

D2-40 在肿瘤淋巴管标记及诊断的研究进展

陈文静 张江宇 李文萍

随着淋巴管内皮的特异性标记物和淋巴管生长因子的发现,肿瘤诱发淋巴管生成的分子机制和以淋巴管生成作为抗肿瘤转移靶点的研究正成为当前的热点^[1]。抗 M2A 抗体 D2-40 是近年来发现的淋巴管内皮标记物,本文通过综述 D2-40 作用功能,并与以往的淋巴管内皮标记物比较,探讨与肿瘤预后关系,陈述目前其在部分肿瘤中表达的特异性,为肿瘤的诊断与治疗提供新的思路。

一、D2-40 的结构和生理功能

D2-40 是一种分子量为 40 kD 的唾液酸糖蛋白。它最早从腹水中被提纯而来,以 0.7 mg/ml 的浓缩物储存于 4 ℃ 的无菌环境中。D2-40 是 M2A 癌胚膜抗原的单克隆抗体,M2A 抗原是一个唾液酸糖蛋白,包含一个简单的黏液素型糖类抗原决定簇,表达于胎儿生殖母细胞、小管内生殖细胞肿瘤、原发于睾丸和睾丸外的精原细胞瘤^[2],所以 D2-40 存在于胚胎睾丸和生殖细胞肿瘤中。D2-40 被证明选择性地表达于淋巴管上皮,可作为一种原发肿瘤淋巴管侵犯和某些血管损伤的标记,它可以与淋巴管内皮特异结合,但不与血管内皮反应,可用于标记肿瘤组织中的淋巴管内皮^[3],因此 D2-40 被认为是能够购买到的最好的特异标记正常、反应性、肿瘤性淋巴管内皮细胞的商业化抗体^[4]。此外,D2-40 染色也可见于某些非内皮细胞如间皮细胞、卡哈尔细胞等。

二、D2-40 可能是最好的淋巴管标记物

淋巴道和血道转移是恶性肿瘤侵袭和转移的主要途径,淋巴结转移也是肿瘤分期的重要内容,是评价患者死亡的重要因素之一。Folkman 等^[5]最早提出肿瘤新生血管的观点,肿瘤相关血管生成成为研究的热点。近年发现,肿瘤最初的生长主要通过诱导血管新生(angiogenesis)来提供所需的营养,但是肿瘤转移的主要途径并不是通过新生血管,而是通过肿瘤诱导淋巴管生成(lymphangiogenesis)进行转移。淋巴管和血管伴行生长,但在结构和功能方面存在着明显的差别,以往对肿瘤淋巴管生成的研究因为缺乏淋巴管内皮细胞特异性标记物,在形态学上很难与毛细血管截然区分,因此远远滞后于对肿瘤血管生成的研究^[6]。

1. 血管内皮生长因子受体 3(vascular endothelial growth factor receptor -3, VEGFR-3): VEGFR-3 为膜型酪氨酸激酶受体,是介导淋巴管形成的重要信号分子,其主要表达于正常成人组织和胚胎的淋巴管内皮细胞,最重要的淋巴管生成因子血管内皮生长因子 C(vascular endothelial growth factor C, VEGF-C)和血管内皮生长因子 D(vascular endothelial growth factor D, VEGF-D)均可与其结合,但因其特异性不明显,VEGFR-3 除在肿瘤血管外,还可在视网膜上皮细胞、肌上皮细胞中表达^[7]。

2. 淋巴管内皮细胞透明质酸受体 1(lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor -1, LYVE-1): LYVE-1 是 CD44 糖蛋白的同系化合物,含有 322 个氨基酸残基的膜蛋白,是淋巴管内皮细胞透明质酸的受体,其均匀分布于淋巴管内外腔面,从组织摄取透明质酸盐并转运至淋巴液,是淋巴管内皮细胞特异性分子标志之一。LYVE-1 一度被认为仅特异性地表达于肿瘤相关淋巴管,然而 Cursiefen 等^[8]认为,LYVE-1 的表达并不限制在淋巴管,在早期胚胎发育的静脉、肝脾的内皮细胞间隙、胎盘的合体滋养层、巨噬细胞中也被表达。此外,Mouta 等^[9]认为,LYVE-1 可表达在正常的肝血窦内皮细胞、肾、肾上腺、胰腺和甲状腺上皮细胞中。所以,在标记肿瘤淋巴管密度时,特异性不强。

3. 同源转录因子(Prox-1): Prox-1 是一种同源转录因子,与胚胎淋巴管芽的生长、延伸及淋巴管内皮细胞的表型改变密切相关。研究表明成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)在淋巴管生成中起重要作用,其受体(FGFR-3)是 Prox-1 的靶点基因,Prox-1 的异位过表达能够导致 FGFR-3 的上调,从而导致淋巴管的生成^[10]。但 Prox-1 不能独立标记淋巴管内皮,须与 LYVE-1 联合使用才可确定淋巴管特异性。

4. 肾小球足突细胞膜蛋白(podoplanin): podoplanin 是一种相对分子质量为 43×10^3 的黏液样跨膜糖蛋白,主要表达在淋巴管内皮上,而在血管内皮上不表达,广泛地用作淋巴管内皮细胞和淋巴管生成的特异性标记物^[11]。但是, Kahn 等^[12]认为, podoplanin 与 D2-40 比较,后者有如下优越性:(1) D2-40 是单克隆抗体,而 podoplanin 是多克隆抗体;(2) D2-40 可以直接使用,不需要特殊处理,而 podoplanin 需要用硝基纤维素分解封闭重组体蛋白作前期亲和纯化;(3)在进行免疫组化过程中,D2-40 石蜡组织切片不需要抗原决定簇的修复,而 podoplanin 需要进行热修复。另外还有学者认为与非商品化的 podoplanin 抗体相比,D2-40 有更高的检测 podoplanin 的敏感性,而其特异性可高达 98.8%^[13]。

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2011.04.029

基金项目: 广东省科技计划项目(2010B060900060); 广东省医学科学研究基金(B2008009)

作者单位: 510010 广东省妇幼保健院暨广州医学院附属广东省妇儿医院病理科(陈文静、张江宇), 乳腺中心(李文萍)

通讯作者: 张江宇, Email: superchina2000@yahoo.com.cn

相对以往淋巴管内皮的标记物,D2-40 是目前最新的淋巴管内皮标记物。肿瘤淋巴转移具体发生当前有两种观点:一种观点认为肿瘤细胞侵袭病灶周边原有淋巴管系统并进入淋巴液形成淋巴结转移;另一种观点认为肿瘤细胞诱导淋巴管生成并由此进入淋巴液发生淋巴结转移。但无论哪种观点,淋巴管密度(lymphatic vessel density, LVD)是评价肿瘤淋巴管生成的重要指标。所以选择一种特异性强的淋巴管内皮标记物,是判断肿瘤治疗及预后的关键。Coşkun 等^[14]用免疫组化抗体 D2-40 检测了 65 例胃癌中的 LVD,发现癌旁的 LVD 与肿瘤的大小、淋巴结是否转移、其他脏器转移及肿瘤 TNM 分级均有显著相关性,而且 LVD 高的患者的生存率也明显低于 LVD 低的肿瘤患者。Longatto-Filho 等^[15]用免疫组化 D2-40 标记了 120 例结肠癌肿瘤旁及肿瘤内的 LVD,发现癌旁 LVD 与肿瘤浸润肠壁的深度、肝转移呈正相关,癌旁的 LVD 和淋巴管侵犯与肿瘤的组织学类型密切相关,并且预示着不良预后,如淋巴结转移和肝转移。综上所述,D2-40 可能是目前最好的肿瘤淋巴管标记物,其标记的 LVD 与肿瘤的预后呈负相关,D2-40 有望成为预后相关标记物。

三、D2-40 在肿瘤诊断中的作用

D2-40 可在部分肿瘤中表达,如精原细胞瘤、上皮样恶性间皮瘤、神经源性肿瘤、软骨样肿瘤、血管内皮瘤和淋巴管瘤等肿瘤,可作为临床病理诊断和鉴别诊断重要指标,近年成为研究热点。

D2-40 可在 98% 的睾丸精原细胞瘤弥漫阳性表达,这可有助于转移性精原细胞瘤和转移性腺癌的鉴别,也可用于区分精原细胞瘤(D2-40 弥漫阳性)和胚胎性癌(D2-40 局灶阳性)^[16]。有学者研究显示上皮样间皮瘤细胞 D2-40 胞质和胞膜阳性率可达 80%~100%,calretinin 是间皮比较特异的标记物,二者联合应用可提高恶性间皮瘤和转移性腺癌的鉴别,进一步研究表明 D2-40 在肉瘤样间皮瘤中的敏感性高于 calretinin,其诊断肉瘤样间皮瘤的敏感性和特异性分别为 86% 和 96%^[17]。

D2-40 对软组织肿瘤的诊断也有一定价值。研究显示 D2-40 在外周神经系统肿瘤,如施万细胞瘤、富于细胞性神经鞘瘤,还有约 75% 上皮样恶性周围神经鞘膜肿瘤中呈弥漫性强阳性表达,提示 D2-40 在鉴别神经鞘瘤与其他 S100 蛋白阳性梭形细胞肿瘤如黑色素瘤和神经纤维瘤中可能有一定的作用^[18]。软骨样肿瘤和脊索瘤的鉴别较难,Deniz 等^[19]认为 D2-40、上皮细胞膜抗原、CK 和 GFAP 是作为评价软骨样肿瘤的最好标记物。Sangoi 等^[20]发现 D2-40 在脊索样脑膜瘤与骨外黏液样骨肉瘤和内生性软骨瘤的鉴别诊断中非常有用。由 D2-40、上皮细胞膜抗原、brachyury 和胶质纤维酸性蛋白组成的一组抗体可以区分脊索样脑膜瘤及与其相似肿瘤。

此外,D2-40 也是 Kaposi 肉瘤和其他血管性病变如肝脏上皮样血管内皮细胞瘤和中枢神经系统血管网状细胞瘤的一个有用的标记。D2-40 和 inhibin 联用可用于中枢神经系统血管网状细胞瘤和转移性肾细胞癌的鉴别。最近有研究发现 D2-40 还可用于转移性肾细胞癌和肾上腺皮脂腺癌的鉴别,前者表达阴性,后者弥漫阳性表达。随着临床试验的开展,将会发现 D2-40 在肿瘤诊断与鉴别诊断中具有更多的作用。

综合上述,越来越多的研究表明 D2-40 用途广泛,特异性在肿瘤中淋巴管内皮标记 LVD,成为预测肿瘤预后的重要指标,可能为以后化学预防的研究提供新靶点,此外,D2-40 还可以特异性标记肿瘤,为原发性肿瘤和转移性肿瘤在病理学上提供诊断与鉴别诊断。

参 考 文 献

- [1] Cueni LN, Detmar M. New insights into the molecular control of the lymphatic vascular system and its role in disease. *J Invest Dermatol*, 2006, 126(10):2167-2177.
- [2] Marks A, Sutherland DR, Bailey D, et al. Characterization and distribution of an oncofetal antigen (M2A antigen) expressed on testicular germ cell tumours. *Br J Cancer*, 1999, 80(3/4):569-578.
- [3] Yonemura Y, Endou Y, Tabachi K, et al. Evaluation of lymphatic invasion in primary gastric cancer by a new monoclonal antibody, D2-40. *Hum Pathol*, 2006, 37(9):1193-1199.
- [4] Kaiserling E. Immunohistochemical identification of lymph vessels with D2-40 in diagnostic pathology. *Pathologie*, 2004, 25(5):362-374.
- [5] Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem*, 1992, 267(16):10931-10934.
- [6] Cunnick GH, Jiang WG, Douglas-Jones T, et al. Lymphangiogenesis and lymph node metastasis in breast cancer. *Mol Cancer*, 2008, 7:23.
- [7] 顾文静,姚登福,吴信华,等.肝细胞癌变过程中 VEGF 动态表达及其临床价值研究[J/CD]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2009, 3(3):422-428.
- [8] Cursiefen C, Chen L, Dana MR, et al. Corneal lymphangiogenesis: evidence, mechanisms, and implications for corneal transplant immunology. *Cornea*, 2003, 22(3):273-281.
- [9] Mouta Carreira C, Nasser SM, di Tomaso E, et al. LYVE-1 is not restricted to the lymph vessels: expression in normal liver blood sinusoids and down-regulation in human liver cancer and cirrhosis. *Cancer Res*, 2001, 61(22):8079-8084.
- [10] Shin JW, Min M, Larrieu-Lahargue F, et al. Prox1 promotes lineage-specific expression of fibroblast growth factor (FGF) receptor-3 in lymphatic endothelium; a role for FGF signaling in lymphangiogenesis. *Mol Biol Cell*, 2006, 17(2):576-584.
- [11] Breiteneder-Geleff S, Soleiman A, Kowalski H, et al. Angiosarcomas express mixed endothelial phenotypes of blood and lymphatic capillaries: podoplanin as a specific marker for lymphatic endothelium. *Am J Pathol*, 1999, 154(2):385-394.
- [12] Kahn HJ, Marks A. A new monoclonal antibody, D2-40, for detection of lymphatic invasion in primary tumors. *Lab Invest*, 2002, 82(9):

1255-1257.

- [13] Evangelou E, Kyzas PA, Trikalinos TA. Comparison of the diagnostic accuracy of lymphatic endothelium markers :Bayesian approach. *Mod Pathol*, 2005, 18(11) : 1490-1497.
- [14] Coşkun U, Akyürek N, Dursun A, et al. Peritumoral lymphatic microvessel density associated with tumor progression and poor prognosis in gastric carcinoma. *J Surg Res*, 2010, 164(1) :110-115.
- [15] Longatto-Filho A, Pinheiro C, Ferreira L, et al. Peritumoural, but not intratumoural, lymphatic vessel density and invasion correlate with colorectal carcinoma poor-outcome markers. *Virchows Arch*, 2008, 452(2) :133-138.
- [16] Yu H, Pinkus GS, Hornick JL. Diffuse membranous immunoreactivity for podoplanin (D2-40) distinguishes primary and metastatic seminomas from other germ cell tumors and metastatic neoplasms. *Am J Clin Pathol*, 2007, 128(5) :767-775.
- [17] Padgett DM, Cathro HP, Wick MR, et al. Podoplanin is a better immunohistochemical marker for sarcomatoid mesothelioma than calretinin . *Am J Surg Pathol*, 2008, 32(1) :123-127.
- [18] Jokinen CH, Dadras SS, Goldblum JR, et al. Diagnostic implications of podoplanin expression in peripheral nerve sheath neoplasms. *Am J Clin Pathol*, 2008, 129(6) :886-893.
- [19] Deniz H, Kibar Y, Güldür ME, et al. Is D2-40 a useful marker for distinguishing malignant mesothelioma from pulmonary adenocarcinoma and benign mesothelial proliferations? *Pathol Res Pract*, 2009, 205(11) :749-752.
- [20] Sangoi AR, Dulai MS, Beck AH, et al. Distinguishing chordoid meningiomas from their histologic mimics :an immunohistochemical evaluation. *Am J Surg Pathol*, 2009, 33(5) :669-681.

(收稿日期:2010-12-02)

(本文编辑:吴莹)

陈文静,张江宇,李文萍. D2-40 在肿瘤淋巴管标记及诊断的研究进展[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版, 2011, 5(4):1078-1080.