



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.02.010
<http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2017.02.010>
Chinese Journal of General Surgery, 2017, 26(2):190-198.

· 基础研究 ·

膜联蛋白 A2、上皮细胞钙黏蛋白及波形蛋白在肝内胆管结石相关肝内胆管癌中的表达及意义

柳志, 陈勇治, 舒健, 符洋, 王俊, 吕品, 张红辉, 周正

(湖南师范大学第一附属医院 / 湖南省人民医院 肝胆外科, 湖南长沙 410005)

摘要

目的: 探讨膜联蛋白 A2 (annexin A2) 与上皮-间质转化 (EMT) 标志物上皮细胞钙黏蛋白 (E-cadherin) 及波形蛋白 (vimentin) 在肝内胆管结石相关肝内胆管癌中的表达及意义。

方法: 用免疫组化检测 46 例肝内胆管结石相关肝内胆管癌组织 (肿瘤组)、50 例单纯肝内胆管结石慢性炎症胆管组织 (炎症组) 及 35 例来自血管瘤旁和肝外伤的正常胆管组织 (正常组) 中 annexin A2、E-cadherin、vimentin 的表达, 比较各组 3 种蛋白表达的差异, 并分析 3 种蛋白的表达与肿瘤组患者临床病理特征及预后的关系。

结果: annexin A2 与 vimentin 的阳性表达率在肿瘤组、炎症组、正常组均呈依次明显降低 (69.6% vs. 36.0% vs. 11.4%; 54.3% vs. 28.0% vs. 8.6%, 均 $P < 0.05$), 而 E-cadherin 的阳性表达率则相反 (21.7% vs. 48.0% vs. 71.4%, 均 $P < 0.05$); 在胆管癌组织中, annexin A2 与 vimentin 的表达呈正相关 ($r = 0.627$, $P < 0.05$), E-cadherin 的表达与 annexin A2、vimentin 的表达均呈负相关 ($r = -0.682$; $r = -0.575$, 均 $P < 0.05$)。annexin A2、vimentin 的表达与肿瘤的分化程度、淋巴结转移、TNM 分期有关, E-cadherin 的表达与肿瘤的分化程度、淋巴结转移有关 (均 $P < 0.05$)。肝内胆管结石相关肝内胆管癌患者中, annexin A2 和 vimentin 各自阳性者的生存率低于其各自阴性者, E-cadherin 阴性者生存率低于其阳性者 (均 $P < 0.05$)。

结论: annexin A2/EMT 通路在肝内胆管结石相关肝内胆管癌的发生和发展中可能至关重要, annexin A2、E-cadherin 及 vimentin 的表达与肿瘤的恶性程度和患者预后密切相关。

关键词

胆管肿瘤; 胆结石; 胆管, 肝内; 膜联蛋白 A2; 上皮-间质转化

中图分类号: R657.4

Expressions of annexin A2, E-cadherin and vimentin in hepatolithiasis-associated intrahepatic cholangiocarcinoma and their significance

LIU Zhi, CHEN Yongzhi, SHU Jian, FU Yang, WANG Jun, LU Pin, ZHANG Honghui, ZHOU Zheng

(Department of Hepatobiliary Surgery, Hunan Provincial People's Hospital/the First Affiliated Hospital, Hunan Normal University, Changsha 410005, China)

基金项目: 湖南省教育厅高校科研计划资助项目 (15C0836); 湖南省长沙市科学技术局科技计划资助项目 (K1203042-31); 2016 年湖南省研究生科研创新资助项目 (CX2016B224)。

收稿日期: 2016-10-25; **修订日期:** 2017-01-08。

作者简介: 柳志, 湖南师范大学第一附属医院 / 湖南省人民医院硕士研究生, 主要从事肝胆胰外科方面的研究。

通信作者: 王俊, Email: 13973120355@139.com; 吕品, Email: lvpinhn@163.com

Abstract

Objective: To investigate the expressions of annexin A2 and the epithelial-mesenchymal transition (EMT) markers E-cadherin and vimentin in hepatolithiasis-associated intrahepatic cholangiocarcinoma and their significance.

Methods: The expressions of annexin A2, E-cadherin and vimentin in tumor tissues from 46 patients with hepatolithiasis-associated intrahepatic cholangiocarcinoma (tumor group), bile duct tissues with chronic inflammation from 50 patients with simple hepatolithiasis (inflammation group) and normal bile duct tissues from 35 patients undergoing surgical resection for hepatic hemangioma or liver injury (normal group) were determined by immunohistochemical staining. The expressions of the three proteins among the groups were compared and their relations with clinicopathologic factors and prognosis of the patients with hepatolithiasis-associated intrahepatic cholangiocarcinoma were analyzed.

Results: The positive expression rates of both annexin A2 and vimentin were presented in descending order as tumor group>inflammation group>normal group (69.6% vs. 36.0% vs. 11.4%; 54.3% vs. 28.0% vs. 8.6%, all $P<0.05$), while the opposite pattern was seen in that of E-cadherin (21.7% vs. 48.0% vs. 71.4%, all $P<0.05$). In cholangiocarcinoma tissues, there was a positive correlation between the annexin A2 and vimentin expression ($r=0.627$, $P<0.05$), and negative correlation between the E-cadherin expression and either the annexin A2 or vimentin expression ($r=-0.682$; $r=-0.575$, both $P<0.05$). The expressions of annexin A2 and vimentin were significantly associated with the degree of tumor differentiation, lymph node metastasis and TNM stage, and E-cadherin expression was significantly associated with the degree of tumor differentiation and lymph node metastasis (all $P<0.05$). Among the patients with hepatolithiasis-associated intrahepatic cholangiocarcinoma, the survival rate in cases with positive annexin A2 or vimentin expression was significantly lower than that in their corresponding negative ones, and the survival rate in cases with negative E-cadherin expression was significantly lower than that in those with its positive expression (all $P<0.05$).

Conclusion: The annexin A2/EMT pathway may probably play an important role in the development and progression of hepatolithiasis-associated intrahepatic cholangiocarcinoma. The expressions of annexin A2, E-cadherin and vimentin are closely related to the degree of malignancy of the tumor and prognosis of the patients.

Key words

Bile Duct Neoplasms; Cholelithiasis; Bile Ducts, Intrahepatic; Annexin A2; Epithelial-Mesenchymal Transition

CLC number: R657.4

肝内胆管癌是高度侵袭性胆管癌家族中一种亚型,来源于胆管上皮细胞,占所有胆管癌的20%~25%^[1],具有高度恶性、高度侵袭性,其3、5年生存率分别为30%、18%^[2]。肝内胆管结石是肝内胆管癌已明确的危险因素^[3],肝内胆管结石相关肝内胆管癌患者由于发现时往往处于肿瘤晚期,伴有血管神经侵犯或转移,预后很差^[4],因此寻找新的肿瘤生物标志物至关重要,以便早期发现、早治疗、早预防以及预测疾病的进展。膜联蛋白A2(annexin A2)是一类钙依赖磷脂蛋白,与肿瘤细胞的粘连、增殖、凋亡、侵犯、转移、肿瘤的新生血管生成有密切相关^[5],研究^[6]表明上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是肿瘤细胞具有迁移性和侵袭性的一个主

要原因,本研究旨在探讨annexin A2与EMT重要生物标志物上皮细胞钙黏蛋白(E-cadherin)及波形蛋白(vimentin)^[7]在肝内胆管结石合并肝内胆管癌组织中的表达情况、三者的相关性及其临床意义。

1 材料与方法

1.1 病例资料

收集湖南省人民医院病理科2009年1月—2015年8月手术切除的肝内胆管组织的蜡块标本共131例。其中肝内胆管结石合并肝内胆管癌组织46例(肿瘤组),同期单纯肝内胆管结石患者胆管炎症组织标本50例,来自肝血管瘤旁、肝外伤行肝切除术的正常肝内胆管组织35例(正常组)。肿瘤组

中男24例,女22例;根据WHO肿瘤分化诊断标准:低分化26例,中分化17例,高分化3例;根据第7版AJCC/UICC分期方法对ICC进行TNM分期^[8]:I~II期15例,III~IV期31例;伴有淋巴结转移者20例,转移阴性者26例。所有的病例均得到术后病理证实,排除肿瘤组患者在术前接受过任何放、化疗者。

1.2 免疫组化检测 annexin A2、E-cadherin 及 vimentin 的表达

1.2.1 主要试剂 兔抗 annexin A2 单克隆抗体(ab41803)、兔抗 E-cadherin 单克隆抗体(ab15148)、兔抗 vimentin 单克隆抗体(ab16700)均购自 Abcam 公司。

1.2.2 方法 切取石蜡切片,每张切片厚约 4 μm,按照免疫组化 SP 法进行实验操作,检测 3 种因子表达(annexin A2 一抗工作浓度为 1:500;E-cadherin 一抗工作浓度为 1:500;vimentin 一抗工作浓度为 1:500)。以 PBS 代替一抗作为阴性对照,试剂公司提供的阳性着色图片为阳性对照。

1.2.3 结果判定 参考 Simons 等^[9]的评定标准,于光学显微镜下观察染色结果,具体评定标准根据着色强度和阳性细胞百分比采用半定量法,细胞着色强弱度评分:无着色者 0 分,浅黄色者 1 分,棕黄色者 2 分,棕褐色者 3 分。阳性细胞数所占的百分比评分:无阳性细胞者 0 分,≤10%者 1 分,11%~50%者 2 分,51%~75%者 3 分,≥75%者 4 分。再根据上述两者所得评分相乘结果划分等级:0~2 分为“-”,≥3 分即为阳性,其中 3~5 分为“+”,5~8 分为“++”,9~12 分则为“+++”。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,不同组别间差异分析采用 χ^2 检验或 Fisher 精确概率检验,

3 种因子表达的相关性采用 Spearman 等级相关分析法,利用 Kaplan-Meier 法检测累积生存率并用 Graphpad Prism 5 绘制生存率曲线,Log-rank 比较生存率差异。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组化检测结果分析

光学显微镜下可见胆管细胞 annexin A2 阳性者染色主要位于细胞膜、细胞质,呈黄色、棕黄色或褐色(图1)。各组间 annexin A2 表达率差异有统计学意义($P<0.05$) [肿瘤组与炎症组比较($\chi^2=10.816$, $P=0.001$)、肿瘤组与正常组比较($\chi^2=27.208$, $P<0.001$)、炎症组与正常对照组比较($\chi^2=6.480$, $P=0.011$)], annexin A2 的表达强弱关系为:肿瘤组>炎症组>正常组(表1)。光学显微镜下可见胆管细胞 E-cadherin 阳性者染色主要位于细胞膜,呈黄色、棕黄色或褐色(图2)。各组间 E-cadherin 表达率差异有统计学意义($P<0.05$) [肿瘤组与炎症组比较($\chi^2=7.223$, $P=0.007$)、肿瘤组与正常组比较($\chi^2=19.999$, $P<0.001$)、炎症组与正常对照组比较($\chi^2=4.629$, $P=0.031$)], E-cadherin 的表达强弱关系为:正常组>炎症组>肿瘤组(表1)。光学显微镜下可见胆管细胞 vimentin 阳性者染色主要位于细胞膜、细胞质(图3),呈黄色、棕黄色或褐色。各组间 vimentin 表达率差异有统计学意义($P<0.05$) [肿瘤组与炎症组比较($\chi^2=6.895$, $P=0.009$)、肿瘤组与正常组比较($\chi^2=18.415$, $P<0.001$)、炎症组与正常对照组比较($\chi^2=4.857$, $P=0.028$)]; vimentin 的表达强弱关系为:肿瘤组>炎症组>正常组(表1)。

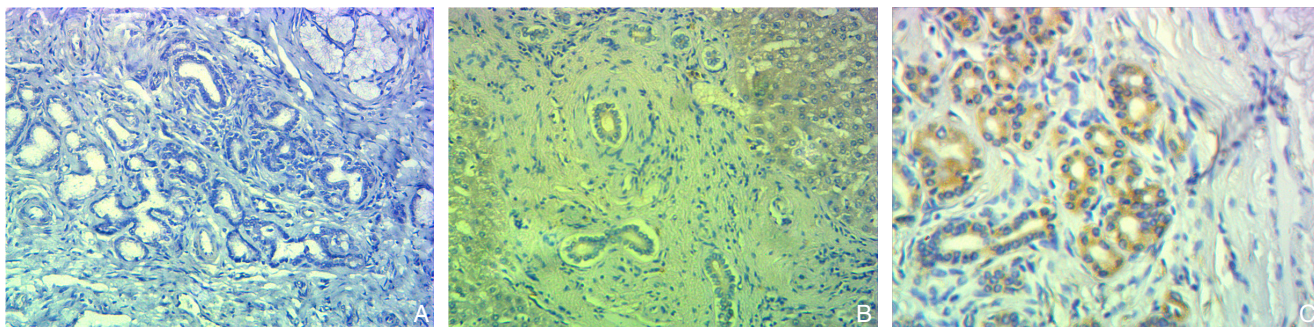


图1 免疫组化检测 annexin A2 的表达($\times 400$) A: 正常组; B: 炎症组; C: 肿瘤组

Figure 1 Immunohistochemical staining for annexin A2 expressions ($\times 400$) A: Normal group; B: Inflammation group; C: Tumor group

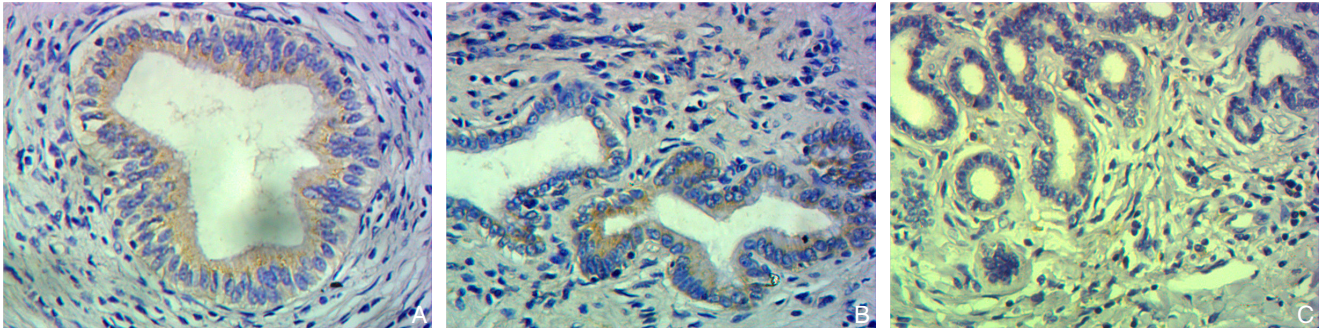


图2 免疫组化检测 E-cadherin 的表达 (×400) A: 正常组; B: 炎症组; C: 肿瘤组

Figure 2 Immunohistochemical staining for E-cadherin expressions (×400) A: Normal group; B: Inflammation group; C: Tumor group

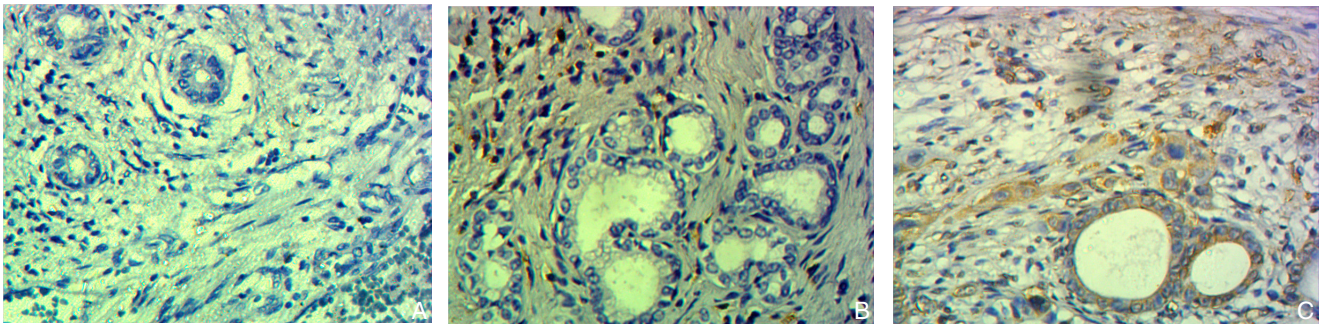


图3 免疫组化检测 vimentin 的表达 (×400) A: 正常组; B: 炎症组; C: 肿瘤组

Figure 3 Immunohistochemical staining for vimentin expressions (×400) A: Normal group; B: Inflammation group; C: Tumor group

表1 各组3种蛋白表达率的比较 [n (%)]

Table 1 Comparison of the expressions of the three proteins among the three groups [n (%)]

组别	n	annexin A2		E-cadherin		vimentin	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
肿瘤组	46	32 (69.6)	14 (30.4)	10 (21.7)	36 (78.3)	25 (54.3)	21 (45.7)
炎症组	50	18 (36.0)	32 (64.0)	24 (48.0)	26 (52.0)	14 (28.0)	36 (72.0)
正常组	35	4 (11.4)	31 (88.6)	25 (71.4)	10 (28.6)	3 (8.6)	32 (91.4)
P		<0.05		<0.05		<0.05	

2.2 胆管癌组织中 annexin A2、E-cadherin、vimentin 表达的相关性分析

在肝内胆管结石相关肝内胆管癌组织中, 相关分析显示: annexin A2与vimentin的表达

呈正相关 ($r=0.627, P<0.001$); annexin A2与E-cadherin的表达呈负相关 ($r=-0.682, P<0.001$); E-cadherin与vimentin的表达呈负相关 ($r=-0.575, P<0.001$) (表2)。

表2 胆管癌组织中3种蛋白表达的相关性分析 (n)

Table 2 Correlations among the expressions of the three proteins in cholangiocarcinoma tissues (n)

	E-cadherin		r	P	vimentin		r	P
	(+)	(-)			(+)	(-)		
annexin A2								
(+)	1	31	-0.682	0.000	24	8	0.627	0.000
(-)	9	5			1	13		
E-cadherin								
(+)	—	—	—	—	25	11	-0.575	0.000
(-)	—	—	—	—	25	21		

2.3 annexin A2、E-cadherin、vimentin 的表达与胆管癌临床病理特征的关系

annexin A2、E-cadherin、vimentin的表达均与患者的年龄、性别无关（均 $P>0.05$ ）。胆管癌分化程度越低，细胞膜、细胞质annexin A2和vimentin表达程度越高，分化越高，其表达程度越低，annexin A2和vimentin的表达与胆管癌的

分化程度、淋巴转移及肿瘤TNM分期有关（均 $P<0.05$ ）；对于E-cadherin，肿瘤分化程度越高，细胞膜、细胞质内E-cadherin表达程度越高，E-cadherin的表达与胆管癌的分化程度、淋巴转移有关（均 $P<0.05$ ），但与肿瘤TNM分期无关（ $P>0.05$ ）（表3）。

表3 annexin A2、E-cadherin、vimentin 表达与胆管癌患者临床病理因素的关系 [n (%)]

Table 3 Relations of the expressions of annexin A2, E-cadherin and vimentin with the clinicopathologic factors of cholangiocarcinoma patients [n (%)]

因素	n	annexin A2		χ^2	P	E-cadherin		χ^2	P	vimentin		χ^2	P
		阳性	阴性			阳性	阴性			阳性	阴性		
性别													
男	24	14(58.3)	10(41.7)	2.990	0.084	8(33.3)	16(66.7)	—	0.074	11(45.8)	13(54.2)	1.466	0.226
女	22	18(81.8)	4(18.2)			2(9.1)	20(90.9)			14(63.6)	8(36.4)		
年龄(岁)													
≤50	6	4(66.7)	2(33.3)	—	1.000	1(16.7)	5(83.3)	—	1.000	4(66.7)	2(33.3)	—	1.000
>50	40	28(70.0)	12(30.0)			9(22.5)	31(77.5)			23(57.5)	17(42.5)		
分化程度													
高	3	1(33.3)	2(66.7)	—	0.028	2(66.7)	1(33.3)	—	0.043	1(33.3)	2(66.7)	—	0.010
中	17	9(52.9)	8(47.1)			5(29.4)	12(70.6)			5(29.4)	12(70.6)		
低	26	22(84.6)	4(15.4)			3(11.5)	23(88.5)			19(73.1)	7(26.9)		
淋巴结转移													
(+)	20	19(95.0)	1(5.0)	10.812	0.001	1(5.0)	19(95.0)	—	0.028	17(85.0)	3(15.0)	15.280	0.000
(-)	26	13(50.0)	13(50.0)			9(34.6)	17(65.4)			7(26.9)	19(73.1)		
TNM分期													
I-II	15	7(46.7)	8(53.3)	—	0.038	6(40.0)	9(60.0)	—	0.057	4(26.7)	11(73.3)	6.874	0.009
III-IV	31	25(80.6)	6(19.4)			4(12.9)	27(87.1)			21(67.7)	10(32.3)		

2.4 肝内胆管结石相关肝内胆管癌患者生存分析

采用电话和患者门诊复查的病例资料随访肿瘤组患者的生存状况，随访时间终止于2016年9月。术后有5例肿瘤患者未定期到我院复查，电话失去联系（病例失访率10.87%）。肝内胆管结石合并胆管癌患者的平均生存时间为25个月，中位生存时间为17个月。患者术后的1、3、5年生存率分别为67.4%、17.4%、4.3%。生存分析显示，annexin A2表达阳性者的生存率低于其表达阴性者（32 vs. 14, $\chi^2=7.845$, $P=0.0051$ ），vimentin表达阳性者的生存率低于其表达阴性者（25 vs. 21, $\chi^2=8.541$, $P=0.0035$ ），E-cadherin表达阴性者的生存率低于其表达阳性者（36 vs. 10, $\chi^2=7.653$, $P=0.0057$ ）。

根据本免疫组化实验结果实际情况，将患者按三种因子的表达情况分为4组：E-cadherin阳性并其余两种因子均阴性组、E-cadherin阴性并其余

两种因子均阳性组、三种因子均阴性组、annexin A2阳性并其余两种因子均阴性组（9 vs. 24 vs. 4 vs. 6，其余情况因做生存分析病例数不足未分组），生存分析显示：E-cadherin阴性并其余两种因子均阳性组患者的生存率明显低于E-cadherin阳性并其余两种因子均阴性组（ $\chi^2=9.769$, $P=0.0018$ ），与3种因子均阴性组（ $\chi^2=0.8741$, $P=0.3498$ ）、annexin A2阳性并其余两种因子均阴性组（ $\chi^2=2.717$, $P=0.0993$ ）比较，无统计学差异；E-cadherin阳性并其余两种因子均阴性组患者的生存率明显高于3种因子均阴性组（ $\chi^2=6.286$, $P=0.0122$ ），与annexin A2阳性并其余两种因子均阴性组无统计学差异（ $\chi^2=2.412$, $P=0.1204$ ）；3种因子均阴性组患者的生存率与annexin A2阳性并其余两种因子均阴性组比较，无统计学差异（ $\chi^2=0.04393$, $P=0.8340$ ）（图4）。

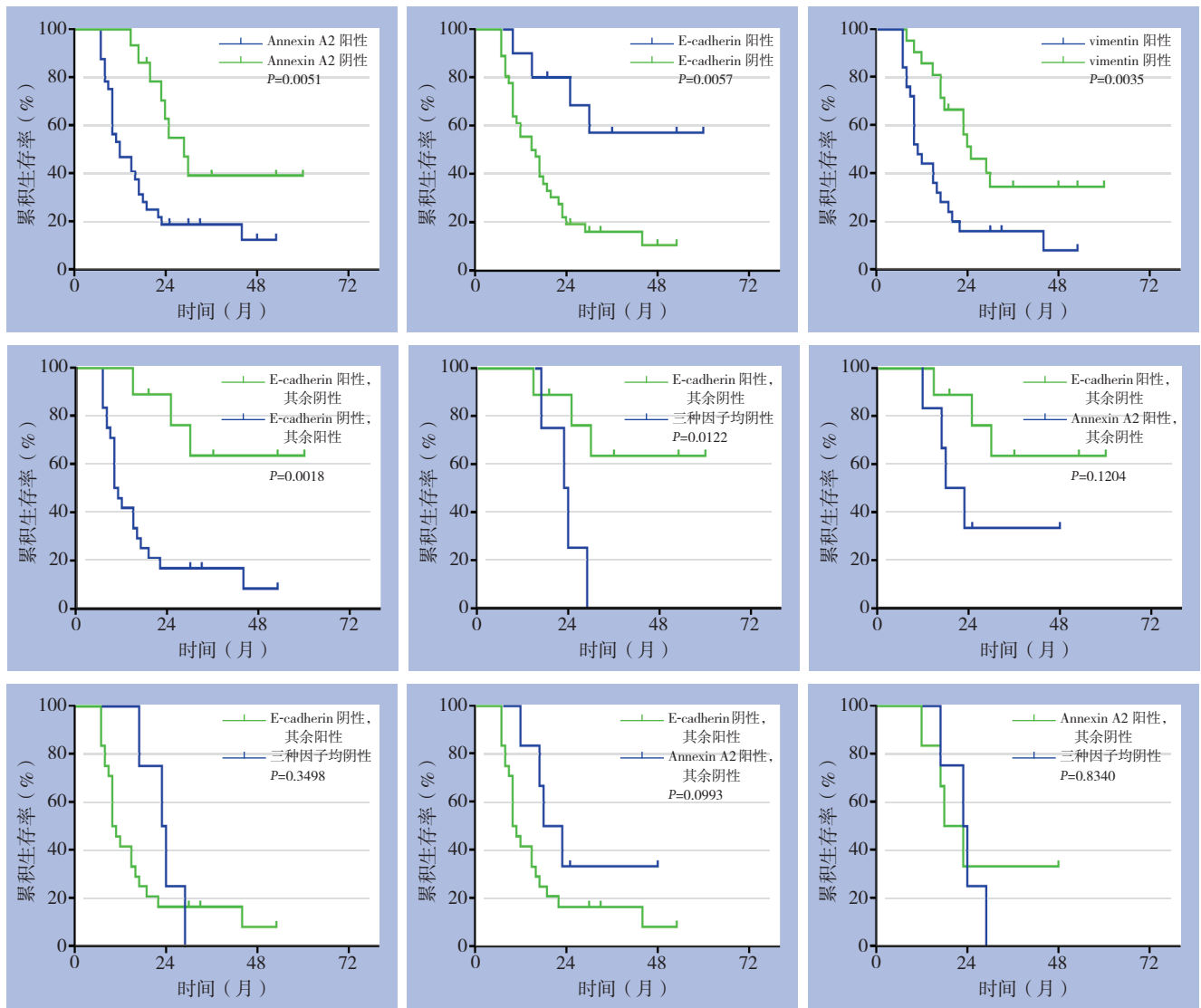


图4 不同 annexin A2、E-cadherin 及 vimentin 的表达状态患者生存率的比较

Figure 4 Comparison of survival rates among patients with different expressions of annexin A2, E-cadherin and vimentin

3 讨论

胆管癌是高度恶性和高度侵袭性的恶性肿瘤，肝内胆管结石相关肝内胆管癌并不罕见^[3]，而我国又是肝胆管结石高发地^[10]，肝内胆管结石相关肝内胆管癌的发生率为5%~13%^[11-12]，所以弄清肝内胆管结石相关胆管癌的发病机制十分重要。尽管肝内胆管结石相关肝内胆管癌的发病机制不是十分明确，但慢性增生性胆管炎在癌变过程中至关重要^[13]。肝胆管结石患者常伴有胆管炎反复发作、胆管狭窄、胆汁淤积、慢性细菌感染，这些导致胆管上皮的炎症迁延不愈及胆管上皮非典型增生，最终可能导致胆管癌的发生^[14]。肿瘤的侵

犯和转移是肿瘤患者死亡的主要原因，Liotta等^[15]提出了肿瘤侵袭和转移的三步曲：粘连、降解及迁移，这有助于理解胆管癌的高度侵袭性及转移特点。

annexin A2是一种分子量为36 kDa大小的钙离子依赖的磷脂结合蛋白^[16]，其结构高度保守，主要分布在真核细胞的细胞膜、细胞质上，一小部分分布在细胞核^[17-18]，它参与肌动蛋白细胞骨架动力学调节、胞吞作用、胞吐作用、细胞间的粘连、细胞极性及内涵体的形成^[5]。已有研究^[19-20]证明annexin A2参与肿瘤细胞的黏附，通过促进肿瘤细胞DNA的合成、促进原癌基因蛋白的合成、抑制抑癌基因p53介导的细胞凋亡等多种途径促进肿

瘤细胞的增殖^[21-22]，促进肿瘤新生血管的形成^[23]，能激活纤溶酶原活化系统，通过金属蛋白酶的活化、降解细胞外基质及生长因子的转换一系列过程从而促进肿瘤细胞迁移、侵犯及转移^[24]，此外annexin A2能通过促进EMT从而促进肿瘤的侵犯和转移^[25]。Yonglitthipagon等^[26]发现annexin A2的高表达与肝吸虫相关胆管癌高的TNM分期、淋巴结侵犯、转移及预后不良密切相关，通过Cox多元回归分析证实annexin A2的表达是肝吸虫相关胆管癌预后的一个独立危险因素。本研究发现，annexin A2在肝内胆管结石相关肝内胆管癌中高表达，在正常组、肝内胆管结石炎症组、肿瘤组，其表达程度依次增高，其阳性表达与肝内胆管结石相关肝内胆管癌的低分化、淋巴结转移、高的TNM分期密切相关，而且annexin A2表达阳性者较其表达阴性者预后差，提示annexin A2在肝内胆管结石相关肝内胆管癌的发生发展过程、侵犯及转移可能起重要作用，同时提示annexin A2可做为肝内胆管结石相关肝内胆管癌的一个潜在的肿瘤生物标志物及预后标志物。

EMT使肿瘤上皮细胞极性丧失，上皮细胞黏附表型转化到间叶表型，细胞侵袭和迁移能力得到增强，细胞骨架重塑和抑制细胞凋亡，其中应力纤维重排、黏附分子的改变及细胞外基质蛋白是肿瘤细胞发生EMT的关键^[27]。研究^[28-29]表明EMT与胆管癌的侵袭和转移密切相关。E-cadherin和vimentin是EMT的两个标志蛋白^[7,30]。E-cadherin是钙依赖性细胞黏附分子，它是上皮细胞紧密连接系统的主要成分，除了支持细胞间的黏附，E-cadherin能够影响广泛的细胞功能，包括细胞信号通路的激活，细胞骨架的调节和细胞极性的控制^[30]。E-cadherin是EMT的关键蛋白^[30]，E-cadherin表达缺失是EMT发生并导致肿瘤侵袭和转移的标志变化^[31]，E-cadherin表达下调导致原发性肿瘤中的肿瘤细胞之间的细胞黏附减弱，因此肿瘤细胞更容易发生浸润和转移^[31]。vimentin表达与肿瘤的侵袭和转移能力成正相关，是间叶细胞表型的常用标志之一^[32]。Wei等^[32]发现vimentin可能是通过C-src调节E-cadherin/ β -catenin复合物来促进肿瘤细胞的侵袭和转移。Mao等^[33]发现vimentin的阳性表达与胆管癌的分化程度、静脉侵犯和肝炎病毒感染相关，通过Cox多元回归分析证

实vimentin的表达是胆管癌预后的一个独立危险因素。Korita等^[34]也发现vimentin的阳性表达与肝内胆管癌的低分化和预后不良相关。Huang等^[29]的研究表明E-cadherin的低表达和vimentin的高表达与肝内胆管癌的淋巴结转移和预后差密切相关。本研究再次验证了以上结论，E-cadherin在肝内胆管结石相关肝内胆管癌中低表达，在正常组、肝内胆管结石炎症组、肿瘤组，E-cadherin表达程度依次降低，与肝内胆管癌的分化程度、淋巴结转移密切相关，尽管本研究结果发现E-cadherin表达与肝内胆管癌的临床分期无关（ $P=0.057$ ），可能与本研究样本量小有关，但已有许多研究发现E-cadherin表达与胆管癌的临床分期相关，而且其表达阴性者较其表达阳性者预后差；而vimentin在肝内胆管结石相关肝内胆管癌中高表达，在正常组、肝内胆管结石炎症组、肿瘤组，vimentin表达程度依次增高，与肝内胆管结石相关肝内胆管癌的分化程度、淋巴结转移、临床分期密切相关，而且vimentin表达阳性者较其表达阴性者预后差，这些都提示E-cadherin、vimentin在肝内胆管结石相关肝内胆管癌的发生发展过程、侵犯及转移过程可能起重要作用，本研究还发现：在肝内胆管结石相关肝内胆管癌中，annexin A2与vimentin的表达呈正相关，E-cadherin与annexin A2、vimentin的表达呈负相关，而E-cadherin和vimentin是EMT的两个标志蛋白，同时生存分析显示，E-cadherin阴性与annexin A2、vimentin均阳性组患者的生存率明显低于E-cadherin阳性与annexin A2、vimentin均阴性组（ $\chi^2=9.769$ ， $P=0.0018$ ），因此推测，annexin A2与EMT之间可能存在某种联系通路，这种联系通路导致肝内胆管结石相关肝内胆管癌的侵袭和转移能力得到明显增强，从而导致胆管癌患者预后不良。

本研究部分患者未定期复查，对患者术后肿瘤的复发和转移情况未掌握准确信息，所有的肝内胆管癌患者均行手术治疗，肝内胆管结石的分布、残肝有无结石残留、肝脏切除范围、淋巴结清扫范围、患者的体力状态等均是影响患者预后的因素，此外，因为样本量小，未对可能影响预后的因子进行Cox多元回归分析，故本临床研究存在一定的局限性。

综上所述，annexin A2/EMT通路可能参与肝

内胆管结石相关胆管癌发生发展,若能明确通路的具体环节及机制,通过阻断通路的关键环节从而减弱胆管癌细胞的黏附及迁移能力,为肝内胆管结石相关胆管癌的诊断、预防及预后提供重要临床指导意义。

参考文献

- [1] Brown KM, Parmar AD, Geller DA. Intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Surg Oncol Clin N Am*, 2014, 23(2):231–246. doi: 10.1016/j.soc.2013.10.004.
- [2] Nathan H, Aloia TA, Vauthey JN, et al. A proposed staging system for intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2009, 16(1):14–22. doi: 10.1245/s10434-008-0180-z.
- [3] Kim HJ, Kim JS, Joo MK, et al. Hepatolithiasis and intrahepatic cholangiocarcinoma: A review[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(48):13418–13431. doi: 10.3748/wjg.v21.i48.13418.
- [4] Olnes MJ, Erlich R. A review and update on cholangiocarcinoma [J]. *Oncology*, 2004, 66(3):167–179.
- [5] Xu XH, Pan W, Kang LH, et al. Association of Annexin A2 with cancer development (review)[J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(5):2121–2128. doi: 10.3892/or.2015.3837
- [6] Gao D, Vahdat LT, Wong S, et al. Microenvironmental regulation of epithelial-mesenchymal transitions in cancer[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(19):4883–4889. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-1223.
- [7] Thiery JP, Acloque H, Huang RY, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease[J]. *Cell*, 2009, 139(5):871–890. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.007.
- [8] Egner JR. AJCC Cancer Staging Manual[J]. *JAMA*, 2010, 304(15):1726–1727. doi:10.1001/jama.2010.1525.
- [9] Simons MP, Moore JM, Kemp TJ, et al. Identification of the mycobacterial subcomponents involved in the release of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand from human neutrophils[J]. *Infect Immun*, 2007, 75(3):1265–1271.
- [10] Tazuma S. Gallstone disease: Epidemiology, pathogenesis, and classification of biliary stones (common bile duct and intrahepatic)[J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2006, 20(6):1075–1083.
- [11] Lin CC, Lin PY, Chen YL. Comparison of concomitant and subsequent cholangiocarcinomas associated with hepatolithiasis: Clinical implications[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(3):375–380. doi: 10.3748/wjg.v19.i3.375.
- [12] Kim HJ, Kim JS, Suh SJ, et al. Cholangiocarcinoma Risk as Long-term Outcome After Hepatic Resection in the Hepatolithiasis Patients[J]. *World J Surg*, 2015, 39(6):1537–1542. doi: 10.1007/s00268-015-2965-0.
- [13] Nakanuma Y, Terada T, Tanaka Y, et al. Are hepatolithiasis and cholangiocarcinoma aetiologically related?[J]. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*, 1985, 406(1):45–58.
- [14] Aishima S, Kubo Y, Tanaka Y, et al. Histological features of precancerous and early cancerous lesions of biliary tract carcinoma[J]. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2014, 21(7):448–452. doi: 10.1002/jhbp.71.
- [15] Liotta LA, Mandler R, Murano G, et al. Tumor cell autocrine motility factor[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1986, 83(10):3302–3306.
- [16] 赵玲, 崔全才. Annexin A2在肿瘤发生中的作用研究进展[J]. *中华病理学杂志*, 2007, 36(2):129–132. doi:10.3760/j.issn:0529-5807.2007.02.015.
- [16] Zhao L, Cui QC. Annexin A2 and pathogenesis cancer:an update[J]. *Chinese Journal of Pathology*, 2007, 36(2):129–132. doi:10.3760/j.issn:0529-5807.2007.02.015.
- [17] Courtneidge S, Ralston R, Alitalo K, et al. Subcellular location of an abundant substrate (p36) for tyrosine-specific protein kinases[J]. *Mol Cell Biol*, 1983, 3(3):340–350.
- [18] Eberhard DA, Karns LR, Vandenberg SR, et al. Control of the nuclear-cytoplasmic partitioning of annexin II by a nuclear export signal and by p11 binding[J]. *J Cell Sci*, 2001, 114(Pt 17):3155–3166.
- [19] Lokman NA, Elder A, Ween MP, et al. Annexin A2 is regulated by ovarian cancer-peritoneal cell interactions and promotes metastasis[J]. *Oncotarget*, 2013, 4(8):1199–1211.
- [20] Shiozawa Y, Havens A M, Jung Y, et al. Annexin II/annexin II receptor axis regulates adhesion, migration, homing, and growth of prostate cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2008, 105(2):370–380. doi: 10.1002/jcb.21835.
- [21] Pelengaris S, Khan M. The c-MYC oncoprotein as a treatment target in cancer and other disorders of cell growth[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2003, 7(5):623–642.
- [22] Huang Y, Jin Y, Yan CH, et al. Involvement of Annexin A2 in p53 induced apoptosis in lung cancer[J]. *Mol Cell Biochem*, 2008, 309(1/2):117–123.
- [23] Lima Silva R, Shen J, Gong YY, et al. Agents that bind annexin A2 suppress ocular neovascularization[J]. *J Cell Physiol*, 2010, 225(3):855–864. doi: 10.1002/jcp.22296.
- [24] Lokman NA, Ween MP, Oehler MK, et al. The role of annexin A2 in tumorigenesis and cancer progression[J]. *Cancer Microenviron*, 2011, 4(2):199–208. doi: 10.1007/s12307-011-0064-9.
- [25] Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression[J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(6):442–454.

- [26] Yonglithipagon P, Pairojkul C, Chamgramol Y, et al. Up-regulation of annexin A2 in cholangiocarcinoma caused by *Opisthorchis viverrini* and its implication as a prognostic marker[J]. *Int J Parasitol*, 2010, 40(10):1203–1212. doi: 10.1016/j.ijpara.2010.05.002.
- [27] 强勇, 陈钟. EMT相关分子标志物在胆管癌侵袭转移中的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2015, 23(25):4051–4059. doi:10.11569/wcjd.v23.i25.4051.
- Qiang Y, Chen Z. Epithelial mesenchymal transition related molecular markers and invasion and metastasis of cholangiocarcinoma[J]. *World Chinese Journal of Digestology*, 2015, 23(25):4051–4059. doi:10.11569/wcjd.v23.i25.4051.
- [28] Nitta T, Mitsuhashi T, Hatanaka Y, et al. Prognostic significance of epithelial-mesenchymal transition-related markers in extrahepatic cholangiocarcinoma: comprehensive immunohistochemical study using a tissue microarray[J]. *Br J Cancer*, 2014, 111(7):1363–1372. doi: 10.1038/bjc.2014.415.
- [29] Huang XY, Zhang C, Cai JB, et al. Comprehensive multiple molecular profile of epithelial mesenchymal transition in intrahepatic cholangiocarcinoma patients[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5):e96860. doi: 10.1371/journal.pone.0096860.
- [30] Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(6):1429–1437. doi: 10.1172/JCI36183.
- [31] Techasen A, Loilome W, Namwat N, et al. Loss of E-cadherin promotes migration and invasion of cholangiocarcinoma cells and serves as a potential marker of metastasis[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(9):8645–8652. doi: 10.1007/s13277-014-2087-6.
- [32] Wei J, Xu G, Wu M, et al. Overexpression of vimentin contributes to prostate cancer invasion and metastasis via src regulation[J]. *Anticancer Res*, 2008, 28(1A):327–334.
- [33] Mao X, Chen D, Wu J, et al. Differential expression of fascin, E-cadherin and vimentin: Proteins associated with survival of cholangiocarcinoma patients[J]. *Am J Med Sci*, 2013, 346(4):261–268. doi: 10.1097/MAJ.0b013e3182707108.
- [34] Korita PV, Wakai T, Ajioka Y, et al. Aberrant expression of vimentin correlates with dedifferentiation and poor prognosis in patients with intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(6):2279–2285.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 柳志, 陈勇治, 舒健, 等. 膜联蛋白A2、上皮细胞钙黏蛋白及波形蛋白在肝内胆管结石相关肝内胆管癌中的表达及意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2017, 26(2):190-198. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.02.010

Cite this article as: Liu Z, Chen YZ, Shu J, et al. Expressions of annexin A2, E-cadherin and vimentin in hepatolithiasis-associated intrahepatic cholangiocarcinoma and their significance[J]. *Chin J Gen Surg*, 2017, 26(2):190-198. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.02.010



微信扫一扫
关注该公众号

敬请关注《中国普通外科杂志》官方微信平台

《中国普通外科杂志》官方公众微信正式上线启动(微信号: ZGPTWKZZ), 我们将通过微信平台定期或不定期推送本刊的优秀文章、工作信息、活动通知等, 以及国内外最新研究成果与进展等。同时, 您也可在微信上留言, 向我们咨询相关问题, 并对我们的工作提出意见和建议。《中国普通外科杂志》公众微信号的开通是我们在移动互联微时代背景下的创新求变之举, 希望能为广大读者与作者带来更多的温馨和便利。

欢迎扫描二维码, 关注《中国普通外科杂志》杂志社官方微信服务平台。

中国普通外科杂志编辑部