

# ALCAM 在胃癌中的表达及其与预后的关系

谢尚锦, 蔡仲达, 李智

**[摘要]** 目的 检测 ALCAM 在胃癌组织中表达的情况, 探讨其与临床病理参数的关系及对胃癌预后的临床意义。方法 应用免疫组织化学方法检测 61 例胃癌组织中 ALCAM 的表达情况并分析 ALCAM 与胃癌临床病理特征及预后的关系。结果 ALCAM 在胃癌组织中的阳性表达率明显高于癌旁组织, 癌旁组织未见表达。TNM 分期 III + IV 期、伴淋巴结转移者癌组织中 ALCAM 表达明显高于对应组, 而与患者的年龄、性别、术前 CEA 水平、肿瘤部位、肿瘤大小无关。单因素分析显示术前 TNM 分期、淋巴结转移、分化程度、ALCAM 与胃癌患者总生存期相关; COX 风险模型提示 TNM 分期、淋巴结转移、ALCAM 为胃癌总体生存时间预后的独立危险因素。结论 ALCAM 可能参与胃癌发展的恶性进程, 其高表达提示胃癌患者预后不良。

**[关键词]** 胃肿瘤; 预后; ALCAM 蛋白; 人; 生物标志物; 肿瘤

**Expression of ALCAM in gastric carcinoma and its clinical significance** XIE Shang-jin, CAI Zhong-da, LI Zhi. Department of Surgery, Hospital of Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the expression of ALCAM in gastric carcinoma and its clinical significance. **Methods** The different expression levels of ALCAM protein in gastric carcinoma and peritumoral tissues in 61 gastric carcinoma patients were determined by the immunohistochemistry method, respectively. The clinical significance of ALCAM was further explored. **Results** The ALCAM protein expression was significantly higher in the gastric carcinoma tissues than that in the peritumoral tissues. No ALCAM expression was shown in the peritumoral tissues. Further more, the expression of ALCAM protein in the gastric carcinoma tissues was higher in gastric carcinoma patients with lymph node metastasis, and with TNM stage III-IV and lymph node metastasis. The univariate analysis showed that preoperative TNM stage, lymph node metastasis, degree of differentiation, and the expression of ALCAM were significantly associated with the overall survival of patients with gastric carcinoma. The multivariate analysis showed that TNM stage, lymph node metastasis, and the expression of ALCAM were independent predictors of gastric cancer overall survival. **Conclusion** ALCAM may be involved in the malignant progression of gastric cancer, and the over-expression of ALCAM is associated with poor prognosis.

**[Key words]** Stomach Neoplasms; ALCAM protein, human; Biomarkers; Tumor

活化白细胞黏附分子 (activated leukocyte cell adhesion molecule, ALCAM), 也称 CD166/MEMD, 广泛表达于人白细胞和胸腺上皮细胞, 是免疫球蛋白超家族的成员之一, 可介导细胞与细胞的相互作用(同嗜性和异嗜性黏附作用), 进而参与机体多种病理生理过程。既往的研究显示, 在多种肿瘤组织细胞中 ALCAM 高表达, 与肿瘤发生发展密切相关。但在胃癌中 ALCAM 的研究仍然甚少, 本研究拟通过免疫组织化学检测 ALCAM 在胃癌组织中表达的情况, 探讨其与临床病理参数的关系及对胃癌预后的临床意义。

## 1 对象和方法

[作者单位] 厦门大学医院(福建 厦门 361005)

[作者简介] 谢尚锦(1978-), 男, 福建晋江人, 主治医师, 本科学历, 主要从事外科工作。

[收稿日期] 2016-06-02

**1.1 对象** 选择 2011 年 6 月至 2013 年 9 月在厦门大学医院外科行胃癌根治术且随访资料完整的 61 例原胃癌患者的临床资料进行回顾性分析。所有患者均经病理组织学检测确诊为胃癌病, 手术由同一组外科医生进行。并且已排除其他胃恶性肿瘤及非胃癌原因导致死亡的病历。术后随访内容包括: 电子胃镜、腹部 B 超或 CT、肿瘤标志物等检查。生存时间定义为手术日期至死亡或者末次随访时间, 随访截止时间为 2016 年 5 月 1 日。无病生存时间为从手术日期开始至复发的时间。在随访过程出现影像学检查或者病理组织学明确的新病灶则定义为复发。61 例患者的随访时间为 3~71 个月, 平均随访 35 个月。

**1.2 化疗方案** 术后 4~6 周开始进行术后辅助化疗, 方案按照 NCCN 指南推荐标准剂量进行。在氟尿嘧啶类药物的基础上, 联合铂类及蒽环类药物。化疗方案均为 3 周 1 个疗程, 计划为 6 个疗程。

(下转第 799 页)

(上接封 2)

1.3 实验试剂及结果判定 染色方法采用免疫组化 Elivision 法,严格根据试剂盒操作说明进行。ALCAM 抗体购自美国 Abcam 公司。EliVisionTMplus 试剂盒、内源性生物素阻断试剂盒购于福州迈新生物公司。组织细胞膜或细胞质中出现棕黄色颗粒为阳性显色,用已知的组织切片作阳性对照,以磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为阴性对照。400 倍镜下随机观察每张切片 5 个视野,每个视野计数 100 个细胞,阳性细胞数 < 10%为阴性,≥ 10%为阳性。

1.4 统计学分析 应用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。计数资料率的比较使用  $\chi^2$  检验,小样本率的比较采用 Fisher 精确概率法,计量资料采用 One-way ANOVA 分析;采用 Kaplan-Meier 法分析累积生存率并绘制生存曲线,Log-rank 检验累积生存率的差异性,应用 Cox 比例风险模型进行多因素分析。

## 2 结果

2.1 临床病理参数 61 例胃癌患者中男性 43 例,女性 18 例,男女之比 2.5:1,年龄 30~76 岁,中位年龄 55 岁,术后病理腺癌 54 例,其他:黏液腺癌 5 例,印戒细胞癌 2 例;高-中分化 19 例,低分化-未分化 42 例;近端(贲门、胃底)胃癌 22 例,中部(胃体)胃癌 14 例,远端(胃窦)胃癌 25 例。根据第 7 版 A-JCC/UICC 的 TNM 分期系统进行分期, I 期 4 例; II 期 17 例; III 期 38 例; IV 期 2 例。

2.2 ALCAM 在胃癌组织和癌旁组织中的表达 免疫组化染色结果显示胃癌组织细胞膜及细胞浆中 ALCAM 明显表达,呈棕黄色(图 1,封 3),癌旁组织 ALCAM 呈阴性表达(图 2,封 3),其他位置未见染色。47.5%(29/61)胃癌组织呈阳性表达,52.5%(32/61)呈阴性表达。癌组织与癌旁组织 CD88 表达差异有统计学意义。

2.3 ALCAM 与胃癌病理参数的关系 TNM 分期及是否伴有淋巴结转移与 ALCAM 的表达相关,伴淋巴结转移、TNM 分期为 + 期的患者癌组织中 ALCAM 表达明显高于对应组( $P < 0.05$ ,表 1),而性别、年龄、术前 CEA 水平、肿瘤部位、肿瘤大小、分化程度、病理类型与其无关。

2.4 影响胃癌总生存时间的单因素及多因素分析 单因素分析显示术前 TNM 分期( $P < 0.01$ )、淋巴结转移( $P < 0.01$ )、分化程度( $P = 0.047$ )、ALCAM( $P < 0.01$ )与胃癌患者总生存期相关,性别( $P = 0.208$ )、肿瘤大小( $P = 0.095$ )、肿瘤部位( $P = 0.188$ )、病理类型( $P = 0.820$ )、术前 CEA 水平( $P = 0.306$ )与总生存期无关。术前 TNM 分期更晚、伴淋巴结转移、ALCAM 阳性的患者预后更

差。将单因素分析有意义的相关因素:TNM 分期、淋巴结转移、分化程度、ALCAM,进行 COX 风险模型分析。因为 TNM 分期与淋巴结转移有关,因此将他们分别放入不同 COX 风险模型进行分析。结果显示,TNM 分期(图 3)、淋巴结转移、ALCAM(图 4)为胃癌总体生存时间预后的独立危险因素(表 2)。但是肿瘤分化程度并不是胃癌患者预后的独立危险因素。

表 1 ALCAM 的表达情况与胃癌病理参数的关系

临床病理因素	例数	阳性(n=29)	阴性(n=32)	$\chi^2$ 值	P 值
年龄(岁)					
< 55	32	17	15	0.842	0.359
≥ 55	29	12	17		
性别					
男	43	20	23	0.062	0.804
女	18	9	9		
部位					
近端	22	11	11		
中部	14	7	7	0.213	0.899
远端	25	11	14		
CEA					
≤ 10 μg/mL	54	25	29	0.292	0.699
> 10 μg/mL	7	4	3		
肿瘤大小					
≤ 5 cm	39	17	22	0.677	0.411
> 5 cm	25	12	10		
病理					
腺癌	54	25	29	0.292	0.589
其他	7	4	3		
淋巴结转移					
是	17	14	3	11.452	0.001
否	44	15	29		
分化					
高-中分化	19	7	12	1.267	0.260
低-未分化	42	22	20		
TNM 分期					
I+II	21	3	18	14.201	< 0.01
III+IV	40	26	14		

注: TNM, Tumor-Node-Metastasis; ALCAM, Activated leukocyte Cell Adhesion molecule; CEA, carcino-embryonic antigen.

## 3 讨论

ALCAM 亦称 CD166/MEMD,其配基为淋巴细胞抗原 CD6,是免疫球蛋白超家族中的一员,广泛表达在包括:活化的 B, T 细胞、成骨细胞系、神经纤维、黑色素细胞、胸腺上皮细胞、间叶祖细胞、骨髓等组织细胞。ALCAM 既可以同型之间相结合作用(同嗜性黏附),也可与 CD6、NgCAM 等蛋白结合(异嗜性黏附),参与包括免疫应答、胸腺发育、造血发生、神经细胞的迁移和成骨作用等生理过程<sup>[1,2]</sup>。

对于 ALCAM 在肿瘤中的表达,既往研究发现,ALCAM 在皮肤黑色素瘤、结肠癌、乳腺癌、卵巢癌、

表2 胃癌患者术后总生存时间的单因素和多因素分析

临床病理因素	例数	生存率(%)		多因素	
		3~年	5~年	单因素 P值	相对危险度(95%可信区间) P值
<b>年龄(岁)</b>					
<55	32	40.6	21.9	0.055	
≥55	29	58.6	35.7		
<b>性别</b>					
男	43	53.5	33.8	0.208	
女	18	38.9	16.7		
<b>部位</b>					
贲门	22	50.0	18.2	0.188	
胃体	14	35.7	21.4		
幽门	25	56.0	43.4		
<b>CEA</b>					
≤10μg/mL	54	48.1	25.9	0.306	
>10μg/mL	7	57.1	28.7		
<b>肿瘤大小</b>					
≤5 cm	39	50.0	29.2	0.095	
>5 m	25	38.1	5.7		
<b>病理</b>					
腺癌	54	50.0	29.0	0.820	
其他	7	28.6	0		
<b>淋巴结转移</b>					
是	17	74.9	40.6	<0.01	2.253(1.052~4.823)
否	44	31.0	17.0		
<b>分化程度</b>					
高分化	19	42.9	22.2	0.047	
中-低分化	42	48.4	31.0		
<b>TNM分期</b>					
I+II	21	76.2	61.2	<0.01	2.876(1.408~5.871)
III+IV	40	35.0	11.1		
<b>ALCAM</b>					
阳性	29	27.6	12.4	<0.01	2.555(1.352~4.828)
阴性	32	68.8	43.3		

注: TNM, Tumor-Node-Metastasis; ALCAM, Activated leukocyte Cell Adhesion molecule; CEA, carcino-embryonic antigen.

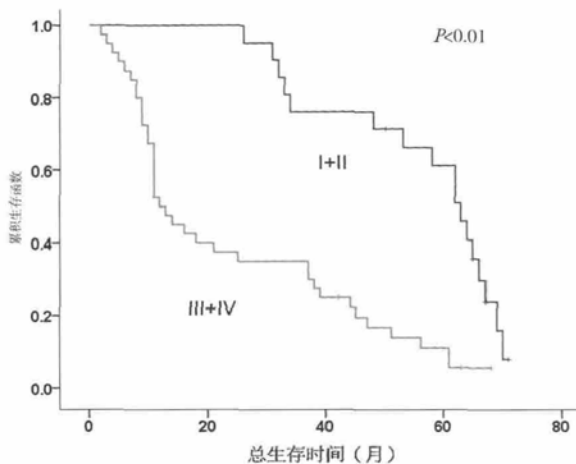


图3 TNM分期与胃癌总生存时间的关系

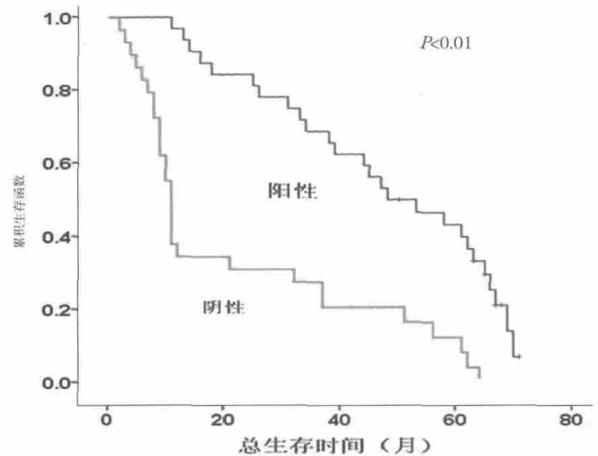


图4 ALCAM表达与胃癌总生存时间的关系

前列腺癌和肝癌等多种恶性肿瘤组织中高表达<sup>[3-5]</sup>。Tachezy 等人采用免疫组化法检测结直肠癌组织中 ALCAM 的蛋白表达,结果显示:在结肠腺瘤胞质存在 ALCAM 蛋白阳性表达,并且与结直肠癌的总体生存率相关<sup>[6]</sup>。Weichert 等人对直肠癌患者的研究显示<sup>[7]</sup>,ALCAM 在癌组织胞质及胞膜均呈强阳性表达;并且在胞膜的表达与患者较短的生存时间显著相关。Kristiansen 等<sup>[8]</sup>报道,前列腺癌组织在胞质和胞膜上 ALCAM 蛋白表达上调。但是,最近也有研究表明,ALCAM 低表达与高级别的前列腺癌相关,并影响前列腺癌的复发<sup>[9]</sup>。对非小细胞肺癌(NSCLC)研究结果显示,膜高表达与较短的总生存时间相关;并且在体外,沉默 ALCAM 的表达可显著抑制 NSCLC 细胞浸润和迁移。因此 ALCAM 的过度表达可能参与 NSCLC 的恶性转化<sup>[4]</sup>,这与俞鹏翼等人的研究结果一致<sup>[10]</sup>。Verma 等人研究发现,在食管癌患者中 ALCAM mRNA 和蛋白均可过度表达,且蛋白过度表达与临床分期、淋巴结转移及较高的侵袭性有关<sup>[11]</sup>。

对于 ALCAM 在胃癌中的研究,Shigami 等<sup>[12]</sup>对 142 例胃癌组织进行免疫组化检测发现,ALCAM 在胞浆和胞膜的表达率分别是 25.4%、34.4%,胞膜及胞质表达均与淋巴结转移和血管浸润相关。且 ALCAM 胞膜阳性表达组中位生存期较阴性组短,预后更差,这可能提示 ALCAM 胞膜蛋白表达与胃癌的侵袭转移和预后有关。这与国内余丹纯等人<sup>[13]</sup>及周志威等人<sup>[14]</sup>的研究结果一致,他们的研究均显示,ALCAM 在胃癌组织中高表达,并且与淋巴结转移相关。但是在这 2 个研究中,均未进一步探讨 ALCAM 与胃癌患者预后的关系。

对于 ALCAM 促进肿瘤侵袭转移的机制,目前仍不完全清楚。Lunter 等<sup>[15]</sup>证实恶性肿瘤的生长常常伴

(下转封3)

(上接第 800 页)

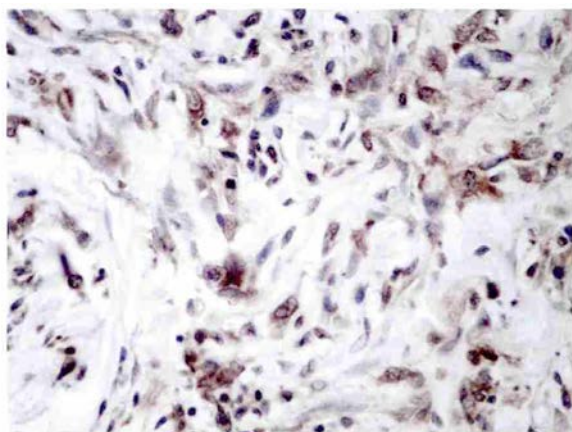


图 1 ALCAM在胃癌组织中的表达 (Elivision, × 400)

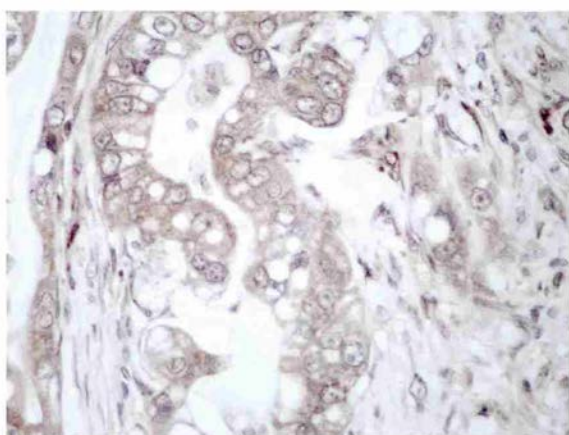


图 2 ALCAM在癌旁组织中的表达 (Elivision × 400)

有 MMP 激活和蛋白水解 ALCAM 参与肿瘤的侵袭可能是通过调控 MT1-MMP 的表达, 进而影响前 MMP-2 向 MMP-2 的转变。另一方面, ALCAM 在 T 细胞中的作用也得到广泛的研究。Zimmerman 等人<sup>[16]</sup> 研究显示, 在 T 细胞增殖过程中, 需要 ALCAM 阳性树突细胞与 CD6 阳性 T 细胞的长期接触。在免疫突触的中心, CD6 与 ALCAM 共定位于 T 细胞受体复合物。ALCAM 的共同刺激作用参与 T 细胞活化过程, 表明 ALCAM 可能参与其抗肿瘤的免疫反应。

本研究显示胃癌组织 ALCAM 明显表达, 癌组织与癌旁组织 ALCAM 表达差异有统计学意义。ALCAM 表达与 TNM 分期、淋巴结转移明显相关, 而与患者的年龄、性别、术前 CEA 水平、肿瘤部位、肿瘤大小、病理类型、分化程度无关。单因素分析显示术前 TNM 分期、淋巴结转移、分化程度、ALCAM 与胃癌患者生存时间相关, 而性别、肿瘤大小、肿瘤部位、年龄、病理类型、术前 CEA 水平与生存时间无关。TNM 分期更晚、伴有淋巴结转移、ALCAM 阳性的患者更容易出现肿瘤进展。TNM 分期、淋巴结转移、ALCAM 为胃癌总体生存时间预后的独立危险因素。但是分化程度并不是胃癌患者预后的独立危险因

素。由此提示, 在胃癌的发生发展过程中, ALCAM 可能起重要作用。

综上所述, ALCAM 在胃癌组织中高表达, 可能参与胃癌发展的恶性进程, 其高表达提示胃癌患者预后不良。

## [ 参考文献 ]

- [1] 钟立, 张秉强. 活化白细胞黏附分子与肿瘤[J]. 黑龙江医学, 2014, 38(7): 745-747.
- [2] Maurizi G, Rendina EA. Bronchovascular reconstructions for lung-cancer: improvements over time[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2016, 49(1): 306-307.
- [3] 庄建良, 柯少迎, 潘群雄, 等. ALCAM 基因在肝癌中的表达及其临床意义[J]. 肿瘤学杂志, 2009, 15(8): 746-749.
- [4] Ishiguro F, Murakami H, Mizuno T, et al. Membrane expression of activated leukocyte adhesion molecule contributes to poor prognosis and malignant phenotypes of non-small-cell lung cancer[J]. Surg Res, 2013, 179(1): 24-32.
- [5] Kristiansen G, Pilarsky C, Wissmann C, et al. Expression profiling of microdissected matched prostate cancer samples reveals CD 166/MEMD and CD 24 as new prognostic markers for patient survival[J]. J Pathol, 2005, 205(3): 359-376.
- [6] Tachezy M, Zander H, Gebauer F, et al. Activated leukocyte cell adhesion molecule (CD166)—its prognostic power for colorectal cancer patients[J]. J Surg Res, 2012, 177(1): e15-e20.
- [7] Weichert W, Knösel T, Bellach J, et al. ALCAM/CD166 is overexpressed in colorectal carcinoma and correlates with shortened patient survival[J]. J Clin Pathol, 2004, 57(11): 1160-1164.
- [8] Kristiansen G, Pilarsky C, Wissmann C, et al. Expression profiling of microdissected matched prostate cancer samples reveals CD166/MEMD and CD24 as new prognostic markers for patient survival[J]. J Pathol, 2005, 205(3): 359-376.
- [9] Minner S, Kraetzig F, Tachezy M, et al. Low activated leukocyte cell adhesion molecule expression is associated with advanced tumor stage and early prostate-specific antigen relapse in prostate cancer[J]. Hum Pathol, 2011, 42(12): 1946-1952.
- [10] 俞鹏翼, 王中林, 张晓霞, 等. 活化白细胞黏附分子、癌胚抗原相关细胞黏附分子在非小细胞肺癌组织中的表达及对预后影响[J]. 临床荟萃, 2015, 30(8): 870-874.
- [11] Sawhney M, Matta A, Macha MA, et al. Cytoplasmic accumulation of activated leukocyte cell adhesion molecule is a predictor of disease progression and reduced survival in oral cancer patients[J]. Int J Cancer, 2009, 124(9): 2098-2105.
- [12] Ishigami S, Jeno S, Arigami T, et al. Clinical implication of CD166 expression in gastric cancer[J]. J Surg Oncol, 2011, 103(1): 57-61.
- [13] 余丹纯, 聂玉强, 周永健. 胃癌组织活化白细胞黏附分子的表达及其与临床病理的相关性[J]. 中华生物医学工程杂志, 2010, 16(4): 371-374.
- [14] 周志威, 聂玉强, 杜艳蕾, 等. 活化白细胞黏附分子在胃癌组织中的表达及其调控机制[J]. 广东医学, 2013, 34(18): 2784-2787.
- [15] Lunter PC, van Kilsdonk JW, van Beek H, et al. Activated leukocyte cell adhesion molecule (ALCAM /CD166 /MEMD), a novel factor in invasive growth, controls matrix metalloproteinase activity[J]. Cancer Res, 2005, 65 (19): 8801-8808.
- [16] Zimmerman AW, Joosten B, Torensma R, et al. Long-term engagement of CD6 and ALCAM is essential for T-cell proliferation induced by dendritic cells[J]. Blood, 2006, 107(8): 3212-3220.

[编辑] 林敬德