

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.04.008

文章编号: 1005-8982(2016)04-0039-05

临床论著

## CD24 蛋白表达在术后放疗宫颈癌患者预后中的意义

周发为<sup>1</sup>, 杨年红<sup>2</sup>, 游文忠<sup>3</sup>

(湖北民族学院附属民大医院 1.检验科, 2.妇科, 3.病理科, 湖北 恩施 445000)

**摘要:目的** 评价 CD24 蛋白表达在术后放疗宫颈癌患者中的预后意义。**方法** 免疫组织化学法检测 140 例术后放疗的宫颈癌患者癌组织中 CD24 蛋白的表达情况。**结果** 59 例(42%)宫颈癌患者中 CD24 蛋白表达阳性, 单因素分析表明, CD24 阳性表达与局部区域无失败生存率( $P=0.022$ )、无远处转移生存率( $P=0.000$ )和总生存率( $P=0.005$ )呈显著相关性。多元回归分析发现 CD24 阳性表达与无远处转移生存率( $P=0.025$ )和总生存率( $P=0.045$ )呈显著相关性。单独 RT 组 CD24 表达与 LRFFS( $P=0.020$ )呈显著相关性, CRT 组 CD24 表达与 DMFS( $P=0.000$ )呈显著相关性。**结论** CD24 表达是术后放疗宫颈癌患者的独立预后标志物, 且在术后辅助 CRT 和单独 RT 治疗中预后意义不同。制定宫颈癌患者个性化治疗方案需参考患者 CD24 表达情况。

**关键词:** 宫颈癌; 放疗; 化疗; 手术; CD24

**中图分类号:** R737.33

**文献标识码:** A

### Prognostic significance of CD24 protein expression in cervical carcinoma patients treated with adjuvant radiotherapy after radical hysterectomy

Fa-wei Zhou<sup>1</sup>, Nian-hong Yang<sup>2</sup>, Wen-zhong You<sup>3</sup>

(1.Department of Clinical Laboratory, 2.Department of Obstetrics and Gynecology, 3.Department of Pathology, Minda Hospital, Hubei Institute for Nationalities, Enshi, Hubei 445000, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the prognostic significance of CD24 protein overexpression in patients treated with post-operative radiotherapy (RT) after surgery. **Methods** We determined the CD24 expression status of 140 patients with cervical carcinoma treated with RT alone or with chemoradiotherapy (CRT) after radical hysterectomy procedures. **Results** CD24 expression was detected in 59 patients (42 %) and was significantly associated with locoregional failure-free survival (LRFFS) ( $P = 0.022$ ), distant metastasis-free survival (DMFS) ( $P = 0.000$ ), and overall survival (OS) ( $P = 0.005$ ). In the multivariate analysis, CD24 positivity was also significantly associated with DMFS ( $P = 0.025$ ) and OS ( $P = 0.045$ ). CD24 expression was associated with DMFS ( $P = 0.000$ ) in the CRT group. However, CD24 expression was associated with LRFFS ( $P = 0.020$ ) in the RT alone group. **Conclusions** CD24 expression is an independent prognostic marker in patients with cervical squamous cell carcinoma, even with post-hysterectomy adjuvant treatment. This study revealed a different prognostic role for CD24 expression in adjuvant CRT and RT alone treatment groups after surgery. New therapeutic strategies targeting CD24 expression stratified by subgroups might have important clinical implications.

**Keywords:** cervical carcinoma; radiotherapy; chemotherapy; surgery; CD24

宫颈癌是全球女性第 2 大最常见的恶性肿瘤, 其治疗方案主要是外科切除结合放疗(radiotherapy, RT)和放化疗(chemoradiotherapy, CRT)<sup>[1]</sup>。尽管子宫切除术能够控制盆腔疾病进展, 提高患者生存率, 但

仍有难以治愈的病例, 出现局部复发和或远处转移, 导致患者死亡。因此, 早期筛选难以治愈宫颈癌患者, 并进行针对性处理, 这对宫颈癌治疗具有十分重要的意义。p53 状态、血管内皮生长因子表达、人乳

收稿日期: 2015-10-12

[通信作者] 游文忠, E-mail: 744377523@qq.com, Tel: 18907263868

头状瘤病毒 DNA 状态、c-Met/HGF 受体过表达、环氧化酶 -2 过表达、磷酸化 AKT 表达、肿瘤内氧化 (tumor oxygenation) 状态和低氧诱导因子 1 $\alpha$  等因素均与宫颈癌预后密切相关<sup>[2-4]</sup>。

CD24 最初被认为是人体内连接糖基化磷脂酰肌醇的 B 细胞相关抗原,也被用作 B 细胞和胸腺细胞标志物。随后研究发现 CD24 在卵巢癌、食道癌、结肠癌、胆管癌、肺癌、胃癌、肾癌、膀胱癌、子宫内膜癌和乳腺癌等多种人类癌症中异常表达,且与患者生存率较短相关<sup>[5-6]</sup>。Kwon 等<sup>[7]</sup>研究表明,CD24 蛋白表达是单独接受根治性放疗的宫颈癌鳞状细胞癌(cervical squamous cell carcinoma, CSCC)患者无远处转移生存率 (distant metastasis-free survival, DMFS)的独立预后因子。但目前尚未见 CD24 蛋白表达在术后放疗的宫颈癌患者预后中意义的研究报道。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

2005 年 1 月 -2012 年 12 月间在湖北民族学院附属民大医院住院治疗的早期宫颈癌患者 177 例。患者行根治性子宫切除术后进行 RT 或 CRT 治疗。37 例患者石蜡块因保管不善而不能使用,其余 140 例患者组织均被纳入本次研究。所有患者均行根治性子宫切除术及双侧盆腔淋巴结清扫术。术后 54 例患者(39%)接受 CRT,86 例患者(61%)接受 RT 治疗(见表 1)。

### 1.2 术后治疗

子宫切除术后,所有患者均接受全盆腔放疗(whole pelvic radiotherapy, WpRT)。WpRT 采用盆腔四野(前/后及左/右野)盒式照射,共照射 25~28 次,总剂量 45.0~50.4 Gy。盆腔淋巴结转移、切缘癌阳性、宫旁受累和肿块直径大的患者接受辅助化疗。54 例接受 CRT 的患者中,15 例在 RT 过程中每周服用顺铂,连续 6 个疗程;17 例每 3 周服用氟尿嘧啶和顺铂,持续 3 个疗程;22 例在 RT 治疗前每 4 周服用氟尿嘧啶加环磷酰胺,持续 3 个疗程。

### 1.3 免疫组织化学

CD24 鼠抗人单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司,免疫组织化学 Sp 试剂盒和 DAB 显色剂购自北京中杉金桥生物技术有限公司。采用辣根-过氧化酶连接(Sp 二步法)法对 140 例宫颈癌组织进行免疫组织化学检测,DAB 免疫组织化学显色试剂盒

表 1 子宫切除术后 CRT 治疗组和 RT 治疗组患者一般资料

患者临床特征	子宫切除术后辅助治疗类型		P 值
	CRT(n=54)	RT(n=86)	
年龄/(岁, $\bar{x}\pm s$ )	47.1 $\pm$ 12.0	53.2 $\pm$ 11.3	0.002
肿瘤直径/(cm, $\bar{x}\pm s$ )	4.2 $\pm$ 1.7	3.7 $\pm$ 1.4	0.372
FIGO 分期 例(%)			
IB	36(67)	69(80)	0.492
IIA	18(33)	17(20)	
宫旁受累 例(%)			
阴性	43(80)	81(94)	0.008
阳性	11(20)	5(6)	
切除边缘 例(%)			
阴性	50(93)	79(92)	0.284
阳性	4(7)	7(8)	
淋巴管浸润 例(%)			
阴性	18(33)	56(65)	0.001
阳性	36(67)	30(35)	
盆腔淋巴结转移 例(%)			
阴性	18(33)	70(81)	0.001
阳性	36(67)	16(19)	

显色。CD24 一抗稀释浓度为 1:50,以 PBS 代替 1 抗作为阴性对照,以已知阳性宫颈癌切片为阳性对照。以细胞质出现棕黄色颗粒为阳性细胞。按照细胞着色强度和阳性细胞数建立评定方法,随机计数 5 个高倍视野,每例标本至少评价 1 000 个细胞,染色强度:轻度着色 1 分,中度着色 2 分,强染色 3 分,阳性细胞 <10%为 1 分;10% $\leq$ 阳性细胞 <50%为 2 分;50% $\leq$ 阳性细胞 <80%为 3 分; $\geq$ 80%为 4 分。将染色强度与阳性细胞数比率相乘得到每个病例染色的总分,总分 1~3 分为阴性,总分 4~12 分为阳性。

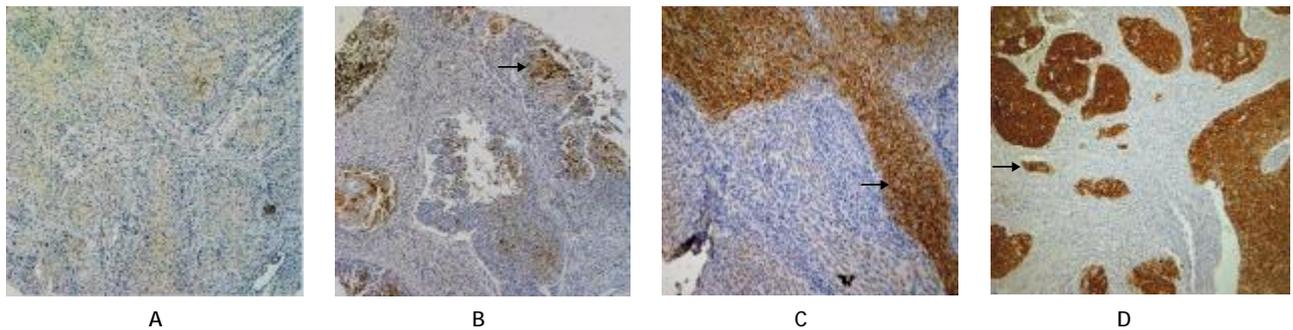
### 1.4 统计学方法

使用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析, $\chi^2$  检验或 Fisher 精确检验计算统计显著性。数据用均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,独立样本 t 检验或 Mann-WhitneyU 检验比较组间平均值差异。局部复发是指局部或区域性复发和/或因肿瘤而死亡。Kaplan-Meier 法预测生存率,并使用时序检验法对数据进行比较。所有统计均为双侧检验, $P<0.05$  为有差异统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 免疫组织化学结果

140 例宫颈癌患者中,59 例(42%)患者 CD24 阳



A: 阴性表达;B: 阳性表达;C: 中等阳性表达;D: 弥漫强阳性表达;黑色箭头所指为 CD24 阳性表达

图 1 CD24 蛋白在宫颈癌组织中的表达 (×100)

性表达(图 1)。CD24 表达与宫旁受累( $P=0.022$ )及盆腔淋巴结转移( $P=0.031$ )显著相关,而与患者年龄( $P=0.473$ ),肿瘤直径( $P=0.582$ ),FIGO 分期( $P=0.367$ ),切缘受累( $P=0.266$ )或淋巴管浸润( $P=0.315$ )无相关性(见表 2)。

2.2 患者生存率

随访期间共 16 例患者死亡(平均 84.1 月;范围 14~161 个月)。9 例(6%)患者局部复发,20 例患者远处转移(14%)。10 年局部区域无失败生存率(improve locoregional failure-free survival, LRFFS)、

DMFS 率和总生存率(overall survival, OS)分别为 93%、84%和 86%。宫旁受累( $P=0.000$ )、切缘( $P=0.001$ )和 CD24 阳性( $P=0.022$ )与 LRFFS 呈显著相关性。宫旁受累( $P=0.000$ )、淋巴管浸润( $P=0.013$ )、盆腔淋巴结转移( $P=0.000$ )及 CD24 阳性( $P=0.000$ )与 DMFS 显著相关。宫旁受累( $P=0.011$ ),盆腔淋巴

表 3 宫颈癌患者预后影响因素的单因素分析

影响因素	例数	LRFFS		DMFS		OS	
		10 年/%	P 值	10 年/%	P 值	10 年/%	P 值
<b>年龄/岁</b>							
≤60	108	93	0.342	85	0.287	90	0.296
>60	32	92		82		70	
<b>肿瘤直径/cm</b>							
≤4	84	96	0.413	88	0.376	89	0.292
>4	56	88		77		82	
<b>FIGO 分期</b>							
IB	105	95	0.372	82	0.364	85	0.388
IIA	35	88		88		89	
<b>宫旁受累</b>							
阴性	124	97	0.000	89	0.000	89	0.011
阳性	16	65		48		65	
<b>切除边缘</b>							
阴性	129	95	0.001	85	0.472	88	0.482
阳性	11	64		65		75	
<b>淋巴管浸润</b>							
阴性	74	96	0.296	92	0.013	89	0.285
阳性	66	90		72		82	
<b>盆腔淋巴结转移</b>							
阴性	88	95	0.377	98	0.000	92	0.021
阳性	52	89		62		77	
<b>CD24 表达</b>							
阴性	81	98	0.022	93	0.000	95	0.005
阳性	59	87		72		75	

表 2 不同临床特征 CD24 表达阳性率的比较 例(%)

临床特征	总例数	CD24 阴性	CD24 阳性	P 值
<b>年龄/岁</b>				
≤60	108(77)	64(79)	44(75)	0.473
>60	32(23)	17(21)	15(25)	
<b>肿瘤直径/cm</b>				
≤4	84(60)	49(60)	35(59)	0.582
>4	56(40)	32(40)	24(41)	
<b>FIGO 分期</b>				
IB	105(75)	57(70)	48(81)	0.367
IIA	35(25)	24(30)	11(19)	
<b>宫旁受累</b>				
阴性	124(89)	76(94)	48(81)	0.022
阳性	16(11)	5(6)	11(19)	
<b>切除边缘</b>				
阴性	129(92)	77(95)	52(88)	0.266
阳性	11(8)	4(5)	7(12)	
<b>淋巴管浸润</b>				
阴性	74(53)	43(53)	31(53)	0.315
阳性	66(47)	38(47)	28(47)	
<b>盆腔淋巴结转移</b>				
阴性	88(63)	57(70)	31(53)	0.031
阳性	52(37)	24(30)	28(47)	

结转移( $P=0.021$ )及 CD24 阳性( $P=0.005$ )与 OS 呈显著相关性(见表 3)。Cox 多元回归分析表明 CD24 阳性与 DMFS( $P=0.025$ )和 OS( $P=0.045$ )呈显著相关性,但 CD24 阳性与 LRFFS( $P=0.253$ )之间无相关性(见表 4)。

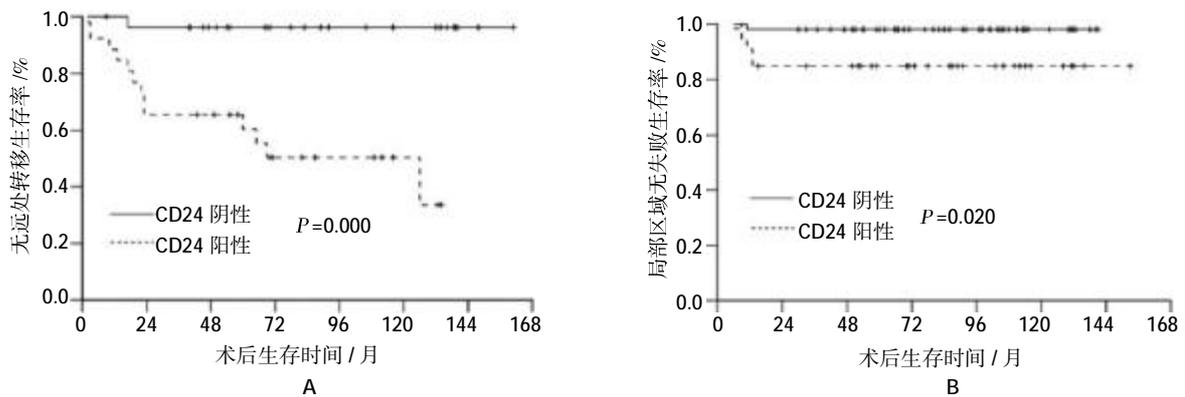
### 2.3 CD24 蛋白表达在不同术后治疗方式患者中预后价值的比较

根据术后治疗方式(CRT 与单独 RT)将患者分

为两组。CRT 组中 26 例(48%)患者 CD24 阳性表达,单独 RT 组中 33 例(38%)患者 CD24 阳性表达,CRT 组和单独 RT 组间 CD24 表达差异无统计学意义( $P=0.254$ )。Kaplan-Meier 生存曲线分析表明,CRT 组 CD24 表达与 DMFS( $P=0.000$ ,图 2A)呈显著相关性,但与 LRFFS( $P=0.442$ )无相关性;单独 RT 组 CD24 表达与 LRFFS( $P=0.020$ ,图 2B)呈显著相关性,而与 DMFS( $P=0.527$ )无相关性。

表 4 COX 多元回归分析影响宫颈癌患者预后的因素

参数	LRFFS				DMFS				OS			
	HR 值	(95%CI)		P 值	HR 值	95% CI		P 值	HR 值	HR(95%CI)		P 值
		下限	上限			下限	上限			下限	上限	
宫旁受累	7.329	1.601	33.560	0.010	2.964	1.085	8.094	0.034	2.061	0.617	6.883	0.275
切除边缘	4.397	1.021	18.936	0.047	1.518	0.413	5.575	0.185	0.779	0.156	3.884	0.224
淋巴管浸润	1.453	0.329	6.414	0.364	2.130	0.753	6.026	0.297	1.418	0.488	4.117	0.316
盆腔淋巴结转移	0.944	0.218	4.086	0.331	6.975	1.988	24.476	0.002	2.144	0.743	6.191	0.262
CD24 表达	2.716	0.490	15.041	0.253	3.795	1.183	12.176	0.025	3.385	1.027	11.159	0.045



A: CRT 组 CD24 表达与 DMFS 相关; B: 单独 RT 组 CD24 表达与 LRFFS 相关

图 2 CD24 蛋白表达与不同术后治疗方式患者生存期的关系

## 3 讨论

宫颈癌根治术是早期宫颈癌治疗的首选方法,根治术后患者预后与淋巴结转移、手术切缘癌阳性、宫旁受累、淋巴管浸润、间质浸润深度和肿瘤大小等因素有关<sup>[9]</sup>。研究证明与术后无进一步治疗或单独 RT 治疗相比,辅助 RT 和 CRT 可以改善术后预示预后不佳患者局部控制和生存率<sup>[9]</sup>。RT 疗法联合顺铂为主的化疗可以明显改善切缘癌阳性及盆腔淋巴结转移患者无进展生存时间和总体生存时间,在宫旁受累的高风险患者中尤为明显。但即使经术后辅助治疗,仍有约 16% 的患者发生局部和远处复发。研究表明,宫旁受累和切缘状态是宫颈癌局部复发和

盆腔淋巴结远处转移的重要预后因素。

目前已经发现多种与宫颈癌患者预后有关的标志物。CD24 最初被认为是人体内联接糖基化磷脂酰肌醇的 B 细胞相关抗原,也被称为 p 选择素配体,主要表达于血小板和内皮细胞上。在多种人类肿瘤中,CD24 呈异常高表达,与患者存活时间较短有关。CD24/p 选择素结合通路在肿瘤细胞扩散中非常重要,可以促进血小板和内皮细胞相互作用<sup>[10]</sup>。CD24 表达的肿瘤细胞更容易 2 次扩散,形成血小板活化血栓,或通过 p 选择素黏附到内皮细胞<sup>[11]</sup>。

多因素分析表明,行子宫切除术的宫颈癌患者 CD24 表达与远处转移有关,但与局部复发不相关。本实验发现 CD24 表达与宫旁受累和盆腔淋巴结转

移显著相关,提示CD24表达可能与局部侵袭和远处转移都有关。Choi等<sup>[12]</sup>指出CD24高表达和缺少顶端定位分布是尿道癌患者间质浸润和肿瘤等级较高的标志。Chou等<sup>[13]</sup>表明细胞质CD24表达与弥漫型胃癌侵袭性和较差预后有关。

此外,本研究还分析了CD24表达在不同术后治疗方式患者中预后价值的比较。Kaplan-Meier分析表明CRT治疗组CD24表达与DMFS呈显著相关性,但与LRFFS无相关性。而单独RT组CD24表达与LRFFS呈显著相关性,但与DMFS无相关性。淋巴结转移、宫旁受累或切缘癌阳性患者通常使用术后辅助CRT疗法。本组CRT治疗患者宫旁受累及盆腔淋巴结转移发生率更高,且不良预后因素比单独RT组更多。癌症转移需要肿瘤细胞最初侵入间质,渗透至脉管,然后黏附到靶器官等多个步骤。研究发现表明CD24表达涉及宫颈癌进展的多个步骤,包括侵袭发生和远处转移。此外,CD24也是单独RT组LRFFS预测因子,或CRT组DMFS预测因子,但每组中都有一些例外。因此,虽然这些研究结果差异明显,但在应用到临床实践之前仍需进行大样本研究。

总之,CD24表达是术后放疗宫颈癌患者的独立预后标志物,本研究揭示了CD24表达在术后辅助CRT和单独RT治疗组中不同的预后意义。因此,根据CD24表达情况对患者进行分组,并制定针对性治疗方案可能具有重要临床意义。

#### 参 考 文 献:

- [1] 杨莉,程玺. 宫颈癌分子靶向治疗的研究进展[J]. 中国癌症杂志, 2015, 21(1): 23-27.
- [2] Mega TP, Baloglu L, Ozden S, et al. The association of apoptotic protein expressions sensitive to apoptosis gene, p73 and p53 with the prognosis of cervical carcinoma[J]. *Oncotargets & Therapy*, 2014, 7(6): 433-437.
- [3] Rodriguez-Carunchio L, Soveral I, Steenbergen R, et al. HPV-negative carcinoma of the uterine cervix: a distinct type of cervical cancer with poor prognosis[J]. *Bjog An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 2014, 122(1): 119-127.
- [4] 郑晓霞,李琼珍,李玲,等. 宫颈癌预后状况及其影响因素分析[J]. 实用癌症杂志, 2014, 8(3): 16-19.
- [5] Hosonaga M, Arima Y, Sugihara E, et al. Expression of CD24 is associated with HER2 expression and supports HER2 - Akt signaling in HER2-positive breast cancer cells[J]. *Cancer Science*, 2014, 105(7): 779-787.
- [6] 伍宝珍,李惠. 肿瘤标志物 CD44v6、CD24 与卵巢浆液性癌的关系[J]. 武汉大学学报:医学版, 2015, 22(2): 4-6.
- [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(12): 1150-1156.
- [8] 袁涛,吴晓梅. 早期宫颈癌患者不同手术方法治疗及其预后临床研究[J]. 中国妇幼保健, 2014, 18(10): 1519-1521.
- [9] Liang Y, Bydder M, Yashar CM, et al. prospective study of functional bone marrow-sparing intensity modulated radiation therapy with concurrent chemotherapy for pelvic malignancies[J]. *International Journal of Radiation Oncology Biology physics*, 2013, 85(2): 406-414.
- [10] Sagiv E. Targeting CD24 for treatment of colorectal and pancreatic cancer by monoclonal antibodies or small interfering RNA [J]. *Cancer Research*, 2008, 68(8): 2803-2812.
- [11] 董晓刚,牛建华. CD24 与肿瘤临床病理的关系[J]. 医学综述, 2008, 14(10): 1491-1493.
- [12] Choi YL, Lee SH, Kwon GY, et al. Overexpression of CD24: association with invasiveness in urothelial carcinoma of the bladder[J]. *Arch pathol Lab Med*, 2007, 131(12): 275-281.
- [13] Chou YY, Jeng YM, Lee TT, et al. Cytoplasmic CD24 expression is a novel prognostic factor in diffuse-type gastric adenocarcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2007, 14(8): 2748-2758.

(张西倩 编辑)