

DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2000.02.11

CD44 的表达与人类非小细胞肺癌 淋巴转移相关性的初步研究

赵京 孙玉鸮 张连斌

【摘要】 目的 研究 CD44 蛋白在人非小细胞肺癌组织中的表达及其与非小细胞肺癌淋巴转移的关系。方法 应用 SP 免疫组化染色法对 44 例非小细胞肺癌组织和 10 例癌旁肺组织染色,光镜观察,并应用计算机图像分析仪进行胞浆光密度测量分析。结果 光镜观察:有淋巴结转移组的癌组织高表达率为 75% (18/24),无淋巴结转移组的癌组织高表达率为 35% (7/20),癌旁肺组织高表达率为 0 (0/10),三组间差异非常显著 ($P < 0.01$)。平均光密度值测定:有淋巴结转移组为 132.4 ± 15.6 ,无淋巴结转移组为 112.5 ± 14.9 ,癌旁肺组织为 90.9 ± 10.7 ,三组间差异亦非常显著 ($P < 0.01$)。CD44 与肿瘤的病理类型、细胞分化程度及原发肿瘤大小无明显关系。结论 CD44 蛋白与非小细胞肺癌的淋巴转移有密切关系,检测非小细胞肺癌中 CD44 的表达有助于判断其淋巴转移的趋势,有望成为判断患者预后的独立指标。

【关键词】 肺肿瘤 CD44 蛋白 淋巴结转移 免疫组化

Preliminary study on the correlation between expression of CD44 in human non-small cell lung cancer and lymph node metastasis ZHAO Jing*, SUN Yu'e, ZHANG Lianbin. * Department of General Thoracic Surgery, General Hospital of Beijing Military District, Beijing 100700, P. R. China

【Abstract】 Objective To investigate the correlation between expression of CD44 in human non-small cell lung cancer (NSCLC) and lymph node metastasis. **Methods** SP immunohistological staining and immunohistochemical quantitative analysis were performed to detect 54 paraffin-embedded specimens (44 lung cancer tissues, 10 matched normal lung tissues). **Results** Microscopic examination: Strong expression of CD44 in LN(+) group was 75% (18/24), in LN(-) group was 35% (7/20), and in matched normal lung tissue group was 0 (0/10) ($P < 0.01$). Optical density quantitative analysis: LN(+) group was 132.4 ± 15.6 , LN(-) group was 112.5 ± 14.9 , and the matched normal lung tissue group was 90.9 ± 10.7 ($P < 0.01$). The expression of CD44 wasn't related to the histological classification, the cell differentiation and the size of the cancer in NSCLC. **Conclusion** CD44 expression is closely correlated with lymph node metastasis in NSCLC. Therefore, it might be an independent prognostic indicator which reflects the tendency to lymph node metastasis.

【Key words】 Lung neoplasms CD44 protein Lymph node metastasis Immunohistochemistry

CD44 是一种广泛分布的细胞表面跨膜糖蛋白,属粘附分子族^[1],具有多种形态及功能。主要参与细胞与细胞、细胞与胞外基质之间的粘连以及细胞的伪足形成,与细胞的迁移运动有关^[2-5]。人 CD44 基因位于 11 号染色体短臂上。CD44 蛋白有三个功能区^[6]:羧基末端的胞质内区、跨膜区、氨基末端的胞外区。对 CD44 的初期研究主要集中在淋巴细胞的归巢方面^[7]。以后的大量研究发现 CD44 的异常表达与乳腺癌、结肠直肠癌、黑色素细胞瘤等肿瘤的转移有关^[8-10]。本研

究通过 SP 免疫组化染色方法对非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)组织及对照组织的 CD44 蛋白表达进行检测,并应用 QIM970 计算机图像分析仪进行定量分析,以探讨 CD44 与非小细胞肺癌淋巴转移的关系。

1 材料与方法

1.1 标本来源 44 例肺癌组织(鳞癌 22 例、腺癌 12 例、大细胞癌 10 例)和 10 例癌旁肺组织均取自解放军总医院胸外科 1995 年 12 月至 1996 年 12 月手术切除标本,常规福尔马林固定、石蜡包埋。肿瘤标本均有明确的病理诊断。每例组织切片 3 张,分别进行 HE 染

作者单位:100700 北京军区总医院胸外科(赵京);解放军总医院胸外科(孙玉鸮、张连斌)

色和 SP 免疫组化染色,并设立不加 CD44 单抗的空白对照。

1.2 光镜分析免疫组化切片 A:按细胞显色深浅记分,不显色为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。B:按显色细胞数记分,1/3 以下为 1 分,1/3~2/3 为 2 分,2/3 以上为 3 分。积分数 = A × B, A × B = 0 为阴性;A × B = 1~4 为弱阳性,低表达;A × B > 4 为强阳性,高表达。

1.3 胞浆光密度测量 应用 QTM970 计算机图像分析仪定量分析免疫组化切片,每张切片随机选取 20 个 CD44 染色阳性细胞,测定其平均光密度值,以反映胞浆单位面积内 CD44 蛋白的相对含量。

1.4 统计学处理 光镜结果为计数资料,采用²精确法检验。定量分析结果为计量资料,呈正态分布,方差齐,采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 光镜观察(表 1) 44 例 NSCLC 组织中 CD44 高表达 25 例(占 56.8%),低表达 19 例,染色均位于胞浆和胞膜上,核不着色。其中有淋巴结转移组 24 例中高表达 18 例(占 75%),无淋巴结转移组 20 例中高表达 7 例(占 35%),两组间比较差异非常显著(P < 0.01)。

10 例癌旁肺组织均呈低表达。按病理类型分组,鳞癌高表达率为 54.5%(12/22),腺癌为 58.3%(7/12),大细胞癌为 60%(6/10),三组间比较差异无显著性(P > 0.05)。按分化程度分组,中~高分化组高表达率为 55.6%(15/27),低分化组高表达率为 58.8%(10/17),二组之间比较差异无显著性(P > 0.05)。按肿瘤局部生长情况分组,T₁ + T₂ 组高表达率为 56.2%(9/16),T₃ + T₄ 组高表达率为 57.1%(16/28),二组之间比较差异无显著性(P > 0.05)。

2.2 平均光密度(OD)值测定(表 1) 44 例 NSCLC 组织 OD 值为 123.4 ± 15.3,10 例癌旁肺组织 OD 值为 90.9 ± 10.7,二组间差异非常显著(P < 0.01)。肺癌组中有淋巴结转移组 OD 值为 132.4 ± 15.6,无淋巴结转移组 OD 值为 112.5 ± 14.9,二组间差异非常显著(P < 0.01)。鳞癌、腺癌和大细胞癌组的 OD 值分别为 125.4 ± 13.7、130.6 ± 14.1 和 119.8 ± 10.2,三组间差异无显著性(P > 0.05)。高~中分化组 OD 值为 130.8 ± 14.3,低分化组为 121.1 ± 13.6,二组间差异无显著性(P > 0.05)。T₁~T₄ 组 OD 值分别为 120.2 ± 11.7、125.4 ± 14.1、122.6 ± 13.9 和 124.1 ± 12.2,各组间比较差异无显著性(P > 0.05)。

表 1 CD44 表达与 NSCLC 临床病理特征的关系

Tab 1 The relationship between expression of CD44 and the clinicopathological characteristics in NSCLC

Characteristics	n	Strong expression	Weak expression	P ₁ value	OD	P ₂ value
Histology				> 0.05		> 0.05
Squamous cell carcinoma	22	12	10		125.4 ± 13.7	
Adenocarcinoma	12	7	5		130.6 ± 14.1	
Large cell lung cancer	10	6	4		119.8 ± 10.2	
Lymph node metastasis				< 0.01		< 0.01
LN(+)	24	18	6		132.4 ± 15.6	
LN(-)	20	7	13		112.5 ± 14.9	
Differentiated grade				> 0.05		> 0.05
Well to moderate	27	15	12		130.8 ± 14.3	
Poor	17	10	7		121.1 ± 13.6	
Size of the tumor				> 0.05		> 0.05
T ₁	2	1	1		120.2 ± 11.7	
T ₂	14	8	6		125.4 ± 14.1	
T ₃	25	14	11		122.6 ± 13.9	
T ₄	3	2	1		124.1 ± 12.2	

3 讨论

对 CD44 的研究一开始主要集中在其对淋巴细胞的作用上,研究证实:CD44 蛋白作为淋巴细胞的归巢受体,参与了淋巴细胞的激活和再循环入血^[1]。后来人们发现,激活的淋巴细胞和转移的癌细胞有许多共

性^[11],譬如它们都具有很强的侵袭能力,均能通过可逆的粘附接触过程进行细胞迁移,在引流淋巴结中均能大量聚集并快速增殖,最后都能再释放进入循环系统并外渗入周围组织。这些明显的相似性可能是基于相同或相似的分子学特性,CD44 蛋白分子可能是其中

之一。许多研究证实:CD44 蛋白通过模仿淋巴细胞的再循环过程参与肿瘤的淋巴转移^[11]。Güthert 等^[7]通过应用能够识别 CD44v6 抗原决定簇的抗体证实了 CD44v 可能参与了肿瘤的转移。还有的研究证实 CD44 蛋白作为配体参与了卵巢癌细胞与间皮细胞的连接。许多临床研究报道 CD44 蛋白与结直肠癌^[12]、胃癌^[13]、乳腺癌^[10] 等的转移和预后密切相关。

有关 CD44 蛋白在人 NSCLC 组织中的表达及其与淋巴转移的关系的报道不太多。本组实验采用 SP 免疫组化方法对 NSCLC 组织中 CD44 蛋白的表达进行检测,结果显示: CD44 蛋白分布在细胞的胞膜和胞浆上,胞核不着色; NSCLC 组织 CD44 高表达率为 56.8%,而癌旁肺组织的高表达率为 0;NSCLC 组织 OD 值为 123.4 ± 15.3 ,癌旁肺组织为 90.9 ± 10.7 ,二组间差异均非常显著 ($P < 0.01$),提示 CD44 蛋白的表达与肿瘤有密切关系。44 例 NSCLC 组织中有淋巴结转移组 24 例,CD44 高表达率为 75%,无淋巴结转移组 20 例,高表达率为 35%,二组间比较差异非常显著 ($P < 0.01$);淋巴结转移组 OD 值为 132.4 ± 15.6 ,无淋巴结转移组 OD 值为 112.5 ± 14.9 ,二组间差异亦非常显著 ($P < 0.01$),提示 CD44 蛋白的表达与 NSCLC 的淋巴转移有密切关系。CD44 蛋白在不同病理类型、不同分化程度及不同原发肿瘤大小各组间比较,无论是高表达率还是 OD 值,统计学处理均无显著差异 ($P > 0.05$),提示 CD44 蛋白的表达与 NSCLC 的病理类型、分化程度及原发肿瘤大小无明显关系。

根据本实验结果并结合其他研究者的发现,我们认为 CD44 蛋白不仅与 NSCLC 的形成有关,而且与其淋巴转移有密切关系。检测 NSCLC 的 CD44 蛋白表达可以作为一项较好的判断肿瘤淋巴扩散能力、判断预后的指标^[13],以指导临床 NSCLC 患者的综合治疗。

关于 CD44 蛋白在肿瘤的淋巴系统转移过程中的作用机制,可能的解释如下^[14]: 参与细胞与细胞结合及细胞与胞外基质结合的 CD44 蛋白可促进肿瘤细胞脱离原发灶,并促进形成肿瘤细胞转移的低阻力通道。到达区域淋巴结的瘤细胞通过 CD44 蛋白与该部位的透明质酸结合而停留并生长。结合时的降解产物还能促进瘤细胞滋养血管的生长。瘤细胞在淋巴结中通过位于其细胞膜上的 CD44 的各种拼接变异体而适应淋巴结中的周围环境,使其在增殖过程中及再

循环入血后能避开免疫系统的识别及攻击。CD44 蛋白还可能参与了肿瘤细胞自血管内向周围组织间的外渗及增殖。

参 考 文 献

- Haynes BF, Teien MJ, Patton KL, et al. CD44: a molecule involved in leukocyte adherence and T-cell activation. *Immunol Today*, 1989, 10 (2) 423-428.
- Zetter BR. Adhesion molecules in tumor metastasis. *Semin Cancer Biol*, 1993, 4(4) 219-222.
- Underhill CB, Green SJ, Comoglio PM, et al. The hyaluronate receptor is identical to a glycoprotein of gp85 as shown by a monoclonal antibody that interferes with binding. *J Biol Chem*, 1987, 262(2) 13142-13150.
- Aruffo A, Stamenkovic L, Melnick KM, et al. CD44 is principle cell surface receptor for hyaluronate. *Cell*, 1990, 61 (7) 1303-1309.
- Thomas L, Etoh T, Stamenkovic L, et al. Migration of human melanoma cells on hyaluronate is related to CD44 expression. *J Invest Dermatol*, 1993, 100(2) 115-121.
- Screaton GR, Bell MV, Jackson DG, et al. Genomic structure of DNA encoding the lymphocyte homing receptor CD44 reveals at least 12 alternatively spliced exons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(24) 12160-12168.
- Güthert U, Hofmann M, Rudy W, et al. A new variant of glycoprotein CD44 confers metastatic potential to rat carcinomas cells. *Cell*, 1991, 65 (1) 13-24.
- Harn HF, Ho Li, Chang GY, et al. Differential expression of the human metastasis adhesion molecule CD44v in normal and carcinomatous stomach mucosa of Chinese subjects. *Cancer*, 1995, 75(5) 1065-1072.
- Li H, Hamou MF, De Tribolet N, et al. Variant CD44 adhesion molecules are expressed in human brain metastasis but not in glioblastoma. *Cancer Res*, 1993, 53(22) 5345-5352.
- Dall P, Heider KH, Sinn HP, et al. Comparison of immunohistochemistry and RT-PCR for detection of CD44v-expression, a new prognostic factor in human breast cancer. *Int J Cancer*, 1995, 60(4) 471-479.
- Herrlich P, Zoller M, Seiter S, et al. CD44 splice variants: metastasis meet lymphocytes. *Immunol Today*, 1993, 14(2) 395-402.
- Abbasi AM, Chester KA, Talbot IC, et al. CD44 is associated with proliferation in normal and neoplastic human colorectal epithelial cells. *Eur J Cancer*, 1993, 29A(14) 1995-2004.
- Guo Y, Liu CT, Wang X, et al. Potential use of soluble CD44 in serum as indicator of tumor burden and metastasis in patients with gastric or colon cancer. *Cancer Res*, 1994, 54(2) 422-500.
- Springer TA. Adhesion receptor of the immune system. *Nature*, 1990, 346 (6283) 425-433.

(收稿:1999-09-06 修回:2000-01-14)

(本文编辑 李蓓兰)