

CD47 在非小细胞肺癌中的表达及意义

焦 婷, 李晓丽

(河北大学附属医院, 河北省肿瘤放疗化疗机制与规程研究重点实验室, 河北 保定 071000)

摘要: [目的] 通过检测 CD47 在非小细胞肺癌中的表达, 了解 CD47 在非小细胞肺癌表达的意义及其与预后的相关性。[方法] 采用免疫组化 EnvisionTMplus 法检测 52 例非小细胞肺癌患者癌及癌旁组织中 CD47 的表达, 分析 CD47 与非小细胞肺癌患者临床病理参数及预后的关系。[结果] CD47 在非小细胞肺癌及癌旁组织中表达阳性率分别为 80.8%(42/52), 34.6%(18/52), 癌组织 CD47 阳性率明显高于癌旁组织($P<0.05$)。CD47 与非小细胞肺癌患者的临床分期、淋巴结转移相关($P<0.05$)。CD47 阳性患者术后 3 年总体生存率低于阴性患者($\chi^2=4.314$, $P=0.038$)。[结论] CD47 与非小细胞肺癌侵袭、转移和预后密切相关, 有可能成为非小细胞肺癌的参考指标。

关键词: 非小细胞肺癌; CD47; 淋巴结转移

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2019)09-0779-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.09.B003

Expression and Significance of CD47 in Non-Small Cell Lung Cancer

JIAO Ting, LI Xiao-li

(Affiliated Hospital of Hebei University; Hebei Key Laboratory of Cancer Radiotherapy and Chemotherapy, Baoding 071000, China)

Abstract: [Objective] To investigate the expression of CD47 in non-small cell lung cancer(NSCLC) and its correlation with prognosis of patients. [Methods] Immunohistochemical envision TM plus method was used to detect the expression of CD47 in lung cancer tissues and periacancerous tissues of 52 patients with NSCLC. The relationship of CD47 with clinicopathological parameters and prognosis of NSCLC patients was analyzed. [Results] The positive rate of CD47 expression in cancer tissue and adjacent tissues was 80.8%(42/52) and 34.6%(18/52), respectively ($P<0.05$). CD47 expression was correlated with clinical stage, lymph node metastasis and distant metastasis in NSCLC patients ($P<0.05$). The overall survival rate of patients with CD47 positive expression was significantly lower than that of those with negative CD47 expression ($\chi^2=4.314$, $P=0.038$). [Conclusion] The expression of CD47 is closely related to the invasion, metastasis and prognosis of NSCLC, which may be used as a reference index for NSCLC patients.

Subject words: non-small cell lung cancer; CD47; lymph node metastasis

肺癌是一种常见恶性肿瘤, 约 85% 为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)。NSCLC 常常发现较晚, 多数患者就诊时已到中晚期, 失去手术机会。一些生物学标志物与肿瘤的发生发展密切相关。整合素相关蛋白(integrin associated protein, CD47) 能够与相应受体结合从而促进细胞趋化、黏附及迁移, 是一种多功能糖蛋白。CD47 是具有吞噬

作用的负性调节因子, 与肿瘤侵袭、转移密切相关^[1]。本研究通过检测 CD47 在非小细胞肺癌中的表达, 分析 CD47 表达与非小细胞肺癌患者临床特征及预后的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集我院 2013 年 8 月至 2015 年 10 月行手术切除的非小细胞肺癌标本 52 例, 其中男性 29 例, 女

通信作者: 李晓丽, 主治医师, 本科; 河北大学附属医院肿瘤内科, 河北省保定市东风东路 648 号(071000); E-mail: lixiaolibao@126.com

收稿日期: 2019-01-07; **修回日期:** 2019-04-17

性 23 例,年龄 40~76 岁,平均年龄 61.7 岁。临床分期 I~II 期 28 例, III~IV 期 24 例;淋巴结转移 32 例,无淋巴结转移 20 例。所有患者术前均未行放疗、化疗等治疗。取距肺癌约 3cm 处正常肺组织作为对照。

1.2 研究方法

EnvisionTMplus 法免疫组化染色。10%福尔马林固定标本,常规石蜡包埋,4μm 厚度连续切片。兔抗人单克隆抗体购自 Sigma 公司。

结果判定: 由我院两位高年资的病理医师行双盲法分别判读。CD47 表达半定量法判读:按染色强度和区域分为 4 个等级:0 分为细胞无染色,1 分为细胞膜弱阳性,2 分为染色超过细胞膜或细胞质 1/3; 3 分为细胞膜染色强阳性或染色超过 2/3 的细胞膜或细胞质。结果判定:0 分为阴性,1~3 分为阳性^[2]。

1.3 随访

采用主动随访及电话随访。患者生存时间起点为手术时间,终点为死亡或者最近一次随访时间。随访截至日期为 2018 年 10 月 20 日,无失访患者。

1.4 统计学处理

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件。采用 χ^2 检验行计数资料比较,如果某一理论数 $1 < T \leq 5$,采用连续性校正 χ^2 。采用 Kaplan-Meier 法进行生存分析,并进行 Log-rank 检验。多因素分析采用 Cox 比例风险回归模型。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

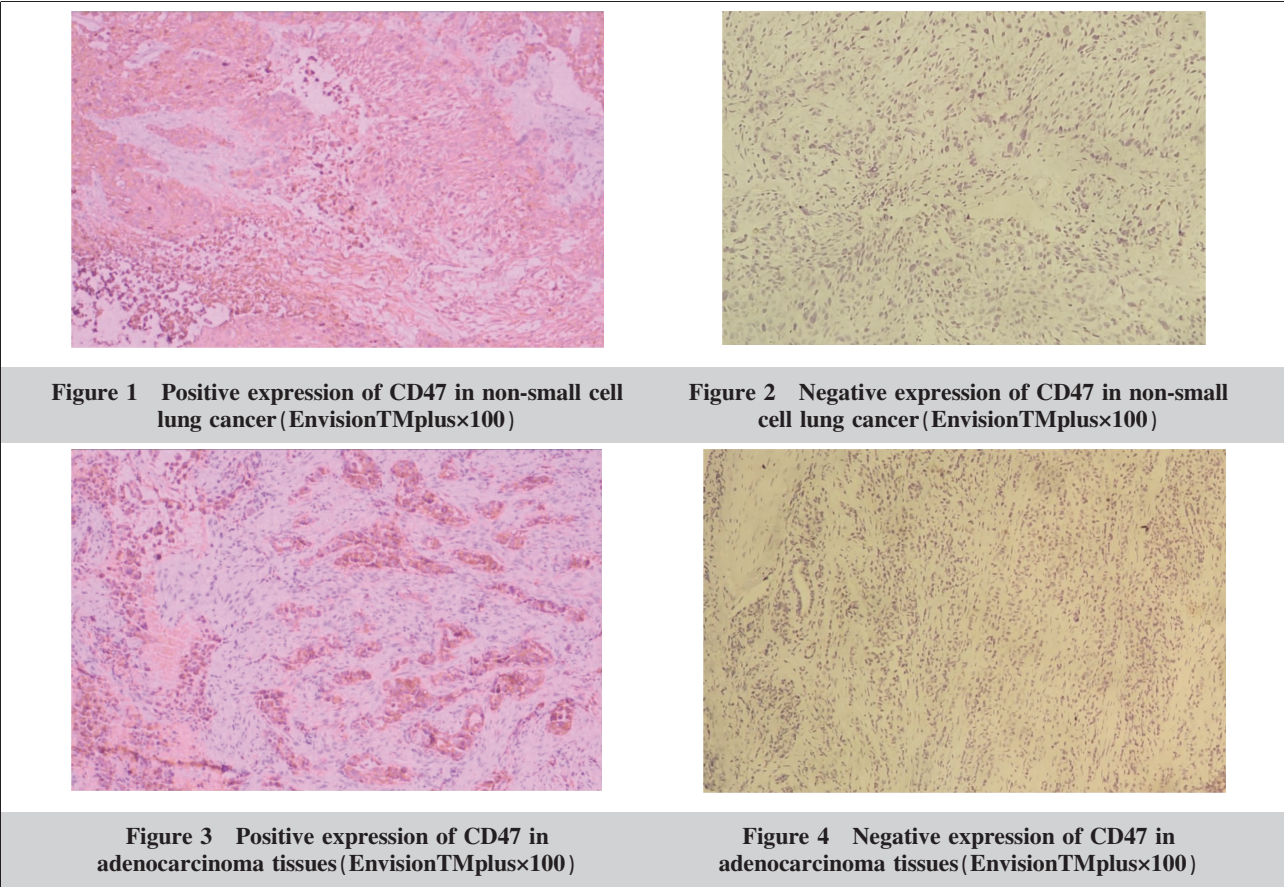
2 结 果

2.1 CD47 在非小细胞肺癌组织和癌旁组织中的表达

CD47 主要在细胞膜和胞质表达,呈黄色或棕黄色颗粒。CD47 在癌组织和癌旁组织中的阳性率分别为 80.8%(42/52)、34.6%(18/52),癌组织阳性率明显高于癌旁组织($\chi^2=22.69, P < 0.01$)(Table 1, Figure1~4)。

Table 1 The expression of CD47 in non-small cell lung cancer tissues and adjacent noncancerous tissues

Type	N	CD47		χ^2	P
		-	+		
Lung cancer	52	10	42	22.69	<0.01
Adjacent to carcinoma	52	34	18		



2.2 CD47 表达与非小细胞肺癌临床病理参数关系

非小细胞肺癌患者中,CD47 阳性与年龄、性别、肿瘤亚型及分化程度无相关性($P>0.05$),而与临床分期、淋巴结转移相关($P<0.05$)。CD47 在非小细胞肺癌Ⅲ~Ⅳ期的阳性率显著性高于Ⅰ~Ⅱ期,有淋巴结转移组高于无淋巴结转移组(Table 2)。

2.3 CD47 表达与预后

全组患者中位生存时间 25 个月 (95%CI:22 个月~28 个月)(Figure 5)。CD47 阳性与阴性患者 3 年累积生存率分别为 38.1%和 80.7%,CD47 阳性术后生存时间较阴性患者短($\chi^2=4.314, P=0.038$)(Figure 6)。Cox 比例风险回归模型的多因素分析显示:肿瘤的临床分期、淋巴结转移和 CD47 是患者预后不良的独立预后因素(Table 3)。

3 讨论

信号调节蛋白 α (signal regulatory protein α , SIRP α) 是一种包括 SH2 结构域的磷酸酶 1 和磷酸酶 2 的跨膜蛋白 [3]。CD47 是 SIRP α 的配体,在恶性肿瘤细胞中 CD47 表达升高。肿瘤细胞通过高表达 CD47 和 SIRP α 相互作用,促进 SIRP α 胞质区的酪氨酸磷酸化减弱巨噬细胞的吞噬作用来逃避免疫监视 [4]。Koh E 等 [5] 研究表明,CD47 过表达可促进小鼠模型人恶性肿瘤细胞的转移。Sosale NG 等 [6] 发现,

Table 2 The expression of CD47 in different clinical pathological parameters of NSCLC

Clinical parameters	N	CD47		χ^2	P
		-	+		
Age(years old)				0.090	0.764
≤60	21	4	18		
>60	31	6	24		
Gender				0.027	0.869
Male	29	4	19		
Female	23	6	23		
Histological type				0.047	0.828
Squamous cell carcinoma	27	6	21		
Adenocarcinoma	25	4	21		
Differentiated degree				0.013	0.910
High-middle	33	7	26		
Low	19	3	16		
Clinical stages				4.835	0.028
Ⅰ~Ⅱ	28	9	19		
Ⅲ~Ⅳ	24	1	23		
Lymph node metastasis				5.421	0.020
No	20	8	14		
Yes	32	2	28		

Table 3 Multivariate analysis of factors associated with PFS in NSCLC

Features	B	SE	Wald	df	P	OR	95%CI
Age	0.868	0.520	2.787	1	0.095	2.382	0.860~6.602
Gender	-0.554	0.434	1.631	1	0.202	0.574	0.245~1.345
Histological type	0.587	0.552	1.129	1	0.288	1.798	0.609~5.309
Differentiated degree	-0.953	0.687	1.923	1	0.166	0.386	0.100~1.483
Clinical stages	-3.040	0.798	14.507	1	0.000	0.048	0.010~0.229
Lymph node metastasis	1.809	0.799	5.124	1	0.024	6.104	1.275~29.233
CD47	2.291	0.835	7.532	1	0.006	9.887	1.925~50.782

慢病毒载体上的 CD47 提高肿瘤细胞的迁移并降低肺癌肿瘤巨噬细胞介导的清除率。Fu W 等 [7] 研究发现 CD47 高表达抑制黑色素瘤患者的免疫应答并提

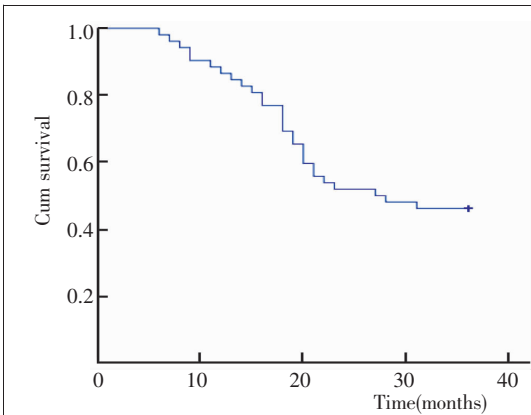


Figure 5 Survival curve of patients with NSCLC

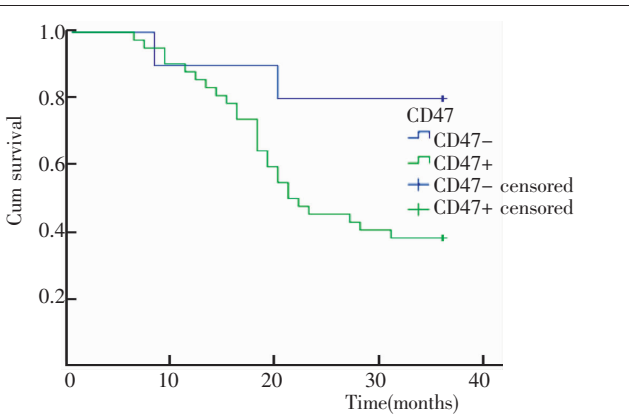


Figure 6 Survival curve of patients with positive and negative expression of CD47

示不良预后。Li Y 等^[8]发现 CD47 高表达促进高级别浆液性卵巢癌的侵袭和不良预后。

抗 CD47 抗体疗法抑制肿瘤生长和转移。抗 CD47 抗体能够抑制小鼠肺癌模型人小细胞肺癌的生长^[9]。Zhang M 等^[10]发现抗 CD47 抗体通过激活 M1 型和 M2 型巨噬细胞增强胶质母细胞瘤的吞噬作用并促进 M1 型巨噬细胞的激活；在体外单独或与肿瘤抗原的单克隆抗体联合使用阻断 CD47, 能够促进巨噬细胞的吞噬作用, 如非霍奇金淋巴瘤细胞、结肠直肠癌干细胞和乳腺癌细胞等。抗 CD47 抗体联合其他疗法在治疗肿瘤上有协同作用。Lo J 等^[11]发现抗 CD47 抗体抑制肿瘤生长并增强化学治疗在肝细胞癌中的作用。Tao H 等^[12]研究发现抗 CD47 处理能够增强动物模型肿瘤组织的促炎症反应和增加 CD8⁺ T 细胞浸润, 使经过抗 CD47 处理肿瘤的 T 细胞能够更高地表达程序性死亡受体-1 (Programmed death receptor-1, PD-1) 和 T 细胞表面受体细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4, CTLA-4), 表明 T 细胞激活和将抗 CD47 与抗 PD-1 和 CTLA-4 组合, 能够显示出很好的抗肿瘤效应。

本实验结果显示, CD47 在非小细胞肺癌组织阳性率显著性高于癌旁组织, 与患者的临床分期、淋巴结转移密切相关, 提示 CD47 可能在非小细胞肺癌的侵袭、转移过程中发挥重要作用。随访结果分析发现, CD47 阳性术后生存时间较 CD47 阴性患者明显缩短, 提示 CD47 表达与非小细胞肺癌患者预后相关。

综上所述, CD47 在非小细胞肺癌的发生发展中起着重要作用, 与患者预后密切关联。CD47 有可能成为非小细胞肺癌的新标志物, 为非小细胞肺癌的诊治和评估预后提供新的方向。

参考文献:

- [1] Willingham SB, Volkmer JP, Gentles AJ, et al. The CD47-signal regulatory protein alpha (SIRP α) interaction is a therapeutic target for human solid tumors[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, 109 (17): 6662-6667.
- [2] Chen T, Wang W, Cheng K, et al. Expression and significance of CD47 in breast cancer and adjacent tissues [J]. *Southeast Defense Medicine*, 2018, 20(5): 501-505. [陈涛, 王璇, 程凯, 等. CD47 在乳腺癌及癌旁组织中的表达及其意义[J]. *东南国防医药*, 2018, 20(5): 501-505.]
- [3] Kharitonov A, Chen Z, Sures I, et al. A family of proteins that inhibit signalling through tyrosine kinase receptors[J]. *Nature*, 1997, 386(6621): 181-186.
- [4] Yang W, Zhang ZH, Zhang PF. CD47 molecule and antitumor immunity[J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2018, 34(3): 262-266. [杨赞, 张子恒, 张鹏飞. CD47 分子与抗肿瘤免疫[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2018, 34(3): 262-266.]
- [5] Koh E, Lee EJ, Nam G, et al. Exosome-SIRP α , a CD47 blockade increases cancer cell phagocytosis[J]. *Biomaterials*, 2017, 121: 121-129.
- [6] Sosale NG, Ivanovska II, Tsai RK, et al. "Marker of Self" CD47 on lentiviral vectors decreases macrophage-mediated clearance and increases delivery to SIRP α -expressing lung carcinoma tumors [J]. *Molecular Therapy-Methods & Clinical Development*, 2016, 3: 16080.
- [7] Fu W, Li J, Zhang W, et al. High expression of CD47 predicts adverse prognosis in Chinese patients and suppresses immune response in melanoma[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 93: 1190-1196.
- [8] Li Y, Lu S, Xu Y, et al. Overexpression of CD47 predicts poor prognosis and promotes cancer cell invasion in high-grade serous ovarian carcinoma[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(6): 2901-2910.
- [9] Weiskopf K, Jahchan NS, Schnorr PJ, et al. CD47-blocking immunotherapies stimulate macrophage-mediated destruction of small-cell lung cancer[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2016, 126(7): 2610-2620.
- [10] Zhang M, Hutter G, Kahn SA, et al. Anti-CD47 treatment stimulates phagocytosis of glioblastoma by M1 and M2 polarized macrophages and promotes M1 polarized macrophages in vivo[J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e153550.
- [11] Lo J, Lau EYT, So FTY, et al. Anti-CD47 antibody suppresses tumour growth and augments the effect of chemotherapy treatment in hepatocellular carcinoma[J]. *Liver International*, 2016, 36(5): 737-745.
- [12] Tao H, Qian P, Wang F, et al. Targeting CD47 enhances the efficacy of anti-PD-1 and CTLA-4 in an esophageal squamous cell cancer preclinical model[J]. *Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics*, 2017, 25(9): 1579-1587.