DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.15.028
第26卷第15期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 15
2004年8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 2004

文章编号:1000-5404(2004)15-1401-03

论著

膀胱移行细胞癌 CD44 和 nm23 蛋白表达及临床意义

于冬梅,阎晓初,郭德玉,柳凤轩,刘丽梅 (第三军医大学西南医院病理科,重庆 400038)

提 要:目的 探讨 CD44 和 nm23 蛋白在膀胱移行细胞癌中的表达及其与临床病理的联系。方法 应用免疫组织化学技术检测 55 例膀胱移行细胞癌 CD44 和 nm23 蛋白的表达。结果 55 例膀胱移行细胞癌中,CD44 蛋白表达阳性率 56.4%,且与病理分级和预后无显著性差异($P>0.05$),与血管、淋巴管侵袭有显著性差异($P<0.05$)。nm23 蛋白表达阳性率 63.6%,且随病理分级增高而降低,与分化程度、血管淋巴管侵袭及其预后有显著性差异($P<0.05$)。CD44 和 nm23 在膀胱移行细胞癌中表达有显著性差异($P<0.05$)。CD44 阳性表达伴 nm23 阴性表达者易发生转移。结论 CD44 和 nm23 蛋白联合检测可以作为预测膀胱癌转移的参考指标,且 nm23 检测有助于其预后监测。

关键词:膀胱癌;CD44 蛋白;nm23 蛋白;免疫组织化学
中图法分类号:R394.3;R730.23;R737.14 文献标识码:A

Expressions of CD44 and nm23 proteins in transitional cell carcinoma of the bladder and their clinical significance

YU Dong-mei, YAN Xiao-chu, GUO De-yu, LIU Feng-xuan, LIU Li-mei (Department of Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the expressions of CD44 and nm23 proteins and their clinical significance in transitional cell carcinoma (TCC) of the bladder. Methods The expression levels of CD44 and nm23 proteins in 55 cases of TCC of the bladder was detected by immunohistochemical method. Results The positive rate of expression of CD44 protein in TCC was 56.4%. There was no significant difference of the expression of CD44 with the pathological grades of tumor and the prognosis ($P>0.05$), but was significantly different from the vascular and lymphatic invasion of tumor ($P<0.05$). The positive rate of expression of nm23 protein in TCC was 63.6%. There was significant difference between the pathological grades Ⅰ, Ⅱ, and Ⅲ ($P<0.05$). The positive rate of nm23 in TCC was significantly different from tumor differentiation and vascular and lymphatic invasion of tumor. CD44 expression was significantly different from nm23 expression in TCC ($P<0.05$). The positive expression of CD44 and negative expression of nm23 were closely associated with the TCC metastasis. Conclusion The expression of CD44 and nm23 proteins may be a predicting factor of metastasis of TCC. The detection of nm23 protein might be useful to predict the prognosis of bladder cancer.

Key words: bladder cancer; CD44 protein; nm23 protein; immunohistochemistry

膀胱移行细胞癌是泌尿系统常见的恶性肿瘤,其浸润和转移是非常复杂过程,受多种相相关基因调控。近年来研究资料表明,细胞粘附分子 CD44 在肿瘤组织表达异常与肿瘤的侵袭和转移关系密切。肿瘤转移抑制基因 nm23 蛋白表达与多种肿瘤的浸润深度、预后关系密切。本研究应用免疫组化技术检测 CD44 和 nm23 蛋白在膀胱移行细胞癌中的表达,旨在探讨两者在膀胱移行细胞癌中发生、发展及预后关系。

作者简介:于冬梅(1950-),女,山东省青岛市人,主任医师,教授,主要从事肿瘤病理方面的研究,发表论文20余篇。电话:(023):68754432
收稿日期:2003-07-25;修回日期:2004-02-15

1 材料与方法

1.1 材料

收集我院 1978- 1992 年,手术切除膀胱移行细胞癌 55 例,收集全部临床资料并进行了随访。膀胱正常粘膜 6 例作对照,标本均经 10% 福尔马林固定,石蜡包埋,连续切片厚 4 μm。55 例膀胱移行细胞癌中,男性 44 例,女性 11 例,平均年龄 56.67 岁。随访时间术后 1~15 年,均获得随访结果。组织学分级,Ⅰ级 16 例,Ⅱ级 20 例,Ⅲ级 19 例。CD44 单克隆抗体、nm23 多克隆抗体及 S-P 试剂盒均购自福州迈新公司。

1.2 免疫组化染色

采用 S-P 法,一抗 CD44、nm23 为即用型。以 PBS 代替第一抗体为阴性对照,以已知阳性切片作阳性对照。结果判定:

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

CD44 阳性表达位于细胞膜和细胞浆，nm23 阳性表达位于细胞浆内，阳性染色为棕黄色颗粒状。(+)阳性细胞数< 20%、(++)阳性细胞数 20%~50%，(+++)阳性细胞数> 50%。

1.3 统计学处理

采用 SPSS10.0 软件进行 χ^2 检验。

2 结果

55 例膀胱 TCC CD44 和 nm23 蛋白表达与临床病理关系见表 1。

表 1 膀胱移行细胞癌 CD44 和 nm23 表达与临床病理关系

Tab 1 The relationship of expressions of CD44 and nm23 with the clinicopathology in TCC of bladder

Item	n	CD44				nm23			
		Positive	Negative	Positive rate (%)	P-value	Positive	Negative	Positive rate (%)	P-value
Size(cm)									
≥3	33	20	13	60.6	>0.05	16	17	48.5	<0.05
<3	22	11	11	50.0		19	3	86.4	
Grade									
Ⅰ	16	6	10	37.5		14	2	87.5	
Ⅱ	20	12	8	60.0		13	7	65.0	
Ⅲ	19	13	6	68.4	>0.05	8	11	42.1	<0.05
BVI &LVI									
Present	10	9	1	90.0	<0.05	3	7	30.0	<0.05
Absent	45	22	23	48.9		32	13	71.1	
Recurrence									
Present	13	9	4	69.2	>0.05	7	6	53.9	>0.05
Absent	42	22	20	52.4		28	14	66.7	
5-year follow-up									
Survival	43	22	21	51.2		31	12	72.1	
Death	12	9	3	75.0	>0.05	4	8	33.3	<0.05

BVI: Blood vascular invasion; LVI: Lymphatic vascular invasion

2.1 CD44 和 nm23 表达与膀胱 TCC 大小、病理分级的关系

55 例膀胱移行细胞癌中，CD44 和 nm23 蛋白均呈不同程度的阳性表达(图 1、2)，两种蛋白在 6 例正常对照粘膜上皮均呈阳性表达，其中 CD44 主要显示基底层细胞阳性。膀胱癌中，CD44 阳性率 56.4%(31/55)，nm23 蛋白阳性率 63.6%(35/55)，其中 CD44 表达与肿瘤大小无显著差异(χ^2= 0.25, P> 0.05)，而 nm23 表达与肿瘤大小有显著性差异，肿瘤直径≥3 cm 者 nm23 阳性率显著低于< 3 cm 者(χ^2= 6.63, P< 0.05)。随病理分级Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级增加，CD44 阳性率呈现逐级增高，但经统计学处理各级间无差异显著性(χ^2= 1.05, P> 0.05)，而 nm23 阳性表达率逐级降低，其中Ⅰ级与Ⅲ级(χ^2= 5.85, P< 0.05)、Ⅰ级+Ⅱ级与Ⅲ级比较，有显著性差异(χ^2= 4.48, P< 0.05)。

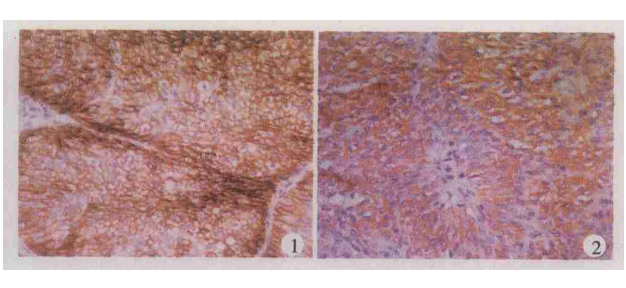


图 1 膀胱移行细胞癌Ⅱ级 CD44 染色阳性 (S-P× 400)

Fig 1 Positive expression of CD44 in grade Ⅱ bladder transitional cell carcinoma (S-P× 400)

图 2 膀胱移行细胞癌Ⅱ级 nm23 染色阳性 (S-P× 400)

Fig 2 Positive expression of nm23 in grade Ⅱ bladder transitional cell carcinoma (S-P× 400)

2.2 CD44 和 nm23 表达与膀胱 TCC 血管、淋巴管侵袭的关系

CD44 在膀胱移行细胞癌有血管淋巴管侵袭组的阳性率 90%，高于无侵袭组 48.9%(χ^2= 4.08, P< 0.05)。nm23 在膀胱移行细胞癌有血管淋巴管侵袭组中阳性表达率 30%，低于无侵袭组 71.1% (χ^2= 4.33, P< 0.05)。在对膀胱癌有血管淋巴管侵袭病例比较时发现，CD44 阳性、nm23 阴性表达的 16 例中 7 例存在血管和(或)淋巴管受侵，侵袭率 43.8(7/16)，CD44 阴性，nm23 阳性表达的 20 例中仅 1 例伴有血管和(或)淋巴管受侵，侵袭率为 5%(1/20)，二者比较有显著性差异(χ^2= 5.64, P< 0.05)。

2.3 CD44 和 nm23 表达与膀胱 TCC 预后的关系

本组 55 例膀胱癌经随访观察，5 年内肿瘤复发 13 例，复发率为 23.6%(13/55)，13 例复发的膀胱癌中，CD44 和 nm23 阳性表达率分别为 69.2%和 53.9%，与未复发的 42 例膀胱癌的两种蛋白阳性率相比较均无显著差异性(χ^2= 0.56、χ^2= 0.26, P> 0.05)。55 例膀胱癌中生存时间大于 5 年者 43 例，其 5 年生存率为 78.2%(43/55)，5 年内死亡 12 例，死亡率为 21.8%(12/55)。其中生存组 CD44 阳性率为 51.2%，与死亡组 CD44 阳性率(75.0%)比较，无显著性差异(χ^2= 1.31, P> 0.05)，而 nm23 阳性表达率在生存组为 72.1%，显著高于死亡组 33.3%(χ^2= 4.53, P< 0.05)。

2.4 CD44 与 nm23 蛋白表达的相互关系

55 例膀胱移行细胞癌中，CD44 阳性表达 31 例中 nm23 阳性表达 15 例，阴性 16 例，阳性表达率 48.4%(15/31)，CD44 阴性表达 24 例中，nm23 阳性表达 20 例，阴性 4 例，阳性表达率 83.3%(20/24)，在膀胱移行细胞癌中 CD44 阳性与阴性组比较，其 nm23 阳性表达率具有显著性差异(χ^2= 5.71, P< 0.05)。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3　讨论

CD44 是一种分布极为广泛的细胞跨膜糖蛋白, 属于表面粘附分子, 参与细胞-细胞, 细胞-基质之间的特异性粘连过程[1]。近年来研究表明, CD44 蛋白和许多系统的肿瘤恶性程度和淋巴结转移密切相关[2]。Lipponen 等[3] 应用免疫组化分析 173 例膀胱癌 CD44s 表达认为与病理分级相关。我们对膀胱移行细胞癌 55 例进行 CD44 蛋白检测, 结果表明: 分化好的Ⅰ级膀胱移行细胞癌中 CD44 蛋白表达阳性率低于分化差的膀胱移行细胞癌, CD44 蛋白表达随组织学分级增高呈上升趋势, 虽无统计学意义, 但说明 CD44 蛋白参与了膀胱癌的发展过程。研究表明, CD44 在肿瘤转移过程中起着重要作用, 它的高表达与转移有关。Hart 等[4] 研究表明, CD44 高表达的癌细胞肺转移能力明显高于 CD44 低表达的癌细胞。本研究结果显示膀胱移行细胞癌中有血管、淋巴管侵袭者 CD44 阳性表达率 90%, 无血管淋巴管侵袭者 CD44 阳性率为 48.9%, 提示 CD44 表达可能与膀胱移行细胞癌血管、淋巴管侵袭有显著性差异, 表明 CD44 在膀胱移行细胞癌转移中起一定促进作用。肿瘤转移抑制基因 nm23 在细胞信号传递, 细胞增殖和细胞分化的调节过程中起主要作用。其蛋白产物为 17×10^3 的核苷二磷酸激酶(NDPK)[5], 此酶通过调节 G 蛋白介导的细胞信号传导反应, 影响微丝、微管、细胞骨架蛋白的生物活性, 改变细胞的粘着力和迁移力, 抑制肿瘤转移, 因而被认为是转移抑制基因。研究表明, nm23 蛋白表达与多种肿瘤的分化程度、预后密切相关。本研究结果显示, nm23 阳性表达率在分化好的膀胱移行细胞癌中表达明显高于分化差的膀胱移行细胞癌($P<0.05$)。在对肿瘤的研究中表明 nm23 的过低表达促进肿瘤转移[6]。本研究结果显示, 膀胱移行细胞癌中, 有血管、淋巴管受侵的患者 nm23 表达低于无血管和淋巴管受侵患者, 表明了 nm23 表达与膀胱移行细胞癌血管、淋巴管侵袭有显著性差异, 提示 nm23 低表达者的膀胱移行细胞癌转移的危险性高。因此, CD44 和 nm23 蛋白的表达与膀胱移行细胞癌发展密切相关, 可作为预测膀胱癌浸润转移的重要参考指标。

此外本研究结果亦显示, 膀胱移行细胞癌中 CD44 表达阳性时, 其 nm23 阳性表达率较低, 且 CD44 阳性伴 nm23 阴性表达的患者发生血管、淋巴管侵袭的可能性大, 其可能的机制是 CD44 也具有 GTP 连接蛋白和 G 蛋白的特性[7], 而且 CD44 作为粘附分子与细胞骨架结合, 形成伪足, 促进转移。CD44 和 nm23 二者在信息传递中可能存在相互制约的调节关系, 确切机制, 有待进一步研究。

长期以来由于传统的组织病理学指标(肿瘤分期、分级)对于准确预测膀胱癌的生物学行为和预后比较困难, 近年来随着对肿瘤分子机制认识的加深, 愈来愈多的研究已注重对膀胱癌预后的分子标记物探讨和评价, 并取得较大的进展。目前研究表明癌基因(c-H-ras、c-erbB2)和抑癌基因(Rb、P53), 细胞增殖相关因子(Ki-67、PCNA), 以及细胞外基质与细胞粘附分子基质金属蛋白酶(MMP)等与膀胱癌预后关系密切[8]。本研究结果显示膀胱癌中 CD44 和 nm23 阳性表达率, 在复发组与未复发组间比较接近, 统计学处理两组间无显著性差异。表明 CD44 和 nm23 表达程度与膀胱癌的术后复发可能关系不大。本组膀胱癌 5 年生存组与死亡组 CD44 阳性率分别为 51.2%和 75.0%, 经统计学处理相差无显著性, 而 nm23 阳性表达率在死亡组为 33.3%, 显著低于生存组 72.1%。与文献[9, 10] 报道相吻合。提示 CD44 表达虽与膀胱癌浸润转移相关, 但并非其主要的预后影响因子。nm23 表达缺失不但可促进膀胱癌的浸润转移, 同时也预示其患者可能预后较差。因此, nm23 蛋白检测可作用膀胱移行细胞癌预后监测的参考指标。

参考文献:

[1] 杨秋霞, 赵贤妹. CD44 分子生物学特性及与肿瘤关系的研究进展[J]. 国外医学免疫学分册, 2000, 23(1): 12—15.

[2] Rall C J, Rustgi A K. CD44 isoform expression in primary and metastaic pancreatic adenocarcinoma[J]. Cancer Res, 1995, 55(9): 1831—1835.

[3] Lipponen P, Aaltoma S, Kosma V M, *et al*. Expression of CD44 standard and variant-v6 proteins in transitional cell bladder tumours and their relation to prognosis during a long-term follow-up[J]. J Pathol, 1998, 186(2): 157—164.

[4] Hart I R, Saini A. Biology of tumour metastasis[J]. Lancet, 1992, 339(8807): 1453—1457.

[5] Gilles A M, Presecan E, Vonica A, *et al*. Nucleoside diphosphate kinase from human erythrocytes. Structural characterization of the two polypeptide chains responsible for heterogeneity of the hexameric enzyme[J]. J Biol Chem, 1991, 266(14): 8784—8789.

[6] Yamaguchi A, Urano T, Goi T, *et al*. Expression of human nm23-H1 and nm23-H2 proteins in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer, 1994, 73(9): 2280—2284.

[7] Lokeshwar V B, Bourguignon L Y. The lymphoma transmembrane glycoprotein GP85 (CD44) is a novel guanine nucleotide - binding protein which regulates GP85 (CD44) - ankyrin interaction[J]. J Biol Chem, 1992, 267(31): 22073—22078.

[8] Al-Sukhun S, Hussain M. Current understanding of the biology of advanced bladder cancer[J]. Cancer, 2003, 97(8 Suppl): 2064—2075.

[9] Shiina H, Igawa M, Urakami S, *et al*. Immunohistochemical analysis of nm23 protein in transitional cell carcinoma of the bladder[J]. Br J Urol, 1995, 76(6): 708—713.

[10] Hong R L, Pu Y S, Hsieh T S, *et al*. Expressions of E-cadherin and exon v6-containing isoforms of CD44 and their prognostic values in human transitional cell carcinoma[J]. J Urol, 1995, 153(6): 2025—2028.

(编辑　陈聪连)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net