

·临床研究·

肝细胞肝癌 E-Cadherin 蛋白的表达及其对判断肝癌肝移植疗效的意义*

郭晓东 孟繁平[△] 熊璐

(解放军第 302 医院 北京 100039)

摘要 目的 探讨 E-Cadherin 蛋白在肝细胞肝癌组织中的表达及其对判断肝癌肝移植患者预后的价值。方法 选择肝细胞肝癌行全肝移植患者 68 例,应用免疫组化方法检测其切除的肝癌组织和癌旁正常肝组织中 E-Cadherin 蛋白的表达情况,并对患者进行移植术后随访,分析 E-Cadherin 蛋白表达与肝癌肝移植患者预后的关系。结果 肝癌组织中 E-Cadherin 蛋白阳性表达率明显低于癌旁组织 ($P<0.01$)。经 Logrank 检验分析显示,E-Cadherin 蛋白低表达组移植后的无瘤生存率明显低于 E-Cadherin 蛋白高表达组 ($P<0.01$)。多因素 Cox 回归分析显示,E-Cadherin 蛋白表达是影响肝细胞肝癌患者肝移植术后肝癌复发的独立预后因素之一。结论 E-Cadherin 蛋白表达是一个预测肝细胞肝癌患者肝移植预后的重要因子。

关键词 肝细胞肝癌 肝移植 预后 上皮钙黏蛋白 免疫组织化学

中图分类号 R735.7 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2011) 08-1469-03

Relationship Between E-Cadherin Expression and Prognosis of Liver Transplant Patients with Hepatocellular Carcinoma*

GUO Xiao-dong, MENG Fan-ping, XIONG Lu

(The PLA first 302 hospital Beijing 100039)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of E-Cadherin in patients with human hepatocellular carcinoma(HCC),and evaluate the prognosis of patients after liver transplantation. **Methods:** The expression of E-Cadherin protein was detected with immunohistochemical analysis in 68 cases of HCC. With follow up, the prognostic value of E-Cadherin in HCC patients undergoing liver transplantation were explored. **Results:** The positive expression rates of E-Cadherin protein in tumor tissues were significantly lower than that in pericarcinoma tissues in HCC ($P<0.01$). The relapse-free survival rate was significantly lower in E-Cadherin positive group than that in E-Cadherin negative group. Multivariate analysis with the Cox proportional hazards model showed that E-Cadherin protein was an independent prognostic factor for HCC patients after liver transplantation. **Conclusions:** The expression of E-Cadherin protein is an independent prognostic factor for HCC patients undergoing liver transplantation.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Liver transplantation; Prognosis; E-Cadherin; Immunohistochemistry

Chinese Library Classification(CLC):R735.7 Q95-3 R589.2 **Document code:**A

Article ID:1673-6273 (2011) 08-1469-03

自 1963 年 starz 成功完成第一例肝移植以来,肝移植技术经过 40 多年的发展和经验积累,已逐渐成熟和完善,为肝癌患者的治疗提供了新的选择,目前接受肝脏移植的肝癌患者逐年增加。理论上,肝移植切除了肿瘤和整个病肝,在治疗肝癌上具有相当的优势,但临床经验表明移植后患者同样面临肿瘤复发转移的问题,直接影响到肝癌肝移植的疗效。因此探讨评估肝癌肝移植患者预后的新指标具有重要的临床意义。E-Cadherin 蛋白是一种细胞间粘附分子,具有介导细胞与细胞之间的黏附、维持细胞结构和形态的稳定的功能。研究表明 E-Cadherin 的表达在多种肿瘤中有不同程度的降低或丧失,并与其生物学特性和预后相关^[1-3]。本研究应用免疫组织化学法检测 E-Cadherin 蛋白在肝细胞肝癌及癌旁组织中的表达情况,分析其对肝移植患者预后的影响,旨在完善对肝癌肝移植患者临床预后评估的指标,为移植后监测提供指导。

1 材料与方法

1.1 标本来源

本组标本来源于 2005 年 6 月~2008 年 3 月我院肝脏移植中心施行同种异体原位肝移植、组织病理学检查证实为肝细胞肝癌的手术切除标本 68 例,每一例标本分别取癌组织、癌旁组织。所有病例均符合原发性肝癌临床诊断标准^[4],术前术后均未接受放疗、化疗或其他治疗。其中男 58 例,女 10 例;年龄 42.9 ± 7.5 岁(27~62 岁),中位年龄 51 岁;病理分级按 2000 年 WHO 分级: I~II 级 29 例, III~IV 级 39 例;临床分期按 1977 年 TNM 分期: I~II 级 31 例, III~IV 级 37 例。术后随访患者 6~39 个月,收集记录所有患者完整的随访资料。

1.2 免疫组织化学检测

所有标本均经过 10%甲醛固定,石蜡包埋,4 μ m 厚连续切

* 基金项目 国家自然科学基金青年基金项目 (30901795)

作者简介 郭晓东 (1981-),主治医师 研究方向 肝病诊断与治疗。电话:13911161582

[△]通讯作者 孟繁平 (1976-),博士后 主治医师 研究方向 肝癌的发生和转移的机制研究 E-mail: mengfp@hotmail.com

(收稿日期 2010-12-05 接受日期 2010-12-28)

片。采用链菌素抗生物素-过氧化物酶法(SP)检测 E-Cadherin 蛋白的表达,鼠抗人 E-Cadherin 单克隆抗体、通用型 SP 二抗试剂盒、DAB 显色试剂盒均购自北京中山生物技术有限公司。操作程序严格按照说明书进行。阴性对照以 PBS 替代一抗,用已知阳性标本作阳性对照。

1.3 结果判断

E-Cadherin 蛋白阳性表达为细胞膜及细胞质内出现棕黄色颗粒。采用 Greenspan 半定量法^[5],根据染色强度和阳性细胞数进行综合评分。光镜下每张切片随机选取 10 个 400 倍视野,每个视野计数 100 个细胞。染色强度:0 分,无染色;1 分,染色弱但明显强于阴性对照;2 分,染色清晰,中等程度;3 分,染色程度强。阳性细胞数:0 分,阳性细胞数<10%;1 分,阳性细胞占 11~25%;2 分,阳性细胞占 26~50%;3 分,阳性细胞≥51%。上述两项积分相乘,评分≤ 2 为阴性,>2 分为阳性。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件并进行统计分析,计数资料多个样本率的比较和两个样本率之间的比较采用卡方检验,肿瘤分子标志物独立预测复发的价值采用多因素 Cox 回归分析。以 P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 E-Cadherin 蛋白在肝癌和癌旁组织的表达

68 例肝癌组织和对应癌旁组织中,E-Cadherin 阳性表达率分别为 42.6%(29/68),100.0%(68/68)。肝癌组织中 E-Cadherin 蛋白阳性表达率明显低于癌旁组织(P<0.01)。

2.2 E-Cadherin 蛋白的表达与肝癌临床病理学参数的相关性

E-Cadherin 蛋白表达与肝癌肿瘤直径、病理分级、肿瘤播散灶、门静脉癌栓及淋巴结转移显著相关性(P<0.05),而与肝癌其他临床病理学参数无相关性(P>0.05),见表 1。

表 1 E-Cadherin 蛋白的表达与肝癌临床病理学参数的相关性 n(%)

Table 1 The correlation between clinicopathological parameters and the expression of E-Cadherin in HCC tissues n(%)

临床病理因素	Clinicopathological parameters	n	E-Cadherin 表达阳性率	The positive expression of E-Cadherin
性别	Gender			
男	Male	58	25(43.1)	
女	Female	10	4(40.0)	
年龄(岁)	Age(year)			
≤50		59	25(42.4)	
>50		9	4(44.4)	
肿瘤直径(cm)	Tumor diameter(cm)			
≤5.0		28	22(78.6) ^a	
>5.0		40	7(17.5)	
AFP				
>400μg/L		26	11(42.3)	
≤400μg/L		42	18(42.9)	
TNM 分期	TNM stage			
I~II		31	13(41.9)	
III~IV		37	16(43.2)	
病理分级	Pathological grade			
I~II		29	21(72.4) ^a	
III~IV		39	8(20.5)	
肿瘤播散	Tumor spread			
有	exist	13	1(7.7) ^a	
无	none	55	28(50.9)	
门静脉癌栓	Portal vein tumor thrombus			
有	exist	28	2(7.1) ^a	
无	none	40	27(67.5)	
淋巴结转移	Lymphatic metastasis			
有	exist	5	0(0.0) ^a	
无	none	63	29(46.0)	

注 ^aP<0.05

2.3 E-Cadherin 蛋白的表达与肝移植患者预后的相关性

68 例肝移植后全部得到随访,截至 2010 年 8 月 31 日,随访时间为 6~39 个月,中位随访时间 18.9 个月。随访期间 30 例出现肝癌复发。经 Kaplan-Meier 分析显示,移植术后 1 年时,肝癌组织中 E-Cadherin 蛋白低表达组与 E-Cadherin 蛋白高表达组的无瘤生存率分别为 86.8%和 95.6%;术后 2 年时,低 E-Cadherin 蛋白表达组与高 E-Cadherin 蛋白表达组的无瘤生存率分别为 54.4%和 86.8%;术后 3 年时,低 E-Cadherin 蛋白

表达组与高 E-Cadherin 蛋白表达组的无瘤生存率分别为 35.3 和 73.5%。经 Log-rank 检验分析显示,E-Cadherin 蛋白低表达组移植后的无瘤生存率明显低于 E-Cadherin 蛋白高表达组 ($P<0.01$)。

多因素 Cox 回归分析显示,肿瘤直径、肿瘤播散灶和 E-Cadherin 蛋白表达是影响肝细胞肝癌患者肝移植术后肝癌复发的独立预后因素,见表 2。

表 2 Cox 回归分析影响肝细胞肝癌肝移植术后复发的预后因素

Table 2 The Cox regressioin analysis of prognostic factors effecting recurrence of liver transplantation in HCC

参数 Parameters	OR	95%CI	P
肿瘤直径 Tumor diameter	9.18	1.423~15.395	0.000
肿瘤播散 Tumor spread	6.36	1.148~17.406	0.025
E-Cadherin	6.75	1.092~8.483	0.008

3 讨论

随着近年来肝移植技术的迅猛的发展,肝移植已经逐渐成为肝癌治疗的重要手段和最佳治疗方法,但临床仍发现有不少患者肝移植后长期存活情况欠佳,因此肝癌肝移植患者的预后已成为移植界争论与探讨的热点课题^[6-7]。

目前认为移植后肿瘤复发是除免疫排斥以外影响患者预后的最主要因素,与肿瘤本身的生物学行为关系密切。其发生机制复杂,是涉及癌细胞间及其与宿主组织细胞之间相互作用的过程,整个过程有多个基因产物参与。E-Cadherin 属于钙粘附素超家族,广泛分布于上皮细胞。E-Cadherin 在细胞间的识别、粘附及维持着组织结构的完整性和极性中起重要作用,因此它具有抑制肿瘤浸润转移的作用^[8]。E-Cadherin 表达正常的肿瘤细胞不易从原发灶上脱落下来,而 E-Cadherin 表达缺失的肿瘤细胞与其他细胞间粘附作用下降和极性紊乱,容易脱落和扩散^[9-11]。本研究结果显示,肝癌组织中 E-Cadherin 蛋白阳性表达率明显低于癌旁组织($P<0.01$)。提示 E-Cadherin 参与了肝细胞肝癌的发生,可能在肝细胞肝癌的恶性转化过程中具有一定的作用。同时本研究中,E-Cadherin 蛋白表达与肝癌肿瘤直径、病理分级、肿瘤播散灶、门静脉癌栓及淋巴结转移显著相关性 ($P<0.05$)。提示 E-cadherin 表达丧失或下调与肿瘤细胞高侵袭转移性、肿瘤进展及揭示肿瘤患者预后的恶性生物学行为密切相关。推测随着肿瘤细胞 E-Cadherin 的表达逐渐下调,肿瘤细胞间的粘附能力也趋向减弱甚至丧失,肿瘤细胞恶性分化增加,组织结构紊乱,细胞间有效连接消失,从而使肿瘤细胞更容易浸润突破基底膜等发生侵袭转移和复发^[12-13]。

本组 Kaplan-Meier 曲线及 Log-Rank 显著性检验发现,E-Cadherin 蛋白低表达组移植后的无瘤生存率明显低于 E-Cadherin 蛋白高表达组 ($P<0.01$),且 Cox 回归多因素分析表明肿瘤直径、肿瘤播散灶和 E-Cadherin 蛋白表达是影响肝细胞肝癌患者肝移植术后肝癌复发的独立预后因素。提示 E-Cadherin 蛋白是一个预测肝细胞肝癌患者肝移植预后的重要因子,有望能成为跟踪肝癌肝移植预后的重要指标。E-Cadherin

低表达预示着肿瘤更容易复发,预后不良,临床上对于 E-cadherin 表达阴性的患者应给予针对性的干预治疗。但目前关于 E-cadherin 在肝细胞肝癌发生进展过程中所发挥的具体作用尚不清楚,仍有待从其基因水平层面进行深入地探索和研究。

参考文献 (References)

[1] 廖文德,陈军,陈发龙. Ezrin 与 E-adhefin 在肝细胞肝癌组织中的表达及其临床意义.肿瘤预防与治疗,2009,2(2) :131-134

[1] LIAO Wen-de,CHEN Jun,CHEN Fa-long. Expressions and Clinical Significance of Ezrin and E-cadherinin Hepatocellular Carcinoma. SICHUAN JOURNAL OF CANCER CONTROL,2009,2(2) :131-134

[2] Pyo S,Hashimoto M,Kim Y,et al. Expression of E-Cadherin,P-cadherin and N- cadherin in oral squamons cell eareinoma Correlation with the clinicopathologic features and patient outcome[J]J Cranioma-xillofae Surg,2007,35(1) :1-9

[3] Liu Y,Wang Y,Zhang Y,et al. Abnormal expression of p120-catenin,E-cadherin,and sinall GTPases is significantly associated with malignant phenotype of human lung cancer[J]. Lung Cancer,2009,63 (3) 375-382

[4] Ishibashi Y,Matsumoto T,Niwa M,et al. CD147 and matrix metall-oproteinase-2 protein expression as significant prognostic factors in esophageal squamous cell carcinoma [J]. Cancer,2004,101 (9) :1994-2000

[5] Pang RW,Joh Jw,Johnson PJ,et al. Biology of hepatocelular carcinoma[J]. Ann Surg Oncol,2008,15(4) :962-971

[6] Schwartz M. Liver transplantation in patients with hepatcellular carcinoma[J]. Liver Transpl,2004,10(2 Suppl 1) :81-85

[7] Zhou Jian,Fan Jia,WuZhi quan,at al. Liver transplantation for patients with hepatocellular carcinoma at the Liver Cancer In stitute of Fudan Unjversity.China Chin Med J,2005,118 :654-659

[8] Lee JO,Kwun HJ,Jung JK,et al. Hepatitis B virus X protein represses E-cadherin expression via activation of DNA methyltrans ferase 1 [J]. Oncogene,2005,24(44) :6617

- hepatocarcinogenesis: adenomatous hyperplasia and early hepatocellular carcinoma[J]. Hum Pathol 1991; 22:172-8
- [3] Reya T, Morrison SJ, Clarke MF and Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells[J]. Nature, 2001,414:105-11
- [4] Pardoll R, Clarke MF, Morrison SJ. Applying the principles of stem-cell biology to cancer[J]. Nat Rev Cancer,2003,3:895-902
- [5] Van Lohuizen M, Frasch M, Wientjens E, van der Gulden H and Berns A. Sequence similarity between the mammalian Bmi-1 proto-oncogene and the Drosophila regulatory genes Psc and Su (z)2 [J]. Nature, 1991,353(6342):353
- [6] Jiang Lili, Li Jun, Song Libing. Bmi-1, stem cells and cancer. Acta Biochim Biophys Sin, 2009; 1-8
- [7] Wang H, Pan K, Zhang HK, Weng DS, Zhou J, Li JJ, et al. Increased polycomb-group oncogene Bmi1 expression correlates with poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2008,134(5):535-541
- [8] Park IK, Morrison SJ, Clarke MF. Bmi1, stem cells, and senescence regulation [J]. J Clin Invest, 2004,113(2):175
- [9] Xu CR, Lee S, Ho C, Prashant B, Huang SA, Cheung ST, et al. Bmi1 Functions as an Oncogene Independent of Ink4A/Arf Repression in Hepatic Carcinogenesis[J]. Mol Cancer Res, 2009,7(12):OF1-9
- [10] Dimri GP, Martinez JL, Jacobs JJ, et al. The Bmi1 oncogene induces telomerase activity and immortalizes human mammary epithelial cells[J]. Cancer Res, 2002,62 (16):4736-4745
- [11] Vonlanthen S, Heighway J, Altermatt HJ, et al. The Bmi1 oncogene induces telomerase activity and immortalizes human mammary epithelial cells[J]. Cancer Res, 2002,62(16):4736-4745
- [12] Jacobs J, Scheijen B, Voncken JW, et al. Bmi1 collaborates with c-Myc in tumorigenesis by inhibiting c-Myc-induced apoptosis via INK4a/ARF[J]. Genes Dev, 1999,13(20):2678-2690
- [13] Li W, Li Y, Tan YH, et al. Bmi-1 is critical for the proliferation and invasiveness of gastric carcinoma cells [J]. J Gastroenterol and Hepatol, 2010 (3):568-575
- [14] Kim JH, Yoon SY, Kim CN, Joo JH, et al. The Bmi1 oncoprotein is overexpressed in human colorectal cancer and correlates with the reduced p16INK4a/p14ARF proteins [J]. Cancer Lett, 2004,203: 217-224
- [15] Sasaki M, Ikeda H, Itatsu K, et al. The overexpression of polycomb group proteins Bmi1 and EZH2 is associated with the progression and aggressive biological behavior of hepatocellular carcinoma [J]. Lab Invest, 2008,00 00:1-10
- [16] Chiba T, Zheng YW, Kita K, et al. Enhanced self-renewal capability in hepatic stem/progenitor cells drives cancer initiation [J]. Gastroenterology, 2007,133:937-950
- [17] Chiba T, Miyagi S, Saraya A, et al. The polycomb gene product Bmi1 contributes to the maintenance of tumor-initiating side population cells in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Res, 2008,68(19):7742-7749
- [18] Kathryn Effendi, Taisuke Mori, Mina Komuta, et al. Bmi-1 gene is upregulated in early-stage hepatocellular carcinoma and correlates with ATP-binding cassette transporter B1 expression [J]. Cancer Sci, 2010,101:666-672

(上接第 1471 页)

- [9] Zhang S, Ji W, Liu C, Yue L, et al. The relation of metastasis and prognosis with transforming growth factor-beta1 and E-cadherin expression in supraglottic larynx squamous cell carcinoma. Liu Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi, 2006, 20(12) 534-537
- [10] Hu JA, Xu JY, Li YN, et al. Expression of MMP-2 and E-CAD in salivary gland coepidermoid carcinoma and its correlation with infiltration, metastasis and prognosis. Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2005, 34(5) 421-426
- [11] Qing IX, Tang ZY. Recent progress in predictive biomarkers for metastatic recurrence of human hepatocellular carcinoma: a review of the literature[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2004, 130(9) 497
- [12] 车向明, 王曙逢, 王康, 等. 肿瘤细胞 E-Cadherin 的表达与对基底膜浸润能力的关系[J]. 西安交通大学学报, 2004, 25(3) 271-273
Che Xiangming, Wang Shufeng, Wang Kang, et al. The expression of E-cadherin and its relation with invasive ability of basal membrane in tumor cells. Journal of Xi'an Jiaotong University (Medical Sciences), 2004, 25(3) 271-273
- [13] Chen-Kim HS, Hong EK, Park SY, et al. Expression of beta-catenin and E-Cadherin in the adenoma-carcinoma sequence of the stomach [J]. Anticancer Res, 2003, 23(3) 2863-2868