

Endocan 在不同病理级别脑膜瘤中的表达与临床意义

Expression of Endocan in Meningiomas of Different Pathological Grades and its Clinical Significance
SONG Zhi-fu, XIA Xiang-guo, WU Wen-you, et al.

宋志富¹, 夏祥国², 吴文友¹, 郑捍东¹, 袁 灵¹, 甘玉兰¹, 谭 灵¹

(1. 泸州市人民医院, 四川 泸州 646000; 2. 西南医科大学附属医院, 四川 泸州 646000)

摘要: [目的] 探讨 Endocan 在不同病理级别脑膜瘤中的表达及其临床意义。[方法] 收集经手术切除的脑膜瘤组织 (meningioma tissue, MT) 标本 41 例作为实验组, 取 22 例因颅脑损伤行内外减压术患者的正常脑膜组织 (normal dural tissue, NDT) 作为对照组, 运用免疫组织化学方法 (SP 法) 检测两组 Endocan 的表达情况, 结合脑膜瘤病例的临床、影像、病理资料等与脑膜瘤侵袭相关指标进行分析。[结果] Endocan 在 NDT 中表达阴性 21 例, 阳性 1 例; 41 例 MT 中表达阳性 18 例, 阴性 23 例。I 级、II 级、III 级 MT 组分别有 6、8、4 例阳性; MT 组与 NDT 组 Endocan 表达差异有统计学意义 ($Z=-5.277, P<0.001$); Endocan 的表达与脑膜瘤病理分级呈正相关 ($r=0.601, P<0.001$)。不同性别、不同形状脑膜瘤患者间 Endocan 表达差异有统计学意义 ($\chi^2=-2.325, P=0.020; \chi^2=8.555, P=0.014$)。[结论] Endocan 在脑膜瘤中高表达, 可能参与脑膜瘤的生长与进展, 且表达与患者性别、脑膜瘤形状有关, 与脑膜瘤的病理分级呈正相关。

主题词: Endocan; 脑膜瘤; 病理分级

中图分类号: R739.45 **文献标识码:** B **文章编号:** 1671-170X(2017)04-0333-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2017.04.B016

脑膜瘤 (meningiomas) 占全部颅脑肿瘤的 19.2%~30.0%^[1], 2007 年 WHO 将其分为 3 级: I 级为良性脑膜瘤, II 级为低度恶性脑膜瘤, 以非典型 (atypical meningioma, AM) 最常见^[2], III 级为恶性脑膜瘤, 以间变型 (variant meningioma, VM) 最常见^[3], 因 WHO II 级和 III 级脑膜瘤术后有复发特征, 目前多数学者将其统称为恶性脑膜瘤。

脑膜瘤 (恶性脑膜瘤) 的治疗首选显微手术切除, 应尽量全切, 因为脑膜瘤切除程度及病理级别与肿瘤复发密切相关, 必要时可联合放疗等^[4], 但是有些脑膜瘤如恶性脑膜瘤 (WHO II 级和 III 级) 呈侵袭性生长, 术中难以完整切除, 术后复发率高, 很难治愈。因此寻找新的治疗手段才能更好的治愈脑膜瘤, 近年来, 随着免疫治疗和基因治疗的快速发展, 如抗血管内皮生长因子 (VEGF) 抗体贝伐单抗, 既可抑制颅内肿瘤生长又有保护放射性脑坏死作用^[5]。同时研究发现, 内皮细胞特异性分子-1 (Endocan) 可增强肿瘤微血管密度 (MVD) 和 VEGF 的表达^[6], 与肿瘤

的血管生长和侵袭性关系密切^[7,8], 研究 Endocan 有望对脑膜瘤的诊治带来新的途径。

1 材料与方法

1.1 标本与试剂

收集 2010 年 1 月至 2015 年 6 月经手术切除并病理诊断明确的脑膜瘤标本 41 例作为实验组, 对照组取自 22 例因颅脑损伤行内外减压术患者的正常脑膜组织 (已征求家属同意并经伦理委员会审批同意, 选取与脑膜瘤组年龄、性别相近, 排除合并其他疾病的患者)。取出组织标本并在酒精中浸泡, 蜡封后切片, 脑膜瘤组织 HE 染色后分级并分组, 采用 S-P 法染色技术分别检测脑膜瘤组织 (meningioma tissue, MT) 和正常脑膜组织 (normal dural tissue, NDT) 中 Endocan 的表达, SP 试剂盒 (上海博谷生物科技公司), 鼠抗人 Endocan 单克隆抗体 (瑞典 Agrisera 公司)。

1.2 一般资料

在 41 例 MT 平均年龄为 55.44 ± 14.65 岁, 其

通讯作者: 夏祥国, 主任医师, 硕士; 西南医科大学附属医院神经外科, 泸州市太平街 25 号 (646000); E-mail: xxgsin@sina.com
收稿日期: 2016-08-21; **修回日期:** 2017-01-03

中≤40岁4例,40~65岁25例,≥65岁12例,男性9例,女性32例;所有患者根据头颅CT或MRI分为凸面、非凸面(颅底/脑室旁)各26、15例;并测得肿瘤最大横切面直径≤3cm 18例,3~5cm 15例,≥5cm 8例;肿瘤周围水肿根据水肿指数(edema index,EI)^[9]:EI=(V 水肿-V 肿瘤)/V 肿瘤,V=肿瘤的三维最大直径的乘积/2,水肿程度分为无(EI=0),轻度(0<EI≤1),中度(1<EI≤2),重度(EI>2),其中轻度、中度、重度分别为24、6、11例。患者一般资料详见Table 1。

1.3 实验结果及判定标准

采用双盲法,在400倍显微镜下判断和记录结果并审核。每个图像在显微镜下随机抽取5个视野,记录阳性细胞数(N/100),胞质中为明显黄色或棕黄色颗粒记为阳性^[10],记录结果采取半定量计分法^[11]:在所视野中阳性细胞平均百分率<5%记0分,5%~25%记1分,25%~50%记2分,50%~75%记3分,>75%记4分。阳性表达细胞的染色强度分为:无染色者记0分;淡黄色记1分;黄色或褐色记2分;深褐色记3分。上述两者积分相加,0分记为表达阴性(-),1~2分为弱阳性(+),3~5分为阳性(++),>5分为强阳性(+++);最终以得分<3分为阴性,得分≥3分为阳性。

1.4 数据分析

运用SPSS19.0进行统计分析,组间比较采用χ²检验、秩和检验;等级变量关联性采用Spearman相关性检验,检验水准α=0.05。

2 结果

2.1 Endocan在NDT、不同病理级别MT中的表达

Endocan的表达在NDT中14例(-),7例(+),1例(++);MT中23例(+),11例(++),7例(+++)。I级MT共25例,其中19例(+),6例(++);II级MT共12例,其中4例(+),5例(++),3例(+++);III级MT共4例,其中4例均为(+++);Endocan的表达在MT与NDT、不同级别MT与NDT之差异均有统计学意义(P均<0.05)。MT中Endocan的表达强度与其病理级别呈正相关(t=0.601,P<0.001)。见Table 2,Figure 1~2。

2.2 Endocan表达与脑膜瘤临床病理特征的关系

41例MT中男性9例,Endocan表达3例(+),1

Table 1 The expression of Endocan in patients with different clinical and imaging features

Features	n	Endocan			χ ²	P
		+	++	+++		
Gender						
Male	9	3	1	5	2.325	0.020
Female	32	20	10	2		
Shape						
Round	30	19	9	2	8.555 ^a	0.014
Leaf	11	4	2	5		
Position						
Surface	26	17	7	2	4.756	0.093
Unsurface	15	6	4	5		
Dural tail						
Yes	23	15	5	3	1.781	0.410
No	18	8	6	4		
Tumor necrosis						
Yes	10	3	2	5	2.666	0.264
No	31	20	9	2		
Attack						
Yes	13	8	5	0	1.718	0.423
No	28	15	6	7		
Operation times						
1	36	23	11	2	4.250	0.373
≥2	5	0	0	5		
Age(years)						
≤40	4	3	1	0	50.125	0.389
40~65	25	18	5	2		
≥65	12	2	5	5		
Edema of tumor						
Light	24	16	7	1	7.621	0.267
Mild	6	3	1	2		
High	11	4	3	4		
Size(mm)						
≤3	18	11	6	1	4.250	0.373
3~5	15	7	4	4		
≥5	8	5	1	2		

Table 2 Expression of Endocan in normal dural tissues and meningioma tissues

Group	N	Endocan				Z'	P'
		-	+	++	+++		
NDT	22	14	7	1	0	-5.277	<0.001
MT	41	0	23	11	7		
Grade I	25	0	19	6	0	-4.442	<0.001
Grade II	12	0	4	5	3	-4.257	<0.001
Grade III	4	0	0	0	4	-3.449	0.010

Note: *: Compared with NDT group

例(+),5例(+++);女性32例,Endocan表达20例(+),10例(++),2例(+++)。肿瘤类圆形30例,其中

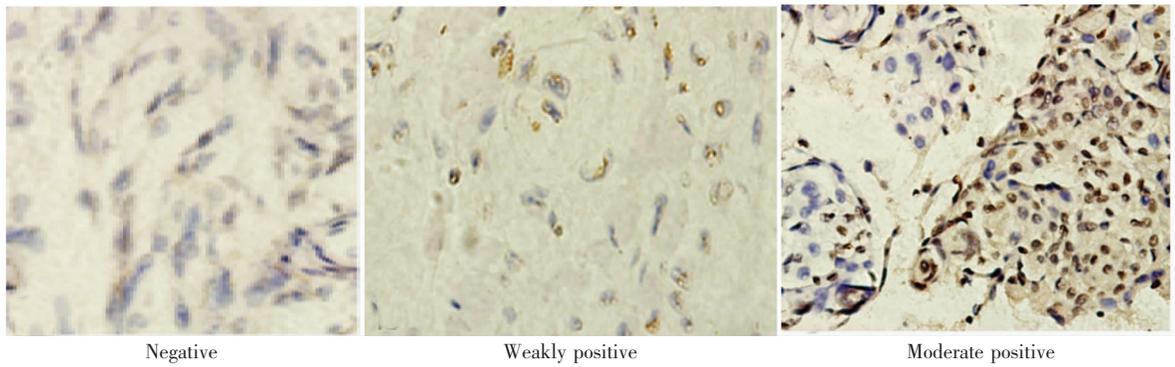


Figure 1 The expression of Endocan in meninges (×400)

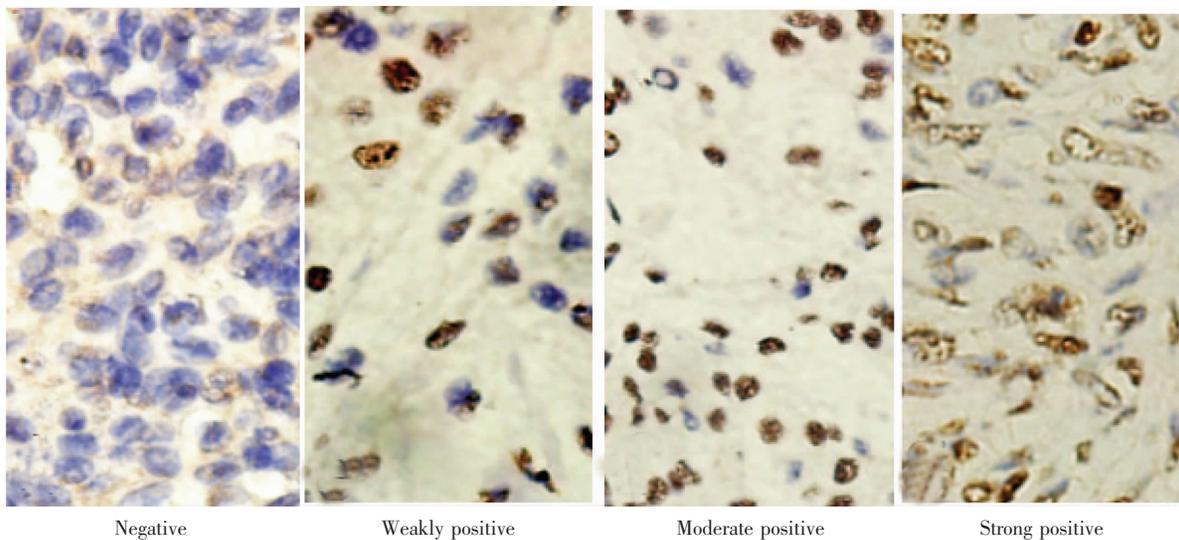


Figure 2 The expression of Endocan in meningioma (×400)

19例(+),9例(++),2例(+++);分叶形11例,其中4例(+),2例(++),5例(+++),在不同性别及形状的MT之间Endocan的表达差异有统计学意义(P 均 <0.05)。Endocan在不同年龄、肿瘤部位、脑膜尾征、坏死、水肿程度、直径、有无侵袭、手术次数组间差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。见Table 1。

3 讨论

近年来,随着对Endocan进一步研究,发现Endocan通过促进细胞增殖、免疫抑制、促进肿瘤的侵袭和转移、调节细胞外基质微环境,参与了多种肿瘤的发生、发展,如在颅内胶质瘤、黑色素瘤、脂肪瘤均发现Endocan高表达^[12],本研究中,Endocan在MT中高表达,在NDT和MT中的表达差异有统计学意义

($Z=-5.277, P<0.001$),推测Endocan可能与脑膜瘤的发生、发展有关。也有研究发现^[13],在人乳腺癌、骨肉瘤、恶性胶质瘤和脂肪肉瘤等富含血管的肿瘤中Endocan显著升高,且参与肝癌肿瘤浸润,增强MVD、VEGF表达^[14]及垂体瘤中血管侵袭^[15]。本次研究发现,在MT中Endocan的表达强度与脑膜瘤的病理分级呈正相关($r=0.601, P<0.001$),不同病理级别脑膜瘤之间两两比较,Endocan的表达差异均有统计学意义(P 均 <0.05),与文献资料相符,推测Endocan可能与脑膜瘤的病理级别及侵袭性有关。良性脑膜瘤中男女之比约为1:2,脑膜瘤好发于女性,而恶性脑膜瘤则相反^[16],本组4例Ⅲ级脑膜瘤均为男性,与文献相符。本研究发现,不同性别脑膜瘤病例之间Endocan的表达差异有统计学意义($\chi^2=2.325, P=0.020$)。研究发现^[17]:结扎老鼠双侧颈总动

脉 3D 后大脑微血管通透性增加, 血脑屏障被破坏; IgG 明显渗漏, 3 个月后 IgG 仍可见明显渗漏, 给予生理剂量雌激素替代治疗组无明显 IgG 渗漏; 提示雌激素可能增强 VEGF 表达, 参与血管生成; 也有学者^[18]在乳腺癌研究中发现, 雌激素过度表达与血管形成及 VEGF 表达增加有关, 因 Endocan 是一种分泌性因子, 在不同性别的脑膜瘤病例之间 Endocan 的表达差异显著, 推测雌激素可能通过刺激 VEGF 的表达调节 Endocan 表达。良性脑膜瘤主要为类圆形, 而恶性脑膜瘤因肿瘤呈侵袭性生长, 血供分布不均匀, 影像学上主要表现为分叶形。本组肿瘤类圆形 30 例, 分叶形 11 例, 分叶形脑膜瘤中, Endocan 表达强度更高, 在不同形状的脑膜瘤间 Endocan 的表达差异有统计学意义 ($\chi^2=8.555, P=0.014$), 也间接提示了 Endocan 表达与脑膜瘤病理级别相关。

本次结果中 Endocan 的表达与脑膜瘤部位、大小、年龄、脑膜尾征、瘤内坏死、水肿程度无明显相关性 (P 均 >0.05), 提示 Endocan 的表达强度可能与这些临床特征不相关, 但是本次为小样本实验, 可能存在误差, 需多中心、大样本资料进一步验证。

总之, Endocan 在脑膜瘤中高表达, 且与脑膜瘤的病理分级呈正相关, 同时与患者性别及脑膜瘤形状有关, 通过进一步研究, 有望对脑膜瘤诊断及治疗带来新的途径。

参考文献:

[1] Chamberlain MC, Glantz MJ, Fadul CE. Recurrent meningioma: salvage therapy with long-acting somatostatin analogue[J]. *Neurology*, 2007, 69(10): 969-973.

[2] Sade B, Chahlavi A, Krishnaney A, et al. World Health Organization Grades II and III meningiomas are rare in the cranial base and spine [J]. *Neurosurgery*, 2007, 61(6): 1194-1198.

[3] Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system[J]. *Acta Neuropathol*, 2007, 114(2): 97-109.

[4] Zong M, Miao YM, Jia WF, et al. Treatment and prognostic analysis of intracranial anaplastic meningioma [J]. *Chinese Journal of Neurosurgery*, 2016, 32 (8): 797-800. [宗淼, 苗彦明, 贾伟锋, 等. 颅内间变性脑膜瘤的治疗及预后分析 [J]. *中华神经外科杂志*, 2016, 32(8): 797-800.]

[5] Boström JP, Seifert M, Greschus S, et al. Bevacizumab treatment in malignant meningioma with additional radiation necrosis. An MRI diffusion and perfusion case study [J]. *Strahlenther Onkol*, 2014, 190(4): 416-421.

[6] Wan JP, Huang JA, Mu CY, et al. The Expression of endocan and FLK-1 and their correlations with angiogenesis

in non small cell lung cancer [J]. *Acta Universitatis Medicinalis Nanjing(Natural Science)*, 2009, 29(1): 28-31. [万锦平, 黄建安, 穆传勇, 等. 非小细胞肺癌 endocan、FLK-1 的表达与血管生成相关性研究 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2009, 29(1): 28-31.]

[7] Yin DQ, Zhang HY, Wu W. Expression and clinical significance of COX-2, VEGF and TGF- β 1 in thyroid carcinoma [J]. *J Med Res*, 2012, 41(4): 162-165.

[8] Roudnicky F, Poyet C, Wild P, et al. Endocan is upregulated on tumor vessels in invasive bladder cancer where it mediates VEGF-A-induced Angiogenesis [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(3): 1097-1106.

[9] Peng L, Zhou D, Hou QS, et al. Relationship between the expression of aquaporin-4 in meningiomas and peritumorous brain edema [J]. *Chinese Journal of Clinical Neurosurgery*, 2012, 17(2): 94-96. [彭龙, 周东, 侯庆石, 等. 水通道蛋白-4 与脑膜瘤周水肿的关系 [J]. *中国临床神经外科杂志*, 2012, 17(2): 94-96.]

[10] Liu GJ, Yao X, Zhang XB, et al. Expression and significances of endocan in human gliomas [J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 2015, 32 (7): 1716-1719. [刘桂景, 姚鑫, 张学斌, 等. Endocan 在胶质瘤中的表达及临床意义 [J]. *中华实验外科杂志*, 2015, 32(7): 1716-1719.]

[11] Sakaki-Yumoto M, Katsuno Y, Derynck R. TGF- β family signaling in stem cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830(2): 2280-2296.

[12] Aitkenhead M, Wang SJ, Nakatsu MN, et al. Identification of endothelial cell genes expressed in an in vitro model of angiogenesis: induction of ESM-1, (beta)ig-h3, and Nr-CAM [J]. *Microvasc Res*, 2002, 63(2): 159-171.

[13] Almog N, Ma L, Raychowdhury R, et al. Transcriptional switch of dormant tumors to fast-growing angiogenic phenotype [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(3): 836-844.

[14] Huang GW, Tao YM, Ding X. Endocan expression correlated with poor survival in human hepatocellular carcinoma [J]. *Dig Dis Sci*, 2009, 54(2): 389-394.

[15] Cornelius A, Cortet-Rudelli C, Assaker R, et al. Endothelial expression of endocan is strongly associated with tumor progression in pituitary adenoma [J]. *Brain Pathol*, 2012, 22(6): 757-764.

[16] Pasquier D, Bijmolt S, Veninga T, et al. Atypical and malignant meningioma: outcome and prognostic factors in 119 irradiated patients. A multicenter, retrospective study of the Rare Cancer Network [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2008, 71(5): 1388-1393.

[17] Tang H, Zhang WL, Zhu Y, et al. Estrogen decreases vascular damage induced by chronic hypoperfusion through upregulating VEGF expression [J]. *Journal of Southern Medical University*, 2015, 35(11): 1552-1556. [唐慧, 张文丽, 朱莹, 等. 雌激素通过上调 VEGF 表达降低大鼠脑慢性低灌注诱导的微血管损伤 [J]. *南方医科大学学报*, 2015, 35(11): 1552-1556.]

[18] Blackwell KL, Dewhirst MW, Liotcheva V, et al. HER-2 gene amplification correlates with higher levels of angiogenesis and lower levels of hypoxia in primary breast tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(12 Pt 1): 4083-4088.