

leukemia, and its roles in developing and bleeding of leukemia. **Methods** Plasma endothelin(ET) was measured with radioimmunoassay. Plasminogen activity was measured with aceta lysis chromogenesis. Tissue-type plasminogen activator activity and plasminogen activator inhibitor activity were measured with chromogenic substrates. Ddimer was measured with ELISA. **Results** The levels of ET were higher in acute leukemia than those in normal controls, especially in primary and non-remission acute leukemia markedly higher, in the groups of complete remission were lower, but higher than those in the controls. The levels of ET were higher in leukemia with bleeding than those in without bleeding. ET and tissue-type plasminogen activator activity had negative correlation. **Conclusion** ET not only had important value in diagnosis and prognosis of leukemia, but also had relation with bleeding in acute leukemia. The correlation of ET and tissue-type plasminogen activator activity indicated ET might play a role in regulating fibrinolysis serving as an antifibrinolysis factor.

Key words: Leukemia; Endothlin; Fibrinolysis

大肠腺瘤与腺癌 CD44V6 表达及其临床意义

张振玉 陈 江 王崇文 祝金泉 张昆和 黄德强

CD44 分子是一种膜糖蛋白, 参与细胞之间及细胞基质之间特异性粘附。目前发现 CD44 变异体(CD44V)异常表达, 可作为肿瘤早期诊断、转移及复发的生物学标志物。为此我们采用免疫组织化学方法研究 CD44V6 在大肠腺瘤及大肠癌中表达, 探讨其临床病理学意义。

1 材料与与方法

1.1 材料 所有标本取自本院 1990 年~1996 年手术切除及病理活检标本。大肠腺瘤 21 例, 大肠癌 54 例, 其中管状腺瘤 30 例、乳头状腺瘤 17 例、粘液腺瘤 7 例。鼠人 CD44V6 单抗及 SP 试剂盒均为美国 Zymed 公司产品。

1.2 方法 所有标本均经 10% 福尔马林固定, 石蜡包埋连续切片, 片厚 5 μ m, 免疫组化染色采用 SP 法。CD44V6 按 1:750 稀释, 在加一抗前标本于枸橼酸盐缓冲液 (pH6.0) 中行微波修复抗原。每批染色均设阴性空白对照, 即以 PBS 液代替一抗, 以食管鳞状上皮作为阳性对照。结果判断采用半定量积分法, 即根据每张切片的阳性细胞比例及着色深浅计分。着色细胞比例 1/3 以下为 1 分, 1/3~2/3 为 2 分, 2/3 以上为 3 分。着色程度, 无着色 0 分, 浅黄色 1 分, 棕黄色 2 分, 棕褐色 3 分, 然后根据二者乘积判断阳性等级。0 分为阴性, 1~4 分为弱阳性 (+), 大于 4 分为强阳性 (++)。

1.3 统计学处理 所有资料采用 χ^2 检验。

2 结果

CD44V6 阳性染色部位位于细胞膜, 腺瘤多呈灶性表达, 色浅。12 例(-), 9 例(+), 1 例(++), 而腺癌多呈弥漫性表达, 12 例(-), 16 例(+), 20 例(++), 两组比较 $P<0.01$ 。具有显著性差异。其中淋巴结转移组 8 例(-), 27 例+~++, 无淋巴结转移组 10 例(-), 9 例+~++, 两组比较 $P<0.05$ 。在组织类型上, 管状腺瘤 18 例(-), 12 例+~++, 乳头状腺瘤 8 例(-), 9 例+~++。粘液腺瘤 4 例(-), 3 例+~++。三组比较 $P>0.05$ 。

3 讨论

CD44 分子最初由 Dalchau 于 1980 年用单克隆抗体技术确定并描述, 是淋巴细胞归巢受体。它包括标准型 CD44 (CD44S) 及变异型 CD44(CD44V1-10) 前者存在于大多数细胞上, 后者主要存在于上皮细胞源性细胞和肿瘤中, 并认为其在肿瘤的发生侵袭和转移中起重要作用。本组研究结果显示, 大肠腺瘤和大肠癌中 CD44V6 皆有表达, 大肠腺瘤阳性表达率为 43%, 且多呈灶性表达, 色浅。大肠癌阳性表达率为 66.6%, 多呈弥漫性表达, 且相对深染, 这与 Wielenga 和 Heider 研究结果相一致, 而且该作者还发现其表达率与异型增生分级相关, 以中重度多见。Kim 报道 CD44 基因异常表达在结肠腺瘤向结肠癌的演进过程中即已出现且早于 Kras 和 P⁵³ 基因突变, 故认为 CD44 基因改变是大肠癌发生的早期表现。

肿瘤转移潜能大小是评价患者预后的关键, 而淋巴结转移又是其重要指标。CD44 基因在转录和翻译时可发生改变, 从而导致 CD44 分子结构和功能异常, 而影响了细胞间识别、粘附及信息传递, 改变了细胞的生物学行为, 造成侵袭和转移的发生。有资料表明 CD44V6 与肿瘤转移相关。本组结果显示, 淋巴结转移组 CD44V6 阳性率为 77%, 而阴性组为 52.5%, 二者比较, $P<0.05$, 有显著性差异。

CD44V 不仅可以预测肿瘤转移而且可用于早期诊断及复发的评价。Matsamura 采用 RT-PCR 技术, 可以从微量标本 (血、粪便) 中检出 CD44 基因异常, 作为早期诊断和高危人群普查的指标。郭亚军用 Elisa 法发现进展期结肠癌 CD44 升高, 肿瘤切除后 CD44 水平下降。Mulder 采用免疫组化技术也显示大肠肿瘤切除标本, 如果 CD44V6 阳性, 常伴术后肿瘤复发。

综上所述, CD44V6 检测不仅有助于了解大肠癌的生物行为, 而且可用于早期诊断, 作为判断患者预后的重要分子生物学标志。