

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.06.018

文章编号: 1005-8982 (2018) 06-0094-05

CD44 的阳性表达与肝细胞癌患者生存预后结果的 Meta 分析

胡榆雪, 江婷婷, 高建

(重庆医科大学附属第二医院 消化内科, 重庆 400010)

摘要: 目的 探索肿瘤标志物 CD44 与肝细胞癌临床病理特点及肝细胞癌患者生存预后之间的联系。**方法** 检索 PubMed, EMBase 和 Cochrane 图书馆数据库, 截止日期为 2017 年 8 月 2 日。采用 STATA 软件对肿瘤细胞 CD44 的阳性表达与肝癌的肿瘤临床分期, 肿瘤分级, 甲胎蛋白等临床病理特征, 及 CD44 阳性表达与肝癌患者生存预后结果包括总生存率 (OS) 和无病生存率 (DFS) 之间进行荟萃分析。**结果** 10 篇文章符合纳入标准, 共对 1 620 例患者进行荟萃分析。CD44 的阳性表达与肝癌患者的临床分期 ($\hat{OR}=1.41, 95\%CI: 1.02, 1.93$), 及肿瘤分级 ($\hat{OR}=1.29, 95\%CI: 1.02, 1.62$), 差异有统计学意义, 然而 CD44 阳性表达与肝癌患者甲胎蛋白水平高低、乙肝病毒感染、血管侵犯及肿瘤大小等差异无统计学意义; CD44 阳性表达与肝癌患者生存预后密切相关, 包括总生存率 ($\hat{RR}=1.44, 95\%CI: 1.29, 1.61$), 无病生存率 ($\hat{RR}=1.45, 95\%CI: 1.30, 1.61$), 差异有统计学意义。**结论** CD44 阳性表达与肝癌患者预后不良密切相关。

关键词: 肝细胞癌, CD44, 临床病理特点, 生存预后, Meta 分析。

中图分类号: R735.7

文献标识码: A

Correlation between the expression of CD44 and poor survival prognosis in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis

Yu-xue Hu, Ting-ting Jiang, Jian Gao

(Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

Abstract: Objective To proceed a meta-analysis to investigate the relationship among the CD44 overexpression, clinicopathological significance and prognostic importance in hepatocellular carcinoma. **Methods** Relevant articles retrieved from PubMed, EMBASE, the Cochrane Library, which were published before the deadline of August 2017, were included. The pathologic characteristics of hepatocellular carcinoma and overall survival (OS) and the disease-free survival (DFS) rates were determined with Stata statistical software, version 12.0. **Results** Our study suggested that the positive expression of CD44 was meaningfully correlated with a poor pathology grading ($\hat{OR} = 1.2, 95\% CI: 1.02, 1.62, Random-effect$) and advanced stage of carcinoma ($\hat{OR} = 1.4, 95\% CI: 1.02, 1.93, Random-effect$). While CD44 had no significant correlation with hepatitis, cirrhosis, the high level of AFP, and tumor size. Additionally, the overexpression of CD44 was significantly correlated with worse survival outcomes, including OS ($\hat{RR} = 1.44, 95\% CI: 1.29, 1.61$) and DFS ($\hat{RR} = 1.45, 95\% CI: 1.30, 1.61$). **Conclusion** Over-expression CD44 is significantly associated with clinicopathological features and worse survival prognosis.

Keywords: hepatocellular carcinoma; CD44; clinicopathological characteristics; poor survival outcome; meta-analysis

收稿日期: 2017-08-30

[通信作者] 高建, E-mail: 982213482@qq.com

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是常见的恶性肿瘤,也是全世界死亡率较高的肿瘤之一。目前,手术切除、肝移植是较有效的治疗方法^[1-2]。然而,HCC患者的预后仍然较差,这可能与治疗后频繁的局部复发、肝内转移及远处转移有关系,因此需要探索对该疾病的更有效的生物学治疗方法。在过去几年里,肿瘤干细胞已经在HCC组织中被证实是存在的^[3],而肿瘤干细胞被证实具有自我复制、侵袭、转移和致瘤力^[4-5],那么肿瘤干细胞是否与HCC的复发与转移相关,与HCC的较差的生存预后结果相关? CD44是最常见的被报道的肿瘤标志物之一,因此为了探索CD44与HCC的临床病理特征如肿瘤的分化及分期等的关系,及CD44与肝细胞癌患者的生存预后结果的关系,进行这项荟萃分析。

1 资料与方法

1.1 检索范围及筛选

本文检索PubMed、EMBase和Cochrane Library数据库,从2001年2月~2017年8月的相关文章,以Liver Neoplasms, Hepatocellular Carcinoma, Liver Cancer, Hepatic Neoplasms, Hepatic Cancer, CD44 and Cancer Stem Cells等为关键词进行检索,由2位独立研究者检索相关文献,并严格按照纳入标准进行筛选,通过阅读文献的题目、摘要、全文进行筛选。对有争议的相关文献,同时讨论后决定剔除与否。

1.2 纳入与排除标准

纳入标准:①通过病理组织学检查明确诊断为肝癌的患者;②通过免疫组织化学或实时逆转录聚合酶链反应(real-time RT-PCR)检测明确CD44的阳性表达;③文章通过Kaplan-Meier生存曲线图描述CD44的阳性表达与肝癌患者总生存率及无病生存率的关系,描述CD44阳性表达与肝癌患者临床病理特征的关系;④文章收集病例数量应>40例。不符合以上条件,文章质量评分较低,文献语种为英文以外的文章予以排除。

1.3 质量评价和数据提取

由2位评价者独立按照Newcastle-Ottawa(NOS)质量评价标准对纳入文献进行质量评价。采用统一的数据提取表提取文章相关数据,表格包括以下内容:第一作者,发表时间,文章研究例数,CD44阳性表达的肝癌病例数及CD44阴性表达的病例数与肝癌患者临床病理特点包括肿瘤分期、肿瘤分化、AFP水平、

HBV及HCV感染、肿瘤大小及数目、血管侵犯、肿瘤囊,生存数据包括OS及DFS等。

1.4 统计学方法

本文采用Stata 12.0软件进行Meta分析,CD44阳性表达与肝癌患者临床病理特点的统计资料采用比值比(odds ratio, OR)及95%可信区间(confidence interval, CI)。通过使用Engauge Digitizer 4.1软件,对文章的Kaplan-Meier生存曲线图提取数据,采用Stata 12.0软件进行Meta分析,以相对危险度(relative risk, RR)及95%可信区间(confidence interval, CI)进行统计分析。研究之间异质性采用Q检验和 I^2 检验,若 $P>0.1$ 或 $I^2\leq 50\%$,则无明显异质性,采用固定效应模型分析,若 $P<0.1$ 或 $I^2>50\%$ 时,提示存在异质性,则使用随机效应模型分析。文章最后通过Begg检验和Egger检验来分析发表偏倚, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 检索结果

初步搜索相关文献516篇。阅读文献标题、摘要,排除综述及重复文章后,检出相关文献共35篇。仔细阅读原文,符合纳入标准的文献最终有10篇^[6-15],流程图见图1,共1620例患者,发表年限2001年~2017年,纳入文章采用NOS评分系统,纳入文章评分在6~7分。具体特征见表1。

2.2 Meta分析结果

2.2.1 CD44阳性表达与肝细胞癌患者临床病理特点的关系 见图2所示,CD44阳性表达与肝癌患者的

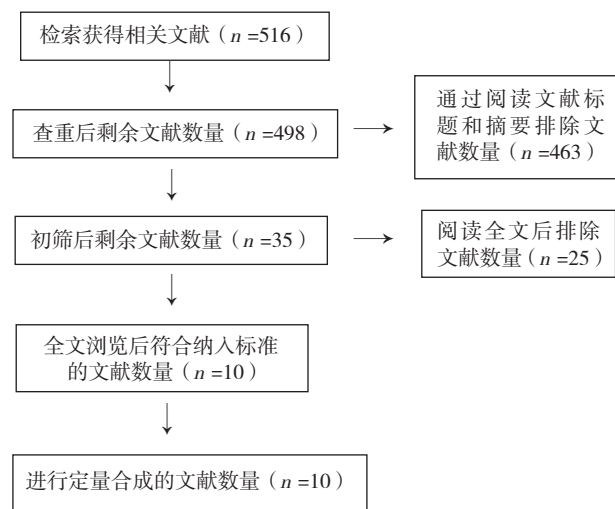


图1 纳入文献筛选流程图

表 1 纳入文献的基本特征

参考文献	检测方法	病例数量	治疗方法	CD44 ⁺	CD44 ⁻	NOS 评分	随访时间 / 月	生存分析
YANG 等 2008	IHC	302	LR	91	211	7	121	OS, DFS
RYU 等 2011	IHC	260	LR	111	149	7	137	OS, DFS
MIMA 等 2012	IHC	150	LR	46	104	7	60	OS, DFS
ZHOU 等 2012	RT-PCR/IHC	323	LR	162	161	6	74	OS, DFS
MIMA 等 2012	IHC	150	LR	37	113	7	60	OS, DFS
TOVUU 等 2013	RT-PCR	48	LR	25	23	7	60	OS, DFS
HU 等 2014	IHC	160	LR	95	45	7	84	OS, DFS
G.H.CHOI 等 2015	RT-PCR	63	LR/LT	28	35	6	60	DFS
ANNA 等 2016	IHC	90	LR	64	26	7	115	OS, DFS
ZHAO 等 2016	IHC	74	LR	41	33	7	84	OS

临床 TNM 分期密切相关 ($\hat{OR}=1.40, 95\%CI: 1.02, 1.91, I^2=0\%$, 随机效应模型); 见图 3 所示, CD44 阳性表达与肝癌患者的肿瘤低分化有关 ($\hat{OR}=1.29, 95\%CI: 1.03, 1.62, I^2=0\%$, 随机效应模型), 差异有统计学意义。

然而, 见表 2 所示: CD44 阳性表达与肝癌患者的其他临床病理特征如 AFP 水平、HBV 及 HCV 感染、血管侵犯、肿瘤大小、肿瘤囊之间并无密切联系。

2.2.2 CD44 阳性表达与肝细胞癌患者 5 年生存预后结果的关系 CD44 阳性表达与肝癌患者的 5 年生存预后结果密切相关 (见图 4、5)。OS ($\hat{RR}=1.44, 95\%CI: 1.29, 1.61, I^2=68.8\%$), DFS ($\hat{RR}=1.45, 95\%CI: 1.30, 1.61, I^2=61.4\%$), 差异有统计学意义。

2.3 发表偏倚分析

本文采用 Stata 12.0 软件, 对纳入研究进行 Begg 和 Egger 检验。CD44 阳性表达与肝细胞癌患者预后

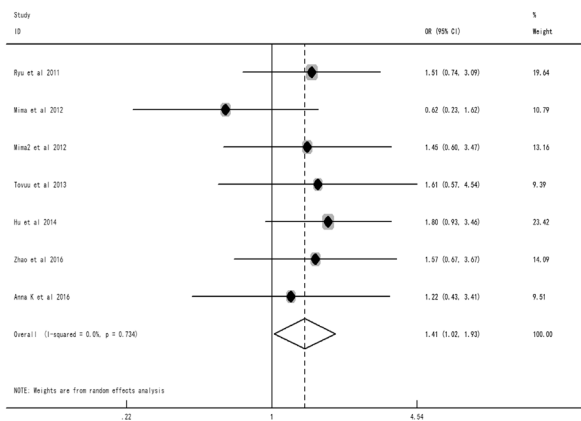


图 2 CD44 阳性表达与肝细胞癌临床 TNM 分期关系的 Meta 分析森林图

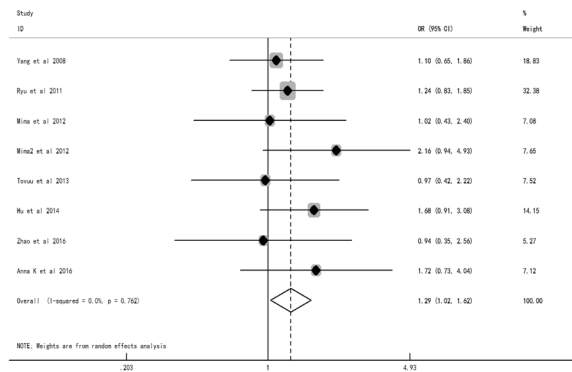


图 3 CD44 阳性表达与肝细胞癌分化的 Meta 分析森林图

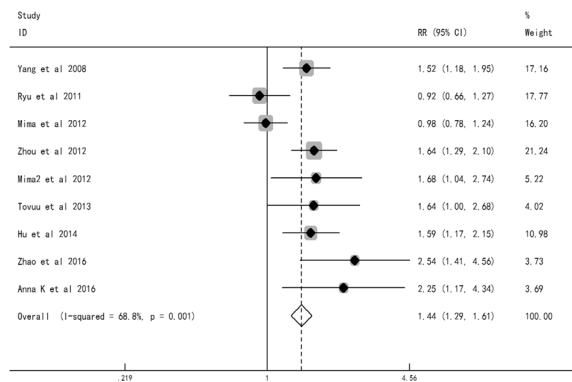


图 4 CD44 阳性表达与肝细胞癌患者 5 年生存率 OS 的 Meta 分析森林图

的 5 年总生存率 (OS) 的 Begg 和 Egger 检验表明均无发表偏倚 ($Z=0.73, P=0.466; t=1.16, P=0.283$)。CD44 阳性表达与肝细胞癌患者预后的 5 年无病生存率 (DFS) 的 Begg 检验表明均无发表偏倚 ($Z=0.52, P=0.602; t=-0.75, P=0.478$)。见表 3。

表 2 CD44 阳性表达与肝细胞癌临床病理特征间的关系

临床病理特征	文章数量	总数	分析模型	OR	95%CI		P 值	I ² 异质性 %
					下限	上限		
HBV	5	734	REM	1.05	0.31	1.38	0.702	0
HCV	4	650	REM	1.04	0.69	1.56	0.852	0
肝硬化	4	524	REM	1.12	0.84	1.48	0.444	0
AFP	7	1 154	REM	1.12	0.82	1.52	0.488	46.1
Edmondson 分级 (I + II vs III + IV)	8	1 244	REM	1.29	1.02	1.62	0.030	0
TNM 分期 (I + II vs III + IV)	7	942	REM	1.41	1.02	1.93	0.035	0
肿瘤数目 (1 vs ≥ 2)	5	734	REM	1.46	1.01	2.12	0.046	0
肿瘤大小 (≤ 5 vs >5 cm)	6	93	REM	1.13	0.88	1.45	0.332	0
血管侵犯	6	1 112	REM	1.21	0.84	1.74	0.308	17.9
肿瘤囊	3	602	REM	0.89	0.60	1.34	0.446	0

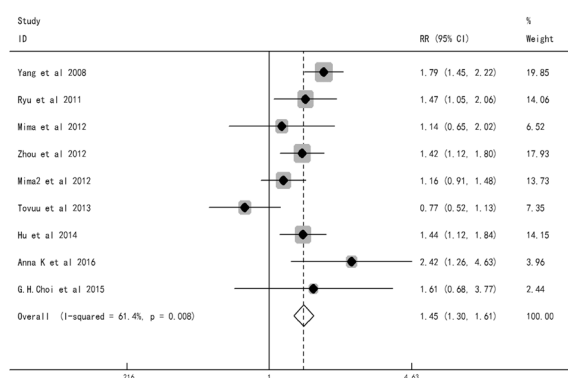


图 5 CD44 阳性表达与肝细胞癌患者 5 年无病生存率 DFS 的 Meta 分析森林图

表 3 发表偏移总结

因素	肿瘤 TNM 分期	肿瘤分化	5 年总生存率	5 年无病生存率
Begg's test P 值	0.230	0.711	0.466	0.602
Egger's test P 值	0.208	0.872	0.283	0.478

3 讨论

肝细胞癌治疗后复发是目前肝细胞癌临床治疗方面具有挑战性的问题, CD44 作为最常见的肿瘤标志物之一, 已经被证明在肿瘤的生长、转移和扩散等具有重要作用^[16-17], 既往也有报道, CD44 与乳腺癌及胃肠道肿瘤之间的关系。本研究结果显示, CD44 的阳性表达与肝癌的 TNM 临床晚期和组织学低分化、肝细胞癌结节的数目密切相关。关于肝细胞癌患者的预后方面, CD44 阳性表达的肝细胞癌患者较 CD44

阴性表达的肝癌患者生存预后结果较差。遗憾的是, AFP 作为目前临床较常用的监测肝细胞癌复发的指标之一, 本文未发现 CD44 阳性表达的肝细胞癌与 AFP 水平之间差异有统计学意义。

CD44 是细胞膜上的一种跨膜蛋白, 主要是透明质酸受体 (HA), 最初被认为是一种白细胞抗原^[18]。CD44 由于存在外显子, 故可导致同种丰富的变异型, 称为 CD44v, 在一些上皮细胞中表达, 而无外显子存在的 mRNA 则称为标准型 CD44s, 是较常见类型^[19-20]。既往已有多篇文章提出, CD44 阳性表达的肿瘤细胞具有肿瘤干细胞的特征, 如具有自我复制能力、致瘤性, CD44 的阳性表达可能也与肿瘤的转移及化疗后抵抗存在联系^[21-22]。HA/CD44- 减少趋化因子受体 CXCR4 表达, 在减弱肝细胞癌的侵袭性及转移中发挥重要作用, CD44-SDF-1 α /CXCR4 可能是肝细胞癌新的靶向治疗途径^[23]。因此, CD44 过度表达可能在肝细胞癌的临床病理特点及评估肝细胞癌患者的生存预后中起到关键作用, 提示 CD44 可以在肝细胞癌中作为一个新的靶向治疗目标。

本文采用严格的纳入排除标准, 选用高质量文章进行分析, 总体纳入病例数量较多, 无发表偏倚, 且既往无类似 Meta 分析存在。然而, 本文仍然存在一些不可避免的局限性: ①纳入研究的样本量偏小; ②文章中多通过免疫组织化学染色的方法来检测肿瘤标志物, 不同的检测试剂及每篇文章对 CD44 阳性表达的 IHC 截取值也不同, 可能会导致本文存在一定的异质性; ③通过使用 Engauge Digitizer 4.1 软件及文章的

Kaplan–Meier 曲线，并间接推算出 CD44 阳性表达的肝癌患者的预后生存数据并不一定精确。

总的来说，本文荟萃分析的结果提示，CD44 阳性表达与肝细胞癌患者的临床分期及肝细胞癌的低分化密切相关，CD44 过度表达较 CD44 阴性的肝癌患者预后更差。笔者建议可以把 CD44 作为肝细胞癌潜在的肿瘤标志物之一，可以将 CD44 阳性表达作为评估肝癌患者治疗后的早期复发及生存预后相关的危险因素之一。期待出现更多的关于肝癌的新的分子靶向治疗方法指导肝细胞癌的临床治疗。

参 考 文 献:

- [1] JEMAL A, BRAY F, CENTER M M, et al. Global cancer statistics[J]. *CA cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] LIU M, JIANG L, GUAN X Y. The genetic and epigenetic alterations in human hepatocellular carcinoma: a recent update[J]. *Protein Cell*, 2014, 5(9): 673-691.
- [3] CHIBA T, ZHENG Y W, KITA K, et al. Enhanced self-renewal capability in hepatic stem/progenitor cells drives cancer initiation[J]. *Gastroenterology*, 2007, 133(3): 937-950.
- [4] JI J, WANG X W. Clinical implications of cancer stem cell biology in hepatocellular carcinoma[J]. *Semin Oncol*, 2012, 39(4): 461-472.
- [5] ROUNTREE C B, MISHRA L, WILLENBRING H. Stem cells in liver diseases and cancer: recent advances on the path to new therapies[J]. *Hepatology*, 2012, 55(1): 298-306.
- [6] MIMA K, OKABE H, ISHIMOTO T, et al. The expression levels of CD44v6 are correlated with the invasiveness of hepatocellular carcinoma in vitro, but do not appear to be clinically significant[J]. *Oncol Lett*, 2012, 3(5): 1047-1051.
- [7] RYU H S, PARK S H, LEE K B, et al. Expression of the transmembrane glycoprotein cd44s is potentially an independent predictor of recurrence in hepatocellular carcinoma[J]. *Gut Liver*, 2011, 5(2): 204-209.
- [8] MIMA K, OKABE H, ISHIMOTO T, et al. CD44s Regulates the TGF- β -mediated mesenchymal phenotype and is associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(13): 3414-3423.
- [9] HU S, WU X, ZHOU B, et al. IMP3 combined with CD44s, a novel predictor for prognosis of patients with hepatocellular carcinoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2014, 140(6): 883-893.
- [10] ZHOU Z J, DAI Z, ZHOU S L, et al. Overexpression of HnRNP A1 promotes tumor invasion through regulating CD44v6 and indicates poor prognosis for hepatocellular carcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2013, 132(5): 1080-1089.
- [11] TOVUU L O, IMURA S, UTSUNOMIYA T, et al. Role of CD44 expression in non-tumor tissue on intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma[J]. *Int J Clin Oncol*, 2013, 18(4): 651-656.
- [12] YANG G H, FAN J, XU Y, et al. Osteopontin combined with CD44, a novel prognostic biomarker for patients with hepatocellular carcinoma undergoing curative resection[J]. *Oncologist*, 2008, 13(11): 1155-1165.
- [13] CHOI G H, KIM G I, YOO J E, et al. Increased expression of circulating cancer stem cell markers during the perioperative period predicts early recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2015(22): S1444-S1452.
- [14] KAKEHASHI A, ISHII N, SUGIHARA E, et al. CD44 variant 9 is a potential biomarker of tumor initiating cells predicting survival outcome in hepatitis C virus-positive patients with resected hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Sci*, 2016, 107(5): 609-618.
- [15] ZHAO Q, ZHOU H, LIU Q, et al. Prognostic value of the expression of cancer stem cell-related markers CD133 and CD44 in hepatocellular carcinoma: From patients to patient-derived tumor xenograft models[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(30): 431-443.
- [16] ORIAN-ROUSSEAU V. CD44, a therapeutic target for metastasising tumours[J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46(7): 1271-1277.
- [17] WIBULSWAS A, CROFT D, PITSILLIDES A A, et al. Influence of epitopes CD44v3 and CD44v6 in the invasive behavior of fibroblast-like synoviocytes derived from rheumatoid arthritic joints[J]. *Arthritis Rheum*, 2002, 46(8): 2059-2064.
- [18] van der WINDT G J, SCHOUTEN M, ZEERLEDER S, et al. CD44 is protective during hyperoxia-induced lung injury[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 44(3): 377-383.
- [19] NEGI L M, TALEGAONKAR S, JAGGI M, et al. Role of CD44 in tumour progression and strategies for targeting[J]. *J Drug Target*, 2012, 20(7): 561-573.
- [20] ARUFFO A, STAMENKOVIC I, MELNICK M, et al. CD44 is the principal cell surface receptor for hyaluronate[J]. *Cell*, 1990, 61(7): 1303-1313.
- [21] DU L, WANG H, HE L, et al. CD44 is of functional importance for colorectal cancer stem cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(21): 6751-6760.
- [22] LAFLEUR L, JOHANSSON A C, ROBERG K. A CD44 high/EGFR low subpopulation within head and neck cancer cell lines shows an epithelial-mesenchymal transition phenotype and resistance to treatment[J]. *PLoS One*, 2012, 7: e44071.
- [23] ZHU W. Cd44s is of functional importance for hepatocellular carcinoma (hcc) extra-hepatic metastases through activation of sdf-1a/cxcr4 axis[J]. *Cancer Research*, 2014, 74(19): 650-675.

(王荣兵 编辑)