

DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2001.05.15

CD44V6 在肺鳞癌中的表达

袁天柱 贾育红 杨鲲鹏 寿化山 黄壮士 邹建湘

【摘要】 目的 探讨 CD44V6 在肺鳞癌中的表达及其与肺鳞癌发生发展的相关性。方法 应用免疫组织化学 ABC 法检测 35 例手术切除的新鲜肺鳞癌组织及其癌旁正常肺组织的 CD44V6 蛋白,并将检测结果与患者的临床病理资料进行对照分析。结果 CD44V6 在肺鳞癌组织中的阳性表达率为 65.7%(23/35),而在癌旁正常肺组织中则无表达,二者差异有显著性($\chi^2 = 34.3, P < 0.01$);CD44V6 在有淋巴结转移的肺鳞癌组织中的阳性表达率(84.2%, 16/19)明显高于其在无淋巴结转移者中的阳性表达率(43.8%, 7/16)($\chi^2 = 6.3, P < 0.01$);CD44V6 阳性表达率随肺鳞癌组织分化程度的降低而升高,但无统计学意义($\chi^2 = 2.33, P > 0.05$);CD44V6 在 III + IV 期肺鳞癌中的阳性表达率(86.7%, 13/15)明显高于其在 I + II 期中的阳性表达率(50%, 10/20)($\chi^2 = 5.1, P < 0.01$);CD44V6 阳性表达患者的 3 年生存率(30.4%, 7/23)明显低于 CD44V6 阴性者(66.7%, 8/12)($\chi^2 = 4.2, P < 0.05$)。结论 CD44V6 可能与肺鳞癌的发生有关;CD44V6 阳性预示肺鳞癌可能发生淋巴结转移,并对肺鳞癌的临床分期起到一定作用;CD44V6 阳性还可作为评估肺鳞癌患者预后的参考指标。

【关键词】 肺肿瘤 CD44V6 免疫组织化学

【中图分类号】 R734.2

Expression of CD44V6 in squamous cell carcinoma of the lung YUAN Tianzhu*, JIA Yuhong, YANG Kunpeng, SHOU Huashan, HUANG Zhuangshi, ZOU Jianxiang. * The Department of Thoracic Surgery, Second Affiliated Hospital, Henan Medical University, Zhengzhou, Henan 450003, P. R. China

【Abstract】 Objective To study the expression of CD44V6 in squamous cell carcinoma of the lung (SCC) and the correlation between the CD44V6 positive expression and the carcinogenesis and development of SCC. **Methods** Using immunohistochemistry avidin biotin peroxidase complex (ABC) method, CD44V6 protein expression was detected in the fresh cancer tissues and normal tissues adjacent to cancer from 35 patients with SCC. **Results** CD44V6 presented high expression in cancer tissues (65.7%, 23/35), but it was not detected in the normal tissues adjacent to cancer ($\chi^2 = 34.3, P < 0.01$); compared with SCC without lymph node metastasis (CD44V6 positive rate was 43.8%, 7/16), SCC with lymph node metastasis showed strong expression of CD44V6 (84.2%, 16/19) ($\chi^2 = 6.3, P < 0.01$). CD44V6 expression increased with the cell differentiation of tumor decreasing, but with no statistic significance ($\chi^2 = 2.33, P > 0.05$). There was a distinct difference in CD44V6 expression between stage I + II (50%, 10/20) and stage III + IV (86.7%, 13/15) ($\chi^2 = 5.1, P < 0.01$) with a tendency of higher stage with higher expression of CD44V6. The 3-year survival rate in patients with CD44V6 positive expression (30.4%, 7/23) was significantly lower than that in patients without CD44V6 expression (66.7%, 8/12) ($\chi^2 = 4.2, P < 0.05$). **Conclusion** The results suggest that CD44V6 may play an important role in the carcinogenesis and the development of SCC and that routine assessment of CD44V6 expression may be valuable for deciding TNM stage of SCC. CD44V6 is considered as an indicator of prognosis for patients with SCC of the lung.

【Key words】 Lung neoplasms CD44V6 Immunohistochemistry

肺癌是严重威胁人类健康及生命的最常见的恶性肿瘤之一,具有很大的危害性,而转移和浸润是导致患者死亡的主要原因。近年来的研究表明细胞粘附分子 CD44V6 基因在肿瘤的发生发展中起重要作用^[1],其在

宫颈癌、乳腺癌、胃癌中的异常表达揭示这些肿瘤的预后较差^[2]。迄今,对 CD44V6 在肺癌中的表达情况尚无定论,以往的研究结果也不尽相同。我们应用免疫组织化学 ABC 法对 35 例肺鳞癌进行了 CD44V6 基因蛋白的检测,以探讨 CD44V6 与肺鳞癌患者发生发展的相关性。

1 材料与方法

作者单位 450003 郑州 河南医科大学第二附属医院胸外科(袁天柱、杨鲲鹏、寿化山、黄壮士),河南省胸科医院(贾育红),河南医科大学癌症研究室(邹建湘)

1.1 对象 35 例肺鳞癌患者来自河南医科大学第二附属医院及河南省胸科医院 1995 年 10 月至 1996 年 10 月间收治的病例,其中男 26 例,女 9 例,年龄在 39 ~ 74 岁之间,平均 61.5 岁。所有患者均行手术治疗,且术前未行放疗和/或化疗,术后综合治疗手段亦相同。术后标本迅速用中性福尔马林固定,常规组织学脱水,石蜡包埋并切片(厚 5 μm),HE 染色作病理诊断并筛选切片备作免疫组织化学用。据 UICC 1997 年肺癌 TNM 分期标准,35 例中 I A 期 9 例, I B 期 2 例, II A 期 7 例, II B 期 2 例, III A 期 6 例, III B 期 4 例, IV 期 5 例,高分化 11 例,中分化 16 例,低分化 8 例。35 例中有 19 例发生淋巴结转移,其中 N₁ 9 例, N₂ 6 例, N₃ 4 例。

1.2 试剂 CD44V6 蛋白单克隆抗体为美国 Santa Cruz 公司产品。BSA(小牛冻干血浆)系 Sigma Chemical Inc USA 产品。ABC 试剂盒和 DAB 底物试剂盒为 Vector Laboratories Inc USA 产品。

1.3 实验步骤 ①切片常规脱蜡,0.3% H₂O₂ 室温孵育 20 分钟;②正常马血清(1:50)室温孵育 20 分钟,封闭非特异性免疫球蛋白反应;③BSA 稀释 CD44V6 单抗至 1:100,在 4℃孵育 12 小时;④生物素标记的二抗 1:200 稀释,室温孵育 45 分钟;⑤ABC 室温孵育 60 分钟(使用前 30 分钟新鲜配制);⑥DAB-H₂O₂ 混合孵育 5 ~ 10 分钟,显微镜下观察染色结果。

1.4 对照 用已知肺鳞癌 CD44V6 阳性切片作阳性对照,PBS 代替一抗作阴性对照,每次实验均作对照。

1.5 判断标准 以细胞膜出现明显棕黄色反应定为 CD44V6 阳性,再以阳性细胞数占总细胞数的百分比将阳性表达分为三级:<20%为弱阳性(+);21%~60%之间为阳性(++);>60%为强阳性(+++)。

1.6 统计学分析 数据结果的统计学分析采用 χ^2 检验。

2 结果

本组病例 CD44V6 检测结果见表 1 及图 1。从表中可见,35 例肺鳞癌组织中有 23 例(65.7%)为 CD44V6 阳性,而在其对应的癌旁正常肺组织中却无一例阳性,二者差异有显著性($\chi^2 = 34.3, P < 0.01$)。CD44V6 在 III + IV 期肺鳞癌组织中的阳性表达率(86.7%)明显高于其在 I + II 期肺鳞癌组织中的阳性表达率(50%)($\chi^2 = 5.1, P < 0.01$)。CD44V6 在高、中、低分化肺鳞癌组织中的阳性表达率呈逐渐升高趋势,但三者间差异无统计学意义($\chi^2 = 2.33, P > 0.05$)。CD44V6 在 19 例有淋巴结转移及 16 例无淋巴结转移的肺鳞癌组织中的阳性表达率分别为 84.2%(16/19)及 43.8%(7/16),二者差异有显著性($\chi^2 = 6.3, P < 0.01$)。

随访资料表明,CD44V6 阳性表达的患者术后 1、3 年生存率分别为 73.9%(17/23)和 30.4%(7/23),而 CD44V6 阴性表达者的 1、3 年生存率分别为 75%(9/12)及 66.7%(8/12),两者的术后 3 年生存率有显著性差异($\chi^2 = 4.2, P < 0.05$)。

表 1 CD44V6 在肺鳞癌中的表达及其与临床病理的关系

Tab 1 Relation between CD44V6 expression and clinicopathological characteristics of squamous cell carcinoma of the lungs

Characteristics	No. of cases	CD44V6		P value (χ^2)
		Negative(%)	Positive(%)	
Normal lung tissues adjacent to cancer	35	3(100)	0(0)	<0.01
Cancer tissue	35	1(34.3)	23(65.7)	($\chi^2 = 34.3$)
Stage				
I + II	20	10(50)	10(50)	<0.01
III + IV	15	2(13.3)	13(86.7)	($\chi^2 = 5.1$)
Lymph node metastasis				
With	19	3(15.8)	16(84.2)	<0.01
Without	16	9(56.2)	7(43.8)	($\chi^2 = 6.3$)
Differentiation				
High(G1)	11	3(45.4)	8(54.6)	>0.05
Intermediate(G2)	16	6(37.5)	10(62.5)	($\chi^2 = 2.33$)
Low(G3)	8	1(12.5)	7(87.5)	
Survival rate				
1-year	26	9(75)	17(73.9)	>0.05 ($\chi^2 = 0.005$)
3-year	15	8(66.7)	7(30.4)	<0.05 ($\chi^2 = 4.2$)

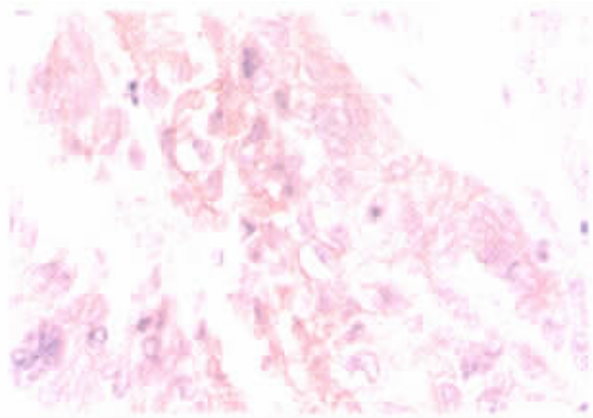


图 1 CD44V6 在肺鳞癌中的表达(ABC 法 ×400)

Fig 1 CD44V6 expression in squamous cell carcinoma of the lung(ABC method ×400)

3 讨论

CD44 是广泛分布于细胞表面的跨膜糖蛋白,在淋巴细胞、成纤维细胞和上皮细胞表面等均能检测到^[3]。人类 CD44 基因位于 11 号染色体短臂上,由至少 19 个外显子组合而成。该基因的一个突出特点是选择性剪接,即在转录过程中只有 9 个外显子固定表达,其余外显子可一个或多个通过组合插入相应的 mRNA 链中,形成一组不同的 CD44 转录子,指导合成一系列结构相似但分子大小相异、功能有别的 CD44 蛋白^[4]。目前发现变异型 CD44(CD44V)至少有 10 种,其中 CD44V6 与肿瘤发生发展的相关性是研究的热点。王继红等^[5]的研究显示,在癌旁正常支气管粘膜上皮细胞中未见 CD44V6 的表达,在鳞状化生的支气管粘膜上皮轻→中→重度不典型增生、原位癌及浸润癌组织中,CD44V6 阳性表达率逐渐升高,阳性细胞数增加且出现在上皮表层,表明 CD44V6 表达与肺鳞癌的发生有关。本研究发现 CD44V6 在 35 例肺鳞癌组织中的阳性表达率为 65.7%,而其相应的癌旁正常肺组织中却无一例阳性表达,这与王继红等的研究结果相一致,提示 CD44V6 阳性表达可能与肺鳞癌的发生有关。

Gunthert 等^[6]将 CD44V6-cDNA 转染无转移活性的小鼠腺腺细胞株时发现该细胞株出现了转移现象,因此他们认为 CD44V6 可以赋予肿瘤细胞以转移能力。Tran 等^[7]发现 CD44V6 同肺癌淋巴结转移关系密切。赵惠儒等^[8]报道在非小细胞肺癌中 91% 发生淋巴结转移的病例表现为 CD44V6 阳性。本研究显示,无淋巴结转移的肺鳞癌组织中 CD44V6 阳性率显著低于有淋巴结转移者,支持 CD44V6 在肺鳞癌的淋巴结转移过程中起重要作用的观点。其侵袭转移的机制可能是 CD44 作为透明质酸盐的受体,分子的 NH₂ 末端功能区

能连接细胞外间质及基底膜的透明质酸盐,这种反应能够调节细胞的运动和形态,肿瘤细胞所表达的 CD44V6 即可通过这种反应将自身“锚”在宿主组织的细胞外间质及基底膜上,导致侵袭转移的发生,同时透明质酸的降解产物还能启动局部的血管发生,为侵袭转移奠定基础。

Penno^[9]及 Wimmel^[10]等的研究表明 CD44 表达同肺癌的临床分期及组织分化程度无关,而赵惠儒等^[8]的研究发现 CD44V6 在 III + IV 期非小细胞肺癌中的阳性表达率明显高于其在 I + II 期非小细胞肺癌中的阳性表达率。本研究显示 CD44V6 阳性表达率在肺鳞癌患者的各病理分级间无统计学差异,但随着肺鳞癌分化程度的降低,CD44V6 的阳性表达率逐渐升高;I + II 期及 III + IV 期肺鳞癌的阳性表达率有显著性差异,这些均提示 CD44V6 阳性表达与肺鳞癌的恶性进展密切相关。

本组的 3 年随访资料表明肺鳞癌患者术后 1 年生存率与 CD44V6 的阳性表达无明显相关性,但 CD44V6 阳性者的术后 3 年生存率却明显低于 CD44V6 阴性者,这与文献报道的 CD44V6 及 CD44V7-8 阳性表达的乳腺癌、大肠癌及宫颈癌患者预后较差的结果一致^[2]。术后 5 年生存率的差异有待进一步的随访。

总之,CD44V6 的表达可能与肺鳞癌的发生和进展有关,检测 CD44V6 有助于肺鳞癌患者的临床分期,并可作为判断肺鳞癌患者预后的参考指标。

参 考 文 献

- 1 Matsumura Y, Tarin D. Significance of CD44 gene products for cancer diagnosis and disease evaluation. *Lancet*, 1992, 340(8827): 1053-1058.
- 2 Kain ZC, Tempfer C, Kohlberger P, et al. Immunohistochemical detection of adhesion molecule CD44 splice variants in lymph node metastases of cervical cancer. *Int J Cancer*, 1997, 74(2): 185-190.
- 3 金顺钱, 张伟. CD44 突变性表达与肿瘤转移. *国外医学分子生物学分册*, 1994, 16(2): 58-60.
- 4 Mackay CR, Terpe HJ, Stauder R, et al. Expression and modulation of CD44 variant isoforms in humans. *J Cell Biol*, 1994, 124(1): 71-78.
- 5 王继红, 姜彦多, 何安光. CD44 突变型在支气管粘膜上皮癌变过程中的表达及其意义. *肺癌杂志*, 1998, 1(2): 78-79.
- 6 Gunthert U, Kofmann M, Rudy W, et al. A new variant of glycoprotein CD44 confers metastatic potential to rat carcinoma cells. *Cell*, 1991, 65(1): 13-24.
- 7 Tran TA, Kallakury BV, Sheehan CE, et al. Expression of CD44 standard form and variant isoforms in non-small cell lung carcinomas. *Hum Pathol*, 1997, 28(7): 809-814.
- 8 赵惠儒, 方军, 杜光焯, 等. CD44 在肺癌中的表达的临床研究. *中华结核和呼吸杂志*, 1998, 21(9): 541-543.
- 9 Penno MB, August JJ, Baylin SB, et al. Expression of CD44 in human lung tumor. *Cancer Res*, 1994, 54(5): 1381-1387.

- 10 Wimmel A, Schilli M, Kaiser U, et al. Preferential histiotypic expression of CD44-isoforms in human lung cancer. Lung Cancer, 1997, 16(2-3):151-172.

(收稿 2000-05-08 修回 2000-07-25)
(本文编辑 张世雯)