkhead transcription factors are in command when PKB/Akt is off duty[J]. *J Leukoc Biol*, 2003, 73(6):689-701.
- [14] Kim EC, Yun BS, Ryoo IJ, et al. Complestatin prevents apoptotic cell death: inhibition of a mitochondrial caspase pathway through AKT/PKB activation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 313(1):193-204.
- [15] Shi X, Leng L, Wang T, et al. CD44 is the signaling component of the macrophage migration inhibitory factor-CD74 receptor complex [J]. *Immunity*, 2006, 25(4):595-606.
- [16] Swant JD, Rendon BE, Symons M, et al. Rho GTPase-dependent signaling is required for macrophage migration inhibitory factor-mediated expression of cyclinD1 [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(24): 23066-23072.
- [17] Reid BJ, Li X, Galipeau PC, et al. Barrett's oesophagus and oesophageal adenocarcinoma: time for a new synthesis [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(2):87-101.
- [18] Herrera V, Parsonnet J. *Helicobacter pylori* and gastric adenocarcinoma [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2009, 15 (11): 971-976.
- [19] Feagins LA, Souza RF, Spechler SJ. Carcinogenesis in IBD: potential targets for the prevention of colorectal cancer[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2009, 6(5):297-305.
- [20] Fung J, Lai CL, Yuen MF. Hepatitis B and C virus-related carcinogenesis[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2009, 15(11):964-970.
- [21] Mantovani A, Allavena P, Sica A, et al. Cancer-related inflammation[J]. *Nature*, 2008, 454(7203):436-444.
- [22] Conroy H, Mawhinney L, Donnelly SC. Inflammation and cancer: macrophage migration inhibitory factor (MIF)-the potential missing link[J]. *QJM*, 2010, 103(11):831-836.
- [23] Meyer-Siegler KL, Iczkowski KA, Vera PL. Further evidence for increased macrophage migration inhibitory factor expression in prostate cancer [J]. *BMC Cancer*, 2005, 5:73.
- [24] Wilson JM, Coletta PL, Cuthbert RJ, et al. Macrophage migration inhibitory factor promotes intestinal tumorigenesis [J]. *Gastroenterology*, 2005, 129(5):1485-1503.
- [25] Fu H, Luo F, Yang L, et al. Hypoxia stimulates the expression of macrophage migration inhibitory factor in human vascular smooth cells via HIF-1 alpha dependent pathway[J]. *BMC Cell Biol*, 2010, 11: 66.
- [26] 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.
- [27] Han I, Lee MR, Nam KW, et al. Expression of macrophage migration inhibitory factor relates to survival in high-grade osteosarcoma [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2008, 466 (9): 2107-2113.
- [28] Kim MS, Lee SY, Cho WH, et al. Initial tumor size predicts histologic response and survival in localized osteosarcoma patients[J]. *J Surg Oncol*, 2008, 97(5): 456-461.

全国肿瘤登记工作推进会暨技能培训班预告

中央补助地方肿瘤登记项目已经在全国 195 个肿瘤登记处开展。为了充分交流登记工作经验,提高肿瘤登记数据质量,加强肿瘤信息交流和应用,进一步促进肿瘤登记工作顺利开展,卫生部疾病预防控制局定于 2012 年 8 月 28~29 日在青海省西宁市召开全国肿瘤登记工作推进会暨技能培训班。

会议内容:2012 年肿瘤登记工作进展汇报及下一步工作安排;通报 2012 年肿瘤登记资料收集情况及初步审核分析结果;部分省(区、市)肿瘤登记工作情况汇报,交流肿瘤登记工作存在的问题和面临的挑战、经验与体会;《中国癌症防治行动计划(2012-2015 年)》的制订与介绍;培训:肿瘤登记数据的质量控制、开发与利用、资源共享,恶性肿瘤发病和死亡分析、生存分析研究。

本次会议由国家癌症中心(全国肿瘤防治研究办公室)承办,青海省第五人民医院(青海省肿瘤医院)协办。参会人员将授予国家级继续教育学分 6 分。全国肿瘤防治研究办公室联系人:张思维、郑荣寿,电话:010-87788230,传真:010-67718227。