



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.08.013
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2016.08.013
Chinese Journal of General Surgery, 2016, 25(8):1163-1167.

· 基础研究 ·

转移抑制因子 1 在胆管细胞癌中的表达及临床意义

朱相凡¹, 单云峰²

(1. 温州医科大学附属乐清医院 肝胆外科, 浙江 乐清 325600; 2. 温州医科大学附属第一医院 肝胆外科, 浙江 温州 325000)

摘要

目的: 探讨转移抑制因子 1 (MTSS1) 在胆管细胞癌组织中的表达及临床意义。

方法: 前瞻性收集 2012 年 1 月—2014 年 1 月收治的 89 例胆管细胞癌患者作为研究组, 同时收集因胆结石行胆囊切除的患者 89 例作为对照组。比较两组患者病理组织中 MTSS1 表达的差异, 并进一步分析 MTSS1 与胆囊癌患者临床病理因素及预后的关系。

结果: 与对照组比较, 研究组患者 MTSS1 阳性率明显降低 (20.22% vs. 58.43%, $P=0.000$), MTSS1 阳性细胞百分比显著降低 (9.47% vs. 43.95%, $P=0.000$)。与 MTSS1 阳性的胆管细胞癌患者比较, MTSS1 阴性者肿瘤大小明显增加 (3.84 cm vs. 2.46 cm, $P=0.000$)、肿瘤分期为 III 或 IV 期的患者比例明显上升 (70.42% vs. 27.78%, $P=0.001$)、淋巴结转移率明显增加 (77.46% vs. 44.44%, $P=0.028$)、2 年内病死率明显增高 (42.25% vs. 16.67%, $P=0.045$)、肿瘤细胞为低分化者明显增加 ($P=0.001$)。Logistic 回归分析显示 MTSS1 阴性是胆管细胞癌患者死亡的独立危险因素 ($P=0.000$)、Wilcoxon 检验显示 MTSS1 阳性患者生存率明显高于 MTSS1 阴性的患者 ($P=0.041$)。

结论: MTSS1 表达下降或缺失与胆管细胞癌的发生和发展密切相关。

关键词

胆管肿瘤; 肿瘤抑制蛋白质类; 预后
中图分类号: R735.8

Expression of metastasis suppressor 1 in cholangiocarcinoma and its clinical significance

ZHU Xiangfan¹, SHAN Yunfeng²

(1. Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Yueqing Hospital, Wenzhou Medical University, Yueqing, Zhejiang 325600, China;

2. Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital, Wenzhou, Zhejiang 325000, China)

Abstract

Objective: To investigate the expression of metastasis suppressor 1 (MTSS1) in cholangiocarcinoma tissues and its clinical significance.

Methods: Eighty-nine patients with cholangiocarcinoma admitted from January 2012 to January 2014 were prospectively enrolled as study subjects, and meanwhile, 89 cases undergoing cholecystectomy due to cholelithiasis were collected as a control group. The difference in MTSS1 expression in the pathological tissues between the two groups of patients was compared, and the relations of MTSS1 expression with the clinicopathologic variables and prognosis of the patients with cholangiocarcinoma were analyzed.

收稿日期: 2016-05-27; 修订日期: 2016-07-14。

作者简介: 朱相凡, 温州医科大学附属乐清医院主治医师, 主要从事肝胆外科方面的研究。

通信作者: 单云峰, Email: shanyf@yahoo.com

Results: Compared with control group, the positive rate of MTSS1 expression in study group was significantly decreased (20.22% vs. 58.43%, $P=0.000$), and the percentage of MTSS1 positive cells was also significantly reduced (9.47% vs. 43.95%, $P=0.000$). In patients with MTSS1 negative cholangiocarcinoma compared with those with MTSS1 positive cholangiocarcinoma, the tumor size was significantly increased (3.84 cm vs. 2.46 cm, $P=0.000$), the proportion of cases with clinical stage III or IV was significantly increased (70.42% vs. 27.78%, $P=0.001$), lymph node metastasis rate was significantly increased (77.46% vs. 44.44%, $P=0.028$), the 2-year mortality rate was significantly increased (42.25% vs. 16.67%, $P=0.045$) and the number of cases with low differentiated tumor cells was significantly increased ($P=0.001$). Logistic regression analysis showed that the loss of MTSS1 expression was an independent risk factor for death of patients with cholangiocarcinoma ($P=0.000$), and Wilcoxon test showed that the survival rate in patients with positive MTSS1 expression was significantly higher than that in patients with negative MTSS1 expression ($P=0.041$).

Conclusion: The decrease or loss of MTSS1 expression is closely related to the occurrence and development of cholangiocarcinoma.

Key words Bile duct Neoplasms; Tumor Suppressor Proteins; Prognosis

CLC number: R735.8

目前,胆管细胞癌患者发病率呈增高趋势^[1-2]。大部分胆管细胞癌被诊断时已处于疾病晚期,5年生存率不足20%^[3]。导致胆管细胞癌患者临床预后差的原因主要是转移^[4-5],因此探讨胆管细胞癌转移的危险因素具有重要的临床意义。作为一种新发现的抑制肿瘤转移因子,转移抑制因子1(metastasis suppressor 1, MTSS1)被发现与膀胱癌、胃癌和乳腺癌等转移明显负相关,提示MTSS1对肿瘤的侵袭和转移有一定的抑制作用^[6-7]。2015年Cho等^[8]研究发现MTSS1与乳腺癌的发生和发展均明显负相关。而Huang等^[9]在乙肝相关性肝细胞癌中的研究则显示随着MTSS1 mRNA表达的升高,患者临床预后恶化。胆管细胞癌早期容易发生肝内转移、淋巴结转移和血道转移等,因此笔者推测其发生与MTSS1相关,探讨MTSS1在胆管细胞癌中表达有着重要的临床诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

前瞻性收集2012年1月—2014年1月我院收治的胆管细胞癌患者,纳入标准:(1)经病理确诊的胆管细胞癌;(2)同意参与本研究;(3)年龄 ≥ 18 岁。排除标准:(1)随访期间失访;(2)住院期间转院或放弃治疗;(3)转移性胆管细胞癌;(4)5年内合并其他肿瘤病史。研究期间同收集符合纳入标准的胆管细胞癌患者101例,其中3例随访期间失访,

7例住院期间转院或放弃治疗,1例为转移性胆管细胞癌;1例2年前胃癌既往史。结果共收集符合纳入标准的患者89例作为研究组。同时收集胆结石行胆囊切除的患者89例作为对照组,纳入标准:(1)胆囊结石;(2)同意参与本研究;(3)年龄 ≥ 18 岁;(4)行胆囊结石切除术。排除标准:(1)随访期间失访;(2)住院期间转院或放弃治疗;(3)5年内合并其他肿瘤病史。研究组男57例,女32例;年龄范围为26~73岁,平均年龄为(53.69 ± 14.93)岁。对照组52例,女37例;年龄范围为24~69岁,平均年龄为(52.29 ± 13.73)岁。两组患者的年龄和性别差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。所有患者均知情同意并签署知情同意书,本研究通过我院伦理委员会批准。

1.2 研究方法

检测两组患者病理组织中MTSS1表达情况,比较两组患者MTSS1表达差异;同时收集胆管细胞癌患者临床病理参数,分析不同临床病理参数与MTSS1的关联性,并进一步分析MTSS1在诊断胆管细胞癌患者临床预后中的价值。

1.3 MTSS1 检测方法

采用免疫组织化学法检测肿瘤组织和胆结石组织中MTSS1表达情况,试剂:(1)鼠抗人MTSS1单克隆单抗(ab56780,美国Abcam公司),工作浓度为1:50;(2)免疫组化试剂盒(福州迈生物技术开发有限公司)。MTSS1阳性标准:染色为淡黄色、棕黄色或棕褐色,同时记录阳性细胞百分

比(400倍显微镜下随机观察切片5个不同视, 取5个视野的阳性细胞的百分比, 求得均值作为该患者阳性细胞百分比)。

1.4 数据收集

主要收集的临床数据包括MTSS1阳性率、MTSS1百分比、肿瘤大小、临床分期、淋巴结转移、分化程度和2年病死率。总随访时间为2年。

1.5 统计学处理

采用SPSS 22.0完成数据分析, $P < 0.05$ 则认为差异有统计学意义。连续变量资料使用t检验进行统计分析并以均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示; 分类资料采用 χ^2 检验进行统计分析并以 $[n(\%)]$ 表示; 使

用Logistic回归分析患者2年内死亡的危险因素。

2 结果

2.1 胆管细胞癌肿瘤组织与胆道良性疾病MTSS1表达比较

不同组织染色结果不同(图1)。与对照组比较, 研究组患者MTSS1阳性率明显降低(20.22% vs. 58.43%, $P=0.000$); MTSS1阳性细胞百分比明显降低[(9.47 ± 3.84)% vs. (43.95 ± 9.59)%, $P=0.000$](表1)。

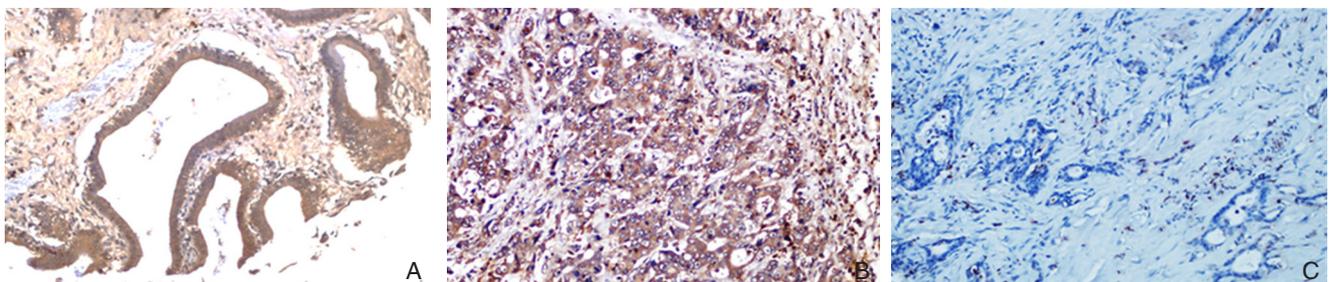


图1 免疫组化检测MTSS1表达(×400) A: 正常胆管组织; B: MTSS1阳性胆管细胞癌组织; C: MTSS1阴性胆管细胞癌组织

Figure 1 Immunohistochemical staining for MTSS1 expression (×400) A: Normal bile duct tissue; B: Cholangiocarcinoma tissue with positive MTSS1 expression; C: Cholangiocarcinoma tissue with negative MTSS1 expression

表1 两组MTSS1表达情况比较(n=89)

Table 1 Comparison of MTSS1 expressions between the two groups (n=89)

组别	MTSS1 阳性率 [n (%)]	MTSS1 阳性细胞百分比 ($\bar{x} \pm s, \%$)
研究组	18 (20.22)	9.47 ± 3.84
对照组	52 (58.43)	43.95 ± 9.59
t/χ^2	27.218	21.495
P	0.000	0.000

2.2 MTSS1与胆管细胞癌患者临床病理因素的关系

与MTSS1阳性的胆管细胞癌患者相比, MTSS1阴性患者肿瘤大小明显增加[(3.84 ± 1.02) cm vs. (2.46 ± 0.78) cm, $P=0.000$]; 肿瘤分期为III或IV期的患者明显增加(70.42% vs. 27.78%, $P=0.001$); 淋巴结转移率明显增加(77.46% vs. 44.44%, $P=0.028$);

2年内病死率明显增高(42.25% vs. 16.67%, $P=0.045$); 肿瘤细胞为低分化的患者明显增加($P=0.001$)(表2)。

表2 MTSS1表达与胆管细胞癌患者临床病理因素的关系 [n (%)]

Table 2 Relations of MTSS1 expression with clinicopathologic variables of patients with cholangiocarcinoma [n (%)]

因素	MTSS1 阳性 (n=18)	MTSS1 阴性 (n=71)	t/χ^2	P
肿瘤大小 ($\bar{x} \pm s, \text{cm}$)	2.46 ± 0.78	3.84 ± 1.02	5.635	0.000
TNM 分期				
I/II	13 (72.22)	21 (29.58)	11.061	0.001
III/IV	5 (27.78)	50 (70.42)		
淋巴结转移	8 (44.44)	55 (77.46)	4.820	0.028
2年内死亡	3 (16.67)	30 (42.25)	4.030	0.045
分化程度				
高分化	12 (66.67)	17 (23.94)	14.355	0.001
中分化	5 (27.78)	21 (29.58)		
低分化	1 (5.56)	33 (46.48)		

2.3 胆管细胞癌2年内死亡危险因素分析

Logistic回归分析显示TNM分期为III或IV期、淋巴结转移、肿瘤细胞分化程度为低分化和MTSS1阴性是胆管细胞癌患者死亡的独立危险因素(均 $P=0.00$) (表3)。

表3 胆管细胞癌患者2年内死亡的危险因素分析

Table 3 Analysis of the risk factors for death within 2 years in patients with cholangiocarcinoma

因素	β	SE	Wald	OR	95% CI	P
肿瘤大小	0.545	0.440	1.533	1.725	0.728~4.087	0.216
临床分期	9.603	1.645	11.597	2.344	2.234~2.454	0.000
淋巴结转移	11.683	4.088	4.512	2.103	1.783~2.563	0.000
分化程度	5.623	1.624	9.743	1.865	1.355~2.144	0.000
MTSS1	-8.485	0.362	6.843	1.746	1.385~2.015	0.000

2.4 MTSS1阳性与阴性患者生存率比较

Wilcoxon检验显示MTSS1阳性患者生存率明显长于MTSS1阴性的患者($P=0.041$) (图2)。

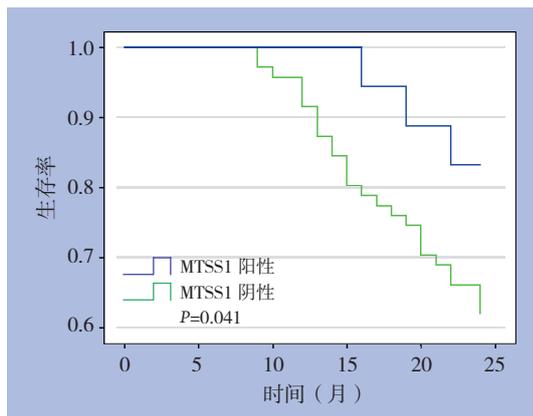


图2 MTSS1阳性与阴性患者生存曲线

Figure 2 Survival curves of patients with positive and negative MTSS1 expression

3 讨论

胆管细胞癌致死率高,探讨胆管细胞癌的发生、发展及转移的相关因素,具有重要的临床意义。MTSS1是新近发现的一种肿瘤抑制因子,在其他肿瘤的研究中发现MTSS1与肿瘤的发生和发展均紧密相关。检索国内文献发现,尚未有研究探讨MTSS1在胆管细胞癌患者胆管组织中的表达情况。本文探讨了MTSS1在胆管细胞癌患者中的表达水平,并探讨了MTSS1阴性和阳性患者临床预后的差别。

2011年Xie等^[10]研究发现MTSS1水平降低或

缺失与膀胱癌的发生和发展紧密相关,MTSS1缺失的膀胱癌患者临床预后显著恶化。同年Xie等^[11]研究再次发现MTSS1与食管鳞状细胞癌患者肿瘤大小、淋巴结转移和病死率均紧密相关($P<0.05$)。2011年Du等^[6]同样发现MTSS1与膀胱癌发生相关。近几年研究^[12-14]还发现了MTSS1与肾癌、黑素瘤、舌鳞状细胞癌相关。上述研究在一定程度上支持本研究,本研究结果发现与胆结石患者相比,胆管细胞癌患者MTSS1阳性率显著降低(20.22% vs. 58.43%, $P=0.000$); MTSS1阳性细胞百分比显著降低(9.47 ± 3.84)% vs. (43.95 ± 9.59)%, $P=0.000$)。与MTSS1阳性的胆管细胞癌患者相比,MTSS1阴性患者肿瘤大小显著增加[(3.84 ± 1.02) vs. (2.46 ± 0.78) cm, $P=0.000$]; 肿瘤分期为III或IV期的患者显著增加(70.42% vs. 27.78%, $P=0.001$); 淋巴结转移率显著增加(77.46% vs. 44.44%, $P=0.028$); 2年内病死率显著增高(42.25% vs. 16.67%, $P=0.045$); 肿瘤细胞为低分化的患者显著增加($P=0.001$)。Logistic回归分析显示MTSS1缺失是胆管细胞癌患者死亡的独立危险因素($P=0.000$)。表明MTSS1与肿瘤的发生和发展明显有关,MTSS1水平降低或缺失是胆管细胞癌患者预后不良的危险因素。

本研究纳入的研究人群与其他研究不同,目前国内尚未有研究探讨胆管细胞癌与MTSS1的关联性,所以本研究具有一定的创新性和临床意义。MTSS1降低或缺失导致肿瘤细胞发生和发展的相关机制尚不清楚。目前已知肿瘤组织MTSS1降低或缺失与DNA发生超甲基化和杂合性缺失相关,胃癌组织中MTSS1缺失患者基因8P24.1位点杂合性缺失出现频率较高,而8P24.1杂合性缺失与肿瘤抑制基因突变有关,MTSS1导致肿瘤细胞的发生和发展可能是通过提高8P24.1位点杂合性缺失水平造成的^[15]。但是胆管细胞癌的发生和发展过程中往往涉及多因素的作用,如癌基因、抑癌基因、转移相关基因等^[16-20],因此尚需进一步的临床研究探讨胆管细胞癌发生和发展的危险因素。综上所述,MTSS1表达水平下降或缺失与胆管细胞癌的发生和发展有关。

参考文献

- [1] Zhang H, Yang T, Wu M, et al. Intrahepatic cholangiocarcinoma:

- Epidemiology, risk factors, diagnosis and surgical management[J]. *Cancer Lett*, 2016, 379(2):198-205.
- [2] Njei B. Changing pattern of epidemiology in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Hepatology*, 2014, 60(3):1107-1108.
- [3] Bertuccio P, Bosetti C, Levi F, et al. A comparison of trends in mortality from primary liver cancer and intrahepatic cholangiocarcinoma in Europe[J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(6):1667-1674.
- [4] Xu YF, Ge FJ, Han B, et al. High-mobility group box 1 expression and lymph node metastasis in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(11):3256-3265.
- [5] Park TG, Yu YD, Park BJ, et al. Implication of lymph node metastasis detected on 18F-FDG PET/CT for surgical planning in patients with peripheral intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Clin Nucl Med*, 2014, 39(1):1-7.
- [6] Du P, Ye L, Ruge F, et al. Metastasis suppressor-1, MTSS1, acts as a putative tumour suppressor in human bladder cancer[J]. *Anticancer Res*, 2011, 31(10):3205-3212.
- [7] Kayser G, Csanadi A, Kakanou S, et al. Downregulation of MTSS1 expression is an independent prognosticator in squamous cell carcinoma of the lung[J]. *Br J Cancer*, 2015, 112(5):866-873.
- [8] Cho KH, Yu SL, Cho do Y, et al. Breast cancer metastasis suppressor 1 (BRMS1) attenuates TGF-beta1-induced breast cancer cell aggressiveness through downregulating HIF-1alpha expression[J]. *BMC Cancer*, 2015, 15(7):829. doi: 10.1186/s12885-015-1864-y.
- [9] Huang XY, Huang ZL, Xu B, et al. Elevated MTSS1 expression associated with metastasis and poor prognosis of residual hepatitis B-related hepatocellular carcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35(1):85. doi: 10.1186/s13046-016-0361-8.
- [10] Xie F, Ye L, Ta M, et al. MTSS1: a multifunctional protein and its role in cancer invasion and metastasis[J]. *Front Biosci (Schol Ed)*, 2011, 3:621-631.
- [11] Xie F, Ye L, Chen J, et al. The impact of Metastasis Suppressor-1, MTSS1, on oesophageal squamous cell carcinoma and its clinical significance[J]. *J Transl Med*, 2011, 9:95. doi: 10.1186/1479-5876-9-95.
- [12] Guo Y, Ren MS, Shang C, et al. MTSS1 gene regulated by miR-96 inhibits cell proliferation and metastasis in tongue squamous cellular carcinoma Tea8113 cell line[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(9):15441-15449.
- [13] Mertz KD, Pathria G, Wagner C, et al. MTSS1 is a metastasis driver in a subset of human melanomas[J]. *Nat Commun*, 2014, 5:3465. doi: 10.1038/ncomms4465.
- [14] Du P, Ye L, Li H, et al. The tumour suppressive role of metastasis suppressor-1, MTSS1, in human kidney cancer, a possible connection with the SHH pathway[J]. *J Exp Ther Oncol*, 2012, 10(2):91-99.
- [15] 范理宏, 柳珂, 于观贞, 等. MTSS1基因表达异常及杂合性缺失在晚期胃癌发展及转移中的作用[J]. *肿瘤*, 2011, 31(3):255-260. Fan LH, Liu K, Yu GZ, et al. Loss of heterozygosity and abnormal expression of MTSS1 in the progression and metastasis of advanced primary gastric carcinoma[J]. *Tumor*, 2011, 31(3):255-260.
- [16] Fujimoto K, Kuroda J, Makino K, et al. Skull metastasis from intrahepatic cholangiocarcinoma: report of 3 cases and review of the literature[J]. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 2013, 53(10):717-721.
- [17] Li MH, Dong LW, Li SX, et al. Expression of cytoskeleton-associated protein 4 is related to lymphatic metastasis and indicates prognosis of intrahepatic cholangiocarcinoma patients after surgery resection[J]. *Cancer Lett*, 2013, 337(2):248-253.
- [18] Li B, Han Q, Zhu Y, et al. Down-regulation of miR-214 contributes to intrahepatic cholangiocarcinoma metastasis by targeting Twist[J]. *FEBS J*, 2012, 279(13):2393-2398.
- [19] Maroni L, Pierantonelli I, Banales JM, 等. 遗传学在胆管细胞癌发展中的重要性[J]. *中国普通外科杂志*, 2015, 24(2):151-162. Maroni L, Pierantonelli I, Banales JM, et al. The significance of genetics for cholangiocarcinoma development[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2015, 24(2):151-162.
- [20] 朱垒, 黄飞舟, 聂晚频, 等. FIG-ROS融合基因在肝内胆管细胞癌中表达及其意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2015, 24(2):199-205. Zhu L, Huang FZ, Nie WP, et al. Expression of FIG-ROS fusion gene in intrahepatic cholangiocarcinoma and its significance[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2015, 24(2):199-205.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 朱相凡, 单云峰. 转移抑制因子1在胆管细胞癌中的表达及临床意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(8):1163-1167. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.08.013

Cite this article as: Zhu XF, Shan YF. Expression of metastasis suppressor 1 in cholangiocarcinoma and its clinical significance[J]. *Chin J Gen Surg*, 2016, 25(8):1163-1167. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.08.013