

• 短篇论著 •

CD24 在肾透明细胞癌多中心病灶和单结节中的表达及意义

熊雨美 关宏伟 高鹤丽 高雪

【摘要】 目的 观察 CD24 在肾透明细胞癌多中心病灶及单结节病灶中的表达情况, 探讨其在多中心病灶发生机制中的意义。方法 收集完整的肾透明细胞癌根治术后标本, 多中心病灶 16 例, 单结节 14 例。检测 CD24 在肾透明细胞癌多中心病灶及单结节病灶中的表达情况。结果 在肾透明细胞癌多中心病灶组 CD24 阳性表达率为 100%; 肾透明细胞癌单结节病灶组阳性表达率 78.6%, CD24 在两组的表达有显著性差异, $P < 0.01$; 16 例多中心病灶中有 15 例原发肿瘤直径大于 4 cm, 占该组病例的 93.8%; 14 例单结节组中有 6 例原发肿瘤直径大于 4 cm, 占该组病例的 42.9%, 两组差异有统计学意义, $P < 0.01$; 两组病例的病理分级对比发现多中心病灶组高分级(病理分级 2~3 级)为 100%, 单结节灶组高分级为 85.7%, 这两组在病理分级上差异无统计学意义, $P > 0.05$ 。结论 CD24 在肾透明细胞癌多中心病灶组表达明显高于单结节病灶组的表达, 提示 CD24 高表达与肾透明细胞癌多中心病灶发生成正相关, 多中心病灶发生可能是由肾内转移而来。

【关键词】 CD24; 肾透明细胞癌; 多中心病灶; 单结节病灶

CD24 是一种双链糖基磷脂酰肌醇连接细胞表面蛋白, 具有调节细胞增殖、分化和凋亡等功能, 并与肿瘤细胞转移密切相关, 是近年来研究较多的黏附分子, 但在肾透明细胞癌的多中心病灶与单结节病灶中的表达情况及在多中心病灶形成机制中的作用还未见报道。本研究通过检测肾透明细胞癌多中心病灶和单结节病灶中的 CD24 的表达情况, 以探索 CD24 在肾细胞癌多中心病灶发生中的意义。

一、资料与方法

1. 一般资料: 收集大连医科大学附属第一医院从 1998 年至 2010 年病理资料完整的肾细胞癌根治术后标本 30 例, 其中多中心病灶标本 16 例, 男 13 例, 女 3 例, 年龄 49~78 岁, 平均 63.5 岁; 单结节病灶标本 14 例, 男 8 例, 女 6 例, 年龄 40~76 岁, 平均年龄 58 岁。

2. 常规病理学检查: 手术切除标本中性福尔马林固定, 石蜡包埋, 连续 4 μm 切片, HE 染色, 常规病理学检查: 按 Fuhrman 分级标准进行分级(1 级: 小的细胞核, 看不见核仁或不明显; 2 级: $\times 400$ 下可以看到核仁; 3 级: $\times 100$ 下可见核仁; 4 级: 在 3 级的基础上, 出现奇形核、多核的细胞, 伴有或不伴有梭形细胞): 1 级 2 例, 2 级 10 例, 3 级 18 例, 无 4 级标本。按大体标本是否有多结节病灶将标本分成多中心病灶组和单结节病灶组。

3. 免疫组织化学检测: (1) 试剂: CD24 鼠抗人单克隆抗体及即用型快捷免疫组化 MaxvisionTM 试剂盒均购于北京中杉生物技术有限公司, CD24 抗体为即用型。

(2) 免疫组化染色步骤: 按照即用型快捷免疫组化 MaxvisionTM 试剂盒操作说明进行免疫组化染色。主要步骤: 石蜡切片脱蜡、水化后, 在 0.1 mol/L 柠檬酸溶液 (pH=6.0) 中在不锈钢高压锅内高温高压, 修复抗原 2 min。用 PBS 液 (磷酸

盐缓冲液 pH=7.4) 冲洗三次, 每次 3 min (3 次)。每张切片加 50 μl 3%过氧化氢, 室温下孵育 10 min, 以阻断内源性过氧化物酶的活性。PBS 冲洗三次, 每次 3 min。每张切片加 50 μl 的第一抗体 CD24 单克隆抗体, 室温下孵育 60 min。PBS 冲洗三次, 每次 3~5 min。每张切片加 50 μl 即用型 MaxvisionTM 试剂, 室温下孵育 10~15 min。PBS 冲洗三次, 每次 3 min。每张切片加 100 μl 新鲜配制的 DBA 显色剂溶液, 显微镜下观察 3~5 min。自来水冲洗, 苏木素复染, PBS 冲洗返蓝。切片经过梯度酒精脱水干燥, 二甲苯透明, 中性树脂封固。

(3) 对照: 用已知 CD24 阳性的乳腺癌组织切片作为阳性对照, PBS 代替一抗作为阴性对照。

(4) 免疫组化结果判断标准及计数方法: 结果判定标准: 以肿瘤细胞膜出现棕黄色颗粒为阳性细胞。结果判定标准, 在 400 倍光镜下至少随机观察 10 个视野, 根据阳性细胞数分为: 阴性(-), 阳性细胞数小于 25% 为 (+), 阳性细胞数 25%~50% 为 (++) , 阳性细胞数 50%~100% 为 (+++)。

4. 统计学处理: 等级资料采用秩和检验的统计方法统计。计数资料采用四格表精确概率法检验。当 $P < 0.05$ 时差异有统计学意义。所有统计均在 SPSS 13.0 统计软件包下进行分析。

二、结果

1. CD24 在肾透明细胞癌多中心病灶和单结节病灶组织中的分布特征: CD24 阳性表达主要位于细胞膜, 胞浆中偶有少许表达。16 例多中心病灶组中 CD24 阳性率表达为 100%, 其中 6 例强阳性表达 (37.5%, 图 1), 4 例中性表达 (25%, 图 2), 6 例低表达 (37.5%); 14 例单结节组的 CD24 阳性率表达为 78.6%, 其中 2 例强阳性表达 (14.3%), 4 例中性表达 (28.6%), 5 例低表达 (35.7%), 3 例表达阴性 (21.4%), 多中心病灶组和单结节病灶组相比, CD24 表达水平有显著性差异, $P=0.000$, 见表 1。

2. 肿瘤大小与肾透明细胞癌多中心病灶发生的关系: 16 例多中心病灶中肿瘤直径 > 4 cm 者为 15 例, 占该组病例的 93.8%, 而 14 例单结节病灶组中, 肿瘤直径 > 4 cm 者为 6 例, 占该组病例数的 42.9%; 多中心病灶与单结节病灶在肿瘤大小上的比较较有显著统计学意义, $P=0.004$ 。

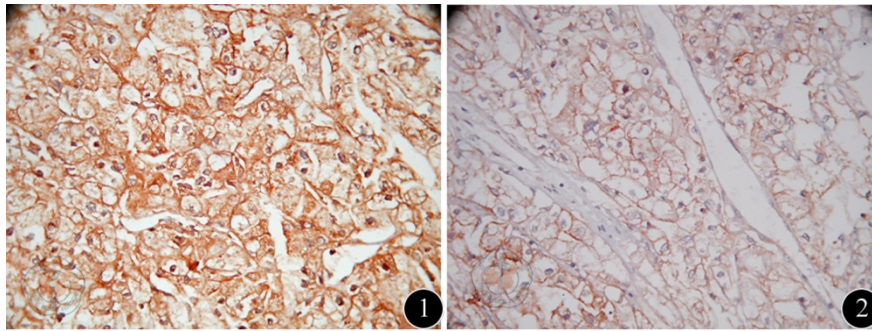


图1 肾透明细胞癌CD24染色强阳性表达(免疫组织化学×400) 图2 肾透明细胞癌CD24染色中性表达(免疫组织化学×400)

表1 肾透明细胞癌多中心病灶组和单结节病灶组 CD24 表达情况[例, (%)]

组别	CD24 (-)	CD24 (+)	CD24 (++)	CD24 (+++)	P 值
多中心病灶组	0 (0)	6 (37.5)	4 (25.0)	6 (37.5)	0.000
单结节病灶组	3 (21.4)	5 (35.7)	4 (28.6)	2 (14.3)	

3. 肾透明细胞癌病理分级与多中心病灶发生的关系: 多中心病灶组 16 例标本中, 全部是高分级(2~3 级)标本, 比率为 100%; 单结节病灶组 14 例标本中, 低分级者 2 例, 占该组病例中的 14.3%; 高分级标本数为 12 例, 占该组病例中的 85.7%, 多中心病灶组与单结节病灶组在病理分级上差异无统计学意义, $P>0.05$ 。

三、讨论

目前认为肾细胞癌多中心病灶是肾细胞癌术后复发的重要原因。肾细胞癌多中心病灶的发病机理目前尚无统一认识。Junker 等^[1]通过分析肾细胞癌组织学、细胞遗传学及免疫学等指标发现多中心病灶与原发灶的特征相似, 提出肾细胞癌多中心病灶是由肾内原发灶转移而来。国内李泉林等^[2]对 102 例肾细胞癌根治术标本进行原发灶与多中心灶 p53、PCNA、c2erb B2、CD44 v6、bcl22、nm23-H1 等蛋白表达情况的研究, 发现这些蛋白在多中心病灶与原发灶中的表达情况均相近, 他们也提出肾细胞癌多中心病灶的发生机制可能为原发灶肾内转移。探索肾细胞癌多中心病灶的发生机制对这类病人的外科手术治疗的选择以及预后评估都有重要意义。

1. CD24 在肾透明细胞癌多中心病灶发生机制中的意义: CD24 基因定位于 6 号染色体长臂(6q21), 该基因全部编码区由 2194 个碱基对构成, 产生的蛋白质由 27 个氨基酸组成, 是 CD24 前体。CD24 是一种低分子质量高度糖基化的黏附分子, 即糖基磷酸酯肌醇锚定的细胞表面蛋白, CD24 首先由 Fogel 等^[3]报道, 他们报道了浸润性乳腺癌细胞 CD24 呈阳性表达, 并认为 CD24 表达可以作为乳腺癌恶性进展的指标。CD24 是 P 选择素的唯一配基, P 选择素是位于激活的内皮细胞和血小板上的黏附受体, 据研究认为它与肿瘤细胞转移密切相关^[4], 因此 CD24 具有促进转移的作用^[5]。张永红等^[6]提出 CD24 的表达在肾细胞癌的浸润转移过程中起重要作用, CD24 高表达可以作为判断肾细胞癌转移的指标。

本组 30 例肾透明细胞癌标本中, 在多中心病灶中 CD24 阳

性表达率 100%, 中度以上表达(++/+++) 10 例, 占该组病例的 62.5%, 其中强阳性表达(+++) 6 例, 占该组病例的 37.5%; 单结节病灶组阳性表达率为 78.6%, 中度以上表达 6 例, 占该组病例的 42.9%, 其中强阳性表达 2 例, 占该组病例的 14.3%。多中心病灶组中 CD24 阳性高表达病例明显多于单结节病灶组, 有显著的统计学意义, $P=0.000$ 。CD24 在多中心病灶肾透明细胞癌阳性高表达说明多中心病灶组的肿瘤细胞转移性明显高于单结节病灶组肿瘤细胞转移性, 即提示肾透明细胞癌多中心病灶发生机制可能是由肾内转移而来, 而非独立起源。这一结论与 Junker 等^[1]和李泉林等^[2]的结论相符合。

2. 肾透明细胞癌多中心病灶与肿瘤大小的关系: 对于肾细胞癌多中心病灶是否与原发肿瘤大小有关有不同的论证。Kletscher 等^[7]的研究结果发现多中心病灶与原发肿瘤的直径、体积、无明显关系; Gohj 等^[8]也报道肾细胞癌多中心病灶与原发肿瘤的直径无关。而李泉林等^[2]在肾细胞癌多中心病灶发生机制的探讨中发现原发灶直径 ≤ 4 cm 者多中心病灶发生率明显低于原发灶直径 > 4 cm 者, 差异有统计学意义; Uzzo 等^[9]综述 1980~2000 年国际上文献报道的 1833 例保肾手术经验时, 指出肾细胞癌直径 ≤ 4 cm 的多中心病灶发生率与 4 cm 以上组有显著差别。本实验组也对肾细胞癌原发灶直径大小与多中心病灶发病率进行了比较, 其中 16 例多中心病灶中有 15 例(15/16)原发肿瘤直径 > 4 cm, 占该组病例的 93.8%; 14 例单结节病灶中有 6 例(6/14)原发肿瘤直径 > 4 cm, 占该组病例的 42.9%, 两组有统计学意义, $P=0.004$, 提示肾细胞癌多中心病灶组的原发灶直径 > 4 cm 者高于单结节病灶组。说明肾细胞癌的多中心病灶的发生率与原发肿瘤的直径大小成正相关, 这与李泉林等^[2]实验结果和 Uzzo 等^[9]的综述统计结果是一致的。表明随着原发肿瘤的体积增大, 多中心病灶发生率也越高, 这对于保留肾组织的肾细胞癌切除术提供了手术适应指征: 当原发肿瘤直径 ≤ 4 cm 者, 多中心病灶发生率小, 部分切除手术局部复发的可能性就会明显减小, 所以选择保留肾组织的肾细胞癌切除术是安全的。

3. 肾透明细胞癌多中心病灶与肿瘤病理分级的关系: 本实验中, 我们还对两组病例的病理分级进行了对比, 发现肾细胞癌多中心病灶组高分级(病理分级 2~3 级)为 100%, 单结节病灶组高分级为 85.7%, 这两组在病理分级上无统计学意义, $P=0.209$, 提示肾细胞癌多中心病灶的发生与肿瘤病理分级无关, 这与 Kletscher 等^[7]及 Gohji 等^[8]的研究结果一致, 说明多中心病灶的出现不依赖肿瘤病理分级的高低而有无。

参 考 文 献

- [1] Junker K, Schlichter A, Hindermann W, et al. Genetic characterization of multifocal tumor growth in renal cell carcinoma. *Kidney Int*, 1999, 56: 1291-1294.
- [2] 李泉林,关宏伟,张秋萍,等.肾细胞癌多中心病灶发生机理的探讨. *中华泌尿外科杂志*, 2003,24:232-234.
- [3] Fogel M, Friederichs J, Zeller Y, et al. CD24 is a marker for human breast carcinoma. *Cancer Lett*, 1999, 143: 87-94.
- [4] Friederichs J, Zeller Y, Hafezi-Moghadam A, et al. The CD24/P-selectin binding pathway initiates lung arrest of human A125 adenocarcinoma cells. *Cancer Res*, 2000, 60: 6714-6722.
- [5] Baumann P, Cremers N, Kroese F, et al. CD24 Expression Causes the Acquisition of Multiple Cellular Properties Associated with Tumor Growth and Metastasis. *Cancer Res*, 2005, 65: 10783-10793.
- [6] 张永红,曾甫清. 肾细胞癌中 CD24 蛋白的表达及其临床意义. *临床泌尿外科杂志*, 2007, 22: 219-220.
- [7] Kletscher BA, Qian J, Bostwick DG, et al. Prospective analysis of multifocality in renal cell carcinoma: influence of histological pattern, grade, number, size, volume and deoxyribonucleic acid ploidy. *J Urol*, 1995, 153: 904-906.
- [8] Gohji K, Hara I, Gotoh A, et al. Multifocal renal cell carcinoma in Japanese patients with tumors with maximal diameter of 50 mm or less. *J Urol*, 1998, 159: 1144-1147.
- [9] Uzzo RG, Novick AC. Nephron sparing surgery for renal tumors: indications, techniques and outcomes. *J Urol*, 2001, 166: 6-18.

(收稿日期: 2013-05-13)

(本文编辑: 戚红丹)

熊雨美,关宏伟,高鹤丽,等. CD24 在肾透明细胞癌多中心病灶和单结节中的表达及意义[J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2013, 7(14): 6693-6695.

