

CD44和MMP-9在RCC中的表达和CTC分类呈正相关

朱延杰^{1*}, 贺少菲^{2*}, 柴佳³, 刘一雄⁴, 彭阳^{3#}, 马静^{4#}

¹空军军医大学基础医学院, 陕西 西安

²陕西中医药大学医学技术学院, 陕西 咸阳

³陕西省空军军医大学西京医院病理科, 陕西 西安

⁴陕西省空军军医大学基础医学院病理学教研室, 陕西 西安

收稿日期: 2023年12月8日; 录用日期: 2024年1月2日; 发布日期: 2024年1月10日

摘要

肾细胞癌(RCC)是所有泌尿生殖系统癌中最常见的恶性肿瘤类型, 其发病率迅速上升。在此, 我们研究了CD44和MMP-9在肾细胞癌(RCC)中的表达与患者的临床病理特征以及循环肿瘤细胞(CTC)之间的关系。共鉴定出114例肿瘤和非瘤性肾组织样本。我们回顾了现有的临床记录。采用免疫组化方法检测104例RCC标本和10例非瘤性肾组织标本中CD44和MMP-9的表达。采用阳性富集法进行CTC试验和分类。我们发现MMP-9和CD44的阳性表达率分别为69.2%和65%。肾细胞癌患者的发病率分别高于正常肾组织患者($P < 0.05$)。MMP-9和CD44的表达与WHO/ISUP核仁分级相关($P < 0.05$)。CTC阳性患者中MMP-9和CD44阳性的阳性表达率(分别为60.6%和57.7%)显著高于CTC阴性患者(8.7%和7.7%; $P < 0.05$)。间充质型CTC患者RCC中MMP-9和CD44的阳性表达率高于混合型和上皮型CTC患者。综上所述, MMP-9和CD44过表达与肾细胞癌的病理分级、CTC数量和分类相关, 提示它们可能是潜在的预后因素, 成为RCC患者新的潜在治疗靶点。

关键词

肾细胞癌, CD44, MMP-9, CTC, 预后

The Expression of CD44 and MMP-9 in RCC Is Positively Correlated with CTC Classification

Yanjie Zhu^{1*}, Shaofei He^{2*}, Jia Chai³, Yixiong Liu⁴, Yang Peng^{3#}, Jing Ma^{4#}

*共第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 朱延杰, 贺少菲, 柴佳, 刘一雄, 彭阳, 马静. CD44 和 MMP-9 在 RCC 中的表达和 CTC 分类呈正相关[J]. 临床医学进展, 2024, 14(1): 363-372. DOI: 10.12677/acm.2024.141053

¹School of Basic Medicine, Air Force Medical University, Xi'an Shaanxi

²School of Medical Technology, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang Shaanxi

³Department of Pathology, Xijing Hospital, Air Force Medical University, Xi'an Shaanxi

⁴Department of Pathology, School of Basic Medicine, Air Force Medical University, Xi'an Shaanxi

Received: Dec. 8th, 2023; accepted: Jan. 2nd, 2024; published: Jan. 10th, 2024

Abstract

Renal cell carcinoma (RCC) is the most common malignant tumor type of all genitourinary cancers, and morbidity increases rapidly. Herein, we investigated the relationship between the expression of CD44 and MMP-9 in renal cell carcinoma (RCC) and the clinicopathological features of patients as well as circulating tumor cells (CTC). A total of 114 tumors and non-cancerous kidney tissue samples were identified. Available clinical records were reviewed. The expression of CD44 and MMP-9 in 104 RCC samples and 10 non-cancerous kidney tissue samples were detected by immunohistochemistry. Positive enrichment method was used for CTC test and classification. We found the positive expression rates of MMP-9 (69.2%) and CD44 (65.4%) were higher in RCC than those in normal kidney tissues ($P < 0.05$). The expression of MMP-9 and CD44 is associated with WHO/ISUP nucleolar grades ($P < 0.05$). The positive expression rates of MMP-9 and CD44 in patients with positive CTC test results (60.6% and 57.7%, respectively) are significantly higher than those with negative CTC test results (8.7% and 7.7%, respectively; $P < 0.05$). The positive expression rates of MMP-9 and CD44 in the RCC of patients with mesenchymal-type CTC are higher than those in patients with mixed and epithelial-type CTC. In conclusions, MMP-9 and CD44 overexpression is associated with RCC pathological grade, CTC quantity and classification, indicating that they could be potential prognostic factors and serve as new potential therapeutic targets for RCC patients.

Keywords

Renal Cell Carcinoma, CD44, MMP-9, CTC, Prognosis

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 正文

肾细胞癌(RCC)是泌尿系统最常见的恶性肿瘤之一。在肾细胞癌早期,无明显症状,由于缺乏明确的诊断标准,约20%~30%的患者在第一次就诊时可能发生远处转移[1]。到目前为止,已发现有两种主要类型的因子参与了肾细胞癌的转移:一种是可促进转移的肿瘤血管生成因子,如MMPs和CD44,另一种是肿瘤抑制因子,如VHL和PTEN。然而,其确切的机制仍有待进一步研究。因此,探索新的特异性有效因素以及预测转移性肾细胞癌的治疗靶点至关重要。

据既往报道,MMP-9和CD44在RCC中的表达水平也较高。已有研究表明,在Ras-MEK-ERK信号通路的刺激下,MMP-9可以与CD44-ICD结合,进行进一步的调控[2]。我们用组织切片通过免疫组化研究了人正常肾组织和肾细胞癌肿瘤组织中CD44和MMP-9蛋白的表达,发现CD44和MMP-9蛋白在

肾细胞癌组织中表达强烈。这表明 CD44 和 MMP-9 可能在肾细胞癌的发生发展中起致癌作用。为了验证这一假设, 我们评估了 CD44 和 MMP-9 在 RCC 组织中的表达, 分析了 CD44 和 MMP-9 的表达与 RCC 患者的临床病理特征之间的关系。

循环肿瘤细胞(CTC)检测是一种新的液体活检分析方法, 是一种无创、准确、有效的方法, 在预测肿瘤患者的预后、转移和临床药物治疗方面起着至关重要的作用[3]。CTC 与疾病预后明确相关, 即 CTC 检测结果阳性的患者通常预后较差本研究旨在探讨肾细胞癌中 MMP-9 和 CD44 蛋白在肾细胞癌中表达的关系, 以及与临床特征和 CTC 的相关性, 以期为肾细胞癌的早期诊断、治疗和预测预后探索新的途径。

2. 材料和方法

2.1. 患者信息

西京医院病理档案中共发现 2017 年 3 月至 2019 年 10 月连续 104 例透明细胞肾 CC 患者, 未发现复发转移。104 例肾 CC 患者, 男性 88 例, 女性 16 例, 平均年龄 54.2 岁(19~80 岁)。所有患者均经病理检查诊断为肾细胞癌, 未见肾或肾外复发转移。根据 WHO/ISUP 核仁分级[4], 82 例划分为低级别(1~2 级), 22 例为高级别(3~4 级)。肾细胞癌组织取自患者, 用于标本的制备。以西京医院住院肾炎患者的非癌性肾组织作为对照。患者分别为男 7 例, 女 3 例, 年龄 34~67 岁, 平均年龄 53 岁。

2.2. 细胞系

人肾细胞癌细胞系 ACHN 来自实验动物饲养中心(中国西安空军军医大学), 在 RPMI 1640 (HyClone, Thermo, 美国)与 10%胎牛血清(胎牛血清; 吉布科, 卡尔斯巴德, 美国)和 5% CO₂ 在 37℃。

2.3. 免疫组化染色

免疫组化染色: 切片在柠檬酸缓冲液(pH = 6.0)中微波加热提取抗原。针对人 CD44 的特异性抗体(1:100 稀释; CST, 美国)和 MMP-9 蛋白(1:200 稀释; CST, 美国)按照制造商说明书进行稀释。免疫染色的程度由两名独立的观察员进行回顾和评分。肾细胞癌连续切片与 PBS 和小鼠 IgG1 (Santa Cruz 生物技术)作为空白和阴性对照平行运行。每个样本的阳性染色均显示为棕色。MMP-9 在细胞质中表达, 而 CD44 在细胞膜上表达。根据文献对染色结果进行半定量分析[5]。阳性细胞百分比为 0~100%, 染色强度从弱到强: 0, 无染色; 1, 浅棕色; 2, 棕色; 3, 深棕色。将阳性细胞的百分比和染色强度评分相乘。随机选取 3 个视野。最后, 得到一个从 0 到 300 分的分数。≥100 分的肿瘤样本被认为是阳性。

2.4. CTC

肾细胞癌患者采用静脉穿刺采集 5 mL 外周血标本, 用直径为 8 μm 的孔隙校准膜过滤。所需的过滤系统包括包含膜的过滤管、带有阀设置的歧管真空板、E-Z 96 真空歧管和真空泵。用红细胞溶解缓冲液在去离子水中去除红细胞。剩余的细胞悬浮 5 分钟, 然后用含有 4%甲醛的磷酸盐缓冲盐水(pbs)过滤。将细胞悬架转移到过滤管后, 泵阀被打开和关闭至少 0.08 mpa, 然后通过开关歧管真空板阀进行过滤[6]。

2.5. 多重 RNA 原位杂交(RNA-ISH)检测

建立三组核酸探针, 通过多重 RNA-ISH 检测 CTC 中上皮基因和间充质基因的表达。第一组包括 4 个上皮生物标志物特异性捕获探针 EpCAM 和细胞角蛋白(cks) 8/18/19。第二组由两个间充质生物标志物

特异性捕获探针波形蛋白和扭曲组成。最后一组仅包含白细胞生物标志物 CD45 的捕获探针(表 1)。简单地说, 保留在滤膜上的细胞在杂交前用蛋白酶处理。然后, 用上述不同的捕获探针进行了一系列的杂交反应。最后, 细胞用 4,6-二氨基-2-苯甲酰脲(DAPI)染色。样品采用 100 个油透镜(奥林巴斯 BX53; 奥林巴斯, 东京, 日本)。细胞中观察到的荧光信号的红色和绿色点分别代表上皮和间充质基因的表达, 紫色荧光点代表 CD45 基因(白细胞标记物)的表达[7] [8]。

Table 1. Multiplex RNA-*in situ* hybridization (RNA-ISH) assay
表 1. 多重 RNA 原位杂交(RNA-ISH)检测

| Gene | Sequence (5'→3') |
|----------|--|
| EpCAM | TGGTGCTCGTTGATGAGTCAAGCCAGCTTTGAGCAAATGA |
| | AAAGCCCATCATTGTTCTGGCTCTCATCGCAGTCAGGATC |
| | TCCTTGTCTGTTCTTCTGACCTCAGAGCAGGTTATTTTCAG |
| CK8 | CGTACCTTGTCTATGAAGGAACTTGGTCTCCAGCATCTTG |
| | CCTAAGGTTGTTGATGTAGCCTGAGGAAGTTGATCTCGTC |
| | CAGATGTGTCCGAGATCTGGTGACCTCAGCAATGATGCTG |
| CK18 | AGAAAGGACAGGACTCAGGCGAGTGGTGAAGCTCATGCTG |
| | TCAGGTCCTCGATGATCTTGCAATCTGCAGAACGATGCGG |
| | AAGTCATCAGCAGCAAGACGCTGCAGTCGTGTGATATTGG |
| CK19 | CTGTAGGAAGTCATGGCGAGAAGTCATCTGCAGCCAGACG |
| | CTGTTCCGTCTCAAACCTGGTTCTTCTTCAGGTAGGCCAG |
| | CTCAGCGTACTGATTTCTCGTGAACCAGGCTTCAGCATC |
| Vimentin | GAGCGAGAGTGGCAGAGGACCTTTGTCGTTGGTTAGCTGG |
| | CATATTGCTGACGTACGTCAGAGCGCCCCTAAGTTTTTAA |
| | AAGATTGCAGGGTGTFTTTCGGGCCAATAGTGTCTTGGTAG |
| Twist | ACAATGACATCTAGGTCTCCCTGGTAGAGGAAGTCGATGT |
| | CAACTGTTTCAGACTTCTATCCCTCTTGAGAAATGCATGCAT |
| | TTCAGTGGGCTGATTGGCACTTACCATGGGTCCTCAATAA |
| CD45 | TCGCAATTCTTATGCGACTCTGTCATGGAGACAGTCATGT |
| | GTATTTCCAGCTTCAAACCTCCCATCAATATAGCTGGCATT |
| | TTGTGCAGCAATGTATTTCTACTTGAACCATCAGGCATC |

2.6. 统计分析

采用卡方检验评估 CD44、MMP-9 的表达与 RCC 患者的临床病理特征之间的相关性, 并评估 CTC 结果与患者预后之间的相关性。所有测试均使用社会科学统计程序(SPSS)软件(13.0 版, SPSS Inc., 芝加哥, IL, USA)双面进行。P-values < 0.05 被认为是显著性的。

3. 结果

3.1. CD44 和 MMP-9 在肾细胞癌和正常组织中的表达

CD44 在肾细胞癌组织中的阳性表达率为 65.4% (68/104), 而 MMP-9 的比例为 69.2% (72/104)。在正常肾脏组织中几乎没有发现 CD44 或 MMP-9 的表达。见图 1。

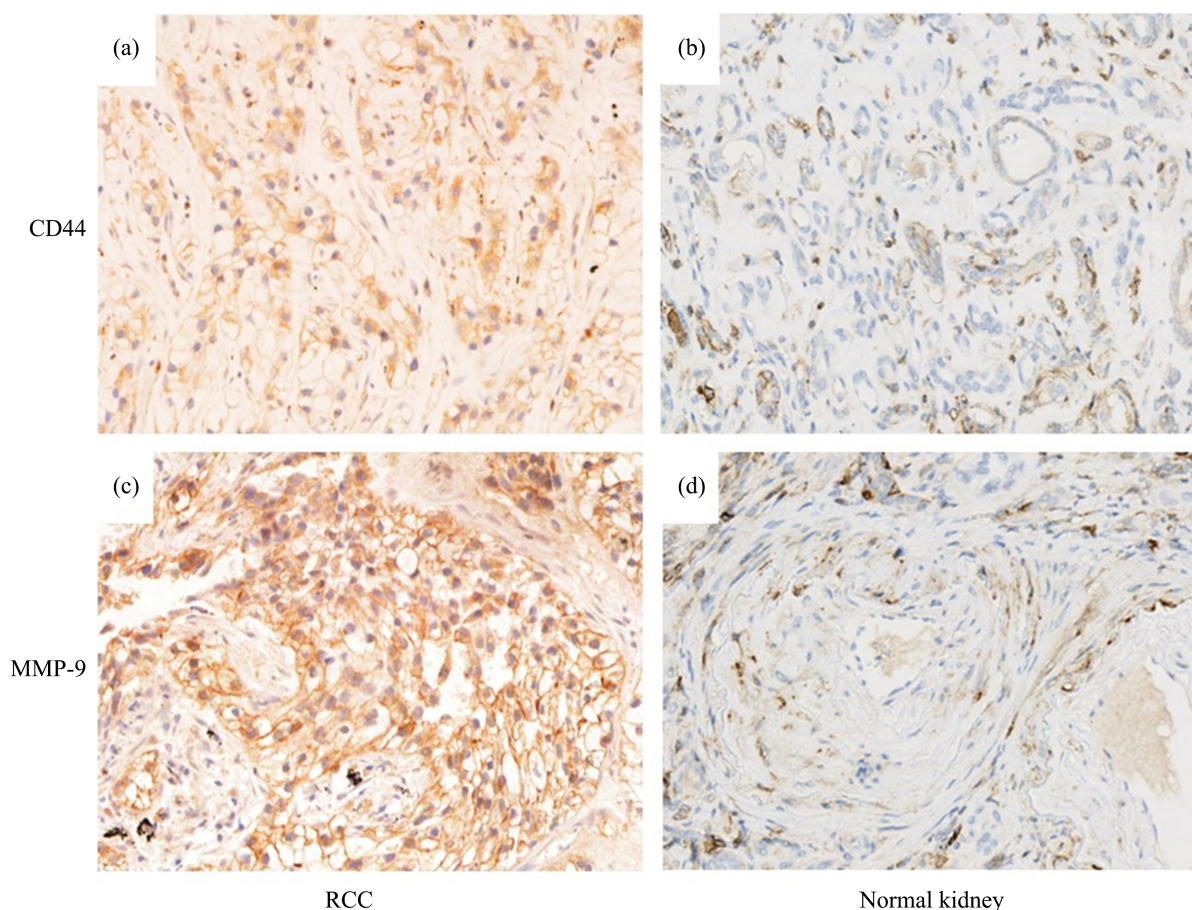


Figure 1. The expressions of CD44 and MMP-9 in human RCC tissues and normal kidney tissues. ((a), (c)) CD44 and MMP-9 are overexpression in human RCC tissues, $\times 400$; ((b), (d)) CD44 and MMP-9 are weakly expression in normal kidney tissues, $\times 400$

图 1. CD44 和 MMP-9 在 RCC 和正常肾组织中的表达。((a), (c)) CD44 和 MMP-9 在 RCC 中高表达, $\times 400$; ((b), (d)) CD44 和 MMP-9 在正常肾组织在中低表达, $\times 400$

3.2. CD44、MMP-9 蛋白的表达及与临床特征的相关性

不同性别和年龄的 MMP-9 与 CD44 和 RCC 患者的表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。而卡方检验显示 CD44 和 MMP-9 在较高的 Fuhrman 分级中过表达($P < 0.05$) (表 2)。

Table 2. Comparison of CD44 and MMP-9 expression among RCC patients with different clinicopathological features
表 2. 具有不同临床病理特征的肾细胞癌患者 CD44 和 MMP-9 表达的比较

| | n | CD44 | | MMP-9 | |
|----------------|------------|-----------|----|-----------|----|
| | | + | - | + | - |
| Age | | P = 0.217 | | P = 0.671 | |
| >54.2 | 54 (52%) | 32 | 22 | 36 | 18 |
| ≤54.2 | 50 (48%) | 36 | 14 | 36 | 14 |
| Gender | | P = 1.000 | | P = 0.771 | |
| Male | 88 (85.4%) | 57 | 31 | 60 | 28 |
| Female | 16 (14.6%) | 11 | 5 | 12 | 4 |
| WHO/ISUP grade | | P = 0.023 | | P = 0.000 | |
| 1~2 | 22 (78.8%) | 19 | 3 | 22 | 0 |
| 3~4 | 82 (21.2%) | 49 | 33 | 50 | 32 |
| CTC | | P = 0.031 | | P = 0.030 | |
| >3 | 85 (81.7%) | 60 | 25 | 63 | 22 |
| ≤3 | 19 (18.3%) | 8 | 11 | 9 | 10 |

3.3. CTC 的分类

根据 EMT 标记物, 将 CTC 分为三个亚群: 上皮细胞(E+)、双表型(E+/M+)和间充质细胞(M+), 如图 2 所示, 85 例 CTC 检测为 CTC 阳性(>3 CTC/5 mL 血液) [9]。这三个 CTC 亚群在癌症患者中占优势(81.7%), 而在对照组中较为罕见(10%, $P < 0.05$)。

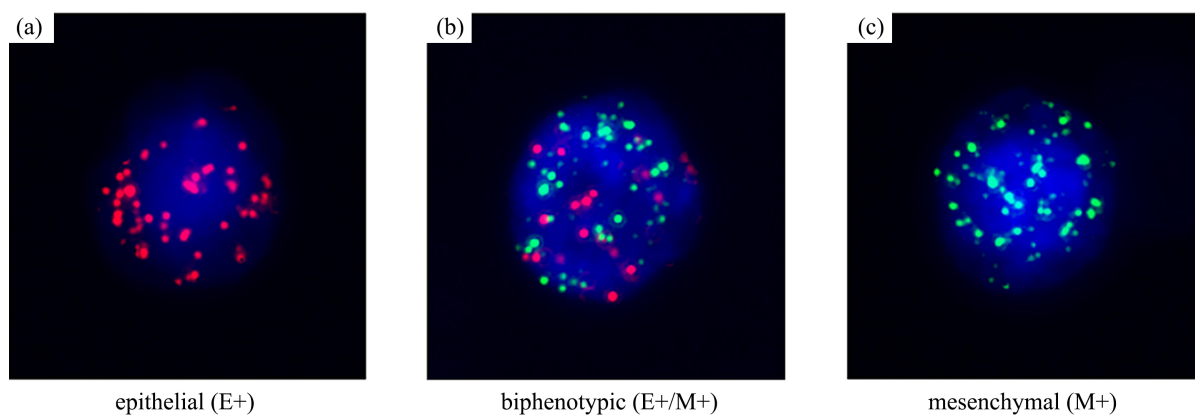


Figure 2. Representative fluorescence images show RNA *in situ* hybridization of epithelial-type (E+), biphenotypic (E+/M+) and mesenchymal-type (M+) CTCs. (a) E+ CTCs; (b) E+/M+ CTCs; (c) M+ CTCs

图 2. 上皮型(E+)、双表型(E+/M+)和间充质型(M+) CTC 的 RNA 原位杂交荧光图像。(a) E+ CTCs; (b) E+/M+ CTCs; (c) M+ CTCs

3.4. CTC 与 CD44、MMP-9 表达的关系

根据对 104 例患者的分析, CTC 为 0~75/5 mL, 中位数为 14/5 mL。在 CTC 阳性患者中, MMP-9 在 RCC 中的阳性表达率为 74.1% (63/85), CD44 的阳性表达率为 70.5% (60/85)。在 CTC 阴性的患者中, MMP-9 在 RCC 中的阳性表达率为 47.4% (9/19), CD44 的阳性表达率为 42.1% (8/18)。MMP-9 和 CD44 的阳性表达率均高于 CTC 阴性患者($P < 0.05$)。结果显示, MMP-9 在 E+、M+ 和 E+/M+ CTC 患者中的阳性表达率分别为 57.6% (19/33)、78.6% (22/28) 和 91.7% (22/24), CD44 的阳性表达率分别为 55.9% (19/34)、75.0% (21/28) 和 87.0% (20/23)。MMP-9 和 CD44 在 RCC 和 M+ CTC 患者中的阳性表达率高于其他两种 CTC 类型的患者($P < 0.05$, 表 3)。

Table 3. Relationship of epithelial-type (E+), biphenotypic (E+/M+) and mesenchymal-type (M+) CTC to CD44 and MMP-9
表 3. 上皮型(E+)、双表型(E+/M+)和间充质型(M+) CTC 与 CD44 和 MMP-9 的关系

| CTC | CD44 | | P | MMP-9 | | P |
|-------|------|----|--------------|-------|----|--------------|
| | + | - | | + | - | |
| E+ | 19 | 15 | | 19 | 14 | |
| E+/M+ | 21 | 7 | 0.034 | 22 | 6 | 0.012 |
| M+ | 20 | 3 | | 22 | 2 | |

3.5. CD44 和 MMP-9 的过表达可能预示着 RCC 患者的不良预后

有 42 例患者接受了生存随访。其中 CD44 阳性 31 例, MMP-9 阳性 34 例。log-rank 检验显示, cd44 阳性患者的生存率明显低于阴性患者($P = 0.006$, 表 4), MMP-9 的生存率也较差($P = 0.025$, 表 4)。同样, WHO/ISUP 核仁分级与较差的生存率相关($P = 0.027$, 表 4)。不同性别、年龄间差异无统计学意义($P > 0.05$, 表 4)。多因素分析显示, CD44 (HR: 0.203, $P = 0.013$)、MMP-9 (HR: 0.268, $P = 0.027$)、WHO/ISUP 分级(HR: 2.478, $P = 0.035$)是生存的独立预后指标(表 4)。

Table 4. Univariate and multivariate analysis of 42 RCC cases with follow-up information
表 4. 42 例肾细胞癌预后的单因素及多因素分析

| Variable | n | Mean survival in month (95% CI) | Univariate P-value | HR (95% CI) | Multivariate P-value |
|----------|----|---------------------------------|--------------------|-------------|----------------------|
| CD44 | | | 0.006 | 0.203 | 0.013 |
| + | 31 | 29 | | | |
| - | 11 | 99 | | | |
| MMP-9 | | | 0.025 | 0.268 | 0.027 |
| + | 34 | 29 | | | |
| - | 8 | 99 | | | |
| Age | | | 0.802 | 0.902 | 0.805 |
| >54.2 | 23 | 30 | | | |
| ≤54.2 | 19 | 32 | | | |

续表

| | | | | | |
|----------------|----|----|--------------|-------|--------------|
| Gender | | | 0.133 | 2.331 | 0.177 |
| Male | 36 | 30 | | | |
| Female | 6 | 99 | | | |
| WHO/ISUP grade | | | 0.027 | 2.478 | 0.035 |
| 1~2 | 22 | 40 | | | |
| 3~4 | 20 | 29 | | | |

4. 讨论

肾细胞癌是泌尿系统最常见的恶性肿瘤之一, 早期难以诊断。我们探索了 MMP-9 和 CD44 的综合表达分析以及与 CTC 检测的相关性。MMP 反复涉及转移, 这是侵袭后的一个连续步骤, 由于其在转移和血管生成中的多功能作用, 已在恶性肿瘤中得到了广泛的研究[10]。原癌基因的激活可能导致 MMP-9 转录本的积累, 在肿瘤发生的早期阶段介导细胞外基质和基底膜的降解[11]。成熟和激活的 MMP-9 可以帮助形成一个促进肿瘤生长和转移的微环境[12]。CD44 与配体的相互作用可能诱导细胞吸收和降解透明质酸, 从而促进细胞的迁移。MMP-9 可与 CD44 胞外结构域结合。这种组合允许 MMP-9 的分裂和激活, 导致 CD44 胞内结构域(CD44ICD)的释放[13]。MMP-9 还可以通过 CD44 增强肌动蛋白和 p-MLC2 水平的收缩性。这一现象增加了 p-STAT3 的水平, 导致 MMP-9 的高表达和分泌, 并形成正反馈回路, 以维持肿瘤细胞的侵袭和转移[14]。

在本研究中, MMP-9 和 CD44 在肾细胞癌中的阳性表达率高于正常肾组织, 并与较高的 WHO/ISUP 分级相关, 提示这两种分子的表达可能与肾细胞癌生存率差相关, 肾细胞癌转移频率高。

上皮-间充质转化(EMT)是癌症进展的一个关键过程, 涉及上皮标志物如上皮细胞粘附分子(EpCAM)和细胞角蛋白(CKs)的下调, 以及肿瘤细胞中间充质标志物如波形蛋白和 TWIST1 的上调[15]。CTC 对肿瘤转移的影响越来越受到人们的关注, 目前的医生已经使用 CTC 检测来诊断乳腺癌、前列腺癌、肾癌、肺癌等疾病[16] [17]。CTC 检测甚至可在影像学检查之前用于早期检测肿瘤。此外, CTC 检测被广泛用于评估肿瘤患者的预后: CTC 阳性结果往往提示预后较差[18]。然而, 并非所有恶性肿瘤患者均未检测到 CTC。既往研究报道, 不同肿瘤对 CTC 的检出率有所不同。它最容易在肺癌中被发现, 其次是乳腺癌、结肠癌和宫颈癌[17]。目前报道的肾癌中 CTC 的检出率与本研究的结果相似。许多研究表明, EMT 在肾癌的循环肿瘤细胞(CTC)亚群中存在[19]。间充质 CTC 与患者预后不良相关, 转移和对化疗的耐药性[20]。这些研究提示 CTC 在肾癌中具有潜在的预后价值。然而, 这些研究存在一些局限性: 缺乏明确的标记来识别 EMT 表型 CTC 的亚群, 缺乏 CTC 检测技术的临床验证, 样本量有限。因此, 在一个大队列的肾癌患者中, 使用一组明确的 EMT 标记物和一种临床可行的 CTC 检测技术来全面分析 CTC 亚群是必要的。

CTC 在肿瘤转移过程中可能经历上皮-间充质转化。不同类型的 CTC 提示不同的预后。E+ CTC 患者的预后优于混合和 M+ CTC 患者[21]。此外, 间充质型 CTC 患者往往预后最差。本研究中, M+ CTC 患者 RCC 中 MMP-9 和 CD44 的阳性表达率高于其他两种 CTC 患者。因此, 这种类型的 CTC 可能会增强肿瘤的侵袭和转移。这一结果可能与 M+ CTC 患者复杂的肿瘤微环境有关。

评估肿瘤患者的预后是一个复杂的过程。原发肿瘤是否有早期远处转移是其关键因素之一。CTC 是血液中发现的一种肿瘤细胞, CTC 阳性表示血液中肿瘤细胞数量增加, 提示肿瘤侵袭的可能性较高。在本研究中, CTC 阳性的 RCC 患者中 MMP-9 和 CD44 的阳性表达率高于 CTC 阴性的患者。这可能是由

于 MMP-9 和 CD44 是肾细胞癌的关键调控分子, 这些分子表达的增加表明该通路的持续激活, 从而促进癌细胞的侵袭和转移, 增加血液中肿瘤细胞的数量。特别是 CD44, 作为该通路的下游调控分子, 可以帮助癌细胞在癌症转移过程中靶向该器官。癌细胞表面的 CD44 分子与内皮细胞一起工作, 导致在到达靶器官时血液内的细胞循环终止。CD44 的变异蛋白通过影响细胞的骨骼和信号传递系统, 改变细胞的生物学行为, 促进细胞的侵袭转移。

5. 结论

综上所述, MMP-9 和 CD44 在肾细胞癌中过表达, 其表达与肾细胞癌的病理特征和 CTC 检测结果相关。这些分子的高表达表明预后不良。CD44 和 MMP-9 都可能被认为是促进肾癌转移的基因。然而, 具体的潜在机制还需要通过分子实验来进一步研究。

参考文献

- [1] Siegel, R.L., Miller, K.D. and Jemal, A. (2019) Cancer Statistics, 2019. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **69**, 7-34. <https://doi.org/10.3322/caac.21551>
- [2] Fan, L., Li, P., Yin, Z., et al. (2013) Ribosomal s6 Protein Kinase 4: A Prognostic Factor for Renal Cell Carcinoma. *British Journal of Cancer*, **109**, 1137-1146. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.463>
- [3] Zhang, W.W., Rong, Y., Liu, Q., et al. (2018) Integrative Diagnosis of Cancer by Combining CTCs and Associated Peripheral Blood Cells in Liquid Biopsy. *Clinical & Translational Oncology*, **21**, 828-835. <https://doi.org/10.1007/s12094-018-02004-8>
- [4] Erdoğan, F., Demirel, A. and Polat, O. (2004) Prognostic Significance of Morphologic Parameters in Renal Cell Carcinoma. *International Journal of Clinical Practice*, **58**, 333-336. <https://doi.org/10.1111/j.1368-5031.2004.00008.x>
- [5] Takenoue, T., Kitayama, J., Takei, Y., et al. (2000) Characterization of Dihydropyrimidine Dehydrogenase on Immunohistochemistry in Colon Carcinoma, and Correlation between Immunohistochemical Score and Protein Level or Messenger RNA Expression. *Annals of Oncology*, **11**, 273-279. <https://doi.org/10.1023/A:1008337913456>
- [6] Zhong, G.X., Feng, S.D., Shen, R., Wu, Z.Y., Chen, F. and Zhu, X. (2017) The Clinical Significance of the Ezrin Gene and Circulating Tumor Cells in Osteosarcoma. *OncoTargets and Therapy*, **10**, 527-533. <https://doi.org/10.2147/OTT.S125589>
- [7] Wu, S., Liu, S., Liu, Z., et al. (2015) Classification of Circulating Tumor Cells by Epithelial-Mesenchymal Transition Markers. *PLOS ONE*, **10**, e0123976. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123976>
- [8] Zhang, S., Wu, T., Peng, X., et al. (2017) Mesenchymal Phenotype of Circulating Tumor Cells Is Associated with Distant Metastasis in Breast Cancer Patients. *Cancer Management and Research*, **9**, 691-700. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S149801>
- [9] Patricia, G.S., Gema, M.B., Francisco, P. and Amparo, C. (2017) Present and Future in Clinical Oncology. *Molecular Oncology*, **11**, 718-738. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12091>
- [10] Chambers, A.F. and Matrisian, L.M. (1997) Changing Views of the Role of Matrix Metalloproteinases in Metastasis. *Journal of the National Cancer Institute*, **89**, 1260-1270. <https://doi.org/10.1093/jnci/89.17.1260>
- [11] Samira, K., Mohammadhossein, H., Alireza, H., Yaser, P., Su, Y.W. and Cory, J.X. (2019) Opioids and Matrix Metalloproteinases: The Influence of Morphine on MMP-9 Production and Cancer Progression. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, **392**, 123-133.
- [12] Aruna, and Li, L.M. (2018) Overexpression of Golgi Membrane Protein 1 Promotes Non-Small-Cell Carcinoma Aggressiveness by Regulating the Matrix Metalloproteinase 13. *American Journal of Cancer Research*, **8**, 551-565.
- [13] Okamoto, I., Kawano, Y., Murakami, D., et al. (2001) Proteolytic Release of CD44 Intracellular Domain and Its Role in the CD44 Signaling Pathway. *The Journal of Cell Biology*, **155**, 755-762. <https://doi.org/10.1083/jcb.200108159>
- [14] Liang, Y., Yang, N., Pan, G., Jin, B., Wang, S. and Ji, W. (2018) Elevated IL-33 Promotes Expression of MMP2 and MMP9 via Activating STAT3 in Alveolar Macrophages during LPS-Induced Acute Lung Injury. *Cellular & Molecular Biology Letters*, **23**, Article No. 52. <https://doi.org/10.1186/s11658-018-0117-x>
- [15] Mimeault, M. and Batra, S.K. (2014) Molecular Biomarkers of Cancer Stem/Progenitor Cells Associated with Progression, Metastases, and Treatment Resistance of Aggressive Cancers. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **23**, 234-254. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-13-0785>
- [16] Moon, D.H., Lindsay, D.P., Hong, S. and Wang, A.Z. (2018) Clinical Indications for, and the Future of, Circulating

- Tumor Cells. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **125**, 143-150. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.04.002>
- [17] Hench, I.B., Hench, J. and Tolnay, M. (2018) Liquid Biopsy in Clinical Management of Breast, Lung, and Colorectal Cancer. *Frontiers in Medicine*, **5**, Article 9. <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00009>
- [18] Vasudha, M., Rishindra, M.R., Shamileh, F., *et al.* (2017) Poor Prognosis Indicated by Venous Circulating Tumor Cell Clusters in Early-Stage Lung Cancers. *Cancer Research*, **77**, 5194-5206. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-2072>
- [19] Mikami, S., Oya, M., Mizuno, R., Kosaka, T., Katsube, K. and Okada, Y. (2014) Invasion and Metastasis of Renal Cell Carcinoma. *Medical Molecular Morphology*, **47**, 63-67. <https://doi.org/10.1007/s00795-013-0064-6>
- [20] Praharaaj, P.P., Bhutia, S.K., Nagrath, S., Bitting, R.L. and Deep, G. (2018) Current Challenges and Promises in Medical Research and Precision Medicine. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Reviews on Cancer*, **1869**, 117-127. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2017.12.005>
- [21] Škovierová, H., Okajčková, T., Strnádel, J., Vidomanová, E. and Halašová, E. (2018) Molecular Regulation of Epithelial-to-Mesenchymal Transition in Tumorigenesis (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, **41**, 1187-1200.