

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.03.008

胃癌组织中 CD44v6 和 RHAMM 的表达及临床意义

张 涛

(湖北省武汉市中心医院胃肠外科, 武汉 430014)

【摘 要】目的:探讨 CD44v6 和 HA 受体介导的细胞游走受体(Receptor of HA mediated motility, RHAMM)在胃癌组织中的表达情况及其与胃癌临床病理特征、患者预后的关系。方法:采用免疫组化法检测 78 例胃癌组织和 25 例正常胃黏膜组织中 CD44v6 和 RHAMM 的表达。结果:CD44v6 和 RHAMM 染色均呈黄褐色,CD44v6 在胃癌组织中的阳性表达率为 64.1%(50/78),而在正常胃黏膜组织中未检测到阳性表达。RHAMM 在胃癌组织中的阳性表达率为 66.7%(52/78),与正常胃黏膜组织中的阳性表达率 12%(3/25)相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。胃癌组织中 CD44v6 和 RHAMM 的表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小及肿瘤分化程度无关(均 $P>0.05$)。但 CD44v6 和 RHAMM 的表达与肿瘤的浸润深度和淋巴结转移密切相关(均 $P<0.05$)。结论:CD44v6 和 RHAMM 在胃癌中高表达,胃癌细胞可能通过 CD44v6 和 RHAMM 促进转移,CD44v6 和 RHAMM 的表达对胃癌的浸润转移有重要作用。

【关键词】胃癌;CD44v6;HA 受体介导的细胞游走受体;免疫组化

【中国图书分类法分类号】R735.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-11-05

Expressions and clinical significances of CD44v6 and receptor of HA mediated motility in gastric carcinoma

ZHANG Tao

(Department of Gastrointestinal Surgery, Central Hospital of Wuhan in Hubei Province)

【Abstract】Objective: To explore the expressions of CD44v6 and receptor of HA mediated motility (RHAMM) in tissues of gastric carcinoma and their relationship with the clinicopathological features and patients' prognosis. Methods: The expression levels of CD44v6 and RHAMM in 78 cases of resected gastric carcinoma tissues and 25 cases of normal gastric mucosal tissues were detected by immunohistochemistry method. Results: Both CD44v6 and RHAMM were expressed as brown granules. The positive rate of CD44v6 expression in gastric carcinoma tissues was 64.1%(50/78), which was significantly higher than that of 0% in normal tissues ($P<0.05$). The positive rate of RHAMM expression in gastric carcinoma tissues was 66.7%(52/78), significantly higher than that of 12%(3/25) in normal tissues ($P<0.05$). There was no correlation between CD44v6 and RHAMM expressions and the sex, age, tumor size and tumor differentiation ($P>0.05$). However, the expressions of CD44v6 and RHAMM were closely related with the invasion depth and the extent of lymph node metastasis ($P<0.05$). Conclusion: Both CD44v6 and RHAMM are highly expressed in gastric carcinoma, which may promote the metastasis of gastric carcinoma cells. The expressions of CD44v6 and RHAMM play an important role in the invasion and metastasis of gastric carcinoma.

【Key words】gastric carcinoma; CD44v6; receptor of HA mediated motility (RHAMM); immunohistochemistry

胃癌是消化道常见的恶性肿瘤之一,多数患者发现时已有淋巴结或远处转移。近年来研究表明,细胞外基质中的透明质酸(Hyaluronic acid, HA)与肿瘤的转移浸润密切相关。CD44 是一种存在于细胞表面的跨膜糖蛋白,是重要的促转移 HA 受体,其 1 拼接变体 CD44v6 能介导淋巴细胞归巢并参与细胞间的粘附过程,与恶性肿瘤的侵袭转移密切相关。而 HA 受体介导的细胞游走受体(Receptor of HA mediated

motility, RHAMM)虽与胃癌形成有一定关联,但它在胃癌发生发展阶段的作用仍有争议。本文应用免疫组化法检测 78 例胃癌组织中 CD44v6 和 RHAMM 的表达及其与临床病理特征的关系,探讨两者与肿瘤发生、发展和转移之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2002 年 1 月至 2003 年 12 月间本院胃肠外科收治的胃

作者介绍:张 涛(1974-),男,主治医师,硕士,
研究方向:普外科。

癌标本 78 例,其中男 40 例,女 38 例,年龄在 22~79 岁(平均 59 岁)。按 2009 年国际抗癌联盟(UICC)推出的第 7 版胃癌 TNM 分期:Ⅰ期 6 例,Ⅱ期 25 例,Ⅲ期 31 例,Ⅳ期 16 例。按照胃癌的临床病理分级,高分化 4 例,中等分化 28 例,低分化 46 例。伴有淋巴结转移 55 例,无淋巴结转移 23 例。患者术前均未行放、化疗。另取 25 例胃切缘正常胃黏膜组织标本作为对照。

1.2 方法

采用 Envision 两步法。4 μ m 石蜡切片常规二甲苯脱蜡、梯度酒精水化后,微波法修复抗原,3%过氧化氢封闭 10 min。分别滴加 RHAMM 抗体和 CD44v6 抗体,4℃过夜。所用抗体浓度均为 1:100。加入二抗,DAB 显色,自来水充分冲洗终止反应,苏木精复染,梯度酒精脱水,中性树胶封片。显微镜下观察阳性表达呈棕黄色或棕褐色并拍照。所用兔抗人 RHAMM 抗体、CD44v6 单抗、二抗、DAB 显色试剂盒均购自美国 Santa Cruz 公司。以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3 免疫组化结果判定

根据阳性细胞占同类细胞比例,将染色结果分为:阳性细胞<5%为“-”;阳性细胞占 5%~24%为“+”;阳性细胞占 25%~50%为“++”;阳性细胞>50%为“+++”4 个等级。由于取样区域相对稳定,故总体染色强度能够反映抗原表达的强度。

1.4 统计学分析

所有数据均采用 SPSS 16.0 统计软件。计数资料的比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CD44v6 和 RHAMM 在正常胃黏膜、胃癌组织中表达

78 例胃癌标本中,CD44v6 阳性表达主要位于细胞膜上,部分胞浆亦可见染色,呈棕褐色颗粒,其阳性率为 64.1%(50/78),而正常胃黏膜组织未见阳性表达($\chi^2=12.18, P=0.003$)。有 52 例显示 RHAMM 染色阳性(阳性率为 66.7%),呈棕褐色颗粒,定位于细胞膜和胞浆,而正常胃黏膜组织阳性表达率仅 12%(3/25),二者间差异有统计学意义($\chi^2=10.51, P=0.004$) (见图 1、2)。

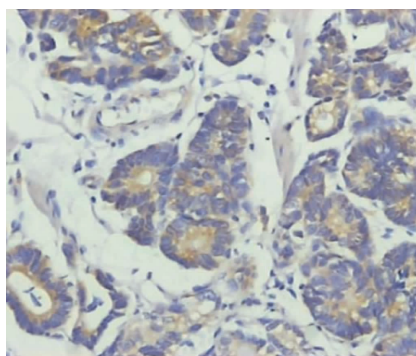


图 1 胃癌组织中 CD44v6 的阳性表达 (400 ×)

Fig.1 Positive expression of CD44v6 in gastric carcinoma (400 ×)

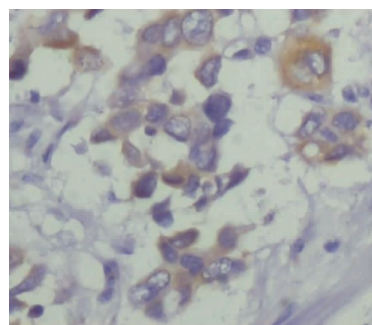


图 2 胃癌组织中 RHAMM 的阳性表达 (400 ×)

Fig.2 Positive expression of RHAMM in gastric carcinoma (400 ×)

2.2 CD44v6 和 RHAMM 表达与胃癌患者的临床病理特征关系

实验结果提示,78 例胃癌组织中,CD44v6 和 RHAMM 表达均与患者性别、年龄、肿瘤直径、肿瘤分化程度和临床分期无显著相关($P>0.05$)。CD44v6 和 RHAMM 与肿瘤浸润深度明显相关($\chi^2=10.02, P=0.006$ 和 $\chi^2=9.91, P=0.026$),随着肿瘤浸润深度的增加,CD44v6 和 RHAMM 的阳性表达率均逐渐增高。有淋巴结转移组中 CD44v6 和 RHAMM 的阳性率均明显高于无淋巴结转移组($\chi^2=5.81, P=0.037$ 和 $\chi^2=8.47, P=0.026$),见表 1。

表 1 胃癌组织中 CD44v6、RHAMM 表达和临床病理特征的联系

Tab.1 Relationship between the expressions of CD44v6, RHAMM and the clinicopathological features of gastric carcinoma

临床病理特征	n	CD44v6		RHAMM	
		阳性	P	阳性	P
性别					
男	40	26	0.075	27	0.065
女	38	24		25	
年龄(岁)					
≤50	37	23	0.069	24	0.229
>50	41	27		28	
肿瘤大小(cm)					
≤4	42	26	0.079	26	0.09
>4	36	24		26	
组织分化					
高/中等	32	19	0.114	20	0.117
低	46	31		32	
侵袭					
T ₁ ~T ₂	26	10	0.006	10	0.026
T ₃ ~T ₄	52	40		42	
淋巴结转移					
缺乏	23	11	0.037	11	0.016
存在	55	39		41	
TNM 相					
Ⅰ+Ⅱ	31	20	0.071	23	0.064
Ⅲ+Ⅳ	47	30		29	

3 讨 论

恶性肿瘤的发生、发展及转移机制一直是肿瘤研究的热点。CD44v6 是 CD44 的变异型,广泛分布于细胞表面的跨膜糖蛋白,主要表达在有转移能力细胞中,研究证实 CD44v6 基因是一种转移相关基因^[1,2]。本研究结果显示,CD44v6 在胃癌组织中高表达,而在正常胃黏膜组织中无表达($P<0.05$),证实了 CD44v6 在胃癌组织中的表达,且 CD44v6 在胃癌组织与正常胃黏膜组织中的表达存在明显差异,提示 CD44v6 可能参与胃癌的发生与发展。这些差异经与胃癌的临床病理资料分析发现:CD44v6 的表达与胃癌的浸润深度及有无淋巴结转移相关。随着浸润深度的加深,胃癌组织中表达 CD44v6 愈高,提示 CD44v6 的促转移作用使得肿瘤细胞侵袭力增强,更容易发生浸润。在有淋巴结转移的胃癌组织中,CD44v6 的表达分别明显高于无淋巴结转移的胃癌组织。这提示 CD44v6 与胃癌的发展密切相关,CD44v6 可能促进胃癌细胞的转移。

RHAMM 是 HA 的另一种促转移受体,分布于细胞膜表面、细胞浆和细胞核,具有癌基因特性,其表达可以被 P53 抑制^[3,4]。在乳腺癌中,RHAMM 的过度表达与其预后不良有关^[5]。随着肿瘤浸润深度的增加,膀胱癌细胞中 RHAMM 的表达亦增强^[6]。RHAMM 是结肠癌不良预后的独立判断指标^[7,8]。本研究显示,RHAMM 在胃癌组织中表达率为 66.7%,而在正常胃黏膜组织中表达较弱,仅为 12% (3/25) ($P<0.05$),证实了 RHAMM 在胃癌组织中的高表达,这与国内外学者的研究结果一致^[9,10],提示 RHAMM 参与胃癌发生发展的进程,检测胃黏膜组织中的 RHAMM 的表达情况可以作为判定胃癌良恶性的参考。RHAMM 阳性表达与胃癌肿瘤浸润深度及有无淋巴结转移相关。肿瘤浸润越深,RHAMM 的表达越高,提示其与肿瘤浸润性生长有密切关系;有淋巴结转移组中的 RHAMM 表达分别明显高于无淋巴结转移组,提示 RHAMM 与胃癌的发展转移密切相关。因此 RHAMM 可能是影响胃癌细胞发生发展、浸润和转移过程的一个重要分子。

综上所述,本研究探讨了 CD44v6 和 RHAMM 在胃癌组织中的表达情况,证实了 CD44v6 和 RHAMM 在胃癌组织中的高表达。同时,CD44v6 和 RHAMM 的表达与胃癌临床病理关系结果分析亦示 CD44v6 和 RHAMM 与胃癌的发展转移密切相关。因此进一步深入研究 CD44v6 和 RHAMM 与胃癌细胞浸润转移的关系,对评估胃癌预后及指导治疗具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] Winder T, Ning Y, Yang D, et al. Germline polymorphisms in genes involved in the CD44 signaling pathway are associated with clinical outcome in localized gastric adenocarcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2011, 129(5): 1096–1104.
- [2] Okayama H, Kumamoto K, Saitou K, et al. CD44v6, MMP-7 and nuclear Cdx2 are significant biomarkers for prediction of lymph node metastasis in primary gastric cancer[J]. *Oncol Rep*, 2009, 22(4): 745–755.
- [3] 毛 宁, 向小勇, 陈 力, 等. 食管鳞癌组织中 RHAMM 和 TP X2 基因的表达及临床意义的研究[J]. *重庆医科大学学报*, 2010, 35(4): 557–560.
- [4] Mao N, Xiang X Y, Chen L, et al. Expression of RHAMM gene and TPX2 gene in esophageal squamous carcinoma and its clinical significance[J]. *Journal of Chongqing Medical University*, 2010, 35(4): 557–560.
- [5] Sindy S, Kurt E. RHAMM is differentially expressed in the cell cycle and downregulated by the tumor suppressor p53[J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(21): 3448–3460.
- [6] Hamilton S R, Fard S F, Paiwand F F, 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): 16667–16680.
- [7] 郭启振, 殷 波, 卜仁戈, 等. 膀胱癌预后与 RHAMM 的表达[J]. *现代肿瘤医学*, 2010, 18(7): 1351–1353.
- [8] Guo Q Z, Yin B, Bu R G, et al. Prognosis of bladder cancer and RHAMM expression[J]. *Modern Oncology*, 2010, 18(7): 1351–1353.
- [9] Lugli A, Zlobec I, Günthert U, et al. Over expression of the receptor for hyaluronic acid mediated motility is an independent adverse prognostic factor in colorectal cancer[J]. *Mod Pathol*, 2006, 19(10): 1302–1309.
- [10] 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): 1712–1727.
- [11] Sumiya I, Shinichi U, Yuka Nishizono, et al. Prognostic impact of CD168 expression in gastric cancer[J]. *BMC cancer*, 2011, 11: 106–111.
- [12] 王颖智, 杨翠霞, 刘鹭雯, 等. 实时荧光定量 PCR 检测 CD44 和 RHAMM 在胃肠肿瘤中的表达研究[J]. *检验医学*, 2008, 23(4): 338–343.
- [13] Wang Y Z, Yang C X, Liu Y W, et al. Study on the expression of receptor for hyaluronan-mediated motility and CD44 in gastroenteric cancer by real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction[J]. *Laboratory Medicine*, 2008, 23(4): 338–343.

(责任编辑:冉明会)