

CD90 在胃癌中的表达及其临床意义

高 尚,周厚民,毛伟征

(南京医科大学附属青岛临床医学院普外科,山东 青岛 266071)

[摘要] 目的:探讨 CD90 在胃癌组织中的表达及其临床意义。方法:通过免疫组织化学双染法检测 CD90 在胃癌组织、癌旁组织和慢性胃炎组织中的表达,以研究其与胃癌临床病理因素及预后的关系。结果:CD90 表达阳性率在胃癌组织中为 66.7% (64/96),在癌旁正常组织中为 15.6% (15/96),在慢性胃炎组织中为 15.0% (3/20),差异有统计学意义 ($P < 0.01$);CD90 在胃癌中的表达与 TNM 分期有关 ($P=0.014, P_T=0.02, P_N=0.017, P_M=0.045$);另外在多因素生存分析中,CD90 高表达的患者均有更差的 5 年总生存率 ($P < 0.05$)。结论:CD90 可能与胃癌的侵袭与转移相关,有可能为治疗提供一个新的分子靶点,并判断胃癌患者的预后。

[关键词] CD90;胃癌;免疫组化染色

[中图分类号] R735.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2015)07-1004-04

doi:10.7655/NYDXBNS20150720

Expression and clinical significance of CD90 in gastric cancer

Gao Shang, Zhou Houmin, Mao Weizheng

(Department of Surgery, Qingdao Clinical Hospital Affiliated to NJMU, Qingdao 266071, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of CD90 and its clinical significance in gastric cancer tissues. **Methods:** The expressions of CD90 in gastric cancer tissues, adjacent tissues and chronic gastritis tissues were detected by immunohistochemical staining to analyze their relationship with clinical pathological features and prognosis in gastric cancer. **Result:** The positive expression rate of CD90 was 66.7% (64/96) in gastric cancer tissues, 15.6% (15/96) in adjacent normal tissues, and 15.0% (3/20) in chronic gastritis tissues, with a statistically significant difference ($P < 0.01$). The expression of CD90 in gastric cancer was associated with the TNM stage ($P=0.014, P_T=0.02, P_N=0.017$ and $P_M=0.045$). Multivariate survival analysis indicated that patients with high expression of CD90 had poorer 5-year overall survival ($P < 0.05$). **Conclusion:** CD90 is associated with the invasion and metastasis of gastric cancer, and may be helpful in providing a novel molecular therapeutic target and evaluating prognosis of gastric cancer.

[Key words] CD90; gastric cancer; immunohistochemistry

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(07): 1004-1007, 1021]

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一,据统计,世界范围内每年新发病约 93.3 万例,死亡约 70 万例,排名第 4 位^[1]。我国是胃癌的高发地区,每年约有 40 万新发胃癌患者,占世界发病患者数的 42%,病死率持续高居我国肿瘤病死率第 3 位。虽然胃癌外科治疗和综合治疗技术不断发展,但患者的生存质量及生存期并不乐观。因此寻找与肿瘤侵袭与转移密切相关的分子标志物,进而发展相关的分子靶向治疗变得十分重要。

CD90,又称 Thy-1,是细胞黏附分子免疫球蛋白超家族的成员,借助甘油二酯锚定于糖基磷脂酰肌醇(glycosyl phosphatidyl inositol, GPI)羧基端而附着

于细胞膜^[2-4]。Saalbach 等^[3]研究表明,CD90 在神经再生和转移、炎症以及纤维化中起重要作用,参与调节了细胞-细胞、细胞-细胞质之间的反应。尽管具体的作用机制尚未完全阐明,但已有报道显示 CD90 介导白细胞的黏附作用,在细胞黏附、外渗、转移中发挥作用,并和上皮-间质转化(EMT)有关^[5-6]。有研究报道,CD90 在多种恶性肿瘤中表达,如乳腺癌、鼻咽癌、肝癌以及宫颈癌等^[7-11],显示了 CD90 与预后的相关性,CD90 可以作为肿瘤患者预后的潜在标记物。目前 CD90 在胃癌转移侵袭及预后的角色尚不清楚。因此,本文研究 CD90 与胃癌临床病理因素及预后的关系。

1 对象和方法

1.1 对象

从青岛市市立医院普外科数据库中选取自 2006 年 1 月~2008 年 6 月手术切除胃癌组织 96 例,同一病例来源的正常组织标本(距肿瘤组织 > 5 cm),以及慢性萎缩性胃炎组织 20 例,来源于胃镜活检标本。临床病理资料及随访资料完整,通过电话或门诊方式随访,时间截止于 2014 年 1 月。96 例原发性胃癌患者平均年龄 60.5 岁(28~83 岁),女性 26 例。术后病理类型:黏液腺癌 12 例,乳头状腺癌 6 例,印戒细胞癌 21 例,高分化腺癌 10 例,中分化腺癌 18 例,低分化腺癌 29 例。肿瘤部位:8 例位于胃底,36 例位于胃小弯,14 例位于胃大弯,38 例位于胃窦部。肿瘤分期为 I、II、III、IV 期的分别为 16、11、59、10 例。组织学分级及肿瘤分期参照 2010 年国际抗癌联盟/美国癌症联合委员会分期标准(UICC/AJCC)。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学检测

采用 DouMaxVision™ 免疫组化双染试剂盒(福州迈新生物技术开发公司),一抗分别为浓缩型兔抗人单克隆抗体 CD68 标记巨噬细胞、浓缩型兔抗人 CD90 单克隆抗体(Abcam 公司,美国);蜡块组织以 4 μm 为标准连续切片,石蜡切片常规脱蜡、水化,然后用免疫组织化学方法进行巨噬细胞和 CD90 细胞染色,预处理均为柠檬酸(pH6.0)高温高压修复,CD68 采用 BCIP/NBT 显色,阳性显色为蓝黑色;CD90 采用 AEC 显色,阳性显色为红色,免疫组化操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.2.2 结果判定

所有指标的结果均由两位病理主治医师经双盲法判定。在 10 个高倍镜视野下计数阳性细胞比

例以及分析视野综合染色强度,采用半定量计分方法,根据细胞染色强度(A)和染色细胞所占的比例(B)两者乘积来判定。阳性细胞比例按照 0 分(< 10%),1 分(10%~25%),2 分(26%~50%),3 分(> 50%)计算,细胞染色强度按照 0 分(无色),1 分(淡红色),2 分(红色)。乘积共分为 0~6 分。最终得分 0~2 分为 CD90 低表达,3~6 分为 CD90 高表达。

1.3 统计学方法

应用 SPSS17.0 统计学软件进行数据分析,CD90 表达量以及临床病理资料采用 χ^2 检验。采用 Cox 多因素回归分析进行生存分析,生存曲线应用 Kaplan-Meier 方法。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CD90 在胃癌组织中高表达

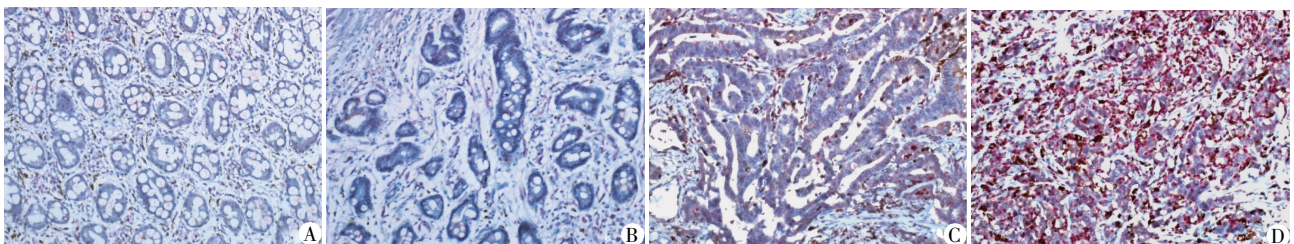
96 例患者的临床病理资料具体见表 1。应用免疫组化方法分析 CD90 在胃癌、癌旁组织及慢性胃炎组织中的表达量。CD90 主要位于细胞膜,在胃癌组织中高表达有 64 例,在癌旁组织和慢性胃炎组织中主要为低表达,癌旁组织有 15 例高表达,慢性胃炎组织有 3 例高表达(图 1)。结果显示 CD90 表达阳性率在胃癌组织中为 66.7%(64/96),在癌旁正常组织中为 15.6%(15/96),在慢性胃炎组织中为 15.0%(3/20),差异有统计学意义($P < 0.01$)。癌旁组织和慢性胃炎组织两组无明显统计学差异($P > 0.05$)。

2.2 CD90 的表达与胃癌患者临床病理的相关性

分析发现 CD90 在胃癌中的表达与肿瘤 TNM 分期有密切相关($P=0.014$, $P_T=0.02$, $P_N=0.017$ 和 $P_M=0.045$)。而 CD90 的表达水平与年龄、性别及病理类型及发病部位无关($P > 0.05$,表 1)。

2.3 CD90 的表达与胃癌患者预后的相关性

Kaplan-Meier 生存分析显示 CD90 低表达的胃癌患者与高表达的患者相比有更长的 5 年总生存



A: CD90 及单核巨噬细胞在癌旁组织阴性表达; B: CD90 在慢性胃炎组织阴性表达; C、D: CD90 及单核巨噬细胞在胃癌不同分期组织中阳性表达。

图 1 CD90 与单核巨噬细胞在胃癌组织、癌旁组织和慢性萎缩性胃炎组织的表达(免疫组化双染, $\times 200$)

Figure 1 The expression of CD90 and monocyte-macrophage in gastric cancer tissues, adjacent tissues and chronic gastritis tissues(immunohistochemical staining, $\times 200$)

表 1 CD90 的表达与临床病理资料的相关性

Table 1 Correlation of CD90 with different clinicopathologic parameters

临床病理参数	例数[n(%)]	CD90表达量		统计量	P 值
		低	高		
年龄(岁)					
< 60	43(44.8)	17	26	$\chi^2=1.348$	0.246
≥60	53(55.2)	15	38		
性别					
男	70(72.9)	22	48	$\chi^2=0.422$	0.516
女	26(27.1)	10	16		
病理类型					
黏液腺癌	12(12.5)	6	6	精确概率法	0.286
乳头状腺癌	6(6.3)	4	2		
印戒细胞癌	21(21.8)	6	15		
高分化腺癌	10(10.4)	2	8		
中分化腺癌	18(18.8)	4	14		
低分化腺癌	29(30.2)	10	19		
部位					
胃底	8(8.3)	3	5	精确概率法	0.682
胃小弯	36(37.5)	14	22		
胃大弯	14(14.6)	5	9		
胃窦部	38(39.6)	10	28		
TNM 分期					
I	16(16.7)	9	7	精确概率法	0.014
II	11(11.5)	5	6		
III	59(61.5)	18	41		
IV	10(10.4)	0	10		
T					
T ₁	17(17.7)	11	6	精确概率法	0.020
T ₂	9(9.4)	1	8		
T ₃	31(32.3)	8	23		
T ₄	39(40.6)	12	27		
N					
N ₀	33(34.4)	18	15	精确概率法	0.017
N ₁	13(13.6)	3	10		
N ₂	23(24.0)	4	19		
N ₃	27(28.1)	7	20		
M					
M ₀	86(89.6)	32	54	$\chi^2=4.033$	0.045
M ₁	10(10.4)	0	10		

率($P < 0.05$, 图 2)。CD90 低表达和高表达患者的 5 年生存率分别是 28.1% 和 17.2%, 并且多因素分析显示 CD90 的表达和临床 TNM 分期都是影响胃癌患者预后的独立因素(表 2)。

3 讨论

我国是胃癌高发区域, 在我国发病率及病死率均居第 2 位, 且新发胃癌患者呈年轻化趋势。随着规范化治疗的普及, 术前肿瘤标志物检查如 CEA、

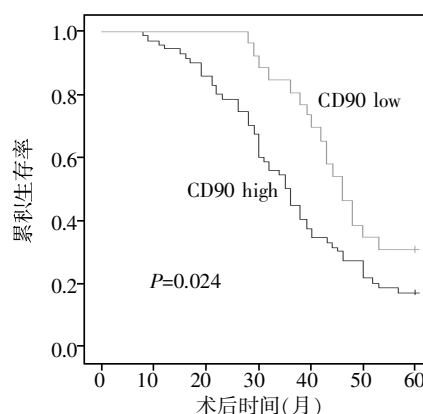


图 2 胃癌患者 CD90 高表达与低表达者 5 年生存曲线比较
Figure 2 The comparison of 5-year survival curve between high and low expression of CD90 in patients with gastric cancer

表 2 临床病理资料的 Cox 多因素生存分析

Table 2 Multivariate analysis of clinicopathologic parameters by Cox regression

影响因素	多因素		P 值
	OR	95%CI	
TNM 分期	2.702	1.853~3.940	<0.01
CD90	0.508	0.297~0.869	0.013

CA199 已广泛用于临床早期检查、诊断和随访, 但效果仍然不理想。因此急需一个新的生物标记物能够预测胃癌患者的预后。

CD90 是一种高度保守的分子量为 25 000~37 000 的糖蛋白, 其最初发现于 20 世纪 60 年代研究小鼠白血病细胞的异种抗血清时, 称为 θ 抗原, 后发现其前体细胞在胸腺中发育成熟, 称为 Thy-1 抗原。研究证明 CD90 是小鼠全 T 细胞的标志, 是小鼠 T 淋巴细胞的同种异体抗原^[12]。人 CD90 于 1980 年在 MOLT-3 T 淋巴细胞株中分离出来^[13]。在脊椎动物的进化过程中, CD90 一直存在, 其基因位于人类 11 号染色体上 q22.3 节段(鼠染色体 9qA5.1 节段)^[14]。CD90 在细胞-细胞、细胞-细胞质之间以及细胞与细胞外基质之间起着重要的调节作用。如在乳腺癌模型中, CD90 通过与肿瘤细胞间和旁分泌网络的相互作用, 促进了肿瘤的侵袭和迁移^[15]。目前 CD90 在胃癌转移侵袭及预后的角色尚不清楚。

本研究通过免疫组化的方法分析 96 例胃癌病理标本和癌旁组织以及 20 例慢性萎缩性胃炎组织的 CD90 表达量。结果显示 CD90 在胃癌组织中的表达量显著高于癌旁组织和慢性胃炎组织, 有显著统计学差异。CD90 高表达与肿瘤进展密切相关, 随着 TNM 分期的增加, CD90 的表达强度也随之增

加。同时进一步发现 CD90 的表达量与肿瘤单核巨噬细胞有密切关系,从图 1 可以看出,肿瘤相关巨噬细胞密集的区域 CD90 的表达量也很高。因此,本文认为 CD90 的高表达可能与肿瘤单核巨噬细胞有密切关系,并可能参与胃癌的进展与转移过程。

研究表明,肿瘤相关的单核细胞以及其来源的巨噬细胞参与了多种肿瘤的发生发展过程^[16-17]。肿瘤相关巨噬细胞诱导肿瘤发生的作用是多方面的,如在紫外线照射下,分泌炎症因子干扰素(IFN- γ)诱导皮肤肿瘤发生^[18]。肿瘤相关巨噬细胞不仅能诱导肿瘤的发生,还能促进肿瘤的迁移、侵袭、血管外渗以及血管生成^[19-21]。在乳腺癌模型中,肿瘤细胞和肿瘤相关巨噬细胞分别分泌 CSF1 和 EGF,并构成一个相互促进的旁分泌网络,从而促进肿瘤的侵袭和迁移^[22]。最近研究表明,上皮-间质转化与肿瘤演进有着极为密切的关系,概括为以下 4 个方面:EMT 与肿瘤细胞运动、肿瘤干细胞、肿瘤细胞的免疫逃逸以及肿瘤细胞抗凋亡。其中,EMT 的发生对于肿瘤细胞的运动有着最为密切的联系,大部分实体肿瘤都是上皮源性的,运动能力较差,EMT 可以增强肿瘤细胞的运动能力,同时细胞间连接消失、周围细胞和基底膜的降解可以为肿瘤细胞进入血管、淋巴管道提供有效通道。EMT 的发生正是与肿瘤微环境密切相关,而肿瘤相关巨噬细胞正是微环境的重要组成部分。Lu 等^[15]研究发现,EMT 上调了 CD90 的表达,CD90 通过结合各自的受体,起到调节血清肿瘤相关物质(TAM)的作用。研究表明,肿瘤相关巨噬细胞调控 EMT,与其形成正反馈循环,促进癌细胞的转移,降低了生存率^[23]。

CD90 可能与胃癌的侵袭与转移有相关性,但具体机制尚需进一步的细胞和动物学实验验证,但从以上获得的证据表明,CD90 有望成为预测胃癌预后的新指标以及生物治疗的新靶点。

[参考文献]

[1] Kamangar, F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents; defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(14): 2137-2150

[2] Majeti R, Becker MW, Tian Q, et al. Dysregulated gene expression networks in human acute myelogenous leukemia stem cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(9): 3396-3401

[3] Saalbach A, Wetzig T, Hausteil UF, et al. Detection of human soluble Thy-1 in serum by ELISA. Fibroblasts and activated endothelial cells are a possible source of soluble Thy-1 in serum[J]. *Cell Tissue Res*, 1999, 298(2): 307-315

[4] Henniker AJ. CD90[J]. *Biol Regul Homeost Agents*, 2001, 15(4): 392-393

[5] Rege TA, Hagood JS. Thy-1 as a regulator of cell-cell and cellmatrix interactions in axon regeneration, apoptosis, adhesion, migration, cancer, and fibrosis[J]. *FASEB J*, 2006, 20(8): 1045-1054

[6] Pirozzi G, Tirino V, Camerlingo R, et al. Prognostic value of cancer stem cells, epithelial-mesenchymal transition and circulating tumor cells in lung cancer[J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(5): 1763-1768

[7] Lama VN, Phan SH. The extrapulmonary origin of fibroblasts: stem/progenitor cells and beyond [J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2006, 3(4): 373-376

[8] Leyton L, Quest AF, Bron C. Thy-1/CD3 coengagement promotes TCR signaling and enhances particularly tyrosine phosphorylation of the raft molecule LAT[J]. *Mol Immunol*, 1999, 36(11-12): 755-768

[9] Yang ZF, Ho DW, Ng MN, et al. Significance of CD90⁺ cancer stem cells in human liver cancer[J]. *Cancer Cell*, 2008, 13(2): 153-166

[10] Yang ZF, Ngai P, Ho DW, et al. Identification of local and circulating cancer stem cells in human liver cancer [J]. *Hepatology*, 2008, 47(3): 919-928

[11] Cui SE, Li HM, Liu DL, et al. Human breast adiposederived stem cells: characterization and differentiation into mammary glandlike epithelial cells promoted by autologous activated platelet-rich plasma [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(2): 605-614

[12] Bradley JE, Ramirez G, Hagood JS. Roles and regulation of Thy-1, a context-dependent modulator of cell phenotype [J]. *Biofactors*, 2009, 35(3): 258-65

[13] Shimazaki C, Sumikuma T, Inaba T. CD34⁺ CD90⁺ cells and late hematopoietic reconstitution after autologous peripheral blood stem cell transplantation[J]. *Leuk Lymphoma*, 2004, 45(4): 661-668

[14] Schanberg LE, Fleenor DE, Kurtzberg J, et al. Isolation and characterization of the genomic human CD7 gene: structural similarity with the murine Thy-1 gene[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88(2): 603-607

[15] Lu H, Clauser KR, Tam WL, et al. A breast cancer stem cell niche supported by juxtacrine signalling from monocytes and macrophages[J]. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(11): 1105-1117