

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.19.015

CD147 和 PTEN 在非小细胞肺癌中的表达及与临床病理因素的相关性分析*

刘曙光¹, 邹振宁², 马红梅¹, 王新根¹, 李静¹, 徐胜美¹

(1. 广东省深圳市福田区人民医院病理科 518033; 2. 广东医学院病理学教研室, 广东湛江 524023)

[摘要] 目的 分析细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(CD147)和第 10 号染色体同源缺失性磷酸酶-张力蛋白(PTEN)在非小细胞肺癌(NSCLC)中的表达,并探讨两者的相关性及其蛋白表达水平与多个临床病理因素的关系。方法 采用免疫组织化学链霉素标记生物素过氧化物酶法(SP法)检测 64 例 NSCLC 患者组织中 CD147 和 PTEN 的表达情况,另选取 10 例患者的癌旁正常肺组织作为对照,并分析 CD147 和 PTEN 表达与临床病理参数的关系。结果 CD147 在 NSCLC 组织中的表达率(75.00%)明显高于癌旁正常肺组织(0.00%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。CD147 蛋白表达与肺癌组织分化程度、有无淋巴结转移及 TNM 分期相关($P < 0.05$)。PTEN 在肺癌组织中的表达率(32.81%)明显低于癌旁正常肺组织(80.00%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。PTEN 表达与 TNM 分期相关($P < 0.05$)。Spearman 相关分析结果显示 NSCLC 组织中 CD147 和 PTEN 表达呈明显负相关($r = -0.442, P < 0.05$)。结论 CD147 和 PTEN 异常表达在 NSCLC 的发生、发展过程中起着重要作用。

[关键词] 非小细胞肺癌;免疫组织化学;细胞外基质金属蛋白酶诱导因子;第 10 号染色体同源缺失性磷酸酶-张力蛋白

[中图分类号] R734

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)19-2638-03

The expression of CD147 and PTEN in non small cell lung cancer and their correlation with clinical pathological factors*

Liu Shuguang¹, Zou Zhenning², Ma Hongmei¹, Wang Xingen¹, Li Jing¹, Xu Shengmei¹

(1. Department of Pathology, the People's Hospital of Futian District, Shenzhen, Guangdong 518033, China;

2. Department of Pathology, Guangdong Medical College, Zhanjiang, Guangdong 524023, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer(CD147)and phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten(PTEN)in non small cell lung cancer(NSCLC),and to explore the correlations between expressions of CD147 and PTEN and those with clinicopathological factors. **Methods** The expressions of CD147 and PTEN proteins in tissues of 64 cases of patients with NSCLC and 10 cases of normal paracancerous tissues were determined by using immunohistochemical SP method. The correlations between expressions of CD147 and PTEN with clinicopathological factors were analysed,as well. **Results** The expression of CD147 in NSCLC tissues(75.00%)was significantly higher than that in paracancerous tissues(0.00%, $P < 0.05$). The expression of CD147 was strongly associated with degrees of differentiation,lymph node metastasis and TNM stage($P < 0.05$). The expression of PTEN in NSCLC tissues(32.81%)was significantly lower than that in paracancerous tissues(80.00%, $P < 0.05$). Expression of PTEN was strongly associated with TNM stage($P < 0.05$). Spearman correlation analysis shown that CD147 expression was negatively correlated with PTEN expression($r = -0.442, P < 0.05$). **Conclusion** The abnormal expression of CD147 and PTEN might play an important role in the malignant progression of NSCLC.

[Key words] non small cell lung cancer; immunohistochemistry; extracellular matrix metalloproteinase inducer; phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten

肺癌是全球范围内肿瘤相关死亡的首位原因,非小细胞肺癌(non small cell lung cancer, NSCLC)约占肺癌总数的 80%^[1]。NSCLC 的发生机制复杂,其进展涉及众多癌基因和抑癌基因。细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(extracellular matrix metalloproteinase inducer, EMMPRIN/CD147)与第 10 号染色体同源缺失性磷酸酶-张力蛋白(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)在很多肿瘤中表达异常,且与肿瘤的进展密切相关。本研究分析了 CD147 和 PTEN 在 NSCLC 的表达情况,并探讨二者的关系及蛋白表达水平与多个临床病理因素的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集广东省深圳市福田区人民医院 2008 年 6 月至 2010 年 8 月因 NSCLC 行肺叶切除的 64 例患者的病理活检标本,患者术前均未接受放疗、化疗或免疫治疗。其中男

46 例,女 18 例;<60 岁者 34 例,≥60 岁者 30 例;有吸烟史者 38 例,无吸烟史者 26 例;鳞状细胞癌 18 例,腺癌 40 例,大细胞癌 6 例;高分化 22 例,中低分化 42 例;有淋巴结转移 25 例,无淋巴结转移 39 例;TNM 分期 I + II 期 40 例,III + IV 期 24 例。另选取同期 10 例患者的癌旁正常肺组织作为对照。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学法 本组试验病理标本均经 10% 中性甲醛固定,常规石蜡包埋,然后行 4 μm 厚切片,每份标本均同时行免疫组织化学染色与苏木素-伊红(HE)染色以判定染色部位。CD147 和 PTEN 表达采用免疫组织化学链霉素标记生物素过氧化物酶法(SP法)检测。CD147 羊抗人多克隆抗体为美国 Santa Cruz 公司产品,鼠抗人 PTEN 单克隆抗体为北京中杉金桥生物技术有限公司产品。以磷酸盐缓冲液(PBS)替代一抗做阴性对照,按试剂盒说明书步骤进行操作。

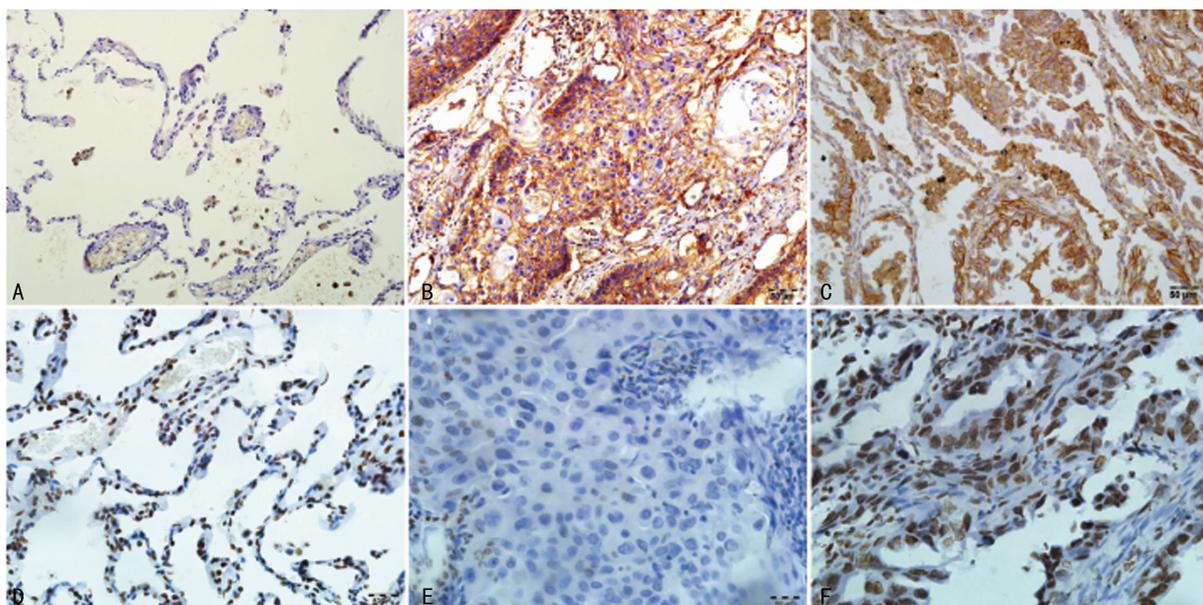
* 基金项目:广东省医学科研基金资助项目(A2015429、A2016114);深圳市福田区卫生公益科研项目(FTWS2015017)。作者简介:刘曙光(1971-),主治医师,博士,主要从事肿瘤病理学研究。

1.2.2 染色结果判断 CD147 为细胞膜或胞浆着色,PTEN 为细胞核或细胞质着色。随机选择 5 个高倍镜视野($\times 400$)进行细胞计数,按染色强度和染色细胞所占百分比对每份切片进行综合评分,染色强度评分标准:细胞未着色判为 0 分,浅黄色判为 1 分,棕黄色判为 2 分,棕褐色判为 3 分。阳性细胞所占百分比评分标准:无阳性细胞判为 0 分, $<5\%$ 判为 1 分, $5\% \sim 50\%$ 判为 2 分, $>50\%$ 判为 3 分。以染色强度与阳性细胞百分比评分之和作为染色结果进行判定,阴性(-):0~3 分;阳性(+):4~6 分。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理与统计分析,CD147、PTEN 阳性表达率和病理因素的相关性采用 χ^2 检验,两蛋白表达相关性采用 Spearman 相关分析,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 CD147 与 PTEN 在肺组织中的表达 CD147 在癌组织中的阳性表达部位以细胞膜为主,细胞质也有少量表达,着色呈黄色或黄褐色,而在正常肺组织中几乎不表达(图 1A、B、C);CD147 在 NSCLC 组织中的表达率(75.00%)明显高于癌旁正常肺组织(0.00%),差异有统计学意义($P<0.05$);CD147 在大细胞癌、鳞状细胞癌和腺癌的表达阳性率依次为 100.00%、83.33%和 67.50%。PTEN 阳性表达部位以细胞核为主,细胞质有少量表达,在正常肺组织中着色呈棕褐色,在癌组织中表达较弱或不表达(图 1D、E、F);PTEN 在 NSCLC 组织中的表达率(32.81%)明显低于癌旁正常肺组织(80.00%),差异有统计学意义($P<0.05$)。



A: 正常肺组织 CD147 呈阴性表达;B: 肺鳞状细胞癌组织 CD147 呈阳性表达;C: 肺腺癌组织 CD147 呈阳性表达;D: 正常肺组织 PTEN 呈阳性表达;E: 肺鳞状细胞癌组织 PTEN 呈阴性表达;F: 肺腺癌组织 PTEN 呈阳性表达。

图 1 CD147 在正常肺组织和肺癌组织中的表达(SP 法, $\times 200$)

2.2 CD147 和 PTEN 表达与 NSCLC 临床病理因素的相关性 CD147 蛋白表达与 NSCLC 组织分化程度、有无淋巴结转移和 TNM 分期有关($P<0.05$),而与患者性别、年龄、吸烟史、组织学分型无明显相关性。PTEN 表达与 TNM 分期有关($P<0.05$),而与患者性别、年龄、吸烟史、NSCLC 组织学分型、分化程度和淋巴结转移无明显相关性。见表 1。

表 1 CD147 和 PTEN 表达与肺癌各项病理因素的相关性(n)

临床病理参数	n	CD147			PTEN		
		阳性	阴性	P	阳性	阴性	P
性别							
男	46	35	11	0.748	17	29	0.259
女	18	13	5		4	14	
年龄(岁)							
<60	34	27	7	0.386	10	24	0.537
≥ 60	30	21	9		11	19	
吸烟史							
有	38	29	9	0.682	14	24	0.407

续表 1 CD147 和 PTEN 表达与肺癌各项病理因素的相关性(n)

临床病理参数	n	CD147			PTEN		
		阳性	阴性	P	阳性	阴性	P
无	26	19	7		7	19	
组织学分型							
鳞状细胞癌	18	15	3	0.145	8	10	0.445
腺癌	40	27	13		11	29	
大细胞癌	6	6	0		2	4	
分化程度							
高分化	22	12	10	0.006	6	16	0.495
中低分化	42	36	6		15	27	
淋巴结转移							
有	25	23	2	0.012	9	16	0.664
无	39	25	14		12	27	
TNM 分期							
I + II	40	26	14	0.017	17	23	0.033
III + IV	24	22	2		4	20	

2.3 CD147 和 PTEN 在 NSCLC 中表达的相关性 64 例患者 NSCLC 组织中, CD147 和 PTEN 同时表达阳性者 10 例 (15.62%), 同时表达阴性者 5 例 (7.81%), 仅 CD147 表达阳性者 38 例 (59.38%), 仅 PTEN 表达阳性者 11 例 (17.19%)。采用 Spearman 相关分析, 结果显示 CD147 与 PTEN 表达呈明显负相关 ($r = -0.442, P < 0.05$)。见表 2。

表 2 CD147 和 PTEN 蛋白表达的关系 (n)

CD147	PTEN		合计
	+	-	
+	10	38	48
-	11	5	16
合计	21	43	64

3 讨 论

随着对肿瘤基因的深入研究, 人们对 NSCLC 的分子发病机制有了进一步的认识, 现已发现多个癌基因和抑癌基因异常与 NSCLC 的发生、发展和预后有关, 如表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、K-ras、P53 等基因。CD147 和 PTEN 作为调控细胞生长、凋亡的关键基因, 其在包括肺癌在内的多种实体瘤中的作用已受到众多研究者的关注。

人类 CD147 的基因定位于 19p13.3, 由 10 个外显子组成, 编码相对分子质量为 $(50 \sim 60) \times 10^3$ 的跨膜糖蛋白。尽管 CD147 广泛分布于体内正常组织, 但其表达水平较低, 而在肺癌、乳腺癌、前列腺癌、肾癌等肿瘤细胞的表面常呈高表达。研究报道, CD147 过表达预示肿瘤患者预后较差, 是乳腺癌^[2]、前列腺癌^[3]和食管鳞状细胞癌^[4]等多种肿瘤独立预后指标。有研究表明, CD147 可增强肺癌 A549 细胞的增殖、迁移和侵袭能力^[5]。本研究结果显示, CD147 蛋白在肺癌癌旁组织中表达水平低, 均呈阴性, 而在肺癌组织中的表达明显升高, 特别是在低分化、有淋巴结转移及 TNM 较高分期 (III + IV 期) 患者的肺癌组织中表达尤为显著, 而在不同性别、不同年龄和有 (无) 吸烟史的 NSCLC 患者间其表达无明显差异。尽管 CD147 在不同组织学分型的表达阳性率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但免疫组织化学显示 CD147 在大细胞癌、鳞状细胞癌和腺癌的表达阳性率依次为 100.0%、83.33% 和 67.50%, 这提示不同组织学类型的肺癌既有联系又有明显的区别, 尤其是在分子遗传学基础方面。例如各型肺癌均有 13q、17q、18q 和 22p 的杂合性丢失; K-ras 基因突变见于大约 40% 的肺腺癌, 而少见与其他类型; 大约 80% 的肺鳞状细胞癌有 EGFR 突变; 大细胞癌具有核型复杂和高度染色体不稳定性, 除了显示 K-ras、TP53 突变和 RB 通路改变的发生频率与其他类型 NSCLC 相同外, 还显示 P16 丢失、cyclinD1 和 cyclinE 过表达频率低。笔者推测, 可能由于上述分子遗传学的不同, 导致 CD147 在不同类型肺癌中表达阳性率不同。此外, 由于肿瘤的异质性, 同一组织学类型各亚型中蛋白的表达也存在差异。考虑到本试验样本量有限 (如肺大细胞癌患者仅 6 例), 难以对 CD147 在 NSCLC 各组织学类型及其亚型中的表达规律做出精确分析, 有待扩大样本量再进一步分析。根据现有结果初步推断, CD147 可能与 NSCLC 的发生有关, 而且过表达的 CD147 基因还可能参与了 NSCLC 的局部侵袭和淋巴结转移。

PTEN 位于 10q23.3, 由 9 个外显子组成。编码相对分子质量为 47×10^3 的蛋白质。PTEN 具有磷酸酯酶的活性, 通过去磷酸化作用抑制磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (phosphati-

dyl inositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/PKB) 信号通路及其下游信号, 从而负性调控细胞周期、增殖、侵袭和迁移, 发挥其抑癌作用。PTEN 基因突变和表达降低可能是肿瘤形成的重要分子事件, 促使细胞生物学功能发生改变, 导致肿瘤的发生^[6-8]。相关研究显示, PTEN 在结直肠癌、口腔癌、乳腺癌、肾癌等多种肿瘤中表达下调。郑程等^[9]应用免疫组织化学定量的方法发现 PTEN 在肺癌中的表达强度明显低于正常肺组织。由于 PTEN 在肺癌各组织学类型表达率较低且同样受样本量限制, 本研究未能对 PTEN 在 NSCLC 各类型及亚型中的表达规律进行总结。本研究初步发现 PTEN 在肺癌的表达率明显低于癌旁正常肺组织, 且 PTEN 蛋白表达与 TNM 分期相关, 与文献^[10-11]报道一致, 说明 PTEN 蛋白失活或表达降低与 NSCLC 的进展有着密切的关系。

本研究还显示, CD147 和 PTEN 表达呈明显负相关, 提示两者表达失调在 NSCLC 的发生、发展中可能具有协同作用。研究发现, CD147 可通过 PI3K/PKB 信号通路调节血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的形成, 促进肿瘤血管的生成和肿瘤生长^[12]。此外, CD147 可刺激肿瘤旁纤维母细胞或肿瘤细胞自身分泌多种基质蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs), 促进细胞外基质降解, 从而促进肿瘤细胞侵袭和转移^[13]。值得注意的是, PTEN 同样通过 PI3K/PKB 信号通路抑制 VEGF 表达及血管生成^[14], 并且 PTEN 还可通过核转录因子-kappa B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 信号通路抑制 MMPs 的表达^[15]。由此可见 CD147、PTEN 涉及共同的信号通路, 共同促进 MMPs 和 VEGF 的产生, 两者产生的协同作用促进了 NSCLC 的发生、发展。

综上所述, CD147 和 PTEN 的异常表达与 NSCLC 的发生、发展有关, 两者可能存在相关的调控机制。本试验不仅为相关信号通路的进一步研究奠定了基础, 而且提示通过对两指标的检测有助于判断 NSCLC 患者的病情进展和疾病分期, 为寻找 NSCLC 的预后指标提供了新方向。

参考文献

- [1] van Zandwijk N, Fong KM. Update in lung cancer: prologue to a modern review series [J]. *Respirology*, 2015, 20 (2): 183-184.
- [2] Zhao S, Ma W, Zhang M, et al. High expression of CD147 and MMP-9 is correlated with poor prognosis of triple-negative breast cancer (TNBC) patients [J]. *Med Oncol*, 2013, 30(1): 335.
- [3] Zhong WD, Liang YX, Lin SX, et al. Expression of CD147 is associated with prostate cancer progression [J]. *Int J Cancer*, 2012, 130(2): 300-308.
- [4] Zhu S, Li Y, Mi L, et al. Clinical impact of HAb18G/CD147 expression in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Dig Dis Sci*, 2011, 56(12): 3569-3576.
- [5] 卓云云, 王洪凯, 沈伟伟, 等. CD147 对肺癌 A549 细胞增殖、迁移和侵袭的影响 [J]. *肿瘤*, 2015, 35(2): 168-175.
- [6] Wang Y, Wang X, Zhang J, et al. MicroRNAs involved in the EGFR/PTEN/AKT pathway in gliomas [J]. *J Neurooncol*, 2012, 106(2): 217-224.
- [7] Ettl T, Baader K, Stiegler C, et al. Loss of PTEN is associated with elevated EGFR and HER2 (下转第 2644 页)

关节置换术中均能提供良好的麻醉效果,而轻比重布比卡因单侧腰麻对心血管系统影响轻微,术后相关并发症少,且更能有效地调控老年髋关节置换术患者的应激反应,是老年患者行髋关节置换术较为理想的麻醉方式。

参考文献

- [1] 郭政. 老年麻醉学与疼痛治疗学[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2002: 35-40.
- [2] Borsook D, George E, Kussman B, et al. Anesthesia and perioperative stress: consequences on neural networks and postoperative behaviors[J]. *Prog Neurobiol*, 2010, 92(4): 601-612.
- [3] Zhu L, Tian C, Li M, et al. The stress response and anesthetic potency of unilateral spinal anesthesia for total hip replacement in geriatric patients[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2014, 27(Suppl 6): S2029-2034.
- [4] 彭明清, 李敏, 李远, 等. 单侧腰麻对老年髋关节置换手术应激反应影响的研究[J]. *重庆医学*, 2012, 41(22): 2258-2259.
- [5] Wu JW, Wong YC. Elective unilateral total knee replacement using continuous femoral nerve blockade versus conventional patient-controlled analgesia: perioperative patient management based on a multidisciplinary pathway[J]. *Hong Kong Med J*, 2014, 20(1): 45-51.
- [6] Moosavi Tekye SM, Alipour M. Comparison of the effects and complications of unilateral spinal anesthesia versus standard spinal anesthesia in lower-limb orthopedic surgery[J]. *Braz J Anesthesiol*, 2014, 64(3): 173-176.
- [7] Aceto P, Perilli V, Lai C, et al. Update on post-traumatic stress syndrome after anesthesia[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2013, 17(13): 1730-1737.
- [8] Tripkovic B. Anesthesia for hip replacement surgery[J].

Med Glas(Zenica), 2012, 9(1): 143-151.

- [9] Kahveci K, Ornek D, Doger C, et al. The effect of anesthesia type on stress hormone response: comparison of general versus epidural anesthesia[J]. *Niger J Clin Pract*, 2014, 17(4): 523-527.
- [10] Day YJ. Anesthesia, analgesia and surgical stress[J]. *Acta Anaesthesiol Taiwan*, 2014, 52(2): 47-48.
- [11] Roth-Isigkeit AK, Schmucker P. Postoperative dissociation of blood levels of cortisol and adrenocorticotropin after coronary artery bypass grafting surgery[J]. *Steroids*, 1997, 62(11): 695-699.
- [12] Kawagoe I, Tajima K, Kanai M, et al. Comparison of intraoperative stress hormones release between propofol-remifentanyl anesthesia and propofol with epidural anesthesia during gynecological surgery[J]. *Masui*, 2011, 60(4): 416-424.
- [13] Borghi B, Wulf H. Advantages of unilateral spinal anaesthesia[J]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*, 2010, 45(3): 182-187.
- [14] 李召亮, 王光磊. 不同麻醉方法对老年髋关节置换术患者术中血气及应激反应的影响[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2012, 33(13): 1710-1712.
- [15] 王玉秀, 宗林, 倪洋林, 等. 小剂量轻比重布比卡因单侧腰麻在老年患者髋关节手术中的应用[J]. *临床麻醉学杂志*, 2013, 29(9): 919-920.
- [16] Chuah KH, Thong CL, Krshnan H, et al. Low dose unilateral spinal anaesthesia for lower limb amputation in critically ill patients[J]. *Med J Malaysia*, 2007, 62(1): 81-82.

(收稿日期: 2016-01-15 修回日期: 2016-03-26)

(上接第 2640 页)

- expression and worse prognosis in salivary gland cancer[J]. *Br J Cancer*, 2012, 106(4): 719-726.
- [8] Gallardo A, Lerma E, Escuin D, et al. Increased signalling of EGFR and IGF1R, and deregulation of PTEN/PI3K/Akt pathway are related with trastuzumab resistance in HER2 breast carcinomas[J]. *Br J Cancer*, 2012, 106(8): 1367-1373.
 - [9] 邝程, 齐文娟, 周军华, 等. PTEN 蛋白在肺癌中表达的量分析及临床意义[J]. *实用医学杂志*, 2011, 27(12): 2111-2114.
 - [10] Ji Y, Zheng M, Ye S, et al. PTEN and Ki67 expression is associated with clinicopathologic features of non-small cell lung cancer[J]. *J Biomed Res*, 2014, 28(6): 462-467.
 - [11] Lim WT, Zhang WH, Miller CR, et al. PTEN and phosphorylated AKT expression and prognosis in early- and late-stage non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Rep*, 2007, 17(4): 853-857.

- [12] Tang Y, Nakada MT, Kesavan P, et al. Extracellular matrix metalloproteinase inducer stimulates tumor angiogenesis by elevating vascular endothelial cell growth factor and matrix metalloproteinases[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(8): 3193-3199.
- [13] Kanekura T, Chen X, Kanzaki T. Basigin(CD147) is expressed on melanoma cells and induces tumor cell invasion by stimulating production of matrix metalloproteinases by fibroblasts[J]. *Int J Cancer*, 2002, 99(4): 520-528.
- [14] 曾今诚. PTEN 信号途径与肿瘤相关研究进展[J]. *广东医学院学报*, 2010, 28(2): 193-196.
- [15] Moon SK, Kim HM, Kim CH. PTEN induces G1 cell cycle arrest and inhibits MMPs expression via the regulation of NF-kappaB and AP-1 in vascular smooth muscle cells[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2004, 421(2): 267-276.

(收稿日期: 2016-01-08 修回日期: 2016-04-26)