

· 临床研究 ·

血清黑色素瘤活性抑制蛋白与葡萄膜黑色素瘤

傅涛 魏文斌 王阳 刘小超

【摘要】 目的 检测葡萄膜黑色素瘤患者血清黑色素瘤活性抑制蛋白(MIA)的水平,并探讨其在葡萄膜黑色素瘤诊断和转移监测中的价值。方法 应用酶联免疫吸附法(ELISA)分别检测不同组织病理分型的葡萄膜黑色素瘤(27例)、葡萄膜黑色素细胞瘤(6例)、其他眼部肿瘤患者(7例)以及正常成人(16人)外周血清中MIA的浓度。结果 正常成人(16人)和睫状体无色素上皮腺瘤(4例)、视网膜母细胞瘤(2例)、视网膜血管瘤(1例)患者血清MIA浓度显著低于葡萄膜黑色素瘤患者;不伴巩膜浸润和远处转移的葡萄膜黑色素瘤患者血清MIA浓度明显低于伴有巩膜浸润和远处转移的患者,但与葡萄膜黑色素细胞瘤患者比较无明显差异;在不伴巩膜浸润和远处转移的葡萄膜黑色素瘤组,梭形细胞型患者血清MIA浓度与混合型 and 上皮细胞型患者相比无明显差异。结论 血清MIA水平可能是临床诊断葡萄膜黑色素瘤的一个较好指标,并且可用于肿瘤转移的监测。

【关键词】 黑色素瘤/诊断; 基因,抑制,肿瘤; 抑制蛋白/分析; 葡萄膜疾病

中图分类号:R739.7 R730.43

Serum melanoma-inhibiting activity protein in uveal melanoma FU Tao, WEI Wen-bin, WANG Yang, et al. Beijing Tongren Eye Center, Beijing Tongren Hospital, Beijing 100730, China

Corresponding author: WEI Wen-bin, Email: weibing_wei@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To detect the level of serum melanoma-inhibiting activity (MIA) in patients with uveal melanomas, and investigate the value of MIA in diagnosing and inspecting uveal melanomas.

Methods Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the concentrations of MIA in peripheral serum of 27 patients with uveal melanoma, 6 with melanocyte tumor, 7 with other ocular tumors and 16 healthy individuals, respectively. **Results** The concentration of MIA in patients with uveal melanoma was significantly higher than that in the healthy ones (16 individuals) and the patients with adenoma of non pigmented ciliary epithelium (4 patients), retinoblastoma (2 patients), and retinal angioma (1 patient). The concentration of MIA in patients with uveal melanoma without scleral infiltration or remote metastasis was obviously lower than that in the patients with scleral infiltration or remote metastasis, but didn't differ much from which in the patients with melanocyte tumor. In the patients with uveal melanoma without infiltration or remote metastasis, there was no significant difference of MIA level between patients with spindle cell and mixed and epithelioid cell. **Conclusion** The level of serum MIA may be an effective index in diagnosing uveal melanoma, which can monitor the metastasis of uveal melanoma.

【Key words】 Melanoma/diagnosis; Genes, suppressor, tumor; Arrestin/analysis; Uveal diseases

葡萄膜黑色素瘤是成年人最常见的眼内原发性恶性肿瘤,其发生转移相对较晚,但一旦发生转移,死亡率极高^[1]。与其预后相关的因素有:临床特征、组织病理指标、增殖参数、癌基因的检测、黑色素相关抗原等,这些指标除临床特征可由眼底检查、B型超声等检测外,多需切除肿瘤组织后方可进行,不利于早期诊断及判断预后。目前已有血清学肿瘤标记物(TM)用于肿瘤的早期诊断、预后判断,本研究通过检测眼部肿瘤以及不同组织病理分型的葡萄膜黑色素瘤患者血清黑色

素瘤活性抑制蛋白(MIA)水平,探讨血清MIA水平对葡萄膜黑色素瘤诊断以及转移监测的价值。

1 对象和方法

1.1 标本

收集2002年9月至2003年5月葡萄膜黑色素瘤患者血清标本27份,-20℃冻存备用,其中男12例,女15例,平均年龄42.16岁,发生巩膜导水管浸润或远处转移8例,未发生转移19例,梭形细胞形17例,上皮样细胞形3例,混合细胞型7例。葡萄膜黑色素细胞瘤患者血清6份,其他眼内肿瘤患者血清7份(睫状体无色素上皮腺瘤4例、视网膜母细胞瘤2例、视网膜

基金项目:首都医学发展基金重点支持项目

作者单位:100730 首都医科大学附属北京同仁医院眼科中心

通信作者:魏文斌,Email:weibing_wei@yahoo.com.cn

血管瘤 1 例), 正常成人血清标本 16 份, 均在 -20°C 冻存备用。

1.2 MIA 检测

MIA 检测试剂盒购自 Roche Molecular Biochemicals。采用一步酶联免疫吸附实验(ELISA)法, 操作如下: 在 streptavidin 包被的 96 孔板内, 每孔加 $20\ \mu\text{l}$ 待测血清样品或标准品, 同时加入 2 种单克隆抗体: 生物素标记的 MIA 单克隆抗体(anti-MIA-biotin)和过氧化物酶标记的 MIA 单克隆抗体(Anti-MIA-POD)各 $50\ \mu\text{l}$, 室温下孵育 90 min, 缓冲液洗涤 3 次后加入底物溶液, 30 min 后在 $405\ \text{nm}$ 下检测。

2 结果

2.1 各组血清 MIA 的水平

葡萄膜黑色素瘤组血清 MIA 水平明显高于葡萄膜黑色素细胞瘤组、眼内其他肿瘤组及正常组($P < 0.01$), 葡萄膜黑色素细胞瘤组和眼内其他肿瘤组血清 MIA 水平虽然高于正常组, 但差异无统计学意义($P > 0.05$)(表 1)。

表 1 各组血清 MIA 水平(ng/ml , $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MIA	P 值	P 值
正常组	16	4.05 ± 0.53		
其他眼内肿瘤	7	4.80 ± 0.33	0.97*	$< 0.01^{\text{II}}$
葡萄膜黑色素细胞瘤	6	7.41 ± 0.56	0.43*	0.008 ^{II}
葡萄膜黑色素瘤	27	13.25 ± 1.25	$< 0.01^*$	
F 值		14.682		
P 值		< 0.01		

注: * 与正常组比较; ^{II} 与葡萄膜黑色素瘤比较

2.2 葡萄膜黑色素瘤患者血清 MIA 水平与肿瘤转移的关系

不伴有巩膜导水管浸润和远处转移组与伴有巩膜导水管浸润和远处转移组间 MIA 水平差异有统计学意义($P < 0.01$); 进一步分析表明, 无巩膜导水管浸润及远处转移组与葡萄膜黑色素细胞瘤组血清 MIA 水平无差异, 但伴有巩膜导水管浸润及远处转移组较葡萄膜黑色素细胞瘤组 MIA 水平明显增加(表 2)。

表 2 血清 MIA 水平与肿瘤转移的关系(ng/ml , $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MIA	P 值	P 值
葡萄膜黑色素瘤				
无巩膜浸润及远处转移	19	9.98 ± 0.67	$< 0.01^*$	0.32 ^{II}
有巩膜浸润及远处转移	8	20.60 ± 2.14	$< 0.01^*$	
葡萄膜黑色素细胞瘤	6	7.41 ± 0.56		
F 值		28.58		
P 值		< 0.01		

注: * 有无巩膜导水管浸润及远处转移组与有巩膜导水管浸润及远处转移组之间比较; ^{II} 有无巩膜浸润及远处转移的葡萄膜黑色素瘤组分别与葡萄膜黑色素细胞瘤组比较

2.3 葡萄膜黑色素瘤患者血清 MIA 水平与肿瘤病理分型的关系

梭形细胞型患者与混合型和上皮细胞型患者血清 MIA 浓度差异无统计学意义($P > 0.05$)(表 3)。

表 3 MIA 水平与葡萄膜黑色素瘤病理分型的关系(ng/ml , $\bar{x} \pm s$)

病理分型	例数	MIA	t 值	P 值
梭形细胞型	12	9.33 ± 1.02	0.73	0.48
上皮细胞及混合型	7	10.52 ± 1.00		

3 讨论

目前可用于葡萄膜黑色素瘤的血清学肿瘤标记物有 5-s-cysteinyl-dopa(5SCD)^[2]、S-100 等。血清 5SCD 水平测定采用高效液相分析, 检测结果相对稳定, 但 5SCD 的血清水平在没有眼外转移的患者与正常对照者相近, 当葡萄膜黑色素瘤发生眼外转移时才明显升高, 不利于早期诊断^[3]; 而且其检测困难而昂贵。S-100 被认为是组织学标志物, 但在血清学诊断上敏感性不高^[4]。目前临床已确定几个因素与葡萄膜黑色素瘤患者的转移有关: 细胞的组织分型、肿瘤最大直径(LTD)、肿瘤的位置^[5,6]以及新近发现的肿瘤内微血管形态^[7]。然而这些因素仅仅提示肿瘤发生转移的风险或可能性, 不能提示已发生的早期转移, 而且也不利于随访。

近年来研究发现 MIA, 一种新的粘附调节蛋白, 可作为皮肤黑色素瘤的肿瘤标记物^[8]。MIA 是 Bogdahn 等^[9]1989 年在研究恶性黑色素瘤细胞株 HTZ-19 时, 分离到的一个自分泌性肿瘤生长抑制因子, 其基因定位于染色体 19q13.32-13.33, 并证实与随后在软骨细胞内发现的软骨来源的视黄酸敏感性蛋白(CD-RAP)基因是同样的一个基因^[10]。研究发现 MIA 表达于皮肤黑色素瘤细胞、软骨细胞和部分晚期肺癌患者, 提示其表达的高度特异性。MIA 特异性抑制黑色素瘤细胞粘附于纤维连接蛋白和层粘连蛋白, 从而调节黑色素瘤细胞从细胞外基质脱落, 进而影响肿瘤细胞的转移。

我们探讨了 MIA 在葡萄膜黑色素瘤诊断和判断转移中的价值。研究发现葡萄膜黑色素瘤组血清 MIA 水平明显高于葡萄膜黑色素细胞瘤、眼内其他肿瘤组及正常组, 葡萄膜黑色素细胞瘤组和眼内其他肿瘤组水平虽然高于正常组, 但差异无统计学意义。既往研究认为 MIA 的表达具有高度特异性, 仅表达于黑色素瘤细胞和神经外胚层来源的细胞。但 Vries 等^[11]的研究发现, 在包括头颈部鳞状上皮癌、结肠癌等在内的 16

种肿瘤细胞系中发现 MIA mRNA, 我们也发现在眼部其他肿瘤患者的血清中有 MIA, 但水平显著低于葡萄膜黑色素瘤, 提示检测血清 MIA 可作为临床诊断脉络膜黑色素瘤的指标。

本研究结果表明, 发生巩膜导水管浸润和远处转移的葡萄膜黑色素瘤患者血清 MIA 水平明显高于未发生浸润转移的患者。在皮肤黑色素瘤的研究中, 有转移患者手术后的血清 MIA 水平升高预示疾病的复发^[12], 并且在黑色素瘤复发的临床体征出现以前, MIA 水平已有明显升高^[13]。Schaller^[14,15]的研究显示 MIA 血清水平在转移性葡萄膜黑色素瘤患者中显著升高, 可作为病情的监控指标, 与本研究结果一致。进一步对葡萄膜黑色素细胞瘤的研究表明, 与未发生巩膜浸润和远处转移的葡萄膜黑色素瘤患者血清 MIA 水平差异无显著性, 但明显低于发生巩膜浸润和远处转移的患者。另外, 本研究发现在未发生转移的脉络膜黑色素瘤患者中, 不同组织病理分型患者血清 MIA 水平无明显差异, 今后尚需进一步扩大样本量探讨血清 MIA 水平与其他预后相关因素之间的关系。总之, 本研究结果提示血清 MIA 是诊断脉络膜黑色素瘤及其转移的有价值指标, 但与葡萄膜黑色素细胞瘤的鉴别尚需依赖病理检查结果, 与其他临床预后指标之间的关系尚需扩大样本量进一步深入研究。

4 参考文献

- 1 Egan KM, Seddon JM, Glynn RJ, et al. Epidemiologic aspects of uveal melanoma. *Surv Ophthalmol*, 1988, 32: 239-251.
- 2 Goto H, Tenou T, Kudo H, et al. 5-S-Cysteinyldopa as a diagnostic tumor marker for uveal melanoma. *Melanoma Research*, 2002, 12: 599-602.

- 3 Goto H, Usui M, Wakamatsu K, et al. 5-S-Cysteinyldopa as diagnostic tumor marker for uveal malignant melanoma. *Jpn J Ophthalmol*, 2001, 45: 538-542.
- 4 Missotten GS, Tang NE, Korse CM, et al. Prognostic value of S-100 serum concentration in patients with uveal melanoma. *Arch Ophthalmol*, 2003, 121:1117-1119.
- 5 Mooy CM, De Jong PT. Prognostic parameters in uveal melanoma; a review. *Surv Ophthalmol*, 1996, 41:215-228.
- 6 McLean IW, Keefe KS, Burnier MN. Uveal melanoma; comparison of prognostic value of fibrovascular loops, mean of the ten largest nucleoli, cell type, and tumor size. *Ophthalmology*, 1997, 104: 777-780.
- 7 Mueller AJ, Freeman WR, Folberg R, et al. Evaluation of microcirculation pattern visibility in human choroidal melanomas; comparison of confocal fluorescein with indocyanine green angiography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 1999, 237: 448-456.
- 8 Bosserhoff AK, Hauschild A, Hein R, et al. Elevated MIA serum levels are of relevance for management of metastasized malignant melanomas; results of a German multicenter study. *J Invest Dermatol*, 2000, 114: 395-396.
- 9 Bogdahn U, Apfel R, Hahn M, et al. Autocrine tumor cell growth inhibiting activities from human malignant melanoma. *Cancer Res*, 1989, 49: 5358-5363.
- 10 Bosserhoff AK, Kondo S, Moser M, et al. Mouse CD-RAP/MIA gene: structure, chromosomal localization, and expression in cartilage and chondrosarcoma. *Dev Dyn*, 1997, 208: 516-525.
- 11 de Vries TJ, Fourkour A, Punt CJ, et al. Melanoma-inhibiting activity (MIA) mRNA is not exclusively transcribed in melanoma cells; low levels of MIA mRNA are present in various cell types and in peripheral blood. *Br J Cancer*, 1999, 88:1066-1070.
- 12 Bosserhoff AK, Kaufmann M, Kaluza B, et al. Melanoma-inhibiting activity, a novel serum marker for progression of malignant melanoma. *Cancer Res*, 1997, 57: 3149-3153.
- 13 Bosserhoff AK, Dreau D, Hein R, et al. Melanoma inhibitory activity (MIA), a serological marker of malignant melanoma. *Recent Results Cancer Res*, 2001, 61: 158-168.
- 14 Schaller UC, Bosserhoff AK, Neubauer AS, et al. Melanoma inhibitory activity; a novel serum marker for uveal melanoma. *Melanoma Res*, 2002, 12: 593-599.
- 15 Schaller UC, Mueller AJ, Bosserhoff AK, et al. Melanoma inhibitory activity (MIA); evaluation of a new tumor-associated antigen as a serum marker for uveal melanomas. *Ophthalmologie*, 2000, 97:429-432.

(收稿日期:2004-05-08)

(本文编辑:韦纯义)

· 消息 ·

《诊断学理论与实践》杂志开设 2005 年度函授继续医学教育通知

经上海市继续医学教育委员会批准,本刊将继续举办 2005 年函授继续医学教育,项目名称为“心理学与临床”(I 类学分 10 分),本项目编号为:0305530208001。学员对象:具有中级或中级以上专业技术职务、正在从事医疗专业技术工作的卫生专业人员均可参加。讲座内容:①发展心理学概论;②人格心理——理论与应用;③心理评估——心理测量理论及应用;④临床评定量表及其应用;⑤患者心理问题及识别;⑥心理应激及应对;⑦生活事件评估及应付;⑧心理问题的医学处理;⑨精神科药物的使用。学分授予方法:学分授予以学员自学和参加书面考试为原则,参照国家和上海市有关《继续医学教育学分授予方法》,授予注册学员考试合格者 I 类学分证书(10 月上旬陆续发放)。考试方法:相关试卷将在 2005 年第 4 期(2005 年 8 月 25 日出版)中刊登,学员须在 2005 年 9 月 25 日前将考卷寄回本刊编辑部(考卷与答卷复印、打印无效)。报名方法:报名参加者,请在汇款(或另附信)时注明 I 类学分及相关资料(姓名、年龄、性别、职称、专业、单位名称、科室、联系电话和通讯地址及邮政编码)。学分 10 分收费 180 元;5 分收费 100 元(含资料费)。

联系方式:编辑部地址:上海市瑞金二路 197 号瑞金医院科教大厦 14F《诊断学理论与实践》杂志编辑部(200025);电话:021-64370045-611425;传真:021-64374749;Email:diagnrj@yahoo.com.cn。

《诊断学理论与实践》杂志编辑部