

## 婦人科腫瘍における Midkine の発現と臨床応用について

佐藤 力 西 洋孝 井坂 恵一

東京医科大学産科婦人科学講座

**【要旨】** ヘパリン結合性成長因子である Midkine (MK) は、これまでに各種の悪性腫瘍における高発現が報告されているが婦人科領域における報告は殆どない。そこで本研究では、婦人科悪性腫瘍に注目し、組織中の MK 発現および血中 MK 濃度について検索し、さらに臨床面での応用についての検討を行った。

健常婦人 23 例、婦人科良性腫瘍 40 例、悪性腫瘍 68 例を対象として血中 MK 濃度を ELISA 法により測定し、さらに組織における MK 発現を RT-PCR 法および免疫組織化学法により検索した。健常婦人における平均血中 MK 濃度は、 $0.09 \pm 0.01$  (mean  $\pm$  SD) ng/ml と低値を示し、月経周期による変動は認めなかった。子宮筋腫や卵巣嚢腫などの良性腫瘍 38 例 (2 例は除外) における平均血中 MK 濃度は、 $0.065 \pm 0.06$  ng/ml であり、全例が既知の cut off 値 (0.3 ng/ml) 以下を示した。一方、婦人科悪性腫瘍における平均血中 MK 濃度は、 $0.36 \pm 0.36$  ng/ml であり、良性腫瘍と比べ有意に高値を示した。また、悪性腫瘍全体としては、68 例中 47 例 (69%) が cut off 値以上であった。

MK mRNA の発現は子宮筋層および子宮頸部を除く正常女性生殖組織および全ての悪性腫瘍において認められた。また、子宮内膜腺細胞および子宮体癌腫瘍細胞には著明な MK の局在が認められた。

以上より、健常婦人および婦人科腫瘍における血中 MK 濃度の動態が明らかになった。婦人科悪性腫瘍における血中 MK 濃度は良性腫瘍に比べ有意に高いことから腫瘍マーカー (特に子宮頸癌においては、初期病変のスクリーニングマーカー) としての有用性が示唆された。

### はじめに

Midkine (MK) は、1988 年に胚性腫瘍細胞のレチノイン酸による分化誘導の初期段階で発現が増大する遺伝子の産物として発見された分子量 13k Dalton のヘパリン結合性成長因子である<sup>1,2)</sup>。そのアミノ酸配列から繊維芽細胞増殖因子 (FGF) など、他のヘパリン結合性増殖因子とは明らかに区別される一方、その後報告された Pleiotrophin (PTN) とは 10 個全てのシステインが保存され、全体で 50% の相同性を示し、ともに一つの独立した蛋白ファミリーを形成<sup>3)</sup> する。近年様々な生物活性が明らかにされつつあるが、機能は神経、炎症及び組織再構築、そして癌に概括すること

ができる。神経においては、MK はマウスの胎子の神経細胞の培養において神経突起の伸長を促し<sup>4)</sup>、生存を促進させる活性がある<sup>5)</sup> など様々な報告がある。炎症及び組織再構築においては、MK は血管内皮細胞のプラスミノゲン活性化酵素の活性を増大させる<sup>6)</sup>、好中球の遊走を引き起こす活性を持つ<sup>7)</sup>、リウマチ患者の滑膜液中にも MK が存在する<sup>7)</sup>、あらかじめラットの網膜下に MK を注入しておく、連続光照射に対する変性を予防できる<sup>8)</sup>、MK はアルツハイマー病の老人斑に強く沈着している<sup>9)</sup> など多くの報告がある。そして、MK と疾病との関連で最も興味深いのが悪性腫瘍である。多くのヒト癌で MK の発現は周辺の正常組織と比較して増強している<sup>10,11)</sup>。大腸癌、肝臓癌、膵臓

2004 年 2 月 2 日受付、2004 年 3 月 1 日受理

キーワード: Midkine、腫瘍マーカー、婦人科悪性腫瘍、子宮内膜

(別冊請求先: 〒160-0023 東京都新宿区西新宿 6-7-1 東京医科大学産科婦人科学講座 佐藤 力)

癌、食道癌、胃癌などの消化器癌<sup>11)</sup> および肺癌<sup>12)</sup>、乳癌<sup>12)</sup> では 80-90% に MK の発現上昇が認められ、neuroblastoma<sup>13)</sup>、glioma<sup>14)</sup>、膀胱癌<sup>15)</sup> では MK の発現が強い症例では予後が悪いとされる。また血中の MK 濃度に関しては、各種の悪性腫瘍において有意上昇が報告されている<sup>16)</sup>。

そこで本研究では、現在までに殆ど報告がない婦人科領域の悪性腫瘍に注目し、MK の発現および血中濃度について検索し、臨床面での応用についての検討を行った。

### 対象と方法

#### 1) 対象

対象は、東京医科大学病院産婦人科にて手術を施行された良性腫瘍 40 例および悪性腫瘍 68 例であり、それぞれ患者の同意を得て術前の採血ならびに手術検体の採取を行った。良性腫瘍の内訳は、子宮筋腫 21 例、子宮腺筋症 4 例、良性卵巣嚢腫 15 例であり、平均年齢は 40.1 歳 (19 歳から 62 歳) であった。悪性腫瘍の内訳は、子宮頸癌 43 例、子宮体癌 13 例、卵巣癌 12 例であり、平均年齢は 52.1 歳 (31 歳から 81 歳) であった。各悪性腫瘍の進行期別症例数は Table 1 に示す。また、月経周期における血中 MK 濃度の動態を検討するため当科勤務者 23 名の協力を得て、月経周期に各々 2-4 回の採血を行った。同じ検体を用いて estradiol (E2)、progesterone (P) を測定し、排卵の有無および月経周期の確認をした。年齢は 21 歳から 51 歳までであり、平均は 27.2 歳であった。

採取した血液は、血清に遠心分離した後、測定まで -20°C で保存した。無菌的に採取した手術組織検体は、直ちに細切し、液体窒素で急速凍結後、-70°C にて保存した。

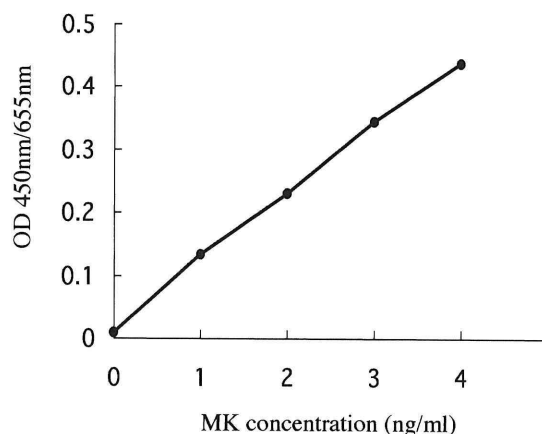
#### 2) Enzyme-Linked immunoassay (EIA)

MK 濃度測定は、池松らの方法<sup>16)</sup> に準じて行った。簡単には、まず抗ヒト MK 家兎抗体を固層した 96 穴プレートを作成し、使用まで各 well に保存液を満たし 4°C にて保存した。使用前にプレートの保存液を吸引して破棄し、洗浄液で 3 回洗浄後、タッピングにて十分に洗浄液を除去した。第一反応は抗原-標識抗体反応により行った。MK 標準溶液及び検体溶液を peroxidase 標識抗ヒト MK 鶏抗体とともにプレートに分注 (50  $\mu$ L/well) 後、室温で 30 分反応し、洗浄液にて 5 回洗浄後、タッピングし十分に洗浄液を除去した。第二反応では酵素発色液をプレートに分注 (100  $\mu$ L/well)

**Table 1** 婦人科悪性腫瘍の進行期別病期分類における血中 MK 濃度

	stage	症例数	cut off 値以上	平均 MK 値 (ng/ml)
cervical ca.	0	6	2 (33%)	0.15
	Ia	8	4 (50%)	0.59
	Ib	12	8 (66%)	0.39
	IIa	3	2 (66%)	0.58
	IIb	7	5 (71%)	0.33
	IIIa	1	1 (100%)	0.44
	IIIb	2	2 (100%)	1.3
	IV	4	4 (100%)	3.3
	0-IV	43	28 (65%)	0.49
endometrial ca.	I	11	6 (55%)	0.58
	II	2	2 (100%)	0.46
	III	0	—	—
	IV	0	—	—
	I-IV	13	9 (67%)	0.34
ovarian ca.	I	5	3 (60%)	0.32
	II	0	—	—
	III	4	3 (75%)	0.66
	IV	3	3 (100%)	0.57
	I-IV	12	9 (67%)	0.36
計		68	47 (69%)	0.36

Cut off 値は MK 濃度  $\leq 0.3$  ng/ml とした。(各 stage 症例数中の [Cut off 値 < の症例数] の割合)



**Fig. 1** MK ELISA Standard curve  
It shows an approximately straight line

し室温 20 分放置した。その後、反応停止液をプレートに分注 (100  $\mu$ L/well) し、マルチプレートリーダーを用い OD450 にて測定を行なった。標準曲線は、0-4 ng/ml の間でほぼ直線を示した (Fig. 1)。本測定系における intraassay および interassay の coefficient of variation (CV) はいずれも 10% 以内であった。尚、炎症疾

患により血中 MK 濃度の軽度上昇を認めたとの報告<sup>17)</sup>があるので、本研究では炎症疾患を除外するため CRP を測定して、0.2 mg/dl 以上の検体は除外した。

### 3) reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)

RT-PCR 法を用いて正常組織 (子宮内膜、卵管、卵巣、子宮頸部、子宮筋層) および婦人科悪性腫瘍における MK mRNA の発現をみた。まず無菌的に凍結保存した組織を用いて、RNA 抽出を以下のごとく行った。次に Isogen (Nippon Gene、東京) を用いてトータル RNA を抽出し、このうちの 5  $\mu$ g を RT-PCR キット (Stratagene、La Jolla、CA) を用いて cDNA へ逆転写した。調整した cDNA は利用まで  $-20^{\circ}\text{C}$  で保存した。MK の増幅は、以下 2 種類のプライマー・ペアにより行った。

MK-F

5'-ATGCAGCACCGAGGCTTCCT-3'

MK-R

5'-ATCCAGGCTTGGCGTCTAGT-3'

1  $\mu$ L の cDNA と 10 pmol の各プライマーを用いて、Ready-To-Go PCR Beads キット (NJ、USA) により PCR 分析を行った。各々の PCR 条件は、 $94^{\circ}\text{C}$  において 30 秒、 $50^{\circ}\text{C}$  で 45 秒、ならびに  $72^{\circ}\text{C}$  で 90 秒、これを 30 サイクルで行った。増幅産物は、1.5% アガロースゲル上で分画した。ゲルは臭化エチジウムで染色し、それぞれの試料における cDNA 合成量は glyceraldehydes-3-phosphat dehydrogenase (GAPDH) を内部標準遺伝子として PCR を行い評価した。

### 4) 免疫組織学的検討

MK の免疫組織学的局在は、パラフィン切片を用いてヒストファイブ SAB キット (ニチレイ、東京) により行なった。各切片は脱パラフィン処理後、0.01 M citrate buffer solution (pH 6.0) に浸し、オートクレーブで  $121^{\circ}\text{C}$ 、8 分間処理し、抗原賦活を行った。その後、0.3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  により内因性ペルオキシダーゼのブロッキングを 10 分間行なった。一次抗体には抗ヒト MK マウス抗体 (明治乳業医薬開発部佐久間貞俊氏より供与) を使用し 1 時間反応させ、二次抗体反応 10 分、ビオチン-アピチン反応 5 分後、3, 3'-Diaminobenzidine (DAB)- $\text{H}_2\text{O}_2$  により発色した。ヘマトキシレンにより核染色を行った後、アルコールによる脱水、封入処理を行った。negative control としては一次抗体に抗ヒト MK マウス抗体の代わりに正常マウス抗体を用いた。

### 5) 統計学的処理

血中 MK 濃度の平均値について、良性腫瘍と悪性腫瘍の比較を Student's t-test を用いて行った。この結果、 $P < 0.05$  を有意差ありとした。

## 結 果

### 1) 健常婦人における血中 MK 濃度

健常婦人 23 名から採取した 60 検体における平均血中 MK 濃度は、 $0.09 \pm 0.01$  ng/ml であり、0.3 ng/ml 以上を示す検体はなかった。これより本測定系の cut off 値を 0.3 ng/ml した。また、月経周期よりみた血中 MK 濃度に関しては、各周期による濃度の変動は認めなかった (Fig. 2)。

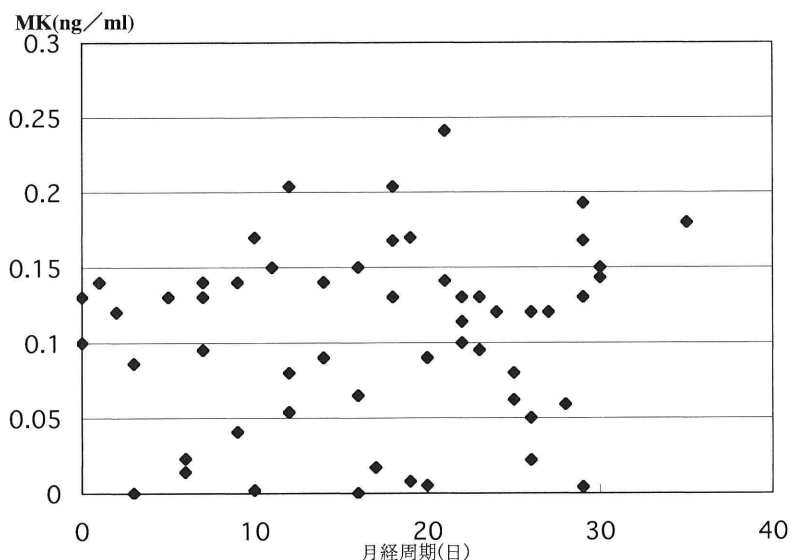
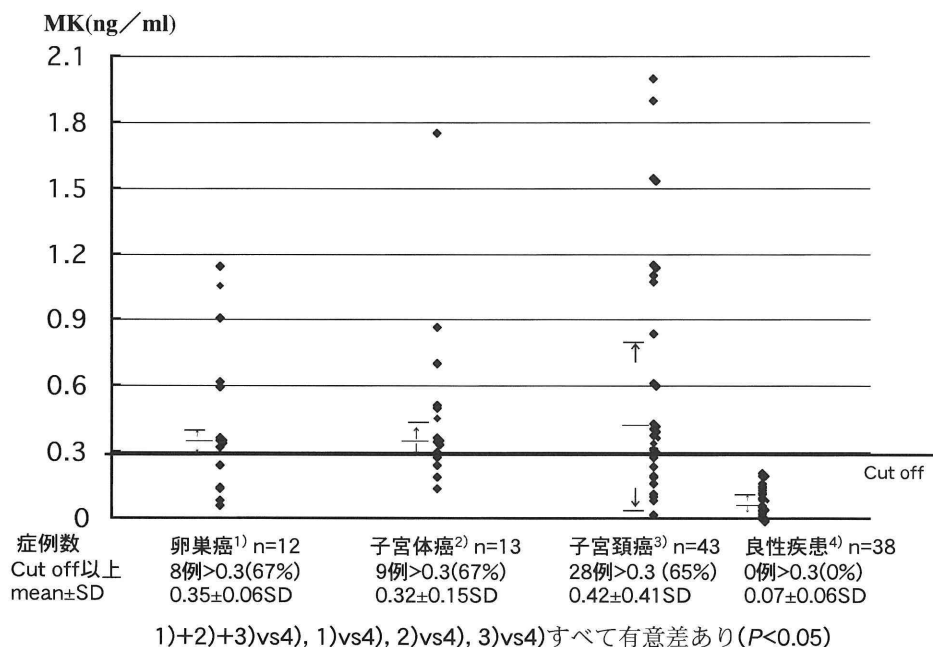
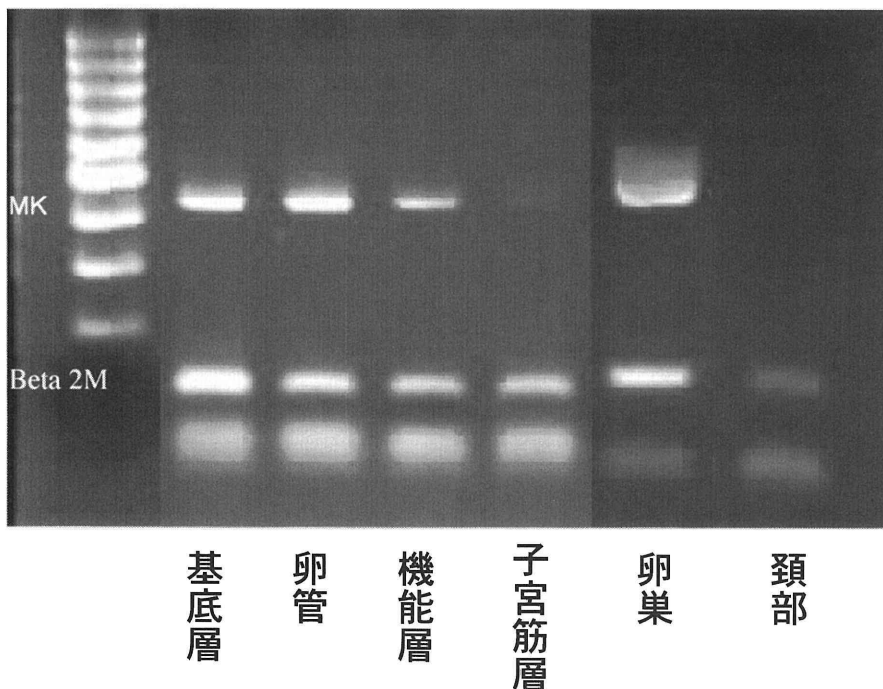


Fig. 2 Serum MK levels during menstrual cycle in normal women  
There was no sample over 0.3 ng/ml.



**Fig. 3** Serum MK levels in the patients with gynecological tumors  
 Mean serum MK level was 0.07±0.06 (mean±SD) in controls. Mean serum MK level was 0.42±0.41 in cervical cancers, 0.32±0.15 in endometrial cancers, and 0.35±0.06 in ovarian cancers.

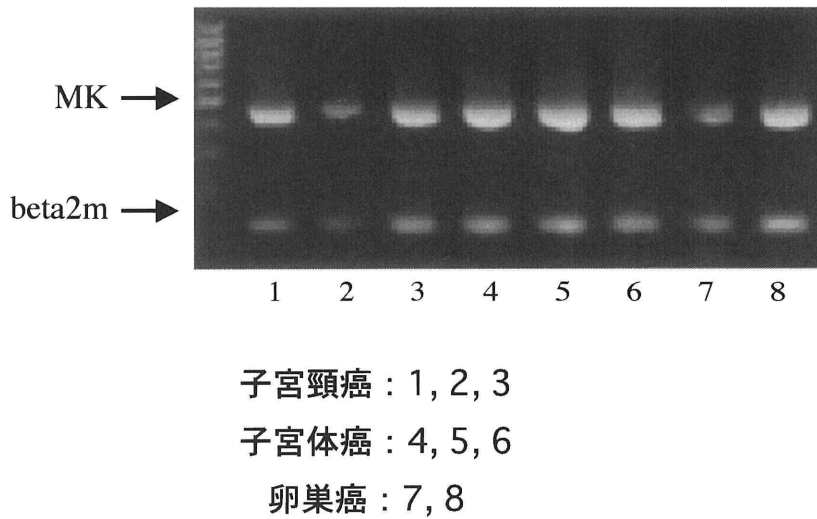


**Fig. 4** The expression of MK mRNA in female genital organs  
 The expression of MK mRNA was observed in all female genital organs except the cervix of uterus.

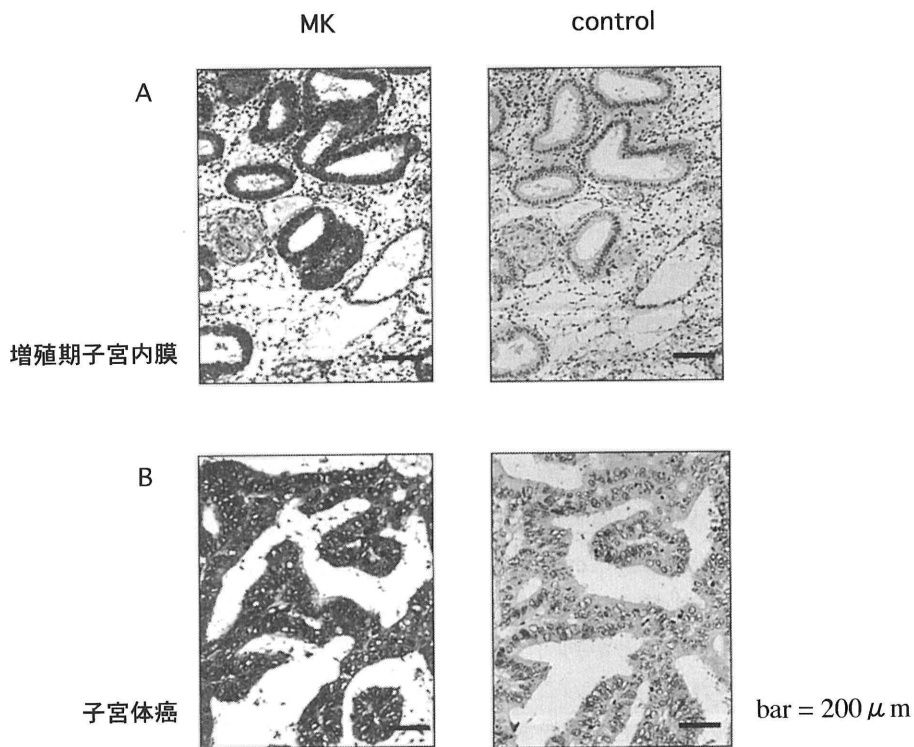
**2) 婦人科良性疾患及び悪性疾患における血中MK濃度**

良性腫瘍40例における血中MK濃度は、2例以外はすべてcut off値である0.3 ng/ml以下を示した。この2例に関しては、後の精査で胃癌、甲状腺腺腫を

各々合併していることが判明したため、本研究より除外した。悪性腫瘍に関しては、子宮頸癌は43例中37例(69%)、子宮体癌は13例中9例(67%)、卵巣癌では12例中9例(67%)がcut off値以上であり、全体としては68例中47例(69%)がcut off値を上回った



**Fig. 5** The expression of the MK mRNA in gynecological cancers  
 The expression of MK mRNA was observed in all gynecological cancers.



**Fig. 6** The immunohistochemical staining of MK in endometrial cancer cells and glandular cells of endometrium  
 A : normal endometrium  
 The MK staining was observed in the cytoplasm of glandular cells of endometrium (left side), but not in controls (right side) .  
 B : endometrial cancer  
 The MK staining was observed in the cytoplasm of cancer cells (left side), but not in controls (right side).

(Fig. 3)。統計学的に血中 MK 濃度について検討してみると、良性腫瘍と、子宮頸癌、子宮体癌、卵巣癌の各悪性腫瘍ならびに良性腫瘍とすべての悪性腫瘍の間にはいずれも、 $P < 0.05$  で有意差を認めた。また、各

進行期別の MK 濃度を検討してみると、特に子宮頸癌では上皮内癌 (carcinoma in situ ; CIS) (n=6) で 33%、Ia 期 (n=8) では 50% と早期癌においても高率に cut off 値を上回る症例を認めた (Table 1)。しかし、

SCC や CA-125 などの代表的な腫瘍マーカーのように病期が進行するに従って値が上昇する傾向は認めなかった。

### 3) MK mRNA 発現の検討

女性生殖器各組織における MK mRNA の発現は、子宮頸部を除きすべてに発現が認められた (Fig. 4)。悪性腫瘍組織においては、検索したすべての腫瘍組織においてその発現が認められた (Fig. 5)。

### 4) 免疫組織学的局在の検討

正常子宮内膜においては、子宮内膜腺細胞の細胞質に著明な MK の局在を認めた (Fig. 6A)。子宮体癌における局在は、腫瘍細胞の細胞質に認めた (Fig. 6B)。

## 考 察

MK の血中濃度は、健常人や良性腫瘍では、悪性腫瘍に比べ低値を示すとの報告<sup>16,17)</sup>されている。しかし、組織再構築に関与する MK が、組織の破綻再生を繰り返す月経を有する女性においていかなる血中動態を示すか調べた報告はない。そこで本研究においては、健常婦人の子宮内膜について検討を行い、MK が子宮内膜に発現、局在することを明らかとした。これにより子宮内膜からの MK 産生に及ぼす estrogen や progesterone などの影響も無視できないと考えた。そこで健常婦人の月経周期における、血中 MK 値の変動を検討し、月経周期中に血中 MK 値の変動は認めないことを明らかにした。さらに腫瘍マーカーとしての意義を検討するため、婦人科良性腫瘍 (子宮筋腫、腺筋症、良性卵巣嚢腫) との統計学的比較検討を行ったが、子宮頸癌、子宮体癌、卵巣癌の一群と良性腫瘍群とは明らかな有意差を認めた。良性腫瘍で cut off 値以上の MK 濃度を示した 2 例は、後の精査によりそれぞれ胃癌、甲状腺腫を合併していたことが判明したため、この 2 例は対象より除外されたが、このことから MK の腫瘍マーカーとしての有用性が示唆された。

MK は正常内膜および内膜癌組織の両者に発現しているにもかかわらず、なぜ健常婦人の血中では検出ができないのかは、今回の結果だけでは明らかではないが、子宮頸癌に関しては、最近 MK が高発現するといった我々と同様な報告<sup>18)</sup>がなされたが、CIS や Ia 期の初期病変でも血中 MK 濃度が cut off 値を上回る症例が多く見られることから、悪性腫瘍の浸潤との関連性も示唆される。一般に良性腫瘍や正常の子宮内膜増殖の過程では、細胞が基底膜を超えて浸潤する事は

ないが、悪性腫瘍では基底膜を超える浸潤能を有するため MK がこの腫瘍細胞浸潤に何らかの役割を果たしていると考えられる。初期癌において、血中の MK 値が鋭敏に上昇することも、これにより説明できるかもしれない。また、進行期分類とは関係なく MK 値が上昇している症例では予後が悪いという報告<sup>12-14)</sup>からは MK と浸潤能の強さの関連性が示唆される。

一方、MK は様々な悪性腫瘍において高濃度で検出されることが報告されており、MK はある特定で、特異的な腫瘍細胞に発現するのではなく、細胞の悪性化にともなう様々な変化が MK 発現の要因のひとつと考えられる。また近年、MK はアポトーシスを抑制する働き<sup>5,19)</sup>や種々の細胞 (embryonic neurons<sup>20)</sup>, neutrophils<sup>7)</sup>, macrophages<sup>21)</sup>) の遊走を助ける作用も報告されており、この二つの作用により腫瘍の発育と浸潤を促進するとも考えられる。

悪性腫瘍における MK 高発現の理由はいまだ不明であるが、子宮頸癌において MK が高発現するといった我々と同様な報告もあり、MK の婦人科悪性腫瘍におけるマーカーとしての測定意義は明白である。今後も更なる機能解析が進み、臨床応用が期待できる因子である。

## 結 語

1. MK は正常の子宮内膜に発現するが、血中ではほとんど測定不能であり、月経周期による血中 MK 値の変動は認めなかった。
2. 婦人科悪性腫瘍における血中 MK 濃度は、良性腫瘍に比べ有意に高値を示すことから、腫瘍マーカーとしての有用性が示唆された。
3. 子宮頸癌では、0 期、Ia 期の初期病変においても血中 MK 濃度が cut off 値以上の高値を示す症例を高率に認めることから子宮頸癌の早期スクリーニングマーカーとしての可能性が示唆された。

## 謝 辞

本稿を終えるにあたり、御指導を賜りました東京医科大学高山雅臣名誉教授に深甚なる謝意を捧げます。また、MK 測定に関して多大の御指導、御協力を賜りました明治乳業株式会社医薬開発部、池松真也氏ならびに佐久間貞俊氏に深謝致します。

## 文 献

- 1) Kadomatsu K, Tomomura M, Muramatsu T:



- cDNA cloning and sequencing of a new gene expressed in early differentiation stages of embryonal carcinoma cells and in mid-gestation period of mouse embryogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* **151**: 1312-1318, 1998
- 2) Tomomura M, Kadomatsu K, Matsubara S and Muramatsu T: A retinoic acid- responsive gene, MK, found in the teratocarcinoma system. Heterogeneity of the transcript and the nature of the translation product. *J Biol Chem* **265**: 10765-10770, 1990
  - 3) Merenmies J, Rauvala H: Molecular cloning of the 18-kDa growth-associated protein of developing brain. *J Biol Chem* **265**: 16721-16724, 1990
  - 4) Muramatsu H, Sirakawa H, Yonezawa S, Murata H and Muramatsu T: Midkine, a retinoic acid-inducible growth/differentiation factor: immunohistochemical evidence for the function and distribution. *Dev Biol* **159**: 392-402, 1993
  - 5) Michikawa M, Kikuchi S, Muramatsu H, Muramatsu T: Retinoic acid responsive gene product, midkine (MK), has neurotrophic functions for mouse spinal cord and dorsal root ganglion neurons in culture. *J Neurosci Res* **35**: 530-539, 1993
  - 6) Kojima S, Muramatsu H, Amamura H, Muramatsu T: Midkine enhances fibrinolytic activity of bovine endothelial cells. *J Biol Chem* **270**: 9590-9596, 1995
  - 7) Takada T, Torimatsu K, Muramatsu H, Song XJ, Torii S, Muramatsu T: Midkine, a retinoic acid-inducible heparin-binding cytokine in inflammatory responses: chemotactic activity to neutrophils and association with inflammatory synovitis. *J Biochem* **122**: 453-458, 1997
  - 8) Unoki K, Ohba N, Arimura H, Muramatsu H, and Muramatsu T: Rescue of photoreceptors from the damaging effect of constant light by midkine, a retinoic acid responsive gene product. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **35**: 4063-4068, 1994
  - 9) Yasuhara O, Muramatsu H, Kim S U, Muramatsu T, Murata H: Midkine, a novel neurotrophic factor, is present in senile plaques of Alzheimer disease. *Biochem Biophys Res Commun* **192**: 246-251, 1993
  - 10) Tsutsui J, Kadomatsu K, Song XJ, Hamanoue M, Takao S, Shimizu H, Ohi Y, Muramatsu T: A new family of heparin-binding growth/differentiation factors: increased midkine expression in Wilms' tumor and other human carcinomas. *Cancer Res* **53**: 1281-1285, 1993
  - 11) Aridome K, Tsutsui J, Takao S, Kadomatsu K, Ozawa M, Aikou T and Muramatsu T: Increased midkine gene expression in human gastrointestinal cancers. *Jpn J Cancer Res* **86**: 655-661, 1995
  - 12) Garver RI, Radford DM, Donis-keller H, Wick MR, and Milner P: Midkine and pleiotrophin expression in normal and malignant breast tissue. *Cancer* **74**: 1584-1590, 1994
  - 13) Nakagawa A, Milbrand J, Muramatsu T, Deuel TF, Zhao H, Cnaan A and Muramatsu T: Differential expression of pleiotrophin and midkine in advanced neuroblastomas. *Cancer Res* **55**: 1792-1797, 1995
  - 14) Mishima K, Asai A, Kadomatsu K, Ino Y, Nomura K, Narita Y, Muramatsu T and Kurino T: Increased expression of midkine during the progression of human astrocytomas. *Neurosci Lett* **233**: 29-32, 1997
  - 15) O'Brien T, Cranston D, Fuggle S, Bicknell R and Harris AL: The angiogenic factor midkine is expressed in bladder cancer, and over expression correlates with invasive cancers. *Cancer Res* **56**: 2515-2518, 1996
  - 16) Ikematsu S, Yano A, Aridome K, Kikuchi M, Kumai H, Nagano H, Sakuma S, Muramatsu H, Kadomatsu K, Muramatsu T: Serum midkine levels are increased in patients with various types of carcinomas. *Br J Cancer* **83**: 701-706, 2000
  - 17) Song XJ, Muramatsu H, Aridome K, Aikou T, Koide N, Tsuji T and Muramatsu T: The serum level of midkine, a heparin-binding growth factor, as a tumour marker. *Biomed Res* **18**: 375-381, 1997
  - 18) Moon HS, Park WI, Sung SH, Choi EA, Chung HW and Woo BH: Immunohistochemical and quantitative competitive PCR analyses of midkine and pleiotrophin expression in cervical cancer. *Gynecol Oncol* **88**: 289-297, 2003
  - 19) Qi M, Ikematsu S, Ichihara-Tanaka K, Sakuma S, Muramatsu T and Kadomatsu K: Midkine rescues Wilms' tumor cell from cisplatin-induced apoptosis: regulation of Bcl-2 expression by midkine. *J Biochem* **127**: 269-277, 2000
  - 20) Maeda N, Ichikawa-Tanaka K, Kimura T, Kadomatsu K, Muramatsu T and Noda M: A receptor-like protein tyrosine phosphatase binds a heparin-binding growth factor midkine: Involvement of arginine 78 of midkine in the high affinity binding to PTP. *J Biol Chem* **274**: 12474-12479, 1999
  - 21) Horiba M, Kadomatsu K, Nakamura E, Muramatsu H, Ikematsu S, Sakuma S, Muramatsu T: Neointima formation in a restenosis model is suppressed in midkine-deficient mice. *J Clin Invest* **105**: 489-495, 2000

## Expression of Midkine in gynecological tumors and its clinical application

Chikara SATO, Hiroataka NISHI, Keiichi ISAKA

Department of Obstetrics and Gynecology, Tokyo Medical University.

### Abstract

The level of expression of midkine (MK), a heparin-binding growth factor, is elevated in many human cancers. However, there have been no report to date on the serum MK level of human gynecological cancers. We studied the serum MK level of human gynecological cancers by using an enzyme-linked immunoassay (EIA) and the gene expression of MK messenger RNA by using RT-PCR. EIA which utilizes a combination of rabbit and chicken antibodies revealed that serum MK level in the controls with benign tumors (n=40) was  $0.07 \pm 0.06SD$  ng/ml and the apparent cut-off value was 0.3 ng/ml. Serum midkine level was not related with cycle of menstruation. Serum midkine level was significantly elevated in the cancer patients (n=68) and 69% of these patients showed levels of more than 0.3 ng/ml. All types of cancer examined showed a similar profile of serum midkine levels. The expression of MK messenger RNA was observed in all gynecological cancers and every part of female generative organ except and cervix of uterus. The expression of MK mRNA in endometrial cancer cell and glandular cell of endometrium were significantly higher than others.

Furthermore, cervical cancer patients with stage I cancer or carcinoma in situ already showed elevated serum midkine levels. The present results indicated that serum midkine could serve as a general tumor marker with a good potential for clinical applications.

---

<Key words> Midkine, Tumor marker, Gynecological tumors, Endometrium

---