

侵袭性垂体腺瘤中 CD44 与 Ki-67 表达的相关性

段波¹, 赵洪洋², 李新建¹, 胡学斌², 涂汉军¹

Expression and Relationship between CD44 and Ki-67 in Invasive Pituitary Adenoma

DUAN Bo¹, ZHAO Hong-yang², LI Xin-jian¹, HU Xue-bin², TU Han-jun¹

1. Department of Neurosurgery, Taihe Hospital of Yunyang Medical College, Shiyang 442000, China;

2. Department of Neurosurgery of Xiehe Hospital of Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology

Corresponding Author: LI Xin-jian, TEL: 0719-8801487

Abstract: **Objective** To study the expression and role of CD44 and Ki-67 in invasive pituitary adenoma and the relationship between them. **Methods** The expression of CD44s, CD44v5 and Ki-67 in 20 cases invasive pituitary adenoma and 18 cases non-invasive pituitary adenoma were detected with SP immunohistochemical technique. **Results** The expressive levels of CD44s and Ki-67 in the invasive pituitary adenomas were significantly higher than those in the non-invasive ones ($P < 0.01$), it is positively correlation between them. The expression levels of CD44v5 in the invasive and non-invasive pituitary adenomas has no difference. **Conclusion** CD44s and Ki-67 correlated with invasiveness of pituitary adenoma, they cooperated and play a important role in occurrence and progression of pituitary adenoma. They may be an objective biological marker for diagnose and estimating prognosis of invasive pituitary adenoma.

Key words: Invasive pituitary adenoma; Non-invasive pituitary adenoma; CD44s; CD44v5; Ki-67

摘要: **目的** 探讨细胞粘附分子 CD44、细胞增殖核抗原 Ki-67 在侵袭性垂体腺瘤中的表达及意义并探讨二者之间的关系。 **方法** 用免疫组化法检测 CD44s、CD44v5、Ki-67 在 20 例侵袭性垂体腺瘤和 18 例非侵袭性垂体腺瘤中的表达。 **结果** CD44s 和 Ki-67 在侵袭性垂体腺瘤组中表达高于非侵袭性垂体腺瘤组 ($P < 0.01$), 且二者在垂体腺瘤中的表达呈正相关。 CD44v5 在侵袭性和非侵袭性垂体腺瘤中表达无明显差异 ($P > 0.05$)。 **结论** CD44s 和 Ki-67 与垂体腺瘤的侵袭性生长行为有关, 二者协同作用, 在侵袭性垂体腺瘤的发生、发展中起重要作用, 可作为侵袭性垂体腺瘤诊断和判断预后的重要生物学指标。

关键词: 侵袭性垂体腺瘤; 非侵袭性垂体腺瘤; CD44s; CD44v5; Ki-67

中图分类号: R739.41 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2006)07-0490-03

0 引言

CD44 是一种细胞表面糖蛋白, 参与细胞与细胞、细胞与细胞外基质 (ECM) 之间的特异性粘附, 在肿瘤细胞的侵袭性生长和转移过程中发挥重要作用。 Ki-67 是一种与细胞增殖相关的核抗原, 是近年来研究较为广泛的细胞增生的标记。细胞的增殖与肿瘤的发生、浸润、种植与转移过程相关, 评价细胞的增殖状态对研究肿瘤的生物学行为, 判断其危害性具有重要意义。

本文对侵袭性垂体腺瘤中 CD44 及 Ki-67 的表达进行研究, 以探讨这两种蛋白在侵袭性垂体腺瘤生长中的意义及二者之间的相关性。

1 材料与方法

1.1 材料 标本取自 2001~2005 年华南理工大学同济医学院附属协和医院神经外科手术切除并经病理学证实的垂体腺瘤标本 38 例。男 21 例, 女 17 例。年龄 23~71 岁, 平均年龄 39 岁。依据内分泌学检查: 非功能腺瘤 23 例, 生长激素腺瘤 9 例, 泌乳素腺瘤 5 例, ACTH 腺瘤 1 例。所有标本均有完整临床资料并依据 Wilson 改良 Hardy 分类系统分期标准分组^[1]: 侵袭性垂体腺瘤组 20 例, 非侵袭性垂体腺瘤组 18 例。

1.2 试剂和方法

1.2.1 试剂来源 CD44s、CD44v5、Ki-67 单克隆

收稿日期: 2005-07-22; 修回日期: 2006-03-22

作者单位: 1. 442000 湖北十堰, 郧阳医学院附属太和医院神经外科; 2. 武汉, 华中科技大学同济医学院附属协和医院神经外科

通讯作者: 李新建, 电话: 0719-8801487

作者简介: 段波 (1975-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事垂体腺瘤的临床及基础研究

抗体及即用型链霉菌抗生物素蛋白过氧化酶(SP)免疫组化染色超敏试剂盒,DAB 显色试剂盒均购自福建迈新生物工程技术公司,均为工作液。

1.2.2 免疫组化染色 标本经 10% 甲醛固定,石蜡包埋,5 μ m 厚连续切片,常规脱蜡和水化后,分别用过氧化氢酶和动物血清处理 10min。与 CD44s、CD44v5、Ki-67 单克隆抗体 4 过夜。二抗温育 20min,DAB 显色 5min,苏木素衬染,各步骤间均以 PBS 洗片。用已知阳性片作阳性对照,以 PBS 代替一抗作空白对照,HE 染色作组织学参照。

1.2.3 结果判断 CD44s、CD44v5 阳性细胞均定位于细胞膜,表现为细胞膜呈黄色或棕黄色,部分细胞浆染色。每张切片均在 $\times 400$ 显微镜下观察,连续观察 5 个高倍视野,各记数 100 个细胞取其平均值,以百分数表示,阳性细胞数 $> 30\%$ 定为强阳性,10% ~ 30% 定为弱阳性, $< 10\%$ 定为阴性。Ki-67 阳性着色表现为细胞核染成棕黄色或棕褐色,背景不着色。每张切片均在 $\times 400$ 显微镜下观察,连续观察 5 个高倍视野,取阳性细胞数均值并计算增殖细胞标记指数 $LI = (\text{阳性细胞数} / \text{所计细胞总数}) \times 100$,以 LI 为 1.5% 为阈^[2], $< 1.5\%$ (-),1.5% ~

3% (+), $> 3\%$ (++)。

1.2.4 统计学处理 采用卡方检验及 Pearson 相关检验, $P < 0.05$ 为统计学有显著意义。

2 结果

2.1 CD44s、CD44v5 在垂体腺瘤中的表达

侵袭性垂体腺瘤中,CD44s 阳性细胞染色较深,阳性细胞数多且集中。而非侵袭性垂体腺瘤中阳性细胞染色浅,阳性细胞数少且分散,见图 1。CD44v5 在各组中阳性细胞数均较少,染色浅,见图 2。侵袭性垂体腺瘤组中 CD44s 阳性 15 例(75%),CD44v5 阳性 7 例(35%)。非侵袭性垂体腺瘤组 CD44s 阳性 5 例(27.8%),CD44v5 阳性 4 例(22.2%)。两组之间 CD44s 蛋白表达具有显著性差异($\chi^2 = 8.474, P < 0.01$),CD44v5 蛋白表达无显著性差异($\chi^2 = 2.991, P > 0.05$),见表 1。

2.2 Ki-67 抗原在垂体腺瘤中的表达

Ki-67 抗原阳性细胞定位于细胞核,表现为细胞核呈黄色或棕黄色,见图 3。Ki-67 抗原在垂体腺瘤中的表达见表 1,两组之间具有显著性差异($\chi^2 = 8.657, P < 0.01$)。

表 1 CD44s、CD44v5、Ki-67 在垂体腺瘤中的表达

组别	例数	CD44s			CD44v5			Ki-67		
		+	++	阳性率(%)	+	++	阳性率(%)	+	++	阳性率(%)
侵袭性垂体腺瘤	20	5	10	75.0	4	3	35.0	6	11	85.0
非侵袭性垂体腺瘤	18	4	1	27.8	4	0	22.2	5	2	38.9

2.3 CD44s 和 Ki67 在垂体腺瘤中表达的相关性

CD44s 蛋白阳性表达的标本中,有 17 例 Ki-67 阳性,CD44s 蛋白阴性表达的标本中,有 11 例 Ki-67 阴性,CD44s 强阳性表达的标本中 Ki-67 也多呈强阳性表达(9/11,81.8%),二者具有显著正相关($r = 0.473, P < 0.005$)。

表 2 CD44s、Ki-67 在垂体腺瘤中表达的相关性

CD44s	Ki-67		
	-	+	++
-	11	6	1
+	2	4	3
++	1	1	9

3 讨论

垂体腺瘤是颅内常见的一种良性肿瘤,因部分肿瘤生长突破包膜,侵袭邻近组织,有学者将这部分肿瘤称为侵袭性垂体腺瘤,其危害性主要在于对周围结构的侵蚀,手术不易全切,术后易复发。侵袭性垂体腺瘤主要根据临床及手术中所见判断,尚缺乏统一有效的诊断标准。本研究采用的是目前比较公

认的 Wilson 改良 Hardy 分类系统分级分期标准,3 级和 4 级是侵袭性垂体瘤^[1]。

肿瘤侵袭性生长及转移的过程中,肿瘤细胞首先需从肿瘤基团分离并与细胞外基质(ECM)粘附,在这一过程中,细胞粘附分子发挥着重要的作用^[3]。CD44 作为粘附分子家族中的一员,介导细胞与细胞、细胞与细胞外基质间的粘附,是细胞外基质成分透明质酸盐的主要受体。根据 CD44 蛋白外显子表达方式的不同分为标准型 CD44(CD44s)和变异型 CD44(CD44v)两种类型^[4],对于它们在肿瘤中所起作用有不同的观点。熊正文等^[5]检测正常脑组织及颅内转移瘤和胶质母细胞瘤中 CD44s 和 CD44v6 蛋白的表达,发现正常脑组织中 CD44s 和 CD44v6 均为阴性,而 CD44s 在脑胶质母细胞瘤和颅内转移瘤中呈高表达,CD44v6 只在颅内转移瘤中表达,在脑胶质母细胞瘤中不表达。由此认为 CD44s 与肿瘤的侵袭行为有关,而 CD44v6 则与肿瘤的转移相关。本试验研究结果也表明,CD44s 在侵袭性和非侵袭性垂体腺瘤中的表达具有显著性差异($P < 0.05$),

CD44v5 在两组中的表达率均较低,无显著性差异,说明 CD44s 与垂体腺瘤的侵袭性生长行为有关。

肿瘤的侵袭性生长还与肿瘤细胞的增殖活性有关,生长快的肿瘤具有比较强的侵袭性。细胞增殖核抗原 Ki-67 标记指数能准确、可靠的评价细胞的增殖活性,是一种较理想、独立的生物标志物。Mastronardi 等^[6]研究垂体腺瘤中 Ki-67 抗原的表达,认为在侵袭性垂体腺瘤中的 Ki-67 标记指数明显高于非侵袭性垂体腺瘤,并提出将 Ki-67 标记指数 3.5% 作为区分侵袭性和非侵袭性垂体腺瘤的标准。Ekramullah 等^[7]也认为高增殖能力的垂体腺瘤侵袭力强。我们分析 38 例垂体腺瘤中 Ki-67 抗原的表达,也得出同样的结论:Ki-67 抗原在侵袭性垂体腺瘤中的表达明显高于非侵袭性垂体腺瘤,且有显著性差异,说明 Ki-67 抗原标记可以反应垂体腺瘤的生长速度及侵袭性,可以作为垂体腺瘤诊断及判断预后的有价值的标记物^[8]。

肿瘤细胞粘附性和细胞增殖活性与肿瘤侵袭性生长之间是否具有协同作用,尚未见文献报道。本试验中,CD44s 和 Ki-67 阳性表达具有显著正相关 ($r=0.473, P<0.005$)。说明 CD44s 和 Ki-67 在垂体腺瘤的侵袭性生长中可能起协同作用,增值能力高的肿瘤具有较强的粘附性和侵袭性。

综上所述,我们认为垂体腺瘤侵袭性生长与肿瘤细胞的粘附及增值活性密切相关。因此,降低肿瘤细胞的粘附及增值活性也可降低肿瘤的侵袭性。同时,联合检测 Ki-67 和 CD44s 则对提高侵袭性垂

体腺瘤诊断的准确性及判断预后具有重要意义。

(本文图见封 3)

参考文献:

- [1] Thapar K, Laws ER Jr. Growth hormone-secreting pituitary tumors: operative management [A]. In: Krisht AF, Tindall GT, ed. Pituitary disorders comprehensive management [M]. Baltimore, Maryland, USA: Lippincott Williams & Wilkins. 1999. 243-258.
- [2] 熊文浩,李善泉,周文雄,等. 垂体腺瘤 p16 蛋白及 Ki-67 表达的研究[J]. 上海第二医科大学学报,2001,21(3):226-228.
- [3] Nagano O, Saya H. Mechanism and biological significance of CD44 cleavage[J]. Cancer Sci, 2004,95(12):930-935.
- [4] Alaniz L, Cabrera PV, Blanco G. Interaction of CD44 with different forms of hyaluronic acid. Its role in adhesion and migration of tumor cells[J]. Cell Commun Adhes, 2002, 9(3): 117-130.
- [5] 熊正文,冯骥良,苏红,等. CD44s、CD44v6 在颅内转移瘤和胶质母细胞瘤中的表达研究[J]. 实用医学杂志,2005,21(1): 29-31.
- [6] Mastronardi L, Guiducci A, Spexa C, et al. Ki-67 labelling index and invasiveness among anterior pituitary adenomas: analysis of 103 cases using the MIB-1 monoclonal antibody[J]. J Clin Pathol, 1999,52(2): 107-111.
- [7] Ekramullah SM, Saitoh Y, Arita N, et al. The correlation of Ki-67 staining indices with tumor doubling times in regrowing non-functioning pituitary adenoma [J]. Acta Neurochir (Wien), 1996, 138(12): 1449-1445.
- [8] Shibuya M, Saito F, Miwa T, et al. Histochemical study of pituitary adenomas with Ki-67 and anti-DNA polymerase monoclonal antibodies, bromodeoxyuridine labeling, and nucleolar organizer region counts[J]. Acta Neuropathol, 1992, 84(5): 178-183.

[编辑:刘红武]

侵袭性垂体腺瘤中 CD44 与 Ki-67 表达的相关性

(正文见 490 页)

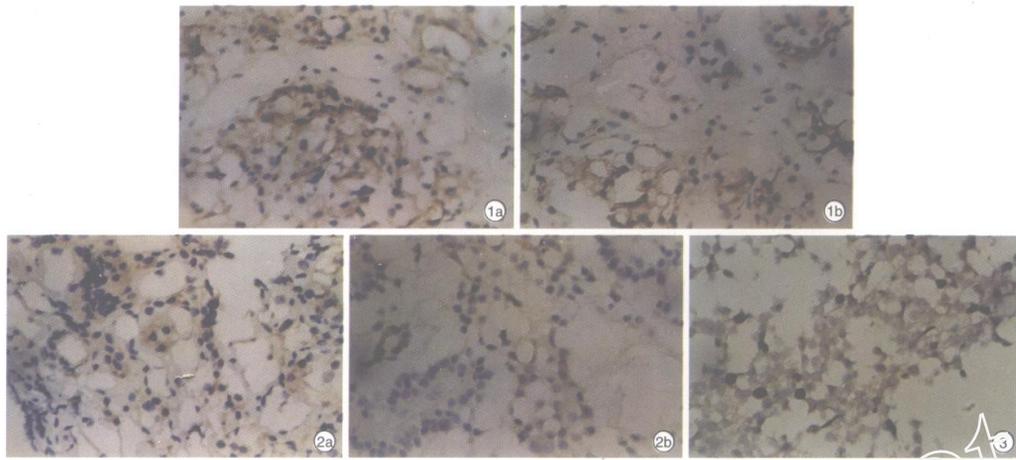


图 1a CD44s 在侵袭性垂体腺瘤中的表达(SP × 400) 图 1b CD44s 在非侵袭性垂体腺瘤中的表达(SP × 400)
 图 2a CD44v5 在侵袭性垂体腺瘤中的表达(SP × 400) 图 2b CD44v5 在非侵袭性垂体腺瘤中的表达(SP × 400)
 图 3 Ki-67 在垂体腺瘤中的表达(SP × 400)

FHIT 在结直肠癌中的表达及其与 Caspase-3、PCNA 之间的关系

(正文见 505 页)

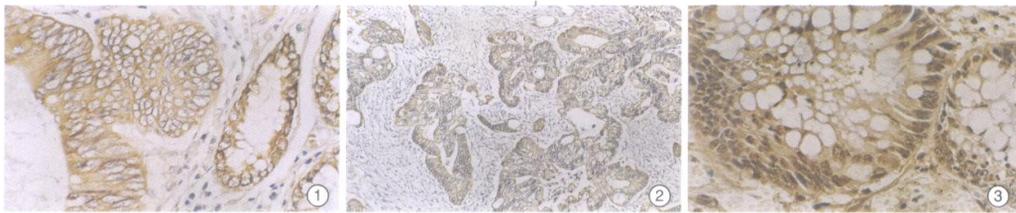


图 1 FHIT 在高分化结直肠腺癌组织中呈阳性表达 (SP × 400)
 图 2 Caspase-3 在中分化结直肠腺癌组织中呈弱阳性表达 (SP × 200)
 图 3 PCNA 在高分化结直肠腺癌组织中呈阳性表达 (SP × 400)

口腔鳞癌中 IL-8 的表达及其与微血管生成的关系

(正文见 516 页)

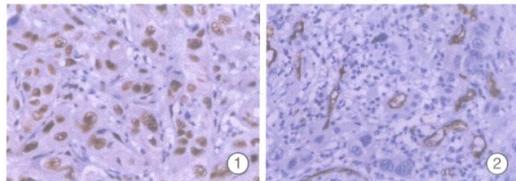


图 1 口腔鳞癌中肿瘤细胞 IL-8 阳性表达(SP × 200)
 图 2 口腔鳞癌中 CD34 的表达(SP × 200)

利用 siRNA 抑制人骨肉瘤细胞 survivin 的表达

(正文见 519 页)

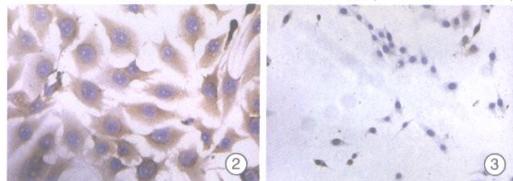


图 2 空白组细胞 survivin 蛋白表达。大多数细胞出现明显棕黄色染色 (DAB × 400)
 图 3 转染后 48h shRNA 组细胞 survivin 蛋白表达。细胞染色较淡,阳性细胞数目减少 (DAB × 100)