

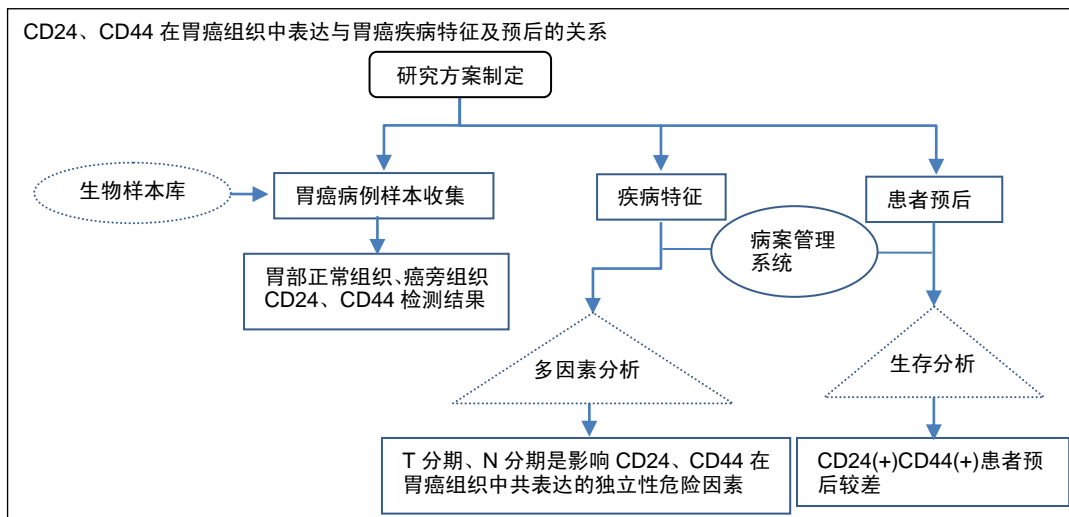
肿瘤干细胞标志物CD24、CD44在胃癌组织中的共表达及患者临床病理参数和预后

韩方征¹, 张潇霖², 董唯一¹, 谢云亭³ (菏泽市立医院, ¹病理科, ²胃肠外科, 山东省菏泽市 274031; ³上海海吉亚医疗集团菏泽市单县海吉亚医院病理科, 山东省菏泽市 274300)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0998

ORCID: 0000-0002-4943-4278(韩方征)

文章快速阅读:



韩方征, 男, 1969年生, 山东省菏泽市人, 副主任医师, 主要从事肿瘤、骨及软组织病理研究。

通讯作者: 谢云亭, 副主任医师, 上海海吉亚医疗集团菏泽市单县海吉亚医院病理科, 山东省菏泽市 274300

中图分类号:R394.2

文献标识码:A

稿件接受: 2018-06-15



文题释义:

肿瘤干细胞: 是指肿瘤组织中具有自我更新能力并能产生异性肿瘤细胞的细胞。肿瘤干细胞对肿瘤的存活、增殖、转移及复发有着重要作用。肿瘤干细胞通过自我更新和无限增殖维持着肿瘤细胞群的生命力, 其运动和迁徙能力促进了肿瘤细胞的转移。肿瘤干细胞可以长时间处于休眠状态并具有多种耐药分子, 导致肿瘤对外界理化因素不敏感, 降低了恶性肿瘤的治疗效果。

白细胞分化抗原 44(CD44): 是近年研究较多的肿瘤干细胞表面标记。与多种肿瘤有关, 有学者认为其在结肠癌中表达高达 90%以上。近年研究认为 CD44 可作为胃癌干细胞的表面生物标志物, 国内外报道表达比率在 19%–90%不等, 可能与多种恶性肿瘤的临床病理特征及预后有关。

摘要

背景: 国内外研究显示 CD24、CD44 表达与胃癌的疾病进展、临床病理参数及预后可能存在密切关系。

目的: 探讨胃癌组织中干细胞标志物 CD24、CD44 共表达情况及对患者临床病理参数、预后的影响。

方法: 收集 2006 年 4 月至 2012 年 4 月在菏泽市立医院胃肠外科行手术治疗的胃癌患者的临床资料。采用免疫组织化学法检测癌组织、癌旁组织、正常胃组织中 CD24、CD44 蛋白表达情况, 记录患者临床病理参数并随访。统计分析 CD24、CD44 双阳性表达与患者临床病理参数间的关系及对患者预后的影响。

结果与结论: ①在 180 例患者中, CD24 阳性率为 57.5%(92/180), 其中低表达 54 例, 高表达 38 例; CD44 阳性率为 49.3%(79/180), 其中低表达 48 例, 高表达 31 例。二者的共表达率为 24.3%(39/180), 双阴性率为 30.0%(48/180); ②与癌组织相比, 正常胃组织和癌旁组织 CD24、CD44 的阳性率均较低, 且差异有显著性意义($P < 0.001$); ③单因素分析结果显示, CD24、CD44 在胃癌组织中的共表达与胃癌组织大小、T 分期、N 分期、脉管浸润相关($P < 0.05$), 但与患者年龄、性别、肿瘤部位、WHO 病理分型、Lauren 分型、M 分期无关($P > 0.05$)。多因素分析结果发现 T 分期、N 分期是影响 CD24、CD44 在胃癌组织中共表达的独立性危险因素; ④Spearman 等级相关分析结果显示, CD24 和 CD44 的表达强度之间不存在相关关系($r=0.020$, $P=0.795$); ⑤180 例患者, 失访 17 例, 失访率为 9.4%。5 年内死亡 87 例, CD24 单阳组 53 例患者, 死亡 21 例; CD44 单阳组 40 例患者, 死亡 23 例; 双阴组 48 例患者, 死亡 13 例, 双阳组 39 例患者, 死亡 30 例。Log-rank 统计检验显示, 4 组患者的生存率差异有显著性意义($\chi^2=21.72$, $P < 0.001$), CD24(+)/CD44(+) 患者预后最差; ⑥结果表明, CD24、CD44 在胃癌中有较高的阳性率, 且与患者分期密切相关。二者的共表达是患者预后不良的强烈信号。

关键词:

胃肿瘤; CD24; CD44; 肿瘤干细胞; 危险因素; 预后; 干细胞

主题词:

胃肿瘤; 抗原, CD24; 抗原, CD44; 肿瘤干细胞; 组织工程

Han Fang-zheng, Associate chief physician, Department of Pathology, Heze Municipal Hospital, Heze 274031, Shandong Province, China

Corresponding author: Xie Yun-ting, Associate chief physician, Department of Pathology, Shanxian Haijiya Hospital, HYGElA Medical Services Group, Heze 274300, Shandong Province, China

Co-expression of CD24 and CD44 in gastric carcinoma and its influence on clinicopathological parameters and prognosis

Han Fang-zheng¹, Zhang Xiao-lin², Dong Wei-yi¹, Xie Yun-ting³ (¹Department of Pathology, ²Department of Gastrointestinal Surgery, Heze Municipal Hospital, Heze 274031, Shandong Province, China; ³Department of Pathology, Shanxian Haijiya Hospital, HYGIEA Medical Services Group, Heze 274300, Shandong Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Studies have shown that the expression of CD24 and CD44 may be closely related to the disease progression, clinicopathological parameters and prognosis of gastric carcinoma.

OBJECTIVE: To investigate the expression of CD24 and CD44 in gastric carcinoma and its influence on clinicopathological parameters and prognosis.

METHODS: The clinical data of patients undergoing surgical resection of gastric carcinoma in Heze Municipal Hospital from April 2006 to April 2012 were collected. The expression of CD24 and CD44 protein in cancer tissues, paracancerous tissues and normal tissues from resected specimens was detected by immunohistochemistry. The relationship between the expressions of CD24 and CD44, clinicopathological parameters and prognosis of the patients was analyzed.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Among 180 patients, the positive rate of CD24 was 57.5% (92/180), which was lowly expressed in 54 cases and highly expressed in 38 cases; the positive rate of CD44 was 49.3% (79/180), which was lowly expressed in 48 cases and highly expressed in 31 cases. The co-expression rate was 24.3% (39/180) and the double negative rate was 30.0% (48/180). (2) Compared with cancer tissues, the positive rates of CD24 and CD44 in normal gastric tissues and paracancerous tissues were significantly lower ($P < 0.001$). (3) Univariate analysis showed that the co-expression of CD24 and CD44 in gastric cancer tissues was related to the size of gastric carcinoma, T staging, N staging, vascular invasion ($P < 0.05$), but not related to age, sex, tumor site, WHO pathological classification, Lauren classification and M staging ($P > 0.05$). Multivariate analysis showed that T staging and N staging were independent risk factors affecting the expression of CD24 and CD44 in gastric cancer tissues. (4) Spearman rank correlation analysis showed no correlation between the expression intensity of CD24 and CD44 ($r=0.020$, $P=0.795$). (5) Seventeen of 180 cases were lost to follow-up, and the loss rate was 9.4%. Eighty-seven patients died within 5 years. Twenty-one of 53 patients in CD24 single-positive group died, and 23 of 40 patients in CD44 single-positive group died. Thirteen of 48 patients in double-negative group died, and 30 of 39 patients in double positive group died. Log-rank test results showed that the survival rate of the four groups was significantly different ($\chi^2=21.72$, $P < 0.001$), and the CD24(+) CD44(+) group had the worst prognosis. To conclude, CD24 and CD44 have higher positive rates in gastric carcinoma, which are closely related with the staging of patients. Moreover, the co-expression of CD24 and CD44 strongly indicates a poor prognosis.

Subject headings: Stomach Neoplasms; Antigens, CD24; Antigens, CD44; Neoplastic Stem Cells; Tissue Engineering

0 引言 Introduction

与其他实体肿瘤的干细胞研究相比, 胃癌干细胞的研究起步较晚。2009年, Takaiishi等^[1]首次在体外实验证实了人胃癌细胞株中存在以CD44⁺表达为特征的干细胞亚群。由于其数量仅占胃癌细胞中的极少量, 因此可以和其他胃癌细胞共用一套营养系统; 同时, 又可依靠自身特殊的信号传导通路, 维持胃癌细胞的生长^[2-4]。有研究表明, 肿瘤干细胞是肿瘤细胞对化疗药物、放射线治疗产生抵抗性及耐受性的根源^[5-7]。目前的化疗药物对其均未表现出明确的杀灭作用, 而胃癌干细胞强大的不定向分化能力又极易造成患者的复发^[8-9]。因此, 找到针对胃癌干细胞的治疗策略, 是进一步减少复发、提高胃癌患者生存率的可靠途径^[10-11]。

该研究拟探讨肿瘤干细胞标志物CD24、CD44表达与胃癌患者临床病理参数、预后的关系, 为进一步阐明二者在胃癌发生发展中的作用提供实验证据。

1 对象和方法 Subjects and methods

1.1 设计 观察型实验。

1.2 时间及地点 于2016年6月至2017年4月在菏泽市立医院病理科及病案科完成。

1.3 对象

1.3.1 临床资料 收集2006年4月至2012年4月在菏泽市立医院胃肠外科行手术治疗的胃癌患者的病例标本及临床

资料, 标本从生物实验室样本库获取集中进行检测。

纳入标准: ①均为首次确诊为胃癌; ②患者均行手术治疗, 手术切除标本保存于实验室或病理科, 且标本符合实验设计要求, 即均包括癌组织、癌旁组织、正常组织; ③术前未行放化疗治疗; ④临床资料完整。

排除标准: ①围术期非肿瘤性病因的死亡病例; ②同时合并有其他恶性肿瘤或有恶性肿瘤病史; ③因肿瘤相关的肠梗阻、肿瘤破裂出血、穿孔等行急诊手术的患者。

最终, 共180例患者被纳入研究, 男110例, 女70例; 年龄32-83岁, 中位年龄54岁。

1.3.2 实验试剂 兔抗人CD24单克隆抗体(Abcam公司, 美国); 鼠抗人CD44单克隆抗体(Abcam公司, 美国); 免疫组化SP试剂盒(Zymed 公司, 美国), 一抗工作浓度为1:100; DAB显色试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.4 方法 采用免疫组化方法检测。组织标本均经甲醛固定后, 石蜡包埋, 厚切片, 厚度约4 μm。对组织切片进行常规脱蜡、水化, H₂O₂去离子水孵育, 阻断内源性过氧化物酶的干扰。EDTA液高温修复抗原, 自然冷却后, PBS冲洗, 滴加兔抗人CD24单克隆抗体(1:100浓度), 鼠抗人CD44单克隆抗体(1:100浓度), 4℃冰箱孵育过夜。PBS冲洗3次, 每次2 min; 滴加二抗, 37℃孵育20-30 min, PBS冲洗3次, 每次2 min; DAB显色, 苏木精复染, 脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封固。以PBS代替一抗为阴性对照。

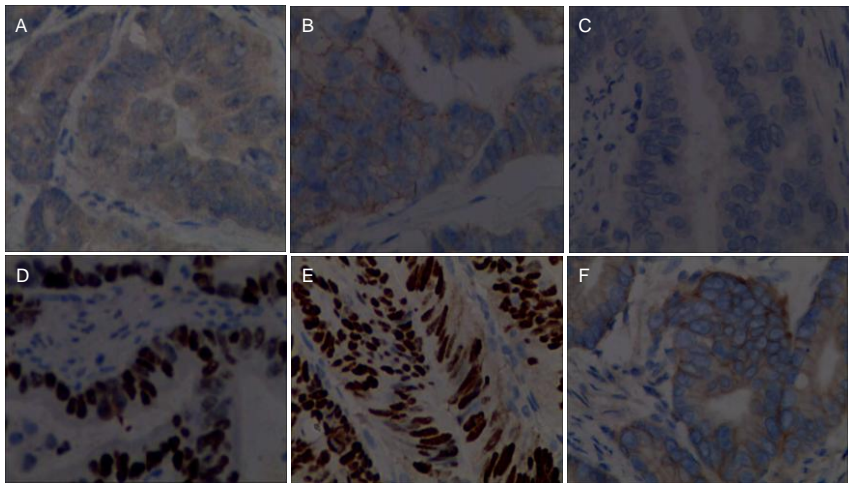


图 1 CD24、CD44 在胃癌组织中的表达(x400)
Figure 1 Expression of CD24 and CD44 in gastric carcinoma (x400)

图注: 图中 A 为 CD24 在胃癌组织中阴性表达; B 为 CD24 在胃癌组织中低表达; C 为 CD24 在胃癌组织中高表达; D 为 CD44 在胃癌组织中阴性表达; E 为 CD44 在胃癌组织中低表达; F 为 CD44 在胃癌组织中高表达。

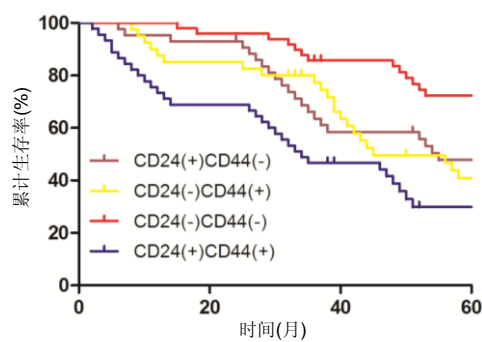


图 2 CD24(+)/CD44(-)组、CD24(-)/CD44(+)组、CD24(-)/CD44(-)组、CD24(+)/CD44(+)组患者生存曲线
Figure 2 Survival curves of the CD24(+)/CD44(-) group, CD24(-)/CD44(+) group, CD24(-)/CD44(-) group, and CD24(+)/CD44(+) group

表 3 胃癌组织中 CD24、CD44 双阳性表达与患者临床病理参数关系的多因素分析

Table 3 Multivariate analysis of the relationship between CD24 and CD44 double positive expression and clinicopathological parameters in gastric cancer

病理参数	标准误	Wald	df	95%CI	P 值
肿瘤大小	0.575	1.566	1	0.182-1.731	0.226
T 分期	0.864	5.159	1	0.191-5.661	0.024
N 分期	0.661	6.026	1	0.163-2.177	0.013
脉管浸润	1.294	1.996	1	0.061-9.701	0.209

表 4 CD24、CD44 表达强度的 Spearman 等级相关分析

Table 4 Spearman rank correlation analysis of CD24 and CD44 expression

CD44 表达(例)	CD24 表达(例)		
	阴性	低表达	高表达
阴性	48	31	22
低表达	24	20	4
高表达	16	3	12

表注: $r=0.020$, $P=0.795$ 。

表 2 胃癌组织中 CD24、CD44 双阳性表达与患者临床病理参数关系的单因素分析

Table 2 Univariate analysis of the relationship between CD24 and CD44 double positive expression in gastric cancer and clinicopathological parameters

临床病理因素	CD24、CD44 共表达		χ^2 值	P 值
	是(n=39)	否(n=151)		
年龄(岁)			0.007	0.932
≥ 60	32	123		
< 60	7	28		
性别(例)			1.106	0.293
男	21	89		
女	18	52		
肿瘤部位(例)			0.816	0.846
上部	2	7		
中部	4	24		
下部	32	117		
≥ 2 区或残胃	1	3		
肿瘤大小(cm)			20.475	0.000
≥ 5	27	45		
< 5	12	106		
WHO 分型(例)			2.816	0.728
乳头状腺癌	2	5		
管状腺癌				
低分化	28	117		
中分化	2	11		
高分化	1	6		
黏液腺癌	1	3		
印戒细胞癌	5	9		
Lauren 分型(例)			3.374	0.066
肠型	24	115		
弥漫型	15	36		
T 分期(例)			25.175	0.000
T1	0	16		
T2	2	36		
T3	8	51		
T4	29	48		
N 分期(例)			25.175	0.019
N0	2	18		
N1	5	42		
N2	13	53		
N3	19	38		
M 分期(例)			1.396	0.237
M0	4	8		
M1	34	143		
脉管浸润(例)			11.223	0.001
有	7	5		
无	32	146		

表 1 CD24、CD44 在正常胃组织、癌旁组织、癌组织的阳性率比较

Table 1 Comparison of positive rates of CD24 and CD44 in normal gastric tissues, precancerous lesions and cancer tissues

来源	CD24				CD44			
	+	-	χ^2 值	P 值	+	-	χ^2 值	P 值
癌组织	92	88	83.913	0.000 ^a	79	101	73.697	0.000 ^d
癌旁组织	13	167	2.723	0.099 ^b	9	171	1.189	0.276 ^e
正常胃组织	6	174	103.698	0.000 ^c	5	175	85.031	0.000 ^f

表注: ^aP: 癌组织与癌旁组织比较, CD24 阳性率差异有显著性意义; ^bP: 癌旁组织与正常胃组织比较, CD24 阳性率差异无显著性意义; ^cP: 癌组织与正常胃组织比较, CD24 阳性率差异有显著性意义; ^dP: 癌组织与癌旁组织比较, CD44 阳性率差异有显著性意义; ^eP: 癌旁组织与正常胃组织比较, CD44 阳性率差异无显著性意义; ^fP: 癌组织与正常胃组织比较, CD44 阳性率差异有显著性意义。

采用半定量积分法判断阳性结果, 以出现棕色颗粒作为阳性标准。染色强度评分: 无染色0分, 浅黄色1分, 棕黄色2分, 棕褐色3分; 高倍镜($\times 400$)下每张切片随机取10个视野, 每个视野计数100个细胞, 计算阳性细胞占同类细胞的百分数: 细胞阳性率分为0, < 25%, 25%–49%, 50%–75%, >75%, 分别计为0, 1, 2, 3, 4分。两者乘积结果0分为“-”, 1–4分为“+”, 5–8分为“++”, 9–12分为“+++”, 将“-”定义为阴性表达, “+”及“++”定义为低表达, “+++”定义为高表达。

1.5 主要观察指标 ①正常胃组织、癌旁组织、癌组织中CD24表达; ②正常胃组织、癌旁组织、癌组织中CD44表达; ③患者临床病理参数, 包括肿瘤部位、WHO分型、T分期、N分期、脉管浸润情况等, 观测CD24与CD44表达与患者临床病理参数的关系; ④患者生存时间及死亡情况, 统计CD24与CD44表达与患者生存时间与病死率之间的关系。

1.6 统计学分析 所有数据分析采用SPSS 20.0软件进行。CD24、CD44在正常胃组织、癌旁组织、癌组织中阳性率的两两比较采用卡方检验。胃癌组织中CD24、CD44双阳性表达与患者临床病理参数关系分析均采用卡方检验与Fisher's确切概率法分析。多因素分析采用logistic风险模型。采用Spearman等级相关检验分析CD24、CD44表达强度的相关性。采用Log-rank检验比较CD24、CD44表达对胃癌患者预后的影响。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果 Results

2.1 CD24、CD44在胃癌组织中的表达 免疫组化检测发现, CD24主要表达于肿瘤细胞的细胞膜及细胞质, 沿腺管基底侧或共壁腺体的共壁侧分布。在180例患者标本中, CD24的阳性表达率为57.5%(92/180), 其中低表达54例, 高表达38例。CD44主要表达于肿瘤细胞的细胞膜, 胞浆内也可见少量表达。在180例患者标本中, CD44的阳性表达率为49.3%(79/180), 其中低表达48例, 高表达31例。二者的共表达率为24.3%(39/180), 双阴率为30.0%(48/180), 见图1。

2.2 CD24、CD44在正常胃组织、癌旁组织、癌组织中的阳性率比较 与癌组织相比, 正常胃组织和癌旁组织CD24、CD44的阳性率均显著较低, 且差异有显著性意义

(P 均 < 0.001); 但癌旁组织与正常胃组织相比, CD24、CD44表达阳性率差异无显著性意义(P 均 > 0.05), 见表1。

2.3 胃癌组织中CD24、CD44双阳性表达与患者临床病理参数关系的单因素分析 单因素分析结果显示, CD24、CD44在胃癌组织中的共表达与胃癌组织大小、T分期、N分期、脉管浸润相关($P < 0.05$), 但与患者年龄、性别、肿瘤部位、WHO病理分型、Lauren分型、M分期无关($P > 0.05$), 见表2。

2.4 胃癌组织中CD24、CD44双阳性表达与患者临床病理参数关系的多因素分析 将上述单因素分析中有意义的指标纳入logistic回归模型进行多因素分析, 结果发现T分期、N分期是影响CD24、CD44在胃癌组织中共表达的独立影响因素, 见表3。

2.5 CD24、CD44表达强度的相关性分析 Spearman等级相关分析结果显示, CD24和CD44的表达强度之间不存在相关关系($r=0.020$, $P=0.795$), 见表4。

2.6 CD24、CD44表达对患者预后的影响 180例患者, 失访17例, 失访率为9.4%。5年内死亡87例, CD24单阳组53例患者, 死亡21例; CD44单阳组40例患者, 死亡23例; 双阴组48例患者, 死亡13例; 双阳组39例患者, 死亡30例。Log-rank统计检验显示, 4组患者的生存率差异有显著性意义($\chi^2=21.72$, $P < 0.001$)。生存分析结果显示, CD24(+)/CD44(+)患者预后最差, CD24(-)/CD44(-)患者预后最好, 见图2。

3 讨论 Discussion

胃癌干细胞研究的意义在于: ①提供了一个新的角度, 重新认识胃癌的起源和本质。干细胞具有自我更新、多向分化的潜能, 在癌组织中, 虽然数量极少, 却在恶性肿瘤的发生、发展、复发和转移中起着重要作用^[12-14]; ②Izumiya等^[15]研究证实, 5-氟尿嘧啶(5-FU)与依托泊苷(VP-16)对胃癌CD44⁺细胞亚群的杀伤力较CD44⁻细胞明显降低。这就部分解释了一些患者即使接受了标准的根治术及术后化疗, 仍然会在短期内出现复发或转移, 提示传统化疗方案对胃癌干细胞的针对性不强^[16-17]。目前, 胃癌干细胞研究处于探索阶段, 寻找特异性的胃癌干细胞标志分子, 分离纯化干细胞, 了解其对胃癌生物学行为的影响, 是所有针对干细胞治疗研究的基础^[18-19]。该研究选取了胃癌干细胞

表面标志物CD24、CD44为研究靶点,对二者进行联合检测,探讨了二者的表达与胃癌生物学行为的关系。

研究结果显示,在180例患者标本中,CD24的阳性表达率为57.5%(92/180),低表达54例,高表达38例。CD44的阳性表达率49.3%(79/180),低表达48例,高表达31例。二者的共表达率为24.3%(39/180),双阴率为30.0%(48/180),二者的阳性率与文献报道近似^[11-20],结果显示CD24、CD44在胃癌组织中均有较高的阳性率。与癌组织相比,正常胃组织和癌旁组织CD24、CD44的阳性率均较低,提示二者表达强度的改变参与了胃黏膜癌变的生物学行为。癌旁组织与正常胃组织相比,CD24、CD44表达阳性率差异无显著性意义,可能与癌旁组织肿瘤负荷较低,CD24、CD44的表达强度也随之较低有关。

单因素分析结果显示,CD24、CD44在胃癌组织中的共表达与胃癌组织大小、T分期、N分期、脉管浸润相关。肿瘤直径大小受肿瘤生长分数、肿瘤血管、肿瘤演进及异质性等因素的共同影响^[21-23]。CD24、CD44作为胃癌干细胞的表面标志物,表达阳性的肿瘤细胞有着更高的生长活性。Stokes等^[24-25]研究发现CD44的高表达与肿瘤血管生成明显相关;CD24则能与层黏蛋白等组织纤维结合,参与细胞间非特异性粘连。以上因素共同作用,相互促进,使CD24、CD44阳性的肿瘤组织直径明显较大^[26-28]。该研究中患者以中晚期为主,多因素分析结果发现,T分期、N分期均是影响CD24、CD44在胃癌组织中共表达的独立性影响因素,由此可知,CD24、CD44的表达与患者分期明显相关,且二者的阳性率越高,分期越晚,可能的原因如下:①CD24、CD44阳性的肿瘤组织直径明显较大。直径越大,突破胃黏膜、向胃壁深层侵犯的可能加大;②CD24、CD44阳性意味着更强大的分化及增殖能力,胃壁各层遍布毛细血管及淋巴管,增殖活性强的肿瘤细胞更易侵入淋巴管,造成淋巴结转移或微转移^[29-30];③CD24、CD44表达与脉管浸润明显相关,通常认为脉管癌栓的发生与胃癌分期具有强相关性,当肿瘤侵犯黏膜下层后就可能侵犯脉管系统^[31-33]。

Spearman等级相关分析结果显示,CD24和CD44的表达强度之间不存在相关关系。对患者进行随访后发现,4组患者的生存率差异有显著性意义。生存曲线显示,CD24(+)/CD44(+)组患者预后最差,CD24(-)/CD44(-)组患者预后最好,研究者认为,这与二者对患者临床病理参数的影响相关。二者的阳性表达与肿瘤大小、T分期、N分期、脉管浸润相关。二者共阳性往往意味着患者的癌肿直径更大,肿瘤负荷更高,临床分期更晚,存在脉管浸润的可能性更高^[34-35]。这些不良因素共同作用,使得CD24(+)/CD44(+)患者预后明显较差。相应地,CD24(-)/CD44(-)患者预后较好。进一步观测CD24与CD44单阳性患者的预后,CD24单阳组、CD44单阳组病死率分别为42.0%与57.5%,CD44单阳组恶性程度可能高于CD24单阳组,但二组生存

分析结果显示差异无显著性意义,均低于CD24(-)/CD44(-)组。研究显示,CD44在多种恶性肿瘤组织中呈高表达^[36],包括结肠癌、小细胞肺癌,其表达高于良性疾病^[37]。杨世斌等^[38]研究显示,CD44阳性组患者生存率显著低于阴性组,但CD24单阳性未显著降低患者的生存率。Bektas等^[39]研究认为CD24阳性可增加患者生存率,提示上述CD24单阳性对患者临床病理特征及预后的影响可能低于CD44单阳性。由于此次研究样本量的限制,未能体现出CD24单阳性与CD44单阳性患者预后的差异,但CD24(+)/CD44(+)明显降低了患者的预后,提示CD24与CD44的同时阳性表达可能通过某种机制形成协同作用,影响胃癌疾病进展及预后,具体结果有待进一步大样本多中心的研究提供更为有力的证据加以证实。

综上所述,CD24、CD44在胃癌组织中有较高的阳性率,且与胃癌的大小、分期、脉管浸润等生物学行为密切相关。二者的共表达是患者预后不良的强烈信号。

作者贡献: 实验设计为韩方征,实验实施参与人员包括韩方征、张潇霖与董唯一,实验评估为谢云亭,资料收集为韩方征与张潇霖。
经费支持: 该文章没有接受任何经费支持。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

机构伦理问题: 该研究的实施符合菏泽市立医院的相关伦理要求(菏泽伦字第20160756)。

知情同意问题: 研究中所用标本来源于2006年4月至2012年4月在菏泽市立医院胃肠外科行手术治疗的胃癌患者。患者在手术前已经签署知情同意,可将标本及疾病特征数据用于相关科学研究。

写作指南: 该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

文章查重: 文章出版前已经过CNKI反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审,符合本刊发稿宗旨。

生物统计学声明: 文章统计学方法已经过山东中西医结合大学生物统计专家审核。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] Takaishi S, Okumura T, Tu S, et al. Identification of gastric cancer stem cells using the cell surface marker CD44. *Stem Cells*. 2009; 27(5):1006-1020.
- [2] Plentz RR, Barat S, Chen X, et al. Notch and wnt-beta catenin pathways as targets of γ -secretase inhibitor IX (GSI) mediated therapy in CD44+ gastric cancer (GC) cells. *J Clin Oncol*. 2016; 34(4):99.
- [3] Chen W, Zhang X, Chu C, et al. Identification of CD44+ cancer stem cells in human gastric cancer. *Hepatogastroenterology*. 2013;60(124):949-954.

- [4] Park JW, Um H, Yang H, et al. Proteogenomic analysis of NCC-S1M, a gastric cancer stem cell-like cell line that responds to anti-PD-1. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;484(3):631-635.
- [5] Miao ZF, Xu H, Xu HM, et al. DLL4 overexpression increases gastric cancer stem/progenitor cell self-renewal ability and correlates with poor clinical outcome via Notch-1 signaling pathway activation. *Cancer Med.* 2017;6(1):245-257.
- [6] Sun M, Zhou W, Zhang YY, et al. CD44+ gastric cancer cells with stemness properties are chemoradioresistant and highly invasive. *Oncol Lett.* 2013;5(6):1793-1798.
- [7] Shitara K, Doi T, Nagano O, et al. Dose-escalation study for the targeting of CD44v+ cancer stem cells by sulfasalazine in patients with advanced gastric cancer (EPOC1205). *Gastric Cancer.* 2017;20(2):341-349.
- [8] Li K, Dan Z, Nie YQ. Gastric cancer stem cells in gastric carcinogenesis, progression, prevention and treatment. *World J Gastroenterol.* 2014;20(18):5420-5426.
- [9] 李禄椿. Notch1信号转导通路对CD44+胃癌细胞生物学特性的影响[D]. 重庆:重庆医科大学, 2014.
- [10] 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):21-28.
- [11] 许峰峰,杨世斌,肖隆斌,等.上皮细胞黏附分子、CD24在胃癌组织的表达及临床意义[J].中华实验外科杂志,2012,29(9):1831-1833.
- [12] Mao J, Fan S, Ma W, et al. Roles of Wnt/ β -catenin signaling in the gastric cancer stem cells proliferation and salinomycin treatment. *Cell Death Dis.* 2014;5:e1039.
- [13] Nishikawa S, Konno M, Hamabe A, et al. Aldehyde dehydrogenase high gastric cancer stem cells are resistant to chemotherapy. *Int J Oncol.* 2013;42(4):1437-1442.
- [14] Yao HJ, Zhang YG, Sun L, et al. The effect of hyaluronic acid functionalized carbon nanotubes loaded with salinomycin on gastric cancer stem cells. *Biomaterials.* 2014;35(33): 9208-9223.
- [15] Izumiya M, Kabashima A, Higuchi H, et al. Chemoresistance is associated with cancer stem cell-like properties and epithelial-to-mesenchymal transition in pancreatic cancer cells. *Anticancer Res.* 2012;32(9):3847-3853.
- [16] 周志华,张建东,徐桂芳,等. 基于克隆形态分选胃癌干细胞及其对氟尿嘧啶敏感性的检测[J].中华胃肠外科杂志,2013,16(4): 376-380.
- [17] 陈军. 胃癌干细胞干性特性及化疗药物对其影响的初步研究[D]. 重庆:第三军医大学, 2013.
- [18] 王佳佳,孙立新,孙力超,等. 人胃癌CD90+干细胞可能影响胃癌的转移和患者的预后[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2013, 20(2): 230-236.
- [19] Samadani AA, Akhavan-Niaki H. Interaction of sonic hedgehog (SHH) pathway with cancer stem cell genes in gastric cancer. *Med Oncol.* 2015;32(3):48.
- [20] 恽艳. 肿瘤干细胞标志Lgr5和CD44在胃癌中的表达及临床病理意义[D]. 苏州:苏州大学,2014.
- [21] Soave A, John LM, Dahlem R, et al. The Impact of Tumor Diameter and Tumor Necrosis on Oncologic Outcomes in Patients With Urothelial Carcinoma of the Bladder Treated With Radical Cystectomy. *Urology.* 2015;86(1):92-98.
- [22] 池植,黄昌明,郑朝辉,等. 肿瘤大小对T3期胃癌患者预后的影响[J]. 中华胃肠外科杂志, 2011, 14(2): 114-116.
- [23] 陆俊,黄昌明,郑朝辉,等. 肿瘤大小对早期胃癌病人预后的影响[J]. 中国实用外科杂志, 2012,32(9):758-761.
- [24] Stokes GN, Shelton JB Jr, Zahn CM, et al. Association of CD44 isoform immunohistochemical expression with myometrial and vascular invasion in endometrioid endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol.* 2002;84(1):58-61.
- [25] Yildiz E, Gokce G, Kilicarslan H, et al. Prognostic value of the expression of Ki-67, CD44 and vascular endothelial growth factor, and microvessel invasion, in renal cell carcinoma. *BJU Int.* 2004; 93(7):1087-1093.
- [26] Wakamatsu Y, Sakamoto N, Oo HZ, et al. Expression of cancer stem cell markers ALDH1, CD44 and CD133 in primary tumor and lymph node metastasis of gastric cancer. *Pathol Int.* 2012;62(2): 112-119.
- [27] Nishikawa S, Konno M, Hamabe A, et al. Surgically resected human tumors reveal the biological significance of the gastric cancer stem cell markers CD44 and CD26. *Oncol Lett.* 2015; 9(5):2361-2367.
- [28] Watanabe T, Okumura T, Hirano K, et al. Circulating tumor cells expressing cancer stem cell marker CD44 as a diagnostic biomarker in patients with gastric cancer. *Oncol Lett.* 2017; 13(1):281-288.
- [29] Arima S, Kunimura T, Date H, et al. Expression of Standard CD44 in Advanced Gastric Cancer: Relationship with Metastasis to Lymph Nodes. *Journal of Physical Chemistry.* 2011; 22(3): 163-169.
- [30] Eom BW, Joo J, Park B, et al. Nomogram Incorporating CD44v6 and Clinicopathological Factors to Predict Lymph Node Metastasis for Early Gastric Cancer. *PLoS One.* 2016; 11(8): e0159424.
- [31] Zhou C, Ji J, Cai Q, et al. MTA2 enhances colony formation and tumor growth of gastric cancer cells through IL-11. *BMC Cancer.* 2015;15:343.
- [32] Müller W, Schneiders A, Heider KH, et al. Expression and prognostic value of the CD44 splicing variants v5 and v6 in gastric cancer. *J Pathol.* 1997;183(2):222-227.
- [33] Lee ES, Kim SH, Lee JY, et al. Radiologist performance in differentiating polypoid early from advanced gastric cancer using specific CT criteria: emphasis on dimpling sign. *AJR Am J Roentgenol.* 2009;193(6):1546-1555.
- [34] Yoon C, Park DJ, Schmidt B, et al. CD44 expression denotes a subpopulation of gastric cancer cells in which Hedgehog signaling promotes chemotherapy resistance. *Clin Cancer Res.* 2014; 20(15):3974-3988.
- [35] Nishikawa S, Konno M, Hamabe A, et al. Surgically resected human tumors reveal the biological significance of the gastric cancer stem cell markers CD44 and CD26. *Oncol Lett.* 2015; 9(5): 2361-2367.
- [36] 陈仕才,宋新明,陈志辉,等.CD133 和 CD44 在结直肠癌细胞中的表达及其与患者5年生存率的相关性分析[J].中国病理生理杂志, 2011,27(5):883-889.
- [37] 金可可,蒋仲荪,陈少贤,等.非小细胞肺癌患者 CD44及其变异体 V6 的测定[J].中国病理生理杂志,2001,17(11):1008-1092.
- [38] 杨世斌,肖隆斌,许峰峰,等. EPCAM、CD44和CD24在胃癌组织中的表达及其临床意义[J].中国病理生理杂志,2012,28(7): 1224-1229.
- [39] Bektas S, Bahadır B, Ucan BH, et al. CD24 and galectin-1 expressions in gastric adenocarcinoma and clinicopathologic significance. *Pathol Oncol Res.* 2010;16(4):569-577.