

文章编号:1005-6947(2008)11-1140-05

· 简要论著 ·

CD24 在乳腺浸润性导管癌中的表达及临床意义

邹萌萌, 吴诚义

(重庆医科大学附属第一医院 内分泌外科, 重庆 400016)

摘要:目的 研究 CD24 在乳腺浸润性导管癌组织不同模式中的表达及其与临床病理因素的相关性。方法 用 SP 免疫组化染色法检测 13 例乳腺纤维腺瘤及 46 例乳腺浸润性导管癌组织中 CD24 的表达。结果 浸润性乳腺导管癌组织中 CD24 在细胞膜和细胞浆都有表达, 阳性率为 80.43%; 乳腺纤维腺瘤 CD24 仅在细胞膜上局灶性表达, 阳性率为 53.85%。CD24 在浸润性导管癌中的表达浓度明显高于纤维腺瘤 ($P < 0.05$); 并与腋窝淋巴结转移正相关 ($P < 0.05$); CD24 细胞膜表达与雌、孕激素受体阳性表达密切相关 ($P < 0.001$), 而与患者年龄、肿瘤大小、肿瘤分期、分级、Her-2 及 p53 等因素无相关性 ($P > 0.05$)。结论 CD24 高表达参与乳腺癌的侵袭与转移, CD24 细胞膜表达可能与乳腺癌内分泌治疗抵抗作用相关, CD24 可作为乳腺不良预后的判断指标之一。

[中国普通外科杂志, 2008, 17(11): 1140-1144]

关键词: 乳腺肿瘤/病理学; 癌, 导管, 乳腺; CD24; 免疫组织化学

中图分类号: R 737.9

文献标识码: B

随着乳腺癌干细胞 (CD44⁺/CD24^{Low/-}) 分离培养成功, CD24 作为分离指标之一, 在乳腺癌中的作用越来越受到关注。本研究旨在探讨 CD24 蛋白在乳腺浸润性导管癌中的表达模式及其与乳腺浸润性导管癌临床病理特征的关系。

1 材料与方法

1.1 材料来源

(1) 乳腺癌组: 收集我科 2006 年 3 月—2006 年 12 月手术切除乳腺浸润性导管癌标本石蜡块 46 例, 均经病理组织学检查证实。患者均为女性, 年龄 29~78 岁, 中位年龄 51.2 岁。上述标本石蜡块作 4 μm 连续 3 张切片, 苏木素-伊红 (HE) 染色由 2 名有经验的病理医生共同阅片, 根据 2002 年国际抗癌联盟 (UICC) 乳腺癌 TNM 分期的标准^[1], 乳腺癌患者中 I 期 13 例, II 期 27 例, III 期 6 例; 腋窝淋巴结转移者 27 例, 无腋窝淋巴结转移 19 例; ER (+) 21 例, ER (-) 25 例; PR (+) 19 例, PR (-) 27 例; c-erbB2 (+) 29 例, c-erbB2 (-) 17 例; p53 (+) 18 例, p53 (-) 28 例。术前均未接受过放疗、化疗等抗癌

治疗。(2) 对照组: 乳腺纤维腺瘤 13 例, 均为女性, 年龄 20~56 岁, 中位年龄 25.2 岁。

1.2 主要试剂

鼠抗人单克隆抗体 CD24 Ab-2 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司, 抗体稀释比为 1:50)。SP 试剂盒购自武汉晶美公司。

1.3 方法

CD24 抗体免疫组化染色采用 SP 法。主要步骤: 石蜡切片, 常规脱蜡水化, 微波修复抗原 15 min, 3% H₂O₂ 浸泡 10 min, 5% 正常羊血清孵育 20 min, 依次加一抗 (CD24) 4 °C 过夜, 二抗 (生物素标记) 37 °C 30 min, 三抗 (辣根酶标记链霉卵白素) 30 min, DAB 显色, 苏木精复染, 脱水封片。

1.4 结果判定

阳性染色呈棕黄色或是棕褐色颗粒, CD24 阳性细胞多在细胞膜或细胞浆着色, 或是细胞膜细胞浆同时着色。结果判断参照 Biran 等^[2]的评分方法: 光镜下, 每张切片随机取 3 个高倍视野, 以阳性细胞比例的平均值定义为该肿瘤的阳性细胞百分比, 1%~10% 为弱阳性 (+); 11%~50% 为中度阳性 (++) ; ≥51% 为强阳性 (+++)。

1.5 统计学方法

采用 SAS9.1 for Windows 软件进行数据分析, 采用卡方检验或 Fisher 精确检验。以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

收稿日期: 2008-03-31; 修订日期: 2008-07-26。

作者简介: 邹萌萌, 女, 重庆医科大学附属第一医院硕士研究生, 主要从事乳腺癌基础与临床方面的研究。

通讯作者: 吴诚义 E-mail: NFMWK1192@hospital-cqmu.com

2 结果

2.1 CD24 的表达

在13例乳腺纤维腺瘤组织中7例患者CD24表达阳性,均为胞膜染色,细胞浆中没有发现CD24蛋白表达。阳性表达中5例为弱阳性表达,仅有2例为中度表达,无强阳性表达病例;6例为阴性表达。乳腺浸润性导管癌的CD24阳性表达,镜下表现为细胞膜或细胞浆着色,或是

细胞膜和细胞浆同时着色(图1-2)。在46例乳腺浸润性导管癌中检测CD24表达阳性率为80.43%(37/46),其中弱阳性表达6例,中度表达11例,强表达20例。阳性者中细胞膜表达模式72.97%(27/37),细胞浆表达模式64.86%(24/37),细胞浆膜同时表达模式为37.84%(14/37)。CD24在浸润性导管癌与乳腺纤维腺瘤中的表达差异有统计学意义($P = 0.0028$)(表1)。

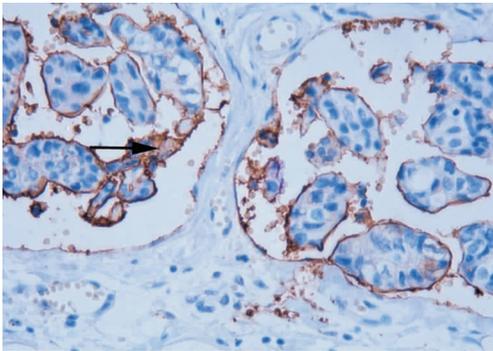


图1 CD24在浸润性导管癌中细胞膜的表达(SP×400)

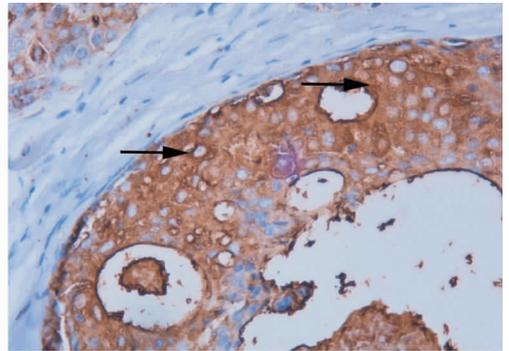


图2 CD24在浸润性导管癌细胞膜、细胞浆同时表达(SP×400)。从左至右的箭头分别代表细胞浆表达和细胞膜表达

表1 浸润性导管癌和纤维腺瘤中CD24的表达

分组	n	CD24 蛋白表达				P
		0	(+)	(++)	(+++)	
乳腺纤维腺瘤	13	6	5	2	0	0.0028
乳腺浸润性导管癌	46	9	6	11	20	

2.2 CD24 表达与临床病理的关系

乳腺浸润性导管癌CD24表达与患者的年

龄、肿瘤大小、肿瘤分期、分级、雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)状况,c-erbB2及p53等因素无关($P > 0.05$)。CD24的细胞膜、细胞浆表达均与乳腺癌腋窝淋巴结转移情况呈正相关性($P < 0.05, r = 0.3907; P < 0.05, r = 0.3459$)。CD24细胞膜表达模式与ER,RP阳性表达呈正相关($P < 0.001, r = 0.6095; P < 0.001, r = 0.5755$),而在CD24胞浆表达模式中未见此种相关性(表2)。

表2 CD24表达与乳腺浸润性导管癌临床病理特征的关系

临床资料	n	CD24 表达		P	CD24 细胞膜表达		P	CD24 细胞浆表达		P
		(-)	(+)		(-)	(+)		(-)	(+)	
乳腺浸润性导管癌	46	9	37(80.43%)		19	27(58.70%)		22	24(52.17%)	
年龄										
≤50	23	6	17(73.91%)	P=0.4591	13	10(43.48%)	P=0.0712	12	11(47.83%)	P=0.7683
>50	23	3	20(86.96%)		6	17(73.91%)		10	13(56.52)	
肿瘤大小										
T ₁	10	2	8(80.00%)		3	7(70.00%)		4	6(60.00%)	
T ₂	31	7	24(77.42%)	P=0.7303	16	15(48.39%)	P=0.0667	16	15(48.39%)	P=0.8193
T ₃	5	0	5(100.00%)		0	5(100.00%)		2	3(60.00%)	

续表2 CD24表达与乳腺浸润性导管癌临床病理特征的关系

临床资料	n	CD24 表达		P	CD24 细胞膜表达		P	CD24 细胞浆表达		P
		(-)	(+)		(-)	(+)		(-)	(+)	
淋巴结转移										
PN ₀	19	7	12(63.16%)	P=0.0222	13	7(36.84%)	P=0.0164	13	6(31.58%)	P=0.0349
pN ₁₊	27	2	25(92.59%)		7	20(74.07%)		9	18(66.67%)	
组织分级										
G ₁	8	1	7(82.5%)	P=0.7585	3	5(62.50%)	P=1	3	5(62.50%)	P=0.6366
G ₂	30	7	23(76.67%)		13	17(56.67%)		14	16(53.33%)	
G ₃	8	1	7(82.50%)		3	5(62.50%)		5	3(37.50%)	
ER										
(+)	21	2	19(90.47%)	P=0.1506	0	21(100.00%)	P<0.001	8	13(61.90%)	P=0.2528
(-)	25	7	18(72.00%)		19	6(24.00%)		14	11(44.00%)	
PR										
(+)	19	2	17(89.47%)	P=0.2704	0	19(100.00%)	P<0.001	6	13(68.42%)	P=0.0797
(-)	27	7	20(74.07%)		19	8(29.63%)		16	11(40.47%)	
c-erbB2										
(+)	29	5	24(82.76%)	P=0.7068	12	17(58.62%)	P=1	14	15(51.72%)	P=1
(-)	17	4	13(76.47%)		7	10(58.82%)		8	9(52.94%)	
P53										
(+)	18	5	13(72.20%)	P=0.2836	7	11(61.11%)	P=1	10	8(44.44%)	P=0.5468
(-)	28	4	24(85.71%)		12	16(57.14%)		12	16(57.14%)	

3 讨论

CD24 位于 6q21 染色体,由 27 个氨基酸组成,具有等位多态现象,分子质为 28 ~ 75 kD。CD24 糖基化高度多变与细胞类型相关,人 CD24 分子具有更多的丝氨酸和苏氨酸残基,这使得 CD24 具有更典型的黏蛋白样结构。作为膜糖蛋白,CD24 的 O-连接糖基化位点位于分子 N 端一侧,并在分子顶端形成致密的葡聚糖链,充当细胞连接位点上分子间相互作用的媒介,介导细胞间,细胞与基质间的黏附^[3]。随着乳腺癌干细胞(CD44⁺/CD24^{Low/-}细胞)的发现,CD44⁺/CD24⁺细胞被认为是乳腺癌祖细胞。干细胞自我更新过程中,生物学特性的变化也是近期研究的热点之一。CD24 蛋白作为乳腺癌干细胞分离培养的标记物之一,在乳腺癌中的发生、转移和预后等方面的研究受到广泛关注。

2005 年 Lim 和 Oh^[4]的研究发现,在正常乳腺上皮中无 CD24 的表达,纤维腺瘤中 CD24 弱表达于导管边缘,而在乳腺恶性肿瘤中 CD24 蛋白大

量表达,且良恶性肿瘤 CD24 表达的差异有统计学意义($P < 0.001$)。Bircan 等^[2]发现,在 13 例非肿瘤乳腺组织中 8 例 CD24 表达于导管上皮的细胞膜,2 例弱表达于细胞浆;25 例原位癌中,23 (92%)例有细胞膜表达,24 (96%)例有细胞浆表达。在细胞浆表达模式中,按照 Nottingham 分类^[2],将原位癌分为 1 ~ 3 级,CD24 表达分别为 3,2,18 例($P = 0.013$);34 例浸润性导管癌中,27 (79.4%)例细胞膜表达,并与肿瘤的分期有关($P = 0.040$, $r = 0.353$),29 (85.3%)例细胞浆表达。上述实验证实 CD24 高表达于乳腺癌。在原位癌 CD24 胞浆表达强度随着肿瘤分级的增加而增多;在浸润性导管癌中仅发现细胞膜染色强度与肿瘤分级有关,细胞浆染色未见此类相关性^[2]。本组实验中,13 例纤维腺瘤组织,7 例 CD24 阳性,均为细胞膜表达,其中弱表达 5 例,中度表达 2 例,无强表达病例;46 例浸润性导管癌中,CD24 阳性表达 37 例(80.43%),弱表达 6 例,中度表达 11 例,强表达 20 例。在 37 例浸润性导管癌 CD24 阳性病例中细胞膜表达 72.97%

(27/37),细胞浆表达64.86%(24/37),细胞膜浆同时表达模式为37.84%(14/37)。其表达率及表达强度均明显高于乳腺纤维腺瘤,差异有统计学意义($P < 0.05$),与文献报道^[2,4]相符。

Kristiansen等^[5]对CD24在乳腺癌中的表达研究显示,CD24表达与淋巴结转移有相关性,未发现与其他临床病理因素相关。本实验结果显示CD24的表达除与患者淋巴结转移有关外,尚与ER,PR的阳性表达有关。但与患者年龄、肿瘤大小、肿瘤分期、分级、c-erbB2及p53等因素无相关性($P > 0.05$)。

P-选择素通过低聚糖与CD24特异性结合。在正常生理情况下,CD24能够介导单核或中性粒细胞黏附于表达P-选择素的活化内皮细胞或血小板,抗P-选择素或抗CD24抗体可阻断这种黏附作用。在病理状态下,CD24介导癌细胞通过P-选择素配体与活化血小板和内皮细胞的结合^[6],其所形成的血小板/肿瘤栓能保护肿瘤细胞不被破坏,后者由循环系统溢出及组织浸润,最终导致肿瘤的转移。Baumann等^[7]运用体内转染的方法,使经sialylLex修饰的CD24作为一个功能性P-选择素配体表达于肿瘤细胞,发现可明显增强P-选择素依赖的肿瘤细胞与内皮细胞黏附以及肿瘤细胞在小鼠肺内迁移滞留和集落形成与增殖。Lim等^[4]在临床研究发现,CD24的高表达增加了胃癌淋巴结转移。研究证实,CD24在卵巢、宫颈鳞状上皮细胞癌、肝内胆管癌以及非小细胞肺癌^[8-10]等多种肿瘤细胞表面高表达,同时患者无病生存期明显缩短。在乳腺癌的研究中CD24高表达于细胞浆和细胞膜,同样使患者无病生存率明显降低^[5,11-12]。Aigner等^[13]发现,在转染了CD24的胰腺癌细胞,其依赖P-选择素与血小板结合的能力明显增强。P-选择素表达于活化的内皮细胞和血小板,能介导细胞克服血流的切应力迁移和附壁。本组实验中腋窝淋巴结转移的患者CD24细胞膜或是细胞浆表达都高于无腋窝淋巴结转移的患者,差异皆有统计学意义($P = 0.0222$)。由此推测CD24/P-选择素黏附途径是高表达CD24乳腺癌患者发生肿瘤细胞淋巴结转移的原因之一^[12],CD24高表达是乳腺癌不良预后危险因素^[5]。

ER和PR的阳性表达是乳腺癌重要的预后因素,对指导乳腺癌内分泌治疗具有重要意义。Yang等^[14]在体外细胞培养实验中证实,CD24蛋白在ER阳性的乳腺癌株MCF7和T47D中表达,

细胞膜上可见强的荧光反应;而在ER阴性的乳腺癌细胞株MDA-MB-231中未见此种荧光反应。表明CD24蛋白过度表达于ER阳性的细胞株而不是ER阴性细胞株,提示CD24可能与ER在原发性乳腺癌中的表达有关。但Sorbello等^[15]的研究发现CD24mRNA水平在18例ER阳性的原发性浸润性乳腺癌中呈低表达。CD24和ER阳性表达相关性的差异可能缘于多种可变因素影响了CD24蛋白的检测结果,包括检测手段标准及分析方法差异较大,检测的人群特性不同等。本实验结果显示ER,PR阳性患者CD24在细胞膜呈高表达,ER,PR阳性表达与CD24细胞膜表达呈正相关($P < 0.001, r = 0.6095; P < 0.001, r = 0.5755$),结果与Yang等^[14]的实验结论一致。相关CD24与ER表达的临床试验中,Kristiansen等^[5]发现CD24阳性患者中,ER阳性($P = 0.0145$)或c-erbB2无高表达($P = 0.0189$)的乳腺癌亚组无瘤生存时间明显缩短。Surowiak等^[11]对70例使用三苯氧胺内分泌治疗的乳腺癌患者进行了回顾性研究,其中43例CD24阳性患者的总生存率及无进展生存率明显低于27例CD24阴性患者($P < 0.0001$)。上述研究提示,CD24高表达的乳腺癌患者,内分泌治疗效果较差,CD24的过度表达可能发生内分泌治疗抵抗。但Surowiak等^[11]应用综合分析对总体实验组对比发现,无化疗的内分泌治疗亚组中,CD24细胞膜表达的患者有较长的总生存期;在内分泌和化疗联合治疗的亚组中,CD24细胞膜表达的患者也有较长的无疾病进展生存期。此结果间接提示CD24细胞膜表达较CD24细胞膜浆表达有较好的预后。本实验中,CD24细胞膜表达与ER,PR阳性表达正相关的特点是否参与内分泌治疗抵抗作用或是预示乳腺癌良好预后,有待进一步深入研究。临床实践中,可根据CD24细胞膜浆表达情况选择乳腺癌的治疗,将其作为内分泌治疗疗效的综合评定因素^[16]。

参考文献:

- [1] Sobin L H, Wittekind C H. TNM classification of malignant tumors [M]. 6th ed. New York: Wiley-Liss, 2002. 131 - 141.
- [2] Bircan S, Kapucuoglu N, Baspinar S, et al. CD24 expression in ductal carcinoma in situ and invasive ductal carcinoma of breast: An immunohistochemistry-based pilot study [J]. Pathology - Research and Practice, 2006, 202 (8): 569 - 576.

- [3] 邹萌萌,吴诚义. CD24 与乳腺癌及其干细胞的研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2008, 5(17): 480 - 483.
- [4] Lim SC, Oh SH. The role of CD24 in various human epithelial neoplasias [J]. *Pathol Res Pract*, 2005, 201(7): 479 - 486.
- [5] Surowiak P, Matema V, Gyorfy B, *et al.* Multivariate analysis of oestrogen receptor alpha, ps2, metallothionein and CD24 expression in invasive breast cancers [J]. *Br J Cancer*, 2006, 95(3): 339 - 346.
- [6] Choi YL, Kim SH, Shin YK, *et al.* Cytoplasmic CD24 expression in advanced ovarian serous borderline tumors [J]. *Gynecol Oncol*, 2005, 97(2): 379 - 386.
- [7] Kwon GY, Ha H, Ahn G. *et al.* Role of CD24 protein in predicting metastatic potential of uterine cervical squamous cell carcinoma in patients treated with radiotherapy [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2007, 69(4): 1150 - 1156.
- [8] Su MC, Hsu C, Kao HL, *et al.* CD24 expression is a prognostic factor in intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2006, 235(1): 34 - 39.
- [9] Kristiansen G, Sammar M, Altevogt P, *et al.* Tumour biological aspects of CD24, a mucin-like adhesion molecule [J]. *J Mol Histol*, 2004, 35(3): 255 - 262.
- [10] Kristiansen G, Winzer KJ, Mayordomo E, *et al.* CD24 expression is a new prognostic marker in breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(13): 4906 - 4913.
- [11] Aigner S, Fogel M, Weber E, *et al.* CD24, a mucin-type glycoprotein, is a ligand for P-selectin on human tumor cells [J]. *Blood*, 1997, 89(9): 3385 - 3395.
- [12] Friederichs J, Zeler Y, Hafezi-Moghadam A, *et al.* The CD24/P-selectin binding pathway initiates lung arrest of human A125 adenocarcinoma cells [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(23): 6714 - 6722.
- [13] Baumann P, Cremers N, Kroese F, *et al.* CD24 Expression causes the acquisition of multiple cellular properties associated with tumor growth and metastasis [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(23): 10783 - 10793.
- [14] Yang GP, Ross DT, Kuang WW, *et al.* Combining SSH and cDNA microarrays for rapid identification of differentially expressed genes [J]. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(6): 1517 - 1523.
- [15] Sorbello V, Fuso L, Sfiligoi C, *et al.* Quantitative real-time RT-PCR analysis of eight novel estrogen-regulated genes in breast cancer [J]. *Int J Biol Markers*, 2003, 18(2): 123 - 129.
- [16] Surowiak P, Materna V, Paluchowski P, *et al.* CD24 expression is specific for tamoxifen-resistant ductal breast cancer cases [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(1B): 629 - 634.

欢迎订阅 2009 年《中南大学学报(医学版)》

《中南大学学报(医学版)》原名《湖南医科大学学报》,创刊于1958年,为教育部主管、中南大学主办的医药卫生类综合性学术期刊。是中国科技论文统计源期刊、中国生物医学核心期刊及中国期刊方阵的“双效”期刊;多次被国家和省部级新闻和出版部门评为优秀科技期刊,2008年又被评为“第2届中国高校精品科技期刊”;并被美国医学文献分析和联机检索系统(MEDLINE)及其《医学索引》(IM),荷兰《医学文摘》(EM),美国《化学文摘》(CA),俄罗斯《文摘杂志》(AJ, VINITI),中国科学引文数据库(核心库)(CSCD)等国内外多家重要数据库和权威文摘期刊收录。

2008年本刊为月刊,国际标准开本(A4幅面),每期96页,每月月末出版。内芯采用进口亚光铜版纸印刷,图片彩色印刷,封面美观大方。定价10.0元/册,全年120元。国内外公开发行。国内统一刊号:CN43-1427/R,国际标准刊号:ISSN 1672-7347;国内邮发代号:42-10,国外邮发代号:BM422;欢迎新老用户向当地邮局(所)订阅,漏订或需增订者也可直接与本刊编辑部联系订阅。 欢迎投稿 欢迎订阅 地址:湖南省长沙市湘雅路110号湘雅医学院75号信箱 邮编:410078 电话:0731-4805495;0731-4805496 传真:0731-4804351 E-mail:xyxb2005@vip.163.com;xyxb2005@126.com Http://xybx.xysm.net