

HER4 及 CD44 在黑色素瘤患者中的表达及临床意义

马丹宇, 沈娟娟, 陈忠华*

(福州总医院肿瘤放射治疗中心, 福建 福州 350025)

摘要: 探索黑色素瘤组织中人体表皮生长因子 4(HER4)、群集分化 44(CD44) 的表达情况及其临床病理学功能, 并进一步探讨 HER4 和 CD44 对患者预后的影响。选取本院经病理确诊并收治的共 93 例黑色素瘤患者采集肿瘤组织标本, 并应用免疫组织化学方法检测病理组织中 HER4 及 CD44 表达的情况。研究结果发现 HER4 在黑色素瘤组织中过度表达, 并且与患者预后有良好的关系。这提示通过干预 HER4 的过度表达可能成为延缓或控制黑色素瘤病程发展的可行方法。

关键词: 黑色素瘤; 人体表皮生长因子 4; 群集分化 44; 预后

中图分类号: R739.5 文献标识码: A

Expression and clinical significance of HER4 and CD44 in patients with melanoma

MA Danyu, SHEN Juanjuan, CHENG Zhonghua

(Tumor Radiotherapy Center, Fuzhou General Hospital, Fuzhou 350025, Fujian, China)

Abstract: To investigate the expression of human epidermal growth factor 4(HER4), cluster of differentiation 44(CD44) and its clinicopathological function in melanoma and its influence on the prognosis of the patients. a total of 93 cases of melanoma were collected from our hospital, which were confirmed by pathology and admitted to our hospital. The samples of tumor tissues were collected and detected by immunohistochemical method for HER4 and CD4 in pathological tissues. The results of this study showed that there is a over expression of HER4 in the tissues of melanoma and is closely related to the prognosis of the patients. It suggests that reducing the overexpression of HER4 may be a feasible method to delay or control the progression of melanoma.

Key words: melanoma; HER4; CD44; prognosis

黑色素瘤通常起源于上皮基底层黑色素细胞的恶性肿瘤, 其恶性程度较高, 极易发生淋巴或血液转移, 因此预后通常较差, 是危害性较为严重的恶性肿瘤之一^[1-4]。人体表皮生长因子 4(Human epidermal growth factor 4, HER4) 是一种跨膜受体蛋白, 在与配体结合后通过自身磷酸化参与细胞的信号传递, 信号在细胞内通过激酶级联传递以调节细胞生长及分裂。有多项研究证实, 在肿瘤组织中 HER4 存在过度表达, 并且与多种肿瘤疾病的预后有着较为密切关联^[5-8]。群集分化 44(cluster of differentiation 44, CD44) 属于糖基化的细胞表面黏附分子家族, 作为一种跨膜受体蛋白广泛表达与上皮细胞及间质细胞。近年来有多项研究相继确认

CD44 可作为多种恶性肿瘤的干细胞标志物^[9-11]。本次研究目的在于探讨黑色素瘤组织中 HER4、CD44 的表达情况及其与黑色素瘤患者预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对 2006 年 1 月至 2017 年 12 月于本院经病理确诊并收治的共 93 例黑色素瘤患者采集肿瘤组织标本, 在这些患者中有 59 例男性以及 34 名女性。年龄范围在 30 岁~84 岁之间, 中位年龄 56 岁。所有病人依据 AJCC8 版 TNM 分期^[12], 其中 I 期 23 例、II 期 32 例、III 期 28 例及 IV 期 10 例。在 2006~2017 年的持续随访过程中共死亡 84 例, 存活 9 例。

1.2 研究方法

1.2.1 免疫组化染色 采用 3μm 厚石蜡切片按照

使用说明书进行染色。首先应用热诱导抗原表位修复法修复抗原,采用 10mmol/L 柠檬酸盐缓冲液 (pH=6) 蒸汽熏蒸玻片 30 分钟。随后加入 1:400 稀释并在 4℃ 的温度条件下孵育过夜的抗 CD44 抗体及 1:300 稀释并在 4℃ 的温度条件下孵育过夜的抗 HER4 抗体。然后加入 37℃ 孵育的 EnVision 第二抗体并用 3-3' 二氨基联苯胺显色,随后应用苏木紫及伊红复染。

染色切片的读片工作由两名具有 10 年以上病理科工作经验的执业医师对比未使用原抗体的阴性对照进行,并独立评估阳性肿瘤细胞的相对数量 (范围:0~100%) 和染色强度 (范围:0~3 分:0 分=无染色,1 分=弱染色,2 分=中度染色,3 分=强染色)。本次试验所用抗 CD44 抗体由赛默飞公司生产 (克隆号:PC100);抗 HER4 抗体由 Gene 公司生产 (克隆号:EP2880Y);EnVision 第二抗体由 Dako 公司生产。

1.2.2 统计学处理 所有数据均采用 SPSS19.0 进行统计分析。采用 χ^2 检验分析分类资料组间差异,

定量资料则根据数据分布特征采用参数或非参的方法分析组间差异。用简单 kappa 系数描述 HER4 及 CD44 表达的相关性。进一步采用 Log-Rank 检验比较不同亚组患者生存时间的差异并绘制 K-M 生存曲线。应用 COX 模型探索 CD44 及 HER4 表达对患者预后的影响。检验水准 α 取值为 0.05,当 $P < 0.05$ 时认为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 性别、年龄与 HER4 及 CD44 表达关系 93 人黑色素瘤组织中 HER4 表达阳性人数为 73 人,比例为 78.49%;CD44 表达阳性人数为 65 人,比例为 68.89%。从图 1 中可以看出 HER4 染色主要在细胞质而 CD44 染色主要在细胞膜。从表 1 中可以看出,HER4 及 CD44 的表达在不同性别、不同年龄及不同 TNM 分期等基线特征间差异没有统计学意义 ($P > 0.05$),可见 HER4 及 CD44 的表达与年龄、性别及 TNM 分期间不存在相关性。

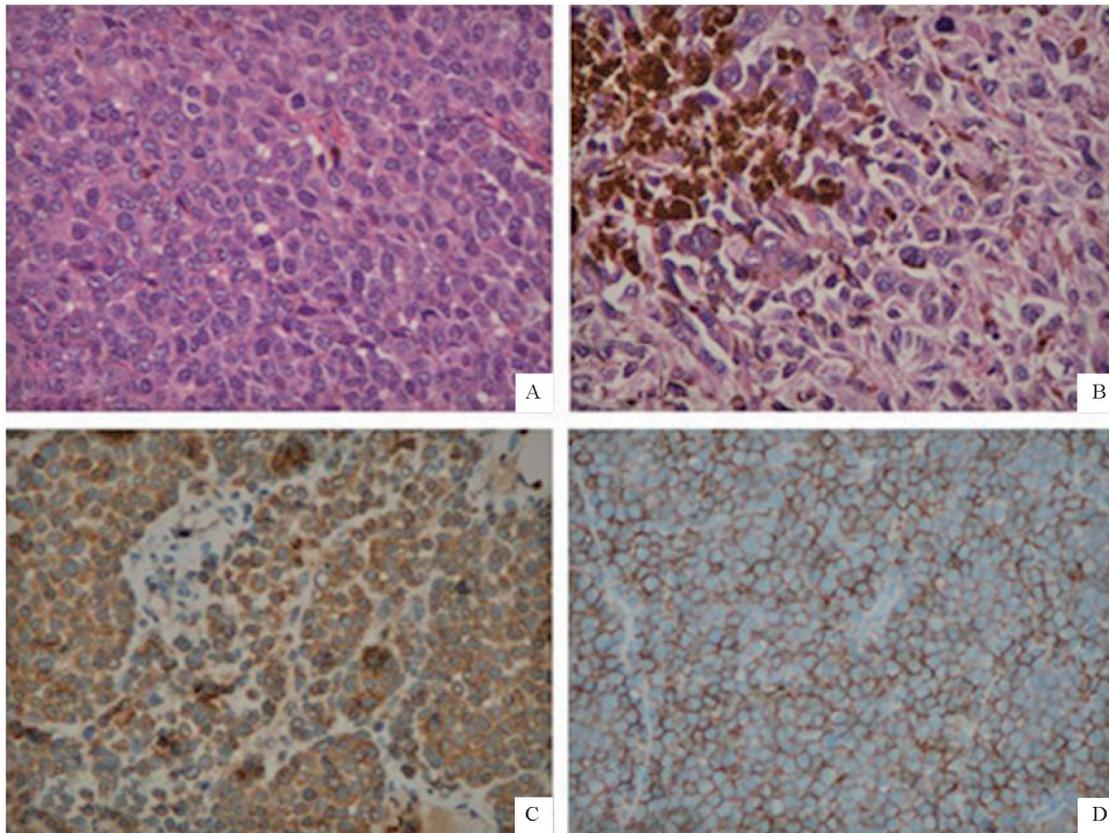


图 1 HER4 及 CD44 在黑色素瘤组织中的表达情况 (400×)
A: 未经 PE 染色; B: PE 染色; C: HER4 表达集中在细胞质; D: CD44 表达集中在细胞膜

表1 性别、不同年龄及不同 TNM 分期与 HER4 及 CD44 表达差异(例,%)

	n	HER4		χ^2	P	CD44		χ^2	P
		阳性	阴性			阳性	阴性		
总数	93	73(78.49)	20(21.51)			65(68.89)	28(31.11)		
性别									
男	59	48(81.36)	11(18.64)	0.7827	0.3763	44(74.58)	15(25.42)	1.6825	0.1946
女	34	25(73.53)	9(26.47)			21(61.76)	13(38.24)		
年龄									
≤60	55	42(76.36)	13(23.64)	0.3621	0.5473	38(69.09)	17(30.91)	0.0411	0.8393
>60	38	31(81.58)	7(18.42)			27(71.05)	11(28.95)		
分期									
I期	23	19(82.61)	4(17.39)	2.0356	0.1536	16(84.21)	7(15.79)	0.0859	0.7695
II期	32	26(81.25)	6(18.75)			24(75.00)	8(25.00)		
III期	28	21(75.00)	7(25.00)			19(67.86)	9(32.14)		
IV期	10	7(70.00)	3(30.00)			6(60.00)	4(40.00)		

2.2 HER4 表达与 CD44 表达间的关系 从表 2 中可以看出,93 个患者中同时存在 HER4 表达阳性及 CD44 表达阳性的研究对象共有 58 人占全部研究对象的 62.37%;有 HER4 表达而没有 CD44 表达的研究对象共有 7 人,占全部研究对象的 7.53%;有 CD44 表达而没有 HER4 表达的研究对象共有 15 人,共占全部研究对象的 16.13%;既无 HER4 表达也无 CD44 表达的研究对象共 13 人,占全部研究对象的 13.98%。McNemar 检验结果显示 CD44 表达与 HER4 有较强的相关关系(简单 Kappa 系数 = 0.4094, $P < 0.05$)。

表2 HER4 表达与 CD44 表达关系(例,%)

HER4	CD44		Kappa 系数	P 值
	+	-		
+	59(63.44)	6(6.45)	0.4094	0.0495
-	15(16.13)	13(13.98)		

2.3 HER4 表达及 CD44 表达对患者生存时间的影响 HER4 表达阳性患者中位生存时间为 15.65 个月,其三年存活率为 9.78%;HER4 表达阴性患者中位生存时间为 46.62 个月,其三年存活率为 58.06%;Log-Rank 检验结果提示 HER4 表达阳性患者与 HER4 表达阴性患者生存时间的差异有统计学意义($P < 0.01$)。CD44 表达阳性患者中位生存时间为 21.63 个月,其三年存活率为 29.03%;CD44 表达阴性患者中位生存时间为 24.37 个月,其三年存活率为 33.33%;Log-Rank 检验结果提示 CD44 表达阳性患者与 CD44 表达阴性患者生存时间的差异没有统计学意义($P > 0.05$)。不同 HER4 及 CD44 表达情况患者生存曲线如图 2 所示。

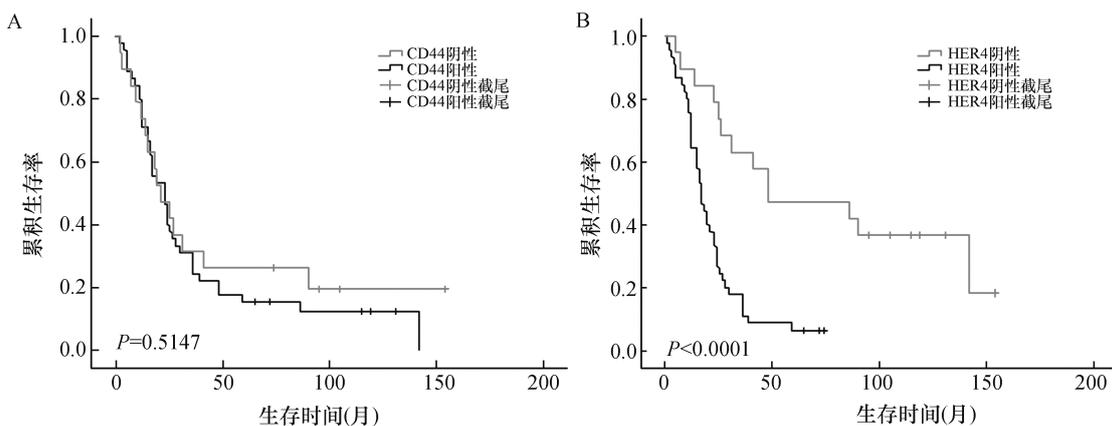


图2 不同 HER4 及 CD44 表达情况患者 K-M 生存曲线

A 为 CD44 表达阳性患者及 CD44 表达阴性患者的 K-M 生存曲线,Log-Rank 检验提示两组患者生存时间的差异没有统计学意义($P = 0.5147$);
B 为 HER4 表达阳性患者及 HER4 表达阴性患者的 K-M 生存曲线,Log-Rank 检验提示两组患者生存时间的差异有统计学意义($P < 0.0001$)

应用 COX 模型对不同 HER4 及 CD44 表达情况患者进行影响因素分析,结果如表 3 所示,可以看出 HER4 阳性表达是影响患者愈后的危险因素,其风险比为 4.12($P < 0.01$)。CD44 阳性表达的风险比为 1.63($P = 0.1041$),虽然统计学角度无法确定其为患者预后的危险因素,但结合 K-M 曲线不难看出 CD44 阳性表达对患者预后有一定提示作用。

表 3 HER4 表达及 CD44 表达对患者生存时间的影响

因素	HR 估计值	95%CI	χ^2	P
HER4	4.12	2.16~11.61	22.3741	0.0001
CD44	1.63	0.5~4.31	6.4762	0.1041

3 讨 论

正常情况下 HER4 的表达多见于骨骼肌、平滑肌细胞、脑组织、肺、胃黏膜等组织中,并且呈低水平或阴性表达。而在恶性肿瘤中 HER4 表达明显高于正常组织及良性肿瘤组织^[13]。HER4 的过度表达可能与细胞的凋亡、浸润及远端转移密切相关^[5, 14]。本研究结果发现,93 例患者中 HER4 的表达阳性率高达 78.49%。在排除了性别、年龄与 HER4 表达可能存在的相关性的情况下,HER4 表达可能与黑色素瘤的发生有密切的关联。有研究认为在一些肿瘤中 HER4 存在过度表达并且对肿瘤进展有促进的作用,进而缩短患者的生存期^[15],本研究得到了相似的结论,HER4 在黑色素瘤组织表达增高,并主要分布在细胞质。

CD44 是一种单链跨膜糖蛋白,作为细胞表面黏着分子广泛分布于细胞膜。介导多种生理及病理进程,特别是恶性肿瘤细胞浸润及转移,常与 CD44 分子密切相关^[9]。有研究提示 CD44 可以作为癌症病人的预后因子来评价患者预后。本次研究将 CD44 的表达作为疾病预后的指标并未发现其有统计学意义($P > 0.05$),该结果是否与样本量有关还需进一步研究。但 HER4 高表达的恶性黑色素瘤患者的生存率下降。

综上所述,HER4 过度表达在黑色素瘤的发生、

发展中起着重要的作用并且与患者预后有密切的关系。这提示可以通过干预减少 HER4 的过度表达可能成为延缓或控制黑色素瘤病程发展的可行方法。

参考文献:

- [1] 魏培,刘钊鸿,武姪姪,等.CD44 中和抗体对黑色素瘤 B16 细胞生长及细胞糖酵解的影响[J].医学研究生学报,2017,30(5):459-63.
- [2] 王艳明,刘瑛,阎新燕,等.甘草查尔酮 A 抑制小鼠黑色素瘤 B16F10 细胞增殖机制研究[J].中国药理学通报,2015,31(7):967-72.
- [3] 申付文,叶立,刘敬阁,等.黑色素瘤小分子靶向药物研究进展[J].中国新药杂志,2015,24(3):281-7.
- [4] 甄振华,申传厚.转移性恶性黑色素瘤分子靶向及免疫治疗进展[J].中国肿瘤,2014,23(10):854-9.
- [5] 张玲,刘标,俞士尤,等.HER4 在乳腺癌中的表达及临床意义[J].南京医科大学学报(自然科学版),2011,31(8):1196-9.
- [6] 郭卫刚,葛棣,逢旭光,等.HER4 在人食管癌组织中的表达及其临床意义[J].肿瘤,2009,29(7):673-6.
- [7] 陈兆年,陈稣,虞亦鸣,等.erbB4/HER4 在原发性肝癌的表达研究[J].中国中西医结合外科杂志,2009,15(1):13-6.
- [8] 徐永华,江万里,邓在春,等.erbB4/HER4 在非小细胞肺癌中的表达研究[J].中国肺癌杂志,2002(3):177-9.
- [9] 李威,姜波健,俞继卫.CD44 与 CD133 蛋白在胃癌组织中的表达及其临床意义[J].中国普外基础与临床杂志,2014,21(1):21-8.
- [10] 兰海涛,曲超,刘显波,等.重楼皂苷对兔眼角膜 B16 恶性黑色素瘤细胞的抗肿瘤活性[J].实用癌症杂志,2013,28(5):460-1.
- [11] 杨莉,吴小华,张志毅,等.原发性宫颈及阴道恶性黑色素瘤 51 例的临床分析[J].中国癌症杂志,2013,23(7):540-6.
- [12] 王爽,李仕晟,谢鼎华,等.CD44 调控鼻咽癌上皮-间质转化及转移的实验研究[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2013,27(5):250-4.
- [13] 胡居根,虞亦鸣,谭云山,等.第四人体表皮生长因子受体在子宫内膜腺癌组织中的表达[J].肿瘤基础与临床,2010,23(3):214-5.
- [14] 杨溪,郭伟,张陈平.头颈部黏膜恶性黑色素瘤的临床分期[J].国际口腔医学杂志,2010,37(2):192-5.
- [15] 杨慧玲,师秀琴,吕新全,等.维吾尔族和汉族乳腺浸润性导管癌中 CD44v5、HER4 表达的差异[J].中国老年学杂志,2006(5):589-90.

(本文编辑:秦旭平)