DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.10.014
第25卷第10期 第三军医大学学报 Vol.25, No.10
874 2003年5月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE May. 200

论著

文章编号:1000-5404(2003)10-0874-03

粘附分子CD44、CD44V3、CD44V6及PCNA在人骨肉瘤中的表达及其临床意义

辛 榕,郭乔楠,冯俊明 (第三军医大学附属西南医院病理学研究所,重庆 400038)

提 要:目的 探讨骨肉瘤组织中CD44、CD44V3、CD44V6及PCNA的表达情况及其临床意义。方法 应用免疫组织化学方法对40例骨肉瘤、15例骨软骨瘤中CD44、CD44V3、CD44V6及PCNA的表达情况进行检测,并结合临床资料分析其与肿瘤恶性程度和预后的关系。结果 ①骨肉瘤中CD44、CD44V3、CD44V6阳性表达率明显高于骨软骨瘤。②骨肉瘤中CD44V6阳性表达率明显高于CD44、CD44V3。③骨肉瘤组织中CD44V6的表达与临床病理类型无关,与预后无关。④CD44及CD44V6的表达与PCNA的关系密切,尤以CD44V6更能反映肿瘤的恶性程度。结论 CD44V6可作为骨肿瘤恶性表型的标志,但与预后的关系尚有待于进一步探讨。

关键词:骨肉瘤;免疫组织化学;CD44;抗原;PCNA
中图法分类号:R392.13;R730.23;R738.1 文献标识码:A

Expressions of CD44, CD44V3, CD44V6 and PCNA in human osteosarcoma and the clinical significance

XIN Rong, GUO Qiao-nan, FENG Jun-ming (Institute of Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the expressions of CD44, CD44V3, CD44V6 and PCNA and the relationship between the expressions and clinical pathologic changes of human osteosarcoma. Methods The expressions of CD44, CD44V3, CD44V6 and PCNA in 15 osteochondromas and 40 osteosarcomas were detected immunohistochemically. Results (1) The positive expression rates of CD44, CD44V3 and CD44V6 in osteosarcoma were markedly higher than those in osteochondroma. (2) The positive expression rate of CD44V6 was higher than those of CD44 and CD44V3 in osteochondroma. (3) The expression of CD44V6 was not involved in the pathological type or the prognosis in osteochondroma. (4) The expressions of CD44 and CD44V6, particularly that of CD44V6, were closely involved in the PCNA positive rate. Conclusion CD44V6 might act as a marker of malignancy of the bone tumors, but the relationship with the prognosis in malignant bone tumors waits to be further studied.

Key words: osteosarcoma; immunohistochemistry; CD44; antigen; PCNA

骨肉瘤是常见于青少年的恶性肿瘤,其具有侵袭力强、转移早且转移率高等特点是导致临床治疗失败的重要原因。因此探讨其侵袭、转移的机制及其与预后的关系具有重要的临床意义。本研究应用免疫组织化学方法检测了40例骨肉瘤和15例骨软骨瘤中CD44、CD44V3、CD44V6及PCNA等在其它肿瘤中与肿瘤的转移及预后有关的指标,以期探讨其与骨肉瘤生物学行为及患者预后的关系。

1 材料和方法

1.1 标本来源

取自本校附属西南医院、新桥医院及重庆市肿瘤医院1985—1994年间骨肉瘤手术切除标本40例,按组织学分型[1]分为骨母细胞型22例、软骨母细胞型10例及纤维母细胞型8例,另取骨软骨瘤15例,所有标本均经10%福尔马林固定,常规石蜡包埋,5μm连续切片,分别行HE及免疫组化染色。

1.2 临床资料

40例骨肉瘤患者,男性28例,女性12例,年龄13~64岁。所有病例均进行随访,随访最长时间12年,平均3.35年。

1.3 免疫组化染色

5μm连续石蜡切片,行EnVision免疫组化染色,具体步骤参照试剂盒说明书进行,EnVision免疫组化试剂购自DOKO公司,鼠抗人CD44、CD44V3、CD44V6单抗、PCNA单抗及二氨基联苯胺(DAB)显色剂购自北京中山生物技术有限公司,阴性对照用PBS代替一抗,阳性对照由公司提供。

1.4 统计学处理

计数资料两组间比较采用χ^2检验,计量资料用t检验。用SPSS8.0统计软件计算。

作者简介:辛 榕(1966—),女,重庆市人,实验师,主要从事病理技术方面的研究,发表论文9篇。电话:(023)68754000—73107

收稿日期:2003-02-25;修回日期:2003-04-14

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

2　结果

2.1　CD44、CD44V3, CD44V6 在骨软骨瘤、骨肉瘤组织中表达

肿瘤组织中 3 种抗原表达的阳性部位均位于瘤细胞胞浆, 呈棕黄色颗粒状, 见图 1, 2, 且 CD44、CD44V3、CD44V6 3 种抗原在骨肉瘤中表达的阳性率分别为 70%、30% 和 85%, 均明显高于骨软骨瘤($P<0.05$)。其中 CD44V6 的表达又明显高于其余两种抗原($P<0.05$)。

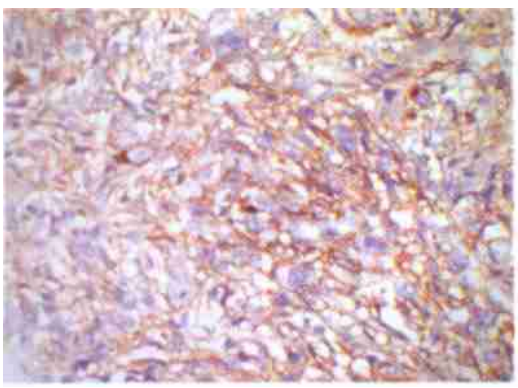


图 1　**CD44** 阳性染色位于胞膜, 呈强阳性　(Envision 苏木精复染, ×400)

Fig 1　CD44 positive granules located on the membrane
(hematoxylin staining, Envision× 400)

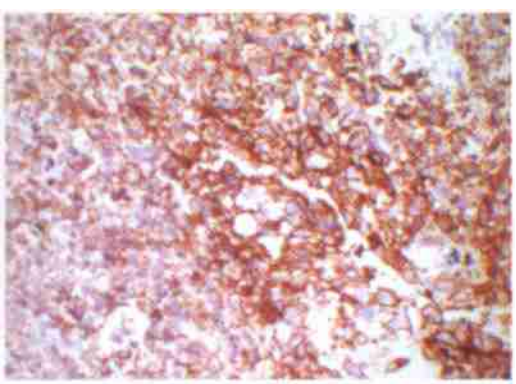


图 2　**CD44V$_6$** 阳性颗粒呈棕黄色, 位于胞浆及胞膜
(Envision 苏木精复染, ×400)

Fig 2　CD44V6 positive brown granules located on the cytoplasma and membrane　(hematoxylin staining, Envision× 400)

2.2　CD44V6 表达与骨肉瘤术后生存率的关系

根据临床资料并经统计发现, 尽管 CD44V6 阳性表达者术后生存率较阴性者有下降的趋势, 但两者间的差别并无显著性意义($P>0.05$)。

2.3　CD44、CD44V3、CD44V6 的表达与 PCNA 的关系

PCNA 阳性染色呈棕黄色颗粒状位于瘤细胞胞核, 见图 3。通过分析其与 CD44、CD44V3、CD44V6 表达的关系发现, PCNA 在CD44V6 表达阳性的骨肉瘤中的阳性细胞分布最高, 达(91.37±3.62), 且染色强度最强; CD44 表达阳性的骨肉瘤次之, 达(82.8±4.49); 而以 CD44V3 表达阳性的骨肉瘤最弱, 仅(61.25±7.66), 后二者比较有显著性差异($P<0.01$)。

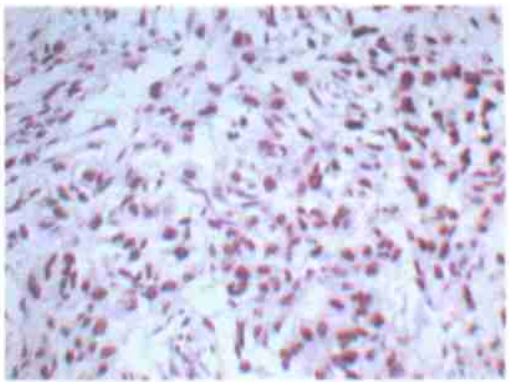


图 3　**PCN** 阳性颗粒位于胞核(Envision 苏木精复染, × 400)

Fig 3　PCNA positive granules located on the nuclear
(hematoxylin staining, Envision× 400)

3　讨论

CD44 是由单一基因编码的具有高度异质性的单链膜表面糖蛋白家族, 正常情况下表达于 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、单核细胞等细胞表面, 与淋巴细胞向炎症部位和粘膜相关淋巴结的归位有关, 亦可通过与多种受体结合, 在细胞与细胞、细胞与细胞外及基质(ECM)的粘附中起重要作用。CD44 变异体是由于编码 CD44 分子胞外肽段功能区的外显子在转录中剪接了不同的外显子而形成, 人类基因组中共有 9 种这样的变异体外显子(V2-10)。曹卫东等[3] 通过检测 10 例正常脑组织、20 例脑胶质母细胞瘤和 20 例颅内转移瘤中 CD44s 和 CD44V3-V10 的表达显示, 脑胶质母细胞瘤中无 CD44 变体蛋白表达可能, 与其很少发生颅外转移有关, 且 CD44 变体蛋白可能在颅内转移瘤向颅内转移的过程中起重要作用。在众多 CD44 分子亚型中, 目前研究较多的是 CD44V3 和 CD44V6, 其中尤以 CD44V6 更受重视。吴秋平等[4] 采用免疫组化、流式细胞术测定了 52 例非小细胞肺癌和 12 例正常肺组织的 CD44V3、CD44V6 的表达水平, 并分析了其与肺癌淋巴结转移之间的关系。结果显示, 肺癌组织 CD44V3、CD44V6 水平明显高于正常肺组织。CD44V3、CD44V6 在淋巴结转移组中的阳性表达明显高于无淋巴结转移组, 其中以 CD44V6 与肺癌淋巴结转移的关系更密切, 表达 CD44V6 的肺癌更容易向周围淋巴结转移。刘剑仑等[5] 采用 RT-PCR 方法对 30 例乳腺癌和 10 例乳腺良性肿瘤组织中的 CD44 基因的表达进行了检测, 结果显示 CD44V6 在乳腺癌中的表达明显高于乳腺良性肿瘤; 乳腺癌组织中 CD44V6 表达率明显高于 CD44S 及 CD44V3; Ⅲ、Ⅳ期乳腺癌 CD44V6 表达显著高于Ⅰ、Ⅱ期乳腺癌; 有淋巴结转移的乳腺癌 CD44V6 的表达明显高于无淋巴结转移者。说明 CD44V6 在乳腺癌中的表达与乳腺癌的发生发展、浸润转移和预后密切相

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

关。姚德生等[6]用免疫组织化学方法，检测了 41 例卵巢恶性肿瘤、20 例卵巢良性肿瘤和 21 例正常卵巢组织中 CD44V3、CD44V6 基因的蛋白表达情况并分析相关的临床病理因素。结果显示 CD44V3、CD44V6 表达阳性率恶性组显著高于良性组和正常组；有转移者 CD44V3、CD44V6 阳性率显著高于无转移者，转移灶阳性率高于原发性；CD44V3、CD44V6 阳性表达者近期疗效比阴性者差；CD44V3、CD44V6 阳性表达率与病理类型、组织学级别无关。说明 CD44V3、CD44V6 与近期疗效有关。以上研究充分显示了 CD44V3、CD44V6 在其它肿瘤中的临床病理学意义。

本研究结果显示，骨肉瘤中 CD44、CD44V3、CD44V6 的表达明显高于骨软骨瘤，二者相比较差异有非常显著性意义（$P<0.01$）。在这三者中尤以 CD44V6 呈现普遍性高表达，其表达阳性率明显高于 CD44 和 CD44V3（$P<0.01$），在骨软骨瘤中未见明显表达。PCNA 反映的是细胞增殖活性。在肿瘤组织中则体现了肿瘤细胞的增殖能力，也就间接反映了肿瘤细胞的恶性程度。通过对 PCNA 的染色发现，PCNA 在 CD44V6 表达阳性的骨肉瘤中 PCNA 阳性细胞分布最高，达 85%～98%，且染色强度最强；CD44 表达阳性的骨肉瘤次之，达 75%～90%；而以 CD44V3 表达阳性的骨肉瘤最弱，仅 50%～75%。说明这 3 种抗原均与 PCNA 有关，但以 CD44V6 更能反映骨肉瘤的增殖活性，提示在这 3 种抗原骨肿瘤的标志中，以 CD44V6 更能作为骨恶性肿瘤的标志，尤其可作为骨肉瘤的辅助性诊断指标之一。

有人在多种其它肿瘤如结肠腺癌中均发现 CD44V6 的高表达与肿瘤的分期有关[7]，Kuryu 等[8]甚至认为，CD44V6 的过表达与骨肉瘤患者的预后有关，5 年生存率 CD44V6 阴性表达者为 58%，阳性表达者为 24%，两者差异有显著性意义。但在本实验中，虽然随着 CD44V6 阳性表达患者时间的推移，生存率存在着下降的趋势，但与阴性表达者并没有显著统计学意义。这可能与本组病例数尚少有关，但亦提示除 CD44V6 外，尚有诸如就诊的早晚、治疗方案的不同等临床、患者因素影响其预后。因此，CD44V6 的表达与预后的关系还有待于进一步探讨。

参考文献：

[1] 刘子君. 骨与关节病理学[M]. 北京：人民卫生出版社，1994. 149－151.
[2] 王玉珍，段惠军，陈建国，等. CD44V3 在乳腺癌及其淋巴结转移组织中的表达[J]. 河北医科大学学报，2001，22(6)：338－339.
[3] 曹卫东，章 翔，刘卫平，等. CD44 粘附分子在颅内转移瘤及脑胶质母细胞瘤中的表达及意义[J]. 陕西医学杂志，1999，28(12)：756－758.
[4] 吴秋平，向明章，钟前进，等. CD44V3、CD44V6 在非小细胞肺癌中的表达及其与淋巴结转移的关系[J]. 第三军医大学学报，2001，23(5)：541－543.
[5] 刘剑仑，姆布依·嘎本盖勒，杨南武. 粘附分子 CD44 在乳腺癌中的表达及其意义[J]. 肿瘤防治杂志，2001，8(1)：15－16
[6] 姚德生，李 力，唐步坚，等. CD44V3、CD44V6 基因蛋白在卵巢恶性肿瘤中的表达及临床意义[J]. 肿瘤防治研究，1999，26(5)：321－323.
[7] Wielenga V J, Heider K H, Offerhaus G J, *et al*. Expression of CD44-variant proteins in human colorectal cancer is related to tumor progression [J]. Cancer Res, 1993, 53: 4754－4756.
[8] Kuryu M, Ozaki T, Nishida K, *et al*. Expression of CD44-variants in osteosarcoma[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 1999, 125(11): 646－652.

（编辑 王 红）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2003)10-0876-01

以关节疼痛和广泛骨质破坏为表现的神经母细胞瘤 1 例

A case report of neuroblastoma with arthralgia and pervasive osteolysis

张红宾[1]，张翼军[1]，夏顺中[1]，桂 芹[2]（第三军医大学附属西南医院：[1]血液内科；[2]儿科，重庆 400038）

患者，女性，5 岁，因为“反复双膝关节、肩关节疼痛 1 年余”伴间断性低热、消瘦。于 2001 年 5 月入院。查体：慢性病容，恶病质体型。皮肤无出血点右颈部可扪及蚕豆大小淋巴结 2 枚，质地硬，无压痛，活动度欠佳。胸骨压痛（＋）。心肺及肝脾未见异常。血 WBC 7.6×10^9/L，Hb 64 g/L，PLT 581×10^9/L，尿本周氏蛋白（－），肝、肾功、血蛋白电泳（－），外周血淋巴细胞 41%，多部位骨髓穿刺检查均提示干抽。X 线检查：X 线检查见全深骨骼广泛性虫蚀性破坏，T9、10 椎体呈楔形变。尿 VMA 定性（＋），血去甲肾上腺素 2 010 ng/L，肾上腺素 794 ng/L，脑脊液沉渣未见幼稚细胞；TORCH 试验（－）；骨髓检查见增生明显活跃，全片以成堆的分类不明细胞为主，占 97.5%，该类细胞外形不规则，核不规则，染色质粗，疏松，核仁隐约可见，胞浆灰蓝不均匀，少量有伪足，部分细胞无胞浆。粒、红、巨三系明显受抑，提示肿瘤转移骨髓像。流式细胞术检测 CD2 76%，CD5 36%，CD7 76%，CD20 11%，CD33 0%，CD34 0%，HLA-DR 13%。

（下转 879 页）

作者简介：张红宾(1973－)，男，河北省邯郸市人，硕士，主治医师，主要从事造血干细胞移植和难治性血液病方面的研究，发表论文 18 篇。电话：(023)65321062

收稿日期：2002-03-05；修回日期：2002-09-05

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