

# Notch-1 在木村病中的表达及意义

邓维叶 高云飞 陈艳峰 李浩 杨远忠 郭朱明

**【摘要】** 目的 探讨 Notch-1 在木村病的表达, 指导木村病患者的优化治疗。方法 通过免疫组化 SP 方法评估 Notch-1 蛋白在 40 例木村病患者组织和 15 例慢性淋巴结炎组织中的表达, 分析 Notch-1 与木村病临床病理资料及预后的关系。**结果** 40 例木村病患者中, 男性患者占 92.5%(37/40), 7.5% (3/40) 为女性患者, 发病平均年龄为 38 岁。肿块的直径范围为 1.0~6.5 cm。Notch-1 在复发的 11 例木村病患者中, 63.6% (7/11) 高度表达, 36.4% (4/11) 低度或中度表达。Notch-1 表达、嗜酸粒细胞计数、肿块最大直径与复发有统计学差异 ( $P < 0.05$ ), 年龄、性别、肿块部位、肿块个数与复发无相关性 ( $P > 0.05$ )。**结论** Notch-1 高表达可能为木村病复发患者的一个有效观察指标, 可为预后提供评估途径及指导患者个体优化治疗。

**【关键词】** 受体, Notch-1; 血管淋巴样增生, 嗜酸粒细胞增多性; 霍奇金病; 预后

**Expression of Notch-1 in Kimura's disease and its significance** Deng Weiye, Gao Yunfei, Chen Yanfeng, Li Hao, Yang Yuanzhong, Guo Zhuming. Department of Head and Neck Surgery, SUN Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China

Corresponding author: Guo Zhuming, Email: guozhm@sysucc.org.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate the expression of Notch-1 in Kimura's disease (KD) and provide an optimal treatment for KD patients. **Methods** Immunohistochemical staining was performed in 40 cases of KD and 15 cases of chronic lymphnoditis. Expression of Notch-1 in different tissues and the correlation between the clinicopathological factors and prognosis of KD were analysed. **Results** Among the 40 KD patients, males (37/40) made up 92.5% and 7.5% for females (3/40) with an average age of 38 years. The range of mass size was 1.0-6.5 cm. For the 11 cases of recurrent KD, 63.6% (7/11) were highly expressed of Notch-1, 36.4% (4/11) were low or mediate expression of Notch-1. There was statistical significant between Notch-1 expression, peripheral eosinophilia(%), the largest size of masses and recurrence of KD ( $P < 0.05$ ). Statistical significance were not found in the age, gender, the numbers of mass and mass location ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The highly expression of Notch-1 may be an effective observable indicator for KD relapsed patients and could guild for better personalized therapies for patients.

**【Key words】** Receptor, Notch-1; Angiolymphoid hyperplasia with eosinophilia; Hodgkin disease; Prognosis

木村病 (Kimura's disease) 多见于 30~40 岁的亚洲男性, 是一种病因未明、常见于唾液腺、颈部软组织及周边淋巴结的慢性疾病。在实验室检查表现为外周血嗜酸细胞增多及血清免疫球蛋白 E (IgE) 较正常值显著增高<sup>[1]</sup>。本病病因未明, 目前文献报导考虑为与过敏、内分泌功能紊乱、自身免疫性疾病、炎症及寄生虫、病毒、蚊虫叮咬导致的

感染等相关<sup>[2-5]</sup>。目前报道的复发率高达 40%<sup>[6]</sup>。文献有关于木村病同时伴肾癌的报道, 木村病是否有恶性转变尚需进一步分析<sup>[7]</sup>。

Notch 信号传导通路对细胞的生长发育、增殖、分化和凋亡起着重要的调控作用<sup>[8]</sup>。近几年研究提示 Notch-1 在不同的肿瘤中有抑癌或促癌的双重角色。Notch 信号在人类前列腺癌、非小细胞肺癌、霍奇金淋巴瘤等表现为抑癌作用, 在乳腺癌、肾癌、黑色素瘤等表现为致癌作用<sup>[9]</sup>。目前认为 Notch-1 信号传导途径在细胞生长过程的许多方面起着调节作用, 该信号的调控失常可能和多种癌症的形成

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2014.05.011

作者单位: 510060 广州, 中山大学肿瘤防治中心头颈科(邓维叶、高云飞、陈艳峰、李浩、郭朱明), 病理科(杨远忠)

通讯作者: 郭朱明, Email: guozhm@sysucc.org.cn

有关<sup>[10]</sup>。本研究回顾性分析本院 2000 至 2013 年收治的 40 例木村病患者的临床资料并选取切片行免疫组化评估 Notch-1 的表达情况, 分析 Notch-1 与木村病相关临床病理资料及预后的关系。

## 资料与方法

### 一、一般资料

回顾性收集来自中山大学肿瘤防治中心从 2000 年 1 月至 2013 年 12 月病理学检查确诊为木村病并有完整临床及随访资料的患者共 40 例, 男女比例为 37:3, 平均发病年龄为 38 岁, 中位年龄 36 岁。肿物最大直径平均为 3.5 cm, 范围 1.0~6.5 cm。34 例患者肿物主要位于头颈部, 6 例患者主要肿物分别位于腹股沟区(5/6)及肘部(1/6)。27.5%(11/40)病例为单发肿物, 72.5%(29/40)病例为多发肿物。患者均无木村病相关家族史。

### 二、主要试剂及方法

1. 主要试剂: SP 试剂盒、DAB 染色试剂盒(均购自北京博奥森生物技术有限公司), 兔抗人跨膜受体蛋白 Notch-1 抗体(1:100; CST, Danvers, MA, USA)。

2. 免疫组织化学染色: 选择 15 例慢性淋巴结炎组织作为 40 例木村病组织的对照, 评估 Notch-1 在不同组织的表达。标本用甲醛脱水固定为组织蜡块后连续切片, 厚度约 4 μm。通过免疫组织化学方法(SP法)分析 Notch-1 在木村病和慢性淋巴结炎组织的表达情况。PBS 液替代一抗作为阴性对照参考。在 20×10 倍显微镜下, 选择 10 个高倍视野分析阳性细胞数, 取其平均值为最终结果。阳性细胞数<10%, 记为阴性表达(-); 阳性细胞数为 10%~30%, 记为低度或中等表达(+); 阳性细胞数为 30%~50%, 记为高度表达(++)<sup>[11]</sup>。

3. 方法: 患者出院后采取电话及信件联系的随访方式, 诊断为复发的病例均通过临床、影像学或病理学确定。随访时间从确诊为木村病之日开始, 随访截止至 2013 年 12 月。40 例患者均获得随访, 随访率为 100%。无瘤生存时间定义为从确诊木村病到肿物复发之日。40 例患者在随访期间有 27.5% 例(11/40)患者复发, 无死亡病例。

### 三、统计学分析

采用 SPSS 16.0 软件包行数据分析。通过  $\chi^2$  检验分析 Notch-1 表达与木村病临床各参数间的关系。应用 Kaplan-Meier 方法行单因素分析木村病的

5 年无瘤生存率等相关情况, 建立 Cox 回归模型进行多因素预后分析,  $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

## 结 果

1. Notch-1 在木村病的表达: Notch-1 在生发中心内外及血管附近均有表达, 本统计以生发中心以外的 Notch-1 蛋白表达为判断标准。Notch-1 在木村病组织的阳性表达率为 67.5%(27/40), 在慢性淋巴结炎组织为阴性表达(12/15)或低度表达(3/15)(图 1)。二者间有统计学差异( $P<0.05$ )

2. Notch-1 表达与木村病临床病理参数的关系: 外周血嗜酸粒细胞百分比为 20%~35% 的患者 Notch-1 阳性表达率高于嗜酸粒细胞百分比为 35%~50% 及 <20% 的患者(88.9% vs. 40% vs. 52.9%,  $P<0.05$ )。对于年龄、性别、肿块部位、肿块最大径及肿块个数, 各分组间未见 Notch-1 蛋白的表达差异( $P>0.05$ , 表 1)。

表 1 Notch-1 表达与 40 例木村病患者临床病理参数的关系

病理参数	例数	Notch-1 阳性 表达[例,(%)]	$\chi^2$ 值	P 值
性别				
男性	37	25(67.6)	0.001	0.974
女性	3	2(66.7)		
年龄				
<35 岁	19	13(68.4)	0.014	0.906
≥35 岁	21	14(66.7)		
外周血嗜酸粒细胞				
<20%	17	9(52.9)	7.120	0.028
20%~35%	18	16(88.9)		
35%~50%	5	2(40)		
肿块部位				
头颈部	34	23(67.6)	0.002	0.962
其他部位	6	4(66.7)		
肿块最大径				
<3.5 cm	25	16(64.0)	0.372	0.542
≥3.5 cm	15	11(73.3)		
肿块个数				
单发	11	6(54.5)	1.161	0.281
多发	29	21(72.4)		

3. Notch-1 蛋白对木村病患者 5 年累计无瘤生存率的影响(表 2)。40 例木村病者中复发 11 例(27.5%)。40 例患者的平均随访时间为 69.8 个月, 复发患者的平均随访时间为 55.8 个月(中位随访时

间 47.0 个月)。复发患者的组织切片均为 Notch-1 阳性表达。无复发的患者组织切片 Notch-1 蛋白的阳性表达率为 55.2% (16/29)。Notch-1 的阴性, 低度或中度表达, 高度表达的 5 年无瘤生存率分别为 100.0%、71.4% 和 60.7%。Kaplan-Meier 检验显示 Notch-1 阳性表达患者预后较阴性表达患者差 ( $P < 0.05$ )。χ<sup>2</sup> 检验示 Notch-1 蛋白阳性表达与外周血嗜酸粒细胞百分比相关 ( $P < 0.05$ ), 与木村病患者的性别、年龄、肿块部位、肿块最大径及肿块个数无关 ( $P > 0.05$ )。Cox 回归多因素分析中, Notch-1 阳性表达、肿块最大径 ≥ 3.5 cm, 外周血嗜酸粒细胞百分比 ≥ 20% 均提示更容易出现木村病复发倾向 ( $P < 0.05$ ), 见表 3。

### 讨 论

木村病好发于中国、日本等地的亚洲男性群体, 主要累及头颈部, 也见于肘部、腹股沟、眼眶

等区域<sup>[12]</sup>。木村病可伴发肾病综合征、顽固性高血压、口腔溃疡、哮喘等并发症<sup>[13]</sup>。木村病病理显示有明显的淋巴滤泡增生, 大量的嗜酸粒细胞、肥大细胞等在淋巴滤泡及滤泡间浸润。目前考虑木村病病因与 T 淋巴细胞的紊乱有一定相关性<sup>[14]</sup>。本组研究数据中, 男性人数远高于女性 (37:3), 与报道相符。40 例患者的病理切片均可见丰富的嗜酸粒细胞浸润, 与文献病理描述一致。患者均无肾病综合征等相关并发症, 考虑与样本量过小及随访时间有一定关系。针对木村病患者的低死亡率及疾病的易复发性, 长期的随访及复查是必需的。

Notch 蛋白最先于果蝇体内发现, 其介导的信号传导通路通过细胞之间的相互作用在分化及生长发育中起重要作用<sup>[15]</sup>。Notch-1 作为高度保守的 Notch 信号传导通路成员, 是淋巴细胞发育的初期阶段的重要信号蛋白。Notch-1 在 T 淋巴细胞发育

表 2 40 例木村病患者生存率单因素分析

临床特点	例数	5 年无瘤生存率(%)	P 值
性别			
女性	3	100.0	0.296
男性	37	71.7	
年龄			
<35 岁	19	78.1	0.601
≥35 岁	21	71.0	
外周血嗜酸粒细胞数			
<20%	18	100.0	0.001
20%~35%	17	44.9	
35%~50%	5	80.0	
肿块部位			
头颈部	34	71.6	0.400
其他部位	6	83.3	
肿块最大直径			
<3.5 cm	25	91.3	0.004
≥3.5 cm	15	43.8	
肿块个数			
单发	11	83.3	0.159
多发	29	70.6	
Notch-1 蛋白表达			
—	13	100.0	0.044
+	8	71.4	
++	19	60.7	

表 3 40 例木村病患者复发相关的多因素分析

变量	B	SE	Wald	P 值	Exp(B)	95% 可信区间	
						下限	上限
Notch-1	2.800	1.225	5.221	0.022	16.442	1.489	181.519
外周血嗜酸粒细胞(%)	2.219	1.060	4.381	0.036	9.202	1.151	73.530
肿块最大直径(cm)	1.684	0.842	4.001	0.045	5.387	1.035	28.051

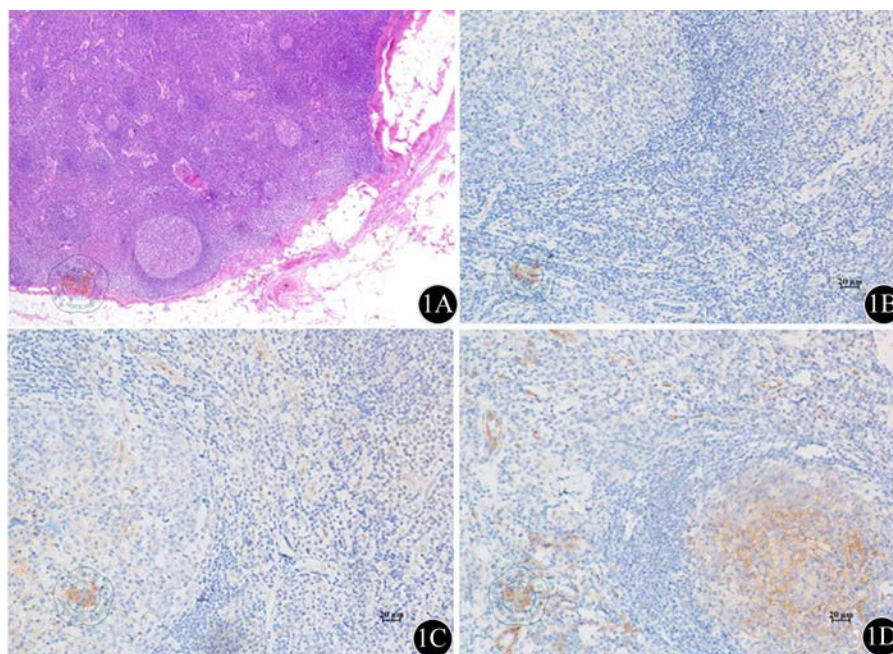


图1 木村病组织中的相关表达。1A: 木村病组织的HE染色( $\times 20$ )；1B: Notch-1蛋白在慢性淋巴结炎的阴性表达( $\times 200$ )；1C: Notch-1蛋白在木村病的低度表达( $\times 200$ )；1D: Notch-1蛋白在木村病的高度表达( $\times 200$ )

过程出现紊乱可能影响细胞的恶性转化<sup>[16]</sup>。本组试验中提示 Notch-1 蛋白表达水平、肿块最大直径以及外周血嗜酸粒细胞百分比均为木村病患者预后的一个参考指标。Notch-1 蛋白阳性表达, 肿块直径 $\geq 3.5$  cm 及外周血嗜酸粒细胞百分比 $\geq 20\%$ 的木村病患者更倾向于复发的可能。Notch-1 阳性表达者 5 年无瘤生存率较阴性表达者低, 预后更差。目前普遍认为木村病是良性疾, 但也有木村病合并肾癌的相关个案报道, 木村病是否有向恶性肿瘤转化倾向目前仍需收集更多数据加以证实研究<sup>[7]</sup>。

目前木村病的常规治疗为手术切除、口服糖皮质激素、化学治疗、放射治疗等。对于复发的患者可采取放疗, 再次手术、糖皮质激素或免疫抑制剂治疗。但手术治疗对于肿物边界欠清的木村病病例难以完整切除。采取口服糖皮质激素、免疫抑制剂或化学药物治疗方式, 易于停药后出现复发<sup>[17-18]</sup>。通过其他措施难以更好治疗时, 譬如肿物过大, 瘢痕增生致再次手术治疗风险系数高或糖皮质激素治疗逐渐减量再次出现复发等情况时, 推荐采取放射治疗, 国内外的推荐剂量约为 26~45 Gy<sup>[18-19]</sup>。在本研究中, 27.5% 的患者 (11/40) 出现复发, 与文献报道基本一致<sup>[6]</sup>。放疗是否为复发最佳治疗模式需继续增加样本量观察。

综上所述, 综合这些检测指标, Notch-1 蛋白

的高度表达及与其相关的生物学指标的研究可能为复发的木村病患者提供了一个可能的新治疗靶点。由于木村病的发病率低, 目前针对其发病机制、治疗方法的研究仍较少, 下一步需应用 RT-PCR 方法检测 mRNA 水平进一步了解 Notch-1 蛋白表达与木村病复发的关系, 同时需进一步跟进患者的随访及收集更多的病例数据进行统计分析。

#### 参 考 文 献

- [1] Chen H, Thompson LD, Aguilera NS, et al. Kimura disease: a clinicopathologic study of 21 cases[J]. *Am J Surg Pathol*, 2004, 28(4): 505-513.
- [2] Kuo T, Shih LY, Chan HL. Kimura's disease- involvement of regional lymph nodes and distinction from angiolymphoid hyperplasia with eosinophilia[J]. *Am J Surg Pathol*, 1988, 12(11): 843-854.
- [3] Urabe A, Tsuneyoshi M, Enjoji M. Epithelioid hemangioma versus Kimura's disease[J]. *Am J Surg Pathol*, 1987, 11(10): 758-766.
- [4] Wells GC, Whimster IW. Subcutaneous angiolymphoid hyperplasia with eosinophilia[J]. *Br J Dermatol*, 1969, 81(1): 1-15.
- [5] Fouda MA, Gheith O, Refaie A, et al. Kimura disease: a case report and review of the literature with a new management protocol[J]. *Int J Nephrol*, 2011, 2010: 673908.
- [6] Parkj S, Jin W, Ryu KN, et al. Bilateral asymmetric superficial soft tissue masses with extensive involvement of both upper extremities: demonstration of Kimura disease by US and MRI (2008: 12b) [J]. *Eur Radiol*, 2009, 19(3): 781-786.
- [7] Akhavan A, Cannon GM Jr, Sasatomi E, et al. Synchronous unilateral renal cell carcinoma and Kimura disease of the kidney[J]. *Urology*, 2006, 68(3): 673. e21-2.
- [8] 杨晶金, 姚军, 沈峰清, 等. Notch-1 信号通路与甲状腺乳头状癌

的关系[J]. 中国细胞生物学学报, 2012, 34(2): 120-126.

[9] Dumortier A, Wilson A, Macdonald HR, et al. Paradigms of notch signaling in mammals[J]. International Journal of Hematology, 2005, 82(4): 277-284.

[10] Bolos V, Grego-Bessa J, de la Pompa JL. Notch signaling in development and cancer[J]. Endocr Rev, 2007, 28(3): 339-363.

[11] 陈桂权, 张志坚, 程树红, 等. Notch1 在胃肠道类癌中的表达及其与淋巴结转移和预后的关系研究[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013, 7(7): 2923-2926.

[12] 程茂杰, 常建民. 木村病. 中华皮肤科杂志, 2010, 43(3): 218-220.

[13] 俞峰, 腾洪安, 王志宏, 等. 嗜酸性淋巴肉芽肿的诊断和治疗(附4例报告)[J]. 临床口腔医学杂志, 2002, 5(1): 54-55.

[14] Rajpoot DK, Pahl M, Clark J. Nephrotic syndrome associated with Kimura disease[J]. Pediatr Nephrol, 2000, 14(6): 486-488.

[15] 张蓓, 秦炜玮, 陈仁安, 等. Notch 1 在外周 T 细胞淋巴瘤中的表

达及基因突变及其与临床生存期的相关性研究[J]. 现代生物医学医学进展, 2012, 12(8): 1457-1461.

[16] Dorsch M, Zheng Gang, Yowe D, et al. Ectopic expression of Delta4 impairs hematopoietic development and leads to lymphoproliferative disease[J]. Blood, 2002, 100(6): 2046-2055.

[17] Chartapisak W, Opastirakul S. Steroid-resistant nephritic syndrome associated with Kimura's disease[J]. Am J Nephrol, 2002, 22(4): 381-384.

[18] Kim GE, Kim WC, Yang WI, et al. Radiation treatment in patients with recurrent Kimura's disease[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1997, 38(3): 607-612.

[19] 黎功, 于世平, 王俊杰, 等. 木村病的放射治疗[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 1999, 8: 190.

(收稿日期: 2014-02-20)

(本文编辑: 梁雷)

邓维叶, 高云飞, 陈艳峰, 等. Notch-1 在木村病中的表达及意义 [J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2014, 8 (5): 858-862.

