

doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2013.03.011

CD168 在胃癌组织中的表达及预后意义

向家俊¹,任光学¹,胡汉卿²

Prognostic Significance of CD168 Expression in Gastric Carcinoma

Xiang Jiajun¹, Ren Guangxue¹, Hu Hanqing²

1. Department of Surgery, Yiling District People's Hospital, Yichang 433100, China; 2. Department of General Surgery, The First College of Clinical Medical Science of China Three Gorges University Yichang Central People's Hospital

Corresponding Author: Hu Hanqing, E-mail: hanqing80@163.com

Abstract: Objective To investigate the relationship between expression of receptor of hyaluronic acid mediated motility (CD168) in gastric carcinoma tissue and clinicopathologic factors and prognosis, and we evaluated the role of CD168 in gastric carcinoma invasion and metastasis and the significance of predicting prognosis in gastric carcinoma patients was evaluated. **Methods** We examined the CD168 expression of 72 gastric carcinoma tissue and 26 normal gastric mucosa by immunohistochemical method. We also evaluated the correlation between CD168 expression and clinicopathological factors (age, gender, histology, tumor depth, lymph node status, and clinical stages). We assessed the postoperative five-year survival rate of gastric carcinoma patients by Kaplan-Meier method. **Results** CD168 expression was detectable in 42 of the 72 tumors (58.3%) and 5 of 26 in normal gastric mucosa (19.2%), and there was significant difference on their positive expression rates ($P = 0.001$); CD168 positive expression rate was significantly correlated with the differentiated degree ($P = 0.001$), lymph node metastasis ($P = 0.003$), and clinical stages ($P = 0.020$). There was no significant difference between positive expression rate of CD168 and age gender tumor size and depth of invasion. Survival analysis of gastric carcinoma patients showed that the CD168-negative group (67.2%) had a significantly higher five-year survival rate than the CD168-positive group (29.8%), significantly ($P = 0.01$). **Conclusion** Our findings suggest that CD168 is strongly related to the invasion and metastasis of gastric carcinoma. These results suggest that CD168 expression could be used as a prognostic biomarker of gastric carcinoma.

Key words: Gastric carcinoma; CD168; Prognosis; Immunohistochemistry

摘要:目的 探讨胃癌组织中透明质酸介导的细胞游走受体(CD168)的表达情况与各临床病理因素及其预后的关系,评估其在胃癌侵袭转移过程中的作用及预测胃癌患者预后的价值。**方法** 采用免疫组织化学法检测 72 例胃癌组织和 26 例正常胃黏膜组织中 CD168 的表达情况。同时评估 CD168 的表达与临床病理因素(年龄、性别、组织学、肿瘤浸润深度、淋巴结转移和临床分期)之间的关系。用 Kaplan-Meier 法评估胃癌患者术后 5 年生存率。**结果** 胃癌组织中 CD168 阳性表达率为 58.3%,与正常胃黏膜中的阳性表达率(19.2%)比较,差异有统计学意义($P = 0.001$);CD168 阳性表达率与肿瘤分化程度($P = 0.001$)、淋巴结转移($P = 0.003$)、临床分期等($P = 0.020$)有显著相关性。CD168 阳性表达率与年龄、性别、肿瘤大小和肿瘤浸润深度无显著相关性。胃癌患者的生存期分析显示,CD168 阴性组 5 年生存率(67.2%)显著高于 CD168 阳性组 5 年生存率(29.8%),两组间差异有统计学意义($P = 0.01$)。**结论** CD168 高表达与胃癌的浸润和转移密切相关,可以作为预测胃癌预后的一个生物学指标。

关键词: 胃癌;CD168;预后;免疫组织化学

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A

收稿日期:2012-05-15;修回日期:2012-10-10

作者单位:1. 433100 湖北宜昌,宜昌市夷陵区人民医院 外科;2. 三峡大学第一临床医学院 宜昌市中心人民医院 普通外科

通信作者:胡汉卿, E-mail: hanqing80@163.com

作者简介:向家俊(1978-),男,本科,主治医师,主要从事胃肠外科的临床与研究工作

0 引言

透明质酸介导的细胞游走受体(receptor for hyaluronan-mediated motility, RHAMM),在细胞表面又称为 CD168,是继 CD44 后在肿瘤细胞表面检测到的另一个透明质酸受体,1987 年从 Ras 转化的

3T3 小鼠成纤维细胞的培养上清中分离出来^[1],具有与透明质酸(hyaluronan, HA)结合的特性。后来发现 CD168 不仅表达于细胞膜表面,并且分布在细胞质与细胞核,具有癌基因特性,可以促使细胞转化。在体外肿瘤细胞株实验中发现 CD168 都有上调,而且 CD168 的高表达是肿瘤持续生长和转移必不可少的因素^[2-3]。Zlobec 等^[4]采用免疫组织化学法检测结肠癌组织中 CD168 阳性表达时发现其与肿瘤细胞生物侵袭性有显著相关性。然而,CD168 在胃癌中的表达与预后关系还不是很清楚,本研究主要探讨 CD168 在胃癌中阳性表达的临床特征和预后意义。

1 资料和方法

1.1 资料

选取宜昌市夷陵区人民医院外科 2000 年 1 月 1 日—2005 年 12 月 31 日经手术治疗的胃癌患者 72 例,所有患者均行胃大部切除或全胃切除加淋巴结切除术,术前未接受放疗和化疗。正常胃黏膜组织 26 例,取自胃癌行胃大部切除或全胃切除的近侧断端胃黏膜,断端均距癌组织 5 cm 以上,组织学检查为正常胃黏膜。病理标本均按《中国胃癌诊治规范》进行处理。肿瘤部位、大小、大体类型及浆膜受侵情况按术时绘图并记录,所有手术切除标本经 10% 甲醛固定,常规石蜡包埋后行 4 μm 连续切片,每例均行 HE 染色和免疫组织化学染色。在 72 例胃癌病例中,男 43 例,女 29 例。年龄 42~89 岁,平均 61 岁。其中 I 期 7 例,II 期 17 例,III 期 42 例,IV 期 6 例。胃癌分期按 1997 年 UICC 发表的第五版《恶性肿瘤的 TNM 分期》为准。

1.2 方法

采用 ABC 法免疫组织化学染色,ABC 试剂盒购自美国 Abcam 公司。组织切片经二甲苯脱蜡、酒精水化后,浸入 3% 的双氧水中 30 min,以阻断内源性过氧化物酶的活性,然后将玻片置入 0.01 mol/L, pH 6.0 的柠檬酸缓冲液中加热 30 min,以充分暴露抗原。滴加鼠抗人 CD168 抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,再滴加第二抗体,室温下反应 20 min,过氧化酶反应 15 min。随后经二胺基联苯胺四盐酸盐显色 5 min,再经苏木精对比染色,脱水、透明、封片。每次染色均以磷酸盐缓冲液代替一抗作阴性对照;并用已知阳性片作阳性对照。

1.3 结果判定

所有的标本均由两位有经验的病理科医师进

行双盲法阅片。阳性判断标准:CD168 阳性表达定位于细胞膜和细胞质,呈棕黄色或棕褐色,细颗粒状,染色强度明显高于背景者为阳性表达。根据阳性细胞所占比例分为:无任何细胞表达 CD168 为阴性(-);若 $\leq 50\%$ 的细胞表达 CD168 则为阳性(+);若 $> 50\%$ 细胞表达 CD168 则为强阳性(++).

1.4 随访

随访采取电话问询,生存时间从手术日开始计算,末次随访时间为 2011 年 10 月。

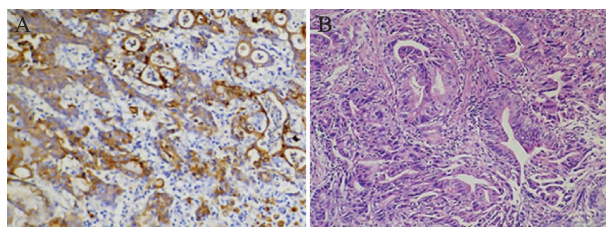
1.5 统计学方法

应用 SPSS13.0 软件进行统计分析,CD168 的表达和各临床病理特征等因素的差异比较采用 χ^2 检验。比较各因素阳性表达组和阴性表达组之间 5 年生存率也采用 χ^2 检验。采用 Kaplan-Meier 法评估患者术后 5 年生存率。各检验方法皆以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CD168 在胃癌和正常胃黏膜组织中的表达

CD168 在胃癌组织中以细胞膜和细胞质内呈棕黄色颗粒为阳性,CD168 在细胞膜和细胞质内的阳性表达见图 1A,CD168 在胃黏膜中阴性表达见图 1B。CD168 在胃癌组织中的阳性表达率为 58.3% (42/72),在胃黏膜中阳性表达率为 19.2% (5/26),CD168 在胃癌中的表达明显高于正常胃黏膜中的表达,两者比较差异有统计学意义 ($P = 0.001$)。



Gastric carcinoma tissues with brown staining in the membrane or cytoplasm were classified as CD168 positive expression

图 1 免疫组织化学法检测 CD168 在胃癌组织中的阳性表达(A)及 CD168 在胃黏膜组织中的阴性表达(B)(DAB $\times 400$)

Figure 1 Detection of CD168 positive expression in gastric carcinoma(A) and CD168 negative expression in gastric mucosae by immunohistochemical method(B)(DAB $\times 400$)

2.2 CD168 在胃癌组织中的表达及与临床病理特征的关系

对 72 例胃癌中 CD168 表达和临床病理特征分析发现,CD168 的阳性表达与性别、年龄、肿瘤大小、浸润深度等比较差异无统计学意义($P>0.05$);与分化程度、淋巴结转移、临床分期等比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 CD168 在胃癌组织中的表达与临床病理的关系
Table 1 The relationship of CD168 expression in gastric carcinoma and clinicopathologic feature

Items	Cases	CD168 positive cases(%)	P
Gender			
Male	43	28(65.1)	0.155
Female	29	14(48.3)	
Age(years)			
<60	31	17(54.8)	0.601
≥60	41	25(60.9)	
Tumor size(cm)			
<5	25	13(52.0)	0.427
≥5	47	29(61.7)	
Differentiated degree			
Differentiated	29	10(34.5)	0.001
Undifferentiated	43	32(74.4)	
Depth of invasion			
Mucosa and submucous	9	3(33.3)	0.061
Muscular layer	28	14(50.0)	
Under Infiltrate serosa	35	25(71.4)	
Metastasis of lymph node			
No	33	13(39.4)	0.003
Yes	39	29(74.4)	
Clinical stages			
I	7	2(28.6)	0.020
II	17	6(35.3)	
III	42	29(69.0)	
IV	6	5(83.3)	

2.3 CD168 在胃癌中的表达及与预后的关系

在对 72 例胃癌患者随访中因各种原因,有 5 例失访,其余 67 例的情况为:CD168 阳性表达的患者 5 年生存率为 29.8%,明显低于阴性表达的患者,5 年生存率为 67.2% ($P=0.01$),采用 Kaplan-Meier 法求得患者生存曲线图,见图 2。

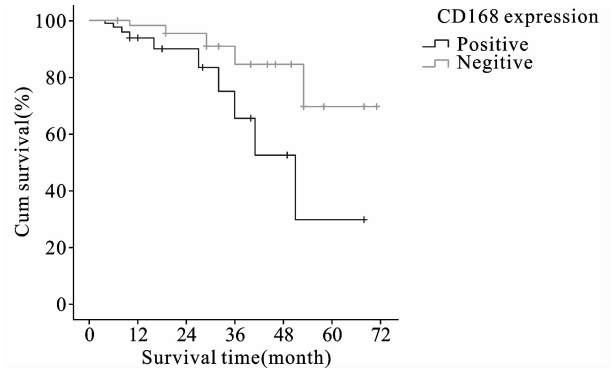


图 2 CD168 阳性表达和阴性表达与胃癌患者 5 年生存率的关系

Figure 2 The relationship between the positive and negative expression of CD168 and the 5-year survival rates of gastric carcinoma patients

3 讨论

大量研究表明 CD168 的表达与乳腺癌^[5]、胰腺癌^[6]、子宫内膜癌^[7]的进展和高转移潜能密切相关。与其他肿瘤相似,CD168 主要分布在胃癌细胞膜和细胞质内,它的两种功能与这种分布密切相关,其一,CD168 是一种微管相关蛋白,可以与微管、微丝以及钙调蛋白结合,影响着细胞骨架的组装和细胞运动。肿瘤细胞的 CD168 由透明质酸调节并激活细胞内激酶级联反应,从而刺激肿瘤细胞形成微丝和促进细胞游走。在人正常组织中,睾丸内有一定的表达,在结肠、肺和胰腺、胸腺等组织内可能有表达或呈低水平表达,而在外周血淋巴细胞内没有检测到表达,但在细胞运动时,受细胞因子刺激后以及细胞转化和恶变后表达量明显升高。所有这些生物学特性都与肿瘤的发生、发展和转移有密切相关。其二,CD168 是一种中心体蛋白和分裂期纺锤体结合蛋白,维持中心体结构的完整性以及维持纺锤体极的数量和结构的完整性^[8-9],保证细胞正常分裂,中心体异常改变和纺锤体失去双极性将导致异常有丝分裂纺锤体装配,最终染色体分离失败及非整倍体,致使基因组不稳定,增加了细胞获得增殖基因以及失去肿瘤抑癌基因的危险性,促进肿瘤的发生。本研究检测到 CD168 在胃癌组织中的表达(58.3%)明显高于其在正常胃黏膜中的表达(19.2%),而且 CD168 的阳性表达率与肿瘤浸润深度、淋巴结转移、临床分期等($P<0.05$)呈显著相关性,说明了 CD168 高表达与胃癌的浸润和转移密切相关。

我们还研究了 CD168 表达与患者术后 5 年生存率的关系,实验结果表明 CD168 阴性组 5 年生存率显著高于 CD168 阳性组 5 年生存率,说明 CD168 在促进肿瘤转移后导致患者预后较差,5 年生存率下降,推测 CD168 可以作为胃癌预后的独立预测因子。其可能原因是 CD168 还通过增进新生血管的形成促进肿瘤的生长和转移^[10-11],而血管生成是肿瘤转移的重要环节。在 1 420 例非选择和连续性的结直肠癌病例中,应用组织芯片技术,经单变量和多变量分析,在 DNA 错配修复(DNA mismatch repair, DNA MMR)正常的结肠癌患者和林奇综合征(lynch syndrome)患者中,CD168 阳性表达百分率增高和完全表达与肿瘤更高的临床分期和更差的预后相关,可以作为一个独立判断患者预后的因素^[12]。

总之,CD168 的表达水平升高与肿瘤的侵袭参数呈正相关,结合免疫学或遗传学标志物检测对阐明胃癌的发生、发展和预测预后有一定临床意义,为胃癌诊断和治疗提供参考。目前,已知 CD168 多种生物学特性与细胞的恶性转化和肿瘤进展有关,然而其中许多详细的分子机制还不甚清楚,有待进一步研究和探讨。

参考文献:

- [1] Turley EA, Moore D, Hayden LJ. Characterization of hyaluronate binding proteins isolated from 3T3 and murine sarcoma virus transformed 3T3 cells[J]. *Biochemistry*, 1987, 26(11): 2997-3005.
- [2] Yamano Y, Uzawa K, Shinozuka K, et al. Hyaluronan-mediated motility: a target in oral squamous cell carcinoma[J]. *Int J Oncol*, 2008, 32(5): 1001-9.
- [3] Hamilton SR, Fard SF, Paiwand FF, et al. The hyaluronan receptors CD44 and Rhamm (CD168) form complexes with ERK1,2 that sustain high basal motility in breast cancer cells [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(22): 16667-80.
- [4] Zlobec I, Baker K, Terracciano L, et al. Two-marker protein profile predicts poor prognosis in patients with early rectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2008, 99(10): 1712-7.
- [5] Assmann V, Gillett CE, Poulson R, et al. The pattern of expression of the microtubule-binding protein RHAMM/IHABP in mammary carcinoma suggests a role in the invasive behaviour of tumour cells [J]. *J Pathol*, 2001, 195(2): 191-6.
- [6] Kong QY, Liu J, Chen XY, et al. Differential expression patterns of hyaluronan receptors CD44 and RHAMM in transitional cell carcinomas of urinary bladder[J]. *Oncol Rep*, 2003, 10(1): 51-5.
- [7] Rein DT, Roehrig K, Schöndorf T, et al. Expression of the hyaluronan receptor RHAMM in endometrial carcinomas suggests a role in tumour progression and metastasis[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2003, 129(3): 161-4.
- [8] Maxwell CA, Keats JJ, Belch AR, et al. Receptor for hyaluronan mediated motility correlates with centrosome abnormalities in multiple myeloma and maintains mitotic integrity[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(3): 850-60.
- [9] Maxwell CA, Keats JJ, Crainie M, et al. RHAMM is a centrosomal protein that interacts with dynein and maintains spindle pole stability[J]. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(6): 2262-76.
- [10] Gouëffic Y, Guilluy C, Guérin P, et al. Hyaluronan induces vascular smooth muscle cell migration through RHAMM-mediated PI3K-dependent Rac activation[J]. *Cardiovasc Res*, 2006, 72(2): 339-48.
- [11] Slevin M, Krupinski J, Gaffney J, et al. Hyaluronan-mediated angiogenesis in vascular disease: Uncovering RHAMM and CD44 receptor signaling pathways[J]. *Matrix Biol*, 2007, 26(1): 58-68.
- [12] Lugu A, Zlobec I, Gunthert U, et al. Overexpression of the receptor for hyaluronate mediated motility is an independent adverse prognostic factor in colorectal cancer[J]. *Mod Pathol*, 2006, 19(10): 1302-9.

[编辑校对:周永红]