文章编号:1000-5404(2010)09-0985-04

论著

MCT1、CD147在人胶质瘤中的表达、相关性及其与预后的关系

王晓澍[1],游 潮[2],孙晓川[1] (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院神经外科[1];610041 成都,四川大学华西医院神经外科[2])

[摘要] **目的** 探讨单羧酸转运蛋白-1(monocarboxylate transporter-1, MCT1)和CD147在不同级别人脑胶质瘤中的表达情况及其与胶质瘤预后的关系。**方法** 采用免疫组化S-P法检测MCT1和CD147在28例低级别胶质瘤和32例高级别胶质瘤中的表达情况;建立前瞻性队列随访观察上述胶质瘤患者术后情况,使用生存曲线和COX多因素模型进行生存预后分析。**结果** MCT1和CD147在人脑胶质瘤中均有高表达;在高级别胶质瘤中,两者的阳性表达率(93.8%、90.6%)和强阳性表达率(73.3%、72.4%)显著高于低级别组(两者的阳性表达率为46.4%、50%,强阳性表达率为30.8%、35.7%,$P<0.01$,$P<0.05$),且两者表达呈正相关($r=0.671$,$P<0.05$);MCT1和CD147表达相关生存曲线差异有统计学意义($P=0.021$,$P=0.001$),COX分析CD147高表达对胶质瘤患者的术后生存预后具有明显影响($P=0.017$)。**结论** MCT1和CD147与胶质瘤恶性程度有密切关系,两者的表达,尤其是CD147可作为胶质瘤预后判断的参考指标和治疗靶点。

[关键词] 单羧酸转运蛋白-1;CD147;胶质瘤;预后
[中图法分类号] R341; R730.23; R730.264 **[文献标志码]** A

Expressions of MCT1 and CD147 in human gliomas and their correlations with prognosis

Wang Xiaoshu[1], You Chao[2], Sun Xiaochuan[1] ([1]Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016; [2]Department of Neurosurgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan Province, 610041, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expressions and correlation of monocarboxylate transporter-1 (MCT1) and CD147 in human gliomas, and analyzee the relationship between their expressions and prognosis. **Methods** Immunohistochemistry SP methods were applied to detect the expressions of MCT1 and CD147 in 28 cases of low grade gliomas and 32 cases high grade gliomas. Their expression level and correlation were analyzed statistically. Prospective cohorts were set to acquire follow-up data. Kaplan-Meier curve and Cox multi-factor model were used to analyze patients' prognosis. **Results** Both CD147 and MCT1 had strong expressions in human gliomas. The positive expression rate of MCT1 and CD147 (93.8% and 90.6%) and the strong positive expression rate (73.3% and 72.4%) in high grade gliomas were significantly enhanced compared with that of low grade gliomas (positive expression rate: 46.4% and 50%, strong positive expression rate: 30.8% and 35.7%, $P<0.01$, $P<0.05$) and their expression had positive correlation ($r=0.671$, $P<0.05$). The Kaplan-Meier curve related with the expression of MCT1 and CD147 were statistically different ($P=0.021$ and $P=0.001$), CD147 significantly interfered with patients' prognosis in COX analysis ($P=0.017$). **Conclusion** The expressions of CD147 and MCT1, especially CD147, are closely related to the malignant degree of gliomas. They may be useful reference factors to evaluate prognosis of human gliomas and potential targets for therapy.

[Key words] monocarboxylate transporter-1; CD147; glioma; prognosis

Corresponding author: Wang Xiaoshu, E-mail: bigbearwxs@21cn.com

胶质瘤是颅内肿瘤中最常见者,其生长迅速、侵袭力强、易于复发,对高级别胶质瘤疗效很不理想[1]。单羧酸转运蛋白-1(monocarboxylate transporter-1, MCT1)是与细胞糖酵解代谢密切相关的细胞膜转运蛋白,细胞表面抗原CD147协助MCT1表达和行使功能。本研究拟检测MCT1和CD147在不同级别人胶质瘤中的表达情况,并探讨其表达与胶质瘤预后的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取重庆医科大学附属第一医院神经外科2003年1月至2005年1月术后经病理证实的60例胶质瘤患者手术标本。根

[通信作者] 王晓澍,E-mail:bigbearwxs@21cn.com

据WHO分级,将Ⅰ、Ⅱ级星形细胞瘤21例、少突胶质细胞瘤7例归入低级别胶质瘤组共28例;将Ⅲ,Ⅳ级星形细胞瘤11例、间变性星形细胞瘤5例、多形性胶质母细胞瘤14例、胶质肉瘤2例归入高级别胶质瘤组共32例,分别做免疫组化检测。在生存分析中,根据免疫组化结果,分为MCT1阳性表达组、MCT1阴性表达组和CD147阳性表达组、CD147阴性表达组,做前瞻性队列研究,随访观察至2009年1月。纳入标准:①幕上肿瘤首次发病并手术,术前未经抗肿瘤治疗;②术后因患方客观原因,均只做了常规放疗处理;③随访依从性好;④由同一组高年资医师手术,术后早期复查增强MRI,证实肿瘤为全切或次全切;⑤患者均为成年人,无肥胖、糖尿病等代谢性疾病。排除标准:①未顺从随访;②失访或死于其他原因;③术后接受了除常规放疗外的其他抗肿瘤治疗,如再次手术。

另取内减压术中切除的正常脑组织10例作为免疫组化正常对照组。

1.2 试剂与仪器

CD147鼠抗人单克隆抗体,MCT1鼠抗人单克隆抗体购自SANTA公司。S-P免疫组化试剂盒,DAB显色试剂盒购自北京中山生物有限公司。CK40相差显微镜(OLYMPUS,日本)

1.3 方法

1.3.1 免疫组化法　肿瘤标本石蜡包埋,4 μm厚度连续切片,抗原预处理后免疫组化S-P法染色,DAB显色,苏木精复染,梯度酒精脱水,树胶封片,按试剂盒说明书严格进行。已知MCT1、CD147阳性表达肺癌组织切片作阳性对照,PBS液代替一抗作阴性对照。

1.3.2 结果判定　每张切片随机取5个高倍视野,取其计数平均值判定。MCT1和CD147阳性表达细胞为位于细胞膜的棕黄色或棕色染色。根据阳性细胞的百分率和染色深浅划分表达等级。MCT1阴性(－):阳性细胞<20%,染色淡;MCT1阳性(＋):20%≤阳性细胞<50%,染色呈棕黄;MCT1强阳性(＋＋):阳性细胞≥50%,染色呈棕色[1]。CD147阴性(－):阳性细胞<5%,染色淡;CD147阳性(＋):5%≤阳性细胞<50%,染色棕黄;CD147强阳性(＋＋):阳性细胞≥50%,染色棕色[2]。

1.4 统计学方法

MCT1和CD147的组间表达差异采用χ^2检验;两者表达相关性采用Spearman等级秩相关检验;绘制Kaplan-Meier生存曲线,Log-Rank法检验;预后分析中先用单因素分析从众多研究变量中,在$P<0.05$水平筛选出肿瘤大小、病理级别、MCT1和CD147表达等6个可能有意义的预后因素,赋值代入COX回归多因素分析,后退法进行。数据处理使用SPSS 13.0统计软件,检验水准$\alpha=0.05$。

2 结果

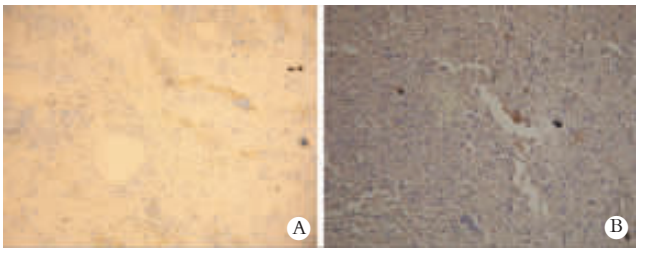
2.1 MCT1和CD147在不同级别胶质瘤中的表达差异

MCT1、CD147的阳性表达率在低级别胶质瘤组和高级别胶质瘤组间比较差异有统计学意义($P<0.01$),其阳性切片中的强阳性率在2组间差异亦有统计学意义($P<0.05$)。表明高级别胶质瘤组中MCT1和CD147的阳性表达量和强度高于低级别胶质瘤组(表1,图1、2)。

表1 MCT1和CD147在各组中的表达情况

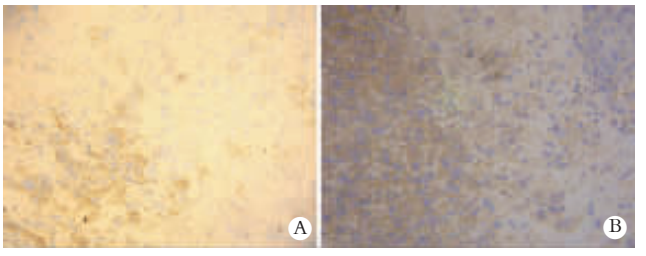
组别	CD147(例数)			CD147阳性率/阳性切片的强阳性率	MCT1(例数)			MCT1阳性率/阳性切片的强阳性率
	－	＋	＋＋		－	＋	＋＋	
对照组	10	0	0	0%	10	0	0	0%
低级别胶质瘤组	14	9	5	50%/35.7%	15	9	4	46.4%/30.8%
高级别胶质瘤组	3	8	21	90.6%[a]/72.4%[b]	2	8	22	93.8%[a]/73.3%[b]

a:$P<0.01$,b:$P<0.05$,与低级别胶质瘤组比较



A:低级别胶质瘤组呈“＋”表达;B:高级别胶质瘤组呈“＋＋”表达

图1 免疫组化染色检测CD147在胶质瘤中的表达 (S-P ×200)



A:低级别胶质瘤组呈“＋”表达;B:高级别胶质瘤组呈“＋＋”表达

图2 免疫组化染色检测MCT1在胶质瘤中的表达 (S-P ×200)

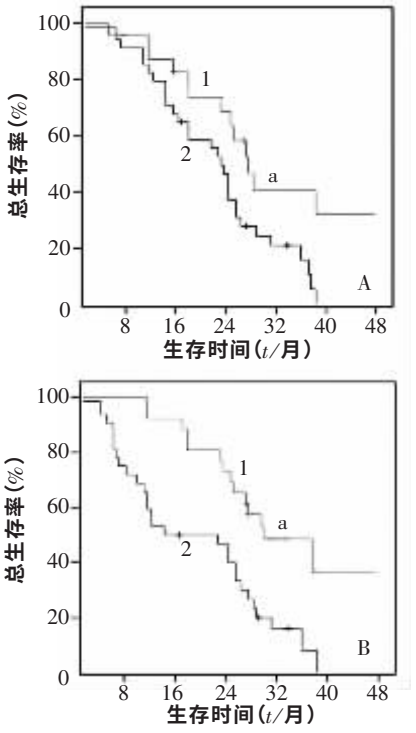
2.2 MCT1和CD147的表达相关性

MCT1和CD147在60例胶质瘤中的阳性表达率均为71.7%,两者联合表达率为61.7%,在39例(65%)中两者的表达强度完全一致。经Spearman等级秩相关检验,两者表达呈正相关($r=0.671$,$P<0.05$)。

2.3 MCT1、CD147与胶质瘤术后生存和预后关系

60例患者在随访期中,2例失访,2例接受了再次手术,1例于术后9个月死于车祸。按随访资料分别绘制MCT1阳性表达组患者和阴性组患者、CD147阳性表达组患者和阴性组患者的Kaplan-Meier生存曲线(图3)。可见2个阳性组的生存曲线基本全程位于阴性组下方,在术后12、24、36个月等时间点上,阳性组生存率均显著低于阴性组且随时间推移其生存率差异进一步增大;在观察期结束的术后48个月时,2个阳性组的病例已全部死亡,而MCT1和CD147阴性组仍分别有5例和6例存活,仍有一定的生存率(29.4%、35.3%)。经统计学检验,在MCT1阳性组和阴性组之间生存率分布差异有统计学意义($P=0.021$),CD147阳性组和阴性组间差异亦有统计学意义($P=0.001$)。

初步筛选出6个预后因素进入COX多因素分析再次筛选,消除各因素间相互影响后,病理级别和CD147表达与本组患者预后有关系($P=0.025$,$P=0.017$),而肿瘤大小、瘤周水肿、MCT1表达和切除程度与预后无明显关系($P>0.05$)。



A:MCT1 阴性组(曲线 1)和阳性组(曲线 2)的生存曲线;a:P = 0.021,与阳性组比较

B:CD147 阴性组(曲线 1)和阳性组(曲线 2)的生存曲线;a:P = 0.001,与阳性组比较

图 3 MCT1、CD147 阴性组和阳性组的 Kaplan-Meier 生存曲线

3 讨论

肿瘤组织即使在氧供应充分的情况下仍主要依靠糖酵解供能[3]。有研究证明胶质瘤细胞的糖酵解在细胞内产生大量以乳酸为主的代谢产物[4,5]。这些乳酸必须由 MCT 迅速转运出细胞,否则将影响糖酵解反应的方向和速度,且细胞内乳酸堆积可使细胞酸化,导致细胞死亡[6]。

本研究纳入病例中已排除可影响 MCT1 表达的情况。我们发现胶质瘤中 MCT1 表达较正常脑组织明显增强。提示肿瘤糖代谢的改变使得细胞膜 MCT 表达上调以排出乳酸,而高恶性肿瘤细胞膜上需表达更多 MCT 以满足更旺盛的糖酵解需要。Froberg 等[1]对中枢神经系统肿瘤的 MCT1 表达进行评分:发现高恶性肿瘤评分远高于低度恶性者。我们发现高级别组中 MCT1 的阳性表达率和其中的强阳性率均显著高于低级别组($P<0.01$, $P<0.05$)。提示随着肿瘤恶性程度增加,糖酵解增强,MCT1 表达随之上调。

CD147 为细胞表面黏附分子,具有诱导肿瘤侵袭、协助 MCT 表达等多种功能[7]。我们观察到其在胶质瘤中表达范围较 MCT1 更广泛,除细胞膜外,在血管壁、肿瘤基质、瘤周水肿带和纤维组织均有高表达,但我们在同期研究中发现这些细胞膜以外的表达主要与胶质瘤侵袭有关[8],故在计数时已将其排除在外,只统计与 MCT1 相关的细胞膜表达。有研究证实,实体肿瘤 MCT 必须依靠细胞膜上 CD147 的引导,才能进入胞膜正确表达位点,使乳酸通道跨过细胞膜正确构建并行使转运功能[9,10]。我们发现在排除无关表达的情况下,胶质瘤胞膜 CD147 表达较正常脑组织显著增加,且高级别组 CD147 表达进一步上调,初步提示 CD147 表达强度变化与 MCT1 方向一致。镜下观察发现两者在细胞膜的分布较一致,胞膜 MCT1 浓集的标本同样出现 CD147 高表达,这种分布一致性系由于它们之间的特异性结合而并非简单的共享细胞膜表达位点[11],即细胞膜上 CD147 以其 C 末端与 2 个 MCT1 连接形成复合体,保证定位正确并提高乳酸转运效率[12,13]。进一步统计分析发现本研究中两者联合表达率达 61.7%,39 例标本两者表达强度完全一致(65%),其表达呈正相关($r=0.671$, $P<0.05$),进一步提示随着肿瘤 MCT1 表达增强,CD147 表达量相应随之上调,以保证增加的 MCT1 能正确表达。

肿瘤的糖酵解代谢能力对其预后有重要意义。糖酵解旺盛的肿瘤生长快、侵袭性强、复发迅速,其预后往往更差[14]。在单因素分析中我们发现阴性组和阳性组生存曲线的差异可初步提示 MCT1 和 CD147 对糖酵解代谢的增强不利于患者预后。为了消除众多临床因素间的相互影响,我们进一步作 COX 多因素分析发现:肿瘤大小、水肿、切除程度在多因素分析中不具统计学意义。MCT1 在本研究中也尚不能作为预后判断的独立指标,这可能是由于肿瘤预后因素错综复杂,糖酵解代谢只是其中的一环,而 MCT1 在其中的作用相对单一和局限,故在整个预后中的权重相对较弱。而 CD147 的表达情况对本组患者预后具有更重要的统计学意义,可以作为预后判断的重要参考。这可能由于 CD147 除了与 MCT1 和糖酵解的关系外,在肿瘤的发生、发展机制中还有其他广泛作用,如促进基质金属蛋白酶分泌有利于肿瘤侵袭,促进肿瘤细胞的黏附和趋化运动等,故其更能从多方面影响肿瘤预后。在国外研究[15]和我们的后续研究中,通过干预肿瘤 CD147,抑制了 MCT1 介导的乳酸转运和糖酵解,有效抑制了肿瘤细胞的生长,同时也降低了其侵袭能力,故 CD147 可作为胶质瘤治疗的重要潜力靶点,值得深入研究。

参考文献:

[1] Froberg M K, Gerhart D Z, Enerson B E, *et al*. Expression of monocarboxylate transporter MCT1 in normal and neoplastic human CNS tis-

sues[J]. Neuroreport, 2001, 12(4): 761 – 765.
[2] Tan H, Ye K, Wang Z, *et al*. Clinicopathologic evaluation of immunohistochemical CD147 and MMP-2 expression in differentiated thyroid carcinoma[J]. Jpn J Clin Oncol, 2008, 38(8): 528 – 533.
[3] Kraus M, Wolf B. Implications of acidic tumor microenvironment for neoplastic growth and cancer treatment: a computer analysis [J]. Tumour Biol, 1996, 17(3): 133 – 154.
[4] Bouzier A K, Voisin P, Goodwin R, *et al*. Glucose and lactate metabolism in C6 glioma cells: evidence for the preferential utilization of lactate for cell oxidative metabolism[J]. Dev Neurosci, 1998, 20(4/5): 331 – 338.
[5] Yamagata M, Hasuda K, Stamato T, *et al*. The contribution of lactic acid to acidification of tumours: studies of variant cells lacking lactate dehydrogenase[J]. Br J Cancer, 1998, 77(11): 1726 – 1731.
[6] 成党校,钱桂生,黄桂君. 单羧酸转运泵基因反义真核表达载体的构建[J]. 第三军医大学学报, 2000,22(8):807 – 809.
[7] Chen Z, Mi L, Xu J, *et al*. Function of HAb18G/CD147 in invasion of host cells by severe acute respiratory syndrome coronavirus[J]. J Infect Dis, 2005, 191(5): 755 – 760.
[8] 李浩,陈兢,贺民, 等. CD147、MMP-2 在人脑胶质瘤中的表达及其与预后的关系[J]. 四川大学学报: 医学版, 2007,38(3):396 – 399.
[9] Slomiany M G, Grass G D, Robertson A D, *et al*. Hyaluronan, CD44, and emmprin regulate lactate efflux and membrane localization of monocarboxylate transporters in human breast carcinoma cells[J]. Cancer Res, 2009, 69(4): 1293 – 1301.
[10] Kirk P, Wilson M C, Heddle C, *et al*. CD147 is tightly associated with lactate transporters MCT1 and MCT4 and facilitates their cell surface expression[J]. EMBO J, 2000, 19(15): 3896 – 3904.
[11] Gerhart D Z, Leino R L, Drewes L R. Distribution of monocarboxylate transporters MCT1 and MCT2 in rat retina[J]. Neuroscience, 1999, 92(1): 367 – 375.
[12] Baba M, Inoue M, Itoh K, *et al*. Blocking CD147 induces cell death in cancer cells through impairment of glycolytic energy metabolism [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 374(1): 111 – 116.
[13] Wilson M C, Meredith D, Halestrap A P. Fluorescence resonance energy transfer studies on the interaction between the lactate transporter MCT1 and CD147 provide information on the topology and stoichiometry of the complex in situ[J]. J Biol Chem, 2002, 277(5): 3666 – 3672.
[14] Isidoro A, Casado E, Redondo A, *et al*. Breast carcinomas fulfill the Warburg hypothesis and provide metabolic markers of cancer prognosis [J]. Carcinogenesis, 2005, 26(12): 2095 – 2104.
[15] Su J, Chen X, Kanekura T. A CD147-targeting siRNA inhibits the proliferation, invasiveness, and VEGF production of human malignant melanoma cells by down-regulating glycolysis[J]. Cancer Lett, 2009, 273(1): 140 – 147.

(**收稿**:2009-11-10;**修回**:2010-03-20)
(编辑 邓强庭)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2010)09-0988-01

误诊为急腹症的降、腹主动脉夹层动脉瘤1例

王 梅,乔着意,王兴志 (400020 重庆,解放军第324医院急诊科)

[关键词] 主动脉夹层动脉瘤;急腹症;误诊
[中图法分类号] R543.160.4 **[文献标志码]** B

1 临床资料

患者,女性,81岁,因突发胸腹部剧烈疼痛2 h来院急诊,疼痛持续加重,难以忍受。患者既往有高血压病史。急诊查腹部B超示胆总管增粗(0.8 cm);腹部立卧位片未见异常;胸片示胸主动脉增宽,双肺纹理增多、紊乱模糊。查体:血压183/107 mmHg,痛苦面容,双肺呼吸音粗,心率:97/min,心律齐,各瓣膜区未闻及杂音,右上腹轻压痛,腹部未触及包块。初步诊断为胆总管结石,收治住院。查血:白细胞8.7×10^9/L,红细胞3.97×10^9/L,血红蛋白120 g/L。心电图检查示窦性心律,左中隔支阻滞。肌酸激酶(CK)140 U/L,肌酸激酶同工酶(CK-MB)29 U/L。给予654-2解痉、曲马多镇痛治疗,静脉滴注硝酸甘油等对症治疗后,胸痛仍持续加重,再次复查血压:左上肢160/90 mmHg,右上肢200/120 mmHg,考虑主动脉夹层动脉瘤可能。立即行胸部CT扫描:降主动脉及腹主动脉影增宽,腔内见弧形略高密度影,主动脉壁钙化影内移,并见假腔和夹层,上缘始于主动脉弓,下缘达腰5椎体水平以下。确诊为降主动脉、腹主动脉夹层动脉瘤,继续给予镇静、镇痛和控制血压治疗。于入院12 h后转入外院治疗。

2 讨论

主动脉夹层动脉瘤是指由于各种原因造成的主动脉壁内膜破裂,血流沿内膜与中层之间纵行剥离而形成的壁内血肿。一旦破裂出血,抢救非常困难,是少见而严重的血管疾病[1]。具有腹主动脉瘤破裂典型症状的患者只有50%,其初诊误诊率常达25%[2],门急诊医师易误诊。主动脉夹层动脉瘤为临床少见疾病,起病急骤,病情凶险,临床表现复杂多样[3]。有以高血压危象合并脑出血发病,有与冠心病、心绞痛并存的,还有以消化道症状以及胸腹腔积液为主要表现就诊者,且90%主动脉夹层以突发胸痛或腹痛起病,疼痛非常剧烈,持续时间长,常向背部

[通信作者] 乔着意,电话:(023)68762049,E-mail:jzk324@163.com

(下转993页)