

# 胃癌患者不同组织 CD44v5+ 细胞表达率的比较

王书奎, 王自正, 翁慎毅, 夏伟

## The expression of CD 44v5+ cells in different tissue of patients with gastric carcinoma

WANG Shu -kui, WANG Zi -zheng, WENG Shen -yi, et al

Central Laboratory of Nanjing First Hospital affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210006, China

**Abstract: Objective** To study the expression of CD44v5+ cells in different tissue of patients with gastric carcinoma. **Methods** The percentage of CD44v5+ cells was measured and analyzed in cancer nests, para-cancer tissue, cancer metastasis lymph nodes and peripheral blood cells of patients with gastric carcinoma by flow cytometry. **Results** The percentage of CD44v5+ cells in tissues and peripheral blood of gastric carcinoma were significantly higher than those of normal control ( $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ ). The subsequence of CD44v5+ cells percentage was cancer nests > para-cancer tissue > cancer metastasis lymph nodes > peripheral blood cells of patients with gastric carcinoma. Although there was no significant difference among cancer nests, para-cancer tissue and cancer metastasis lymph nodes, CD44v5 expression rates of the various tissues were remarkably higher than that of peripheral blood cells, respectively ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). CD44v5+ cells percentage of patients with tumor metastasis were significantly higher than that of patients without tumor metastasis ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). **Conclusion** CD44v5 expression rate in different tissues of patients with gastric carcinoma not only increase in various percentage, but also obviously correlated to tumor metastasis.

**Keywords:** Malignant carcinoma; Metastatic gene; Flow cytometry

**摘要:**目的 探讨胃癌患者不同组织 CD44v5 的表达规律。方法 采用流式细胞术对于 39 例胃癌患者的癌灶、癌旁组织、淋巴结转移灶和外周血细胞的 CD44v5 表达率进行了检测和对比分析。结果 胃癌患者不同组织的 CD44v5+ 细胞检出率均显著高于正常对照组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。胃癌患者各种组织 CD44v5+ 细胞表达率大小顺序为癌灶 > 癌旁组织 > 淋巴结转移灶 > 外周血细胞, 前三者和外周血细胞之间有显著性差异 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 而前三者之间却无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。在胃癌患者的各种组织中, 伴肿瘤转移患者的 CD44v5+ 细胞检出率均显著高于未转移者 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。结论 胃癌患者身体各种组织的 CD44v5+ 细胞表达率显著升高, 且 CD44v5+ 细胞表达率与肿瘤转移密切相关。

**关键词:** 恶性肿瘤; 转移基因; 流式细胞术

中图分类号: R735.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2003)04-0256-03

## 0 引言

CD44v5 分子是重要的肿瘤转移基因, 它在恶性肿瘤组织中的表达情况与患者肿瘤转移及预后的关系都十分密切<sup>[1-3]</sup>。虽然在不同的恶性肿瘤组织中有不同的表达<sup>[1-4]</sup>, 但在同一种恶性肿瘤患者不同组织中表达情况如何, 且这些组织 CD44v5 表达率与患者的肿瘤转移是否均有相关性, 目前还未见文献报道。为此, 从 1996 年 7 月 ~ 2002 年 2 月本院

用流式细胞术对 39 例胃癌患者的癌灶、癌旁组织、淋巴结转移灶和外周血细胞的 CD44v5+ 检出率进行了对比分析。结果报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 临床资料** 共收集经临床和病理检查确诊的胃癌患者 39 例, 均为初诊手术的恶性肿瘤患者, 尚未接受化学治疗、放射治疗或免疫治疗。男 24 例, 女 15 例, 年龄 25 ~ 76 (中位年龄 51) 岁。手术时取癌灶组织 39 例 (伴转移 18 例, 未转移 21 例), 癌灶切缘外 4 ~ 5cm 组织 27 例 (伴转移 10 例, 未转移 17

收稿日期: 2002-06-17; 修回日期: 2002-10-23

作者单位: 210006 南京医科大学附属南京第一医院中心实验室

例),癌旁淋巴结 34 例(伴转移者 14 例,未转移 20 例),外周血 32 例(伴转移 11 例,未转移 21 例)。另取 14 例临床 期胃癌患者癌灶切缘外 8~10cm 处胃粘膜作为正常组织对照,10 例正常人外周血作为正常血细胞对照。

1.2 检测方法

1.2.1 样品制备及染色方法 取患者手术新鲜组织,用网搓法制成单细胞悬液,以 300 目尼龙网过滤成单细胞悬液,调整细胞浓度为  $1 \times 10^6/ml$ 。取 100 $\mu$ l 细胞悬液加 10 $\mu$ lCD44v5 鼠抗人单克隆抗体,混匀后置 4 冰箱中反应 30min;再加 10 $\mu$ l 羊抗鼠 FITC 标记的 IgG1 (二抗),在冰箱中继续反应 30min。以离心法用 PBS 洗去未结合的单克隆抗体和二抗,然后上机检测 CD44v5+ 细胞的百分率,但要除去同型对照的非特异性结合的 CD44v5+ 结果。外周血细胞 CD44v5 阳性率的检测,以同样方法样品加 CD44v5 单抗和二抗反应后,再加 2ml 溶血素去除红细胞外,其它步骤与组织样品制备方法基本相同。另外,组织和外周血细胞样品均加小鼠 IgG1 及加二抗作为同型对照。CD44v5 单抗和小鼠 IgG1 购自上海晶美生物工程公司,羊抗鼠 IgG-FITC 抗体购自苏州基因生物工程公司,溶血素由本实验室自行配制。

1.2.2 仪器及应用软件 流式细胞仪型号为 FACSCalibur,美国 BD 公司产品,氦离子激光器功率为 15mW,激光波长为 488nm。用仪器配置的 CellQuest 软件获取  $2 \times 10^6$  个细胞,并分析 CD44v5+ 细胞百分率。

1.3 统计学分析 计量资料采用 *t* 检验做相差显著性检验。

2 结果

2.1 胃癌患者各种组织细胞 CD44v5 的表达率

胃癌患者癌灶、癌旁和淋巴结组织 CD44v5+ 细胞表达率均显著高于癌切缘外远处“正常胃粘膜”(P 均为 < 0.01);但前三者之间无显著性差异(P 均 > 0.05),他们却均显著高于患者外周血细胞的 CD44v5+ 细胞表达率(P 均 < 0.01)。患者外周血细胞 CD44v5 表达率显著高于健康人外周血细胞(P < 0.01),见表 1。

2.2 肿瘤转移和非转移患者各组织 CD44v5+ 细胞检出率

在胃癌患者中,有远处器官转移者 CD44v5+ 细胞表达率和无转移者比较,均有显著性差异(P 均 < 0.01);而肿瘤转移者癌灶、癌旁和淋巴结之间以及未转移者癌灶、癌旁和淋巴结之间,CD44v5+ 细胞

表达率均无显著性差异(P 均 > 0.05),见表 2。

表 1 胃癌癌灶、癌旁组织、淋巴结和血细胞中 CD44v5 表达率比较( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	n	CD44v5(+)
癌灶组织	39	64.77 $\pm$ 25.28 *
癌旁组织	27	60.95 $\pm$ 26.97 *
淋巴结组织	34	56.71 $\pm$ 24.38 *
正常胃粘膜	14	14.46 $\pm$ 8.05
患者外周血	32	20.36 $\pm$ 12.43 #
正常外周血	10	6.19 $\pm$ 1.21

\*和正常胃粘膜组织比 P < 0.01, #和正常血细胞比 P < 0.01

表 2 肿瘤转移和非转移者癌灶、癌旁、淋巴结和血细胞 CD44v5+ 细胞检出率对比( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	n	转移(+)		转移(-)		P
		n	CD44v5+	n	CD44v5+	
癌灶组织	39	18	83.58 $\pm$ 12.71	21	48.64 $\pm$ 22.02	<0.01
癌旁组织	27	10	74.47 $\pm$ 29.57	17	53.94 $\pm$ 23.73	<0.01
淋巴结	34	14	71.33 $\pm$ 18.27	20	46.53 $\pm$ 23.15	<0.01
血细胞	32	11	40.21 $\pm$ 16.77	21	13.54 $\pm$ 7.69	<0.01

3 讨论

CD44 抗原又称为 Hermes 抗原,是一组细胞表面的糖蛋白,介导细胞-细胞、细胞-细胞外基质的相互作用。人 CD44 基因组 cDNA 长于 50Kb,由至少 20 个外显子连接其间的内含子组成,分为标准型 CD44 (StandardCD44,CD44S) 和变异型 CD44 (VariantCD44,CD44v)。CD44v 共有 v1 ~ v 10 10 个亚型,CD44v5 是其中的一种<sup>[3]</sup>。Harn 等<sup>[2]</sup>对正常胃粘膜和癌变粘膜研究发现肠化区粘膜和管状腺癌胃粘膜的 CD44v5、CD44v6 均呈阳性,推测 CD44v5、CD44v6 表达可作为胃癌进展的标志。Takeuch 等对于 CD44v5 基因表达蛋白与结肠直肠癌的转移之间的关系进行了研究,在 60 例结直肠癌细胞中的 CD44v5 基因表达蛋白水平显著升高,但在正常的结直肠粘膜细胞中,则没有这种 CD44v5 基因蛋白表达<sup>[5]</sup>。Stachura 等<sup>[6]</sup>用免疫组织化学和逆转录 PCR (RT-PCR) 方法检测发现 44 例进展期胃癌中有 36 例过表达 CD44v5,特别是在 Goseki's 分期的第 I 期和第 III 期。本文对 39 例胃癌患者癌灶、癌旁、淋巴结转移灶和外周血细胞 CD44v+ 细胞表达率进行研究发现,不仅胃癌患者各种组织 CD44v5+ 细胞表达率均显著升高,而且不同组织 CD44v5+ 细胞表达率之间还有所不同。这充分表明恶性肿瘤绝不是机体局部组织器官的疾病,而是一种全身性的疾病。

目前,在恶性肿瘤患者不同组织转移基因表达水平对比研究中,多以恶性肿瘤癌灶和淋巴结转移灶进行比较,还未见到更多不同组织间的这种对比研究<sup>[7,8]</sup>。Muller 等<sup>[9]</sup>用免疫组织化学技术检测 418 例胃癌手术切除组织细胞的 CD44v 的表达,结果 65.3% 表达 v5, 77.0% 表达 v6, 但 CD44v5 与病理分级、淋巴结转移及血管淋巴管浸润密切相关,而 v6 没有这种相关性。CD44v5+ 的肿瘤患者总体存活率明显低于 CD44v5- 的患者 ( $P = 0.049$ ), 而 v6 与预后不相关。本文结果发现,有远处转移的胃癌患者癌灶、癌旁组织、转移淋巴结及外周血中 CD44v5+ 表达率均显著高于未转移者,提示 CD44v5 表达与肿瘤的转移密切相关,CD44v5 可作为判断患者预后的一个潜在指标,这与 Songun 等<sup>[10]</sup>报告结果也相一致。本文结果也发现,有远处转移的肿瘤患者外周血中 CD44v5 的表达率与正常对照组相比有非常显著性差异 ( $P < 0.01$ ), 如果用检测外周血 CD44v5+ 细胞表达率取代肿瘤组织的方法,用于判断肿瘤患者的转移倾向和肿瘤侵袭的潜能,这对临床估计肿瘤恶性程度和判断患者预后,就有了一种十分简便易行的方法。只要取患者外周血便可以得知患者肿瘤的转移倾向和肿瘤转移的潜能,这在临床上将有十分重要的实用价值。

#### 参考文献:

- [1] Mircka J, Marx D, Schauer A, et al. Immunohistochemical localization of CD44 variants 5 and 6 in human gastric mucosa and gastric cancer [J]. *Anticancer Res*, 1995, 15: 1459 - 1465.
- [2] Harn HJ, Ho LI, Tan g Yang C, et al. Differential expression of the human metastasis adhesion molecule CD44 in normal and carcinoma stomach mucosa of Chinese subjects [J]. *Cancer*, 1995, 75: 1065.
- [3] 张晓东, 黄梅芳, 金懋林. 胃癌侵袭和转移相关基因的研究现状 [A]. 郝德治. 中国癌症研究进展 [M]. 北京: 军事医学出版社, 2002. 32 - 37.
- [4] 蔡世荣. CD44 在胃肠道肿瘤表达的研究进展 [J]. 国外医学外科学分册, 1997, 24 (2): 81-83.
- [5] 陈意生, 史景泉. 肿瘤分子细胞生物学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2002. 50 - 72.
- [6] Stachura J, Krzeszowiak A, Popiel T, et al. Preferential overexpression of CD44v5 in advanced gastric carcinoma Goseki grades I and III [J]. *Pol J Pathol*, 1999, 50 (3): 155 - 161.
- [7] Yorishima T, Nagai N, Ohama K, et al. Expression of CD44 alternative splicing variants in primary and lymph node metastasis lesions of gynecological cancer [J]. *Hiroshima J Med Sci*, 1997, 16 (1): 21.
- [8] Tanabe KK, Ellis LM, Saia H. Expression of CD44 adhesion molecule in colon carcinoma and metastasis [J]. *Lancet*, 1993, 341: 725.
- [9] Muller W, Schneiders A, Heider KH, et al. Expression and prognostic value of the CD44 splice variants v5 and v6 in gastric cancer [J]. *J Pathol*, 1997, 183 (2): 222-227.
- [10] Songun I, van de Velde CJ, Hermans J, et al. Expression of onco-proteins and the amount of eosinophilic and lymphocytic infiltrates can be used as prognostic factors in gastric cancer [J]. *Br J Cancer*, 1996, 74 (11): 1783-1788.

(李奇明校对)

## 动态·简讯·

### 本刊重要通知

《肿瘤防治研究》杂志创刊于 1973 年, 中华人民共和国卫生部主管, 湖北省卫生厅、中国抗癌协会、湖北省肿瘤医院主办, 郭沫若同志题写刊名。中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国科学引文数据库来源期刊, 并被中国核心期刊(遴选)数据库、CNKI 中国期刊全文数据库、中文科技期刊数据库全文收录。创刊 30 年来, 在学术上具有较高的权威性和指导性, 在全国肿瘤学界享有较高的知名度, 社会影响大, 深受广大医务工作者所钟爱。本刊主要栏目有: 基础研究、临床研究、影像诊断、论著摘要、技术交流、流行病学、综述、新技术、临床药典、短篇个案等, 读者对象为从事肿瘤专业的工作者及广大相关专业中、高级医务人员。2004 年《肿瘤防治研究》杂志为了扩大信息量, 缩短用稿周期, 将由双月刊改为月刊, 国际标准 A4 开本, 哑光铜版纸印刷, 64 页码, 每月 25 日出版。欢迎订阅, 欢迎投稿。

刊号: ISSN1000-8578/CN42-1241/R; 邮发代号: 38-70; 国外发行代号: BM6482; 定价: 6.00 元/册。本刊编辑部亦可随时为读者代办邮购(免邮寄费)。

通讯地址: 湖北省武汉市武昌卓刀泉南路 16 号《肿瘤防治研究》编辑部(邮政编码: 430079)

电话: 027-87393126; 传真: 027-87396522

E-mail: zlfz\_yj@263.net.cn