

文章编号:1005-6947(2007)08-0806-03

· 简要论著 ·

骨桥蛋白、甲胎蛋白表达与原发性肝癌的关系

曾文¹, 刘青光², 姚英民²

(1. 陕西省西安市中心医院 普外一科, 陕西 西安 710003; 2. 西安交通大学第一附属医院 肝胆外科, 陕西 西安 710061)

摘要:为探讨骨桥蛋白(OPN)及甲胎蛋白(AFP)在肝细胞癌(HCC)中的表达及其与病理特性和预后的关系。笔者采用免疫组化S-P法检测40例HCC, 10例正常肝组织及10例肝硬化组织中OPN及AFP的表达情况。结果显示:(1)OPN在HCC中存在过表达, 与HCC预后有关($P < 0.05$)。(2)AFP在HCC中有过表达的趋势, 与HCC的TNM分期、血清AFP水平和预后有关($P < 0.05$)。(3)40例HCC标本中, OPN和AFP表达均为阳性者16例, 生存1年半以上仅5例; 两者均为阴性者10例, 生存1年半以上达8例; OPN阳性而AFP阴性者13例, OPN阴性而AFP阳性者1例。OPN与AFP表达率显著相关($P = 0.023$)。OPN和AFP联合表达与HCC的TNM分期、HBV感染、血清AFP水平和生存期有显著关系(分别为 $P = 0.014, 0.032, 0.001, 0.001$)。提示: OPN和AFP的表达与HCC侵袭转移的发生有密切关系; 两者均阳性表达时对预测HCC已发生转移具有指导意义, 可作为判断HCC预后的指标。

[中国普通外科杂志, 2007, 16(8): 806-808]

关键词: 肝肿瘤; 骨桥蛋白; 甲胎蛋白; 免疫组织化学

中图分类号: R 735.7

文献标识码: B

肝脏肿瘤, 特别是原发性肝细胞癌(hepatic cell carcinoma, HCC)在我国常见, 且多为高度恶性, 生存期短, 病死率高, 预后不良。HCC临床就诊者多属中晚期, 手术切除率低, 常规化疗及放疗效果不佳, 且副作用大; 其他疗法如基因治疗、生物治疗等效果亦不明显。寻找新的针对肿瘤早期诊断、预测复发、评价疗效、随访中发现高危人群及特异性治疗靶位的分子生物学因子成为当前研究的热点。骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是一种磷酸化糖蛋白, 在正常组织中少量表达, 但在许多癌组织中表达量增加^[1]。研究其与HCC病理特性的关系及与甲胎蛋白(alpha fetoprotein AFP)在HCC中表达的关系, 对于探讨HCC的发生、发展及判断预后有一定意义。

1 材料与方法

1.1 标本及一般资料

1.1.1 肝癌组 HCC组织来源于2003年1月

—2004年9月西安交通大学第一医院、西安市中心医院收治的40例HCC患者的术后标本。其中男31例, 女9例, 男女比例为3.44:1.00; 年龄为29~76(平均50.7)岁, ≤ 45 岁者16例, > 45 岁者24例。40例术前均未放疗和化疗。标本经10%福尔马林固定, 石蜡包埋。患者术后均行常规病理学检查及HE染色, 证实为HCC, 高中度分化29例, 低度分化11例。

1.1.2 肝硬化组 肝硬化组织来源于2005年1月—2005年5月西安交通大学第一医院、西安市中心医院收治的HCC伴肝硬化术后癌旁的无癌组织(距离肿瘤 ≥ 3 cm), 其中男8例, 女2例, 男女比例为4.00:1.00; 年龄在27~73(平均49.2)岁。10例术前均未放疗和化疗。标本经10%福尔马林固定, 石蜡包埋。患者术后均行常规病理学检查及HE染色, 证实为无癌的肝硬化组织。

1.1.3 正常肝组织组 正常肝组织来源于2005年1月—2005年6月西安交通大学第一医院、西安市中心医院收治的肝血管瘤术后瘤旁的正常肝组织, 其中男5例, 女4例, 男女比例为1.25:1.00。年龄在23~67(平均44.8)岁。标本经10%福尔马林固定, 石蜡包埋。患者术后均行常规病理学检查及HE染色, 证实为正常肝组织。

收稿日期:2007-01-12; 修订日期:2007-07-05。

作者简介:曾文,男,湖南新化人,西安市中心医院主治医师,主要从事肝胆外科方面的研究。

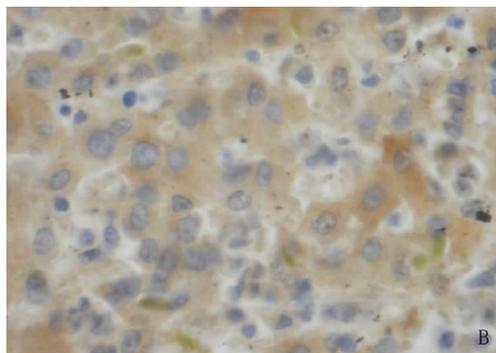
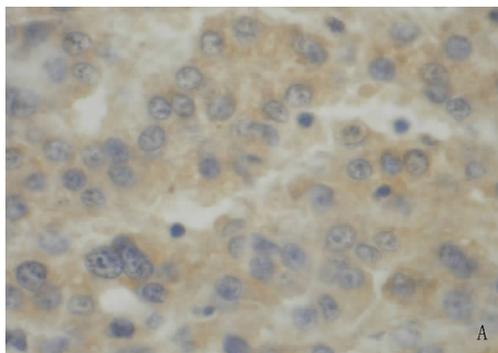
通讯作者:曾文 E-mail:zwt0210@tom.com

1.2 试剂及实验方法

1.2.1 OPN 和 AFP 的检测 采用免疫组化链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶(S-P)法。兔抗人多克隆 OPN 抗体,购于福州迈新生物技术开发有限公司,1.5 mL,工作浓度 1:50。鼠抗人单克隆 AFP 抗体,购于北京中杉金桥生物技术有限公司,0.1 mL,工作浓度 1:100。免疫组化染色试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司。每批染色均设已知阳性切片作阳性对照,用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作阴性对照。

1.2.2 结果判断标准 染色阳性信号以细胞浆或细胞膜出现棕黄色颗粒为 AFP 和 OPN 阳性

(附图)。染色结果采用 Fromowitz 等综合记分法作半定量分析。阳性细胞百分数为计 10 个视野阳性细胞的平均数:0 分(无阳性细胞),1 分(阳性细胞 $\leq 25\%$),2 分(阳性细胞 $26\% \sim 50\%$),3 分(\geq 阳性细胞 $51\% \sim 75\%$),4 分(阳性细胞所占比率 $> 75\%$)。阳性强度以着色程度进行记分:0 分(无、不着色),1 分(弱、淡黄),2 分(中、棕黄),3 分(强,棕褐)。两者相加,0~1 分为阴性,2~3 分为弱阳性(+),4~5 分为中度阳性(++),6~7 分为强阳性(+++)。0~1 分定为阴性表达,2~7 分定为阳性表达。



附图 OPN 和 AFP 在人 HCC 组织中的表达 A:肝癌 OPN 阳性染色 $\times 400$; B:肝癌 AFP 阳性染色 $\times 400$

1.3 统计学处理

OPN 与 AFP 相互之间及其与临床病理因素的关系应用统计分析软件 SPSS13.0 经微机进行统计学分析。数据处理应用卡方检验, Fisher's 确切概率法。 $P < 0.05$ 为差异有显著性; $P < 0.01$ 为差异有高度显著性。

2 结果

2.1 OPN 在 3 种组织中的表达

40 例 HCC 组织中 OPN 阳性表达 29 例,阳性表达率为 72.5%;10 例肝硬化组织中有 2 例为弱阳性表达,阳性表达率为 20.0%。10 例正常肝组织中有 1 例为弱阳性表达,阳性表达率为 10.0%;经统计学分析,HCC 组 OPN 的表达明显高于肝硬化组和正常肝组织($P < 0.01$)。后两组表达无明显差异($P > 0.05$)。

2.2 AFP 在 3 种组织中的表达

40 例 HCC 组织中 AFP 阳性表达 17 例,阳性表达率为 42.5%;10 例肝硬化组织中 1 例有弱阳性表达。10 例正常肝组织中未见阳性表达;经

统计学分析,HCC 组 AFP 的表达明显高于肝硬化组和正常肝组织组($P < 0.05$)。后两组表达无明显差异($P > 0.05$)。

2.3 OPN 和 AFP 在 HCC 组织中表达的关系

经统计学分析,OPN 与 AFP 表达有显著关系($P < 0.05$) (表 1)。

表 1 OPN 表达与 AFP 表达的关系

AFP 表达	例数	OPN 表达		性表达率(%)	P 值
		阴性	阳性		
阳性	17	1	16	94.1	0.023
阴性	23	10	13	56.5	

2.4 OPN 和 AFP 联合表达与 HCC 临床病理特征的关系

OPN 和 AFP 联合表达与 HCC 的 TNM 分期、乙型肝炎病毒(HBV)感染、血清 AFP 水平和生存期有关(均 $P < 0.05$),而与其他临床病理参数无显著关系(均 $P > 0.05$) (表 2)。

表2 OPN 和 AFP 联合表达与 HCC 临床病理特征的关系

指标	OPN(+)	OPN(+)	OPN(-)	OPN(-)	P 值
	AFP(+)	AFP(-)	AFP(-)	AFP(+)	
年龄					
≤45 岁	10	5	1	0	0.052
>45 岁	6	8	9	1	
性别					
男	13	10	7	1	0.863
女	3	3	3	0	
肿瘤大小(cm)					
<5	2	3	2	0	0.846
≥5	14	10	8	1	
肿瘤部位					
左叶	5	4	4	1	0.538
右叶	11	9	6	0	
大体类型					
巨块型	10	12	7	0	0.110
结节型	6	1	3	1	
组织学分级					
高中度分化	14	6	8	1	0.072
低度分化	2	7	2	0	
TNM 分期					
T ₁ +T ₂	9	1	2	1	0.014
T ₃ +T ₄	7	12	8	0	
淋巴结转移					
有	3	1	1	0	0.790
无	13	12	9	1	
临床分期					
早期(Ⅰ+Ⅱ)	6	4	5	0	0.678
晚期(Ⅲ+Ⅳ)	10	9	5	1	
门脉癌栓					
有	2	1	1	0	0.960
无	14	12	9	1	
血清 AFP(μg/L)					
≥400	13	1	4	1	0.001
<400	3	12	6	0	
HBV 感染					
阳性	16	12	10	0	0.032
阴性	0	1	0	1	
生存期					
≤1 年半	11	5	2	0	0.001
>1 年半	5	8	8	1	

3 讨论

OPN 与肿瘤发生发展、转移及预后的关系研究较多。已证实 OPN 与原发肝癌及转移性肝癌的进展相关。本组 10 例正常肝组织中仅 1 例为弱阳性表达,10 例肝硬化组织中仅 2 例为弱阳性表达,而 40 例 HCC 组织中有 29 例 OPN 阳性。OPN 阳性的癌细胞主要分散在癌结节周围,与间质细胞毗邻,说明 OPN 在肿瘤侵袭周围间质中起

着重要作用。Pan 等^[2] 近期研究发现,OPN 过表达可作为 HCC 术后肝内转移、复发及预后不良的早期标志物。他们在研究中还发现,OPN 过表达与 p53 突变有关($P = 0.021$),p53 突变也与肝癌进展和预后差有关($P < 0.05$)。因此,他们推测,OPN 和 p53 突变有协同作用,可能使肿瘤细胞更容易生长,并且易于发生门静脉侵犯,从而导致肿瘤发展至晚期且预后较差。Ye 等^[3] 通过对伴随转移的人原发性肝癌的基因表达特征研究发现,OPN 被认为是在转移性肝癌中过表达的一个主要基因。OPN 特异性的抗体有效地阻断肝癌细胞的侵袭性,并抑制肝癌细胞在裸鼠体内出现的肺转移。因此推测肝癌中 OPN 的表达赋予细胞转移表型。

本文结果发现:40 例 HCC 标本中,OPN 和 AFP 均为阳性者 16 例,生存 1 年半以上仅 5 例;两者均为阴性者 10 例,生存 1 年半以上达 8 例;OPN 阳性而 AFP 阴性者 13 例,OPN 阴性 AFP 阳性者 1 例。经统计学分析,OPN 表达和 AFP 表达有显著关系($P = 0.023$)。OPN 和 AFP 联合表达与 HCC 的 TNM 分期、血清中 AFP 含量、HBV 感染、生存期有显著关系($P < 0.05$)。Peng 等^[4] 研究发现,OPN 和 AFP 在 294 例外科治疗的进展期原发性肝癌均有过表达,AFP 过表达与 OPN 过表达有关($P = 0.0026$)。AFP 的表达发生在肝癌分子改变的早期,可能与肝细胞癌变的启动有关,被认为是肝细胞形态改变的分子基础。本实验中 OPN 和 AFP 联合表达与血清 AFP 有显著关系($P = 0.001$)。证明肝细胞的恶变需要多个因素共同作用这一理论。上述结论仅是初步的,能否准确、敏感地反映 HCC 发病的机制,还有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] 郇金亮,王强,邢丽,等. 乳腺钙化组织中骨桥蛋白的表达及其临床意义[J]. 中国普通外科杂志,2006,15(4):250-252.
- [2] Pan HW, Ou YH, Peng SY, et al. Over expression of osteopontin is associated with intrahepatic metastasis, early recurrence, and poorer prognosis of surgically resected hepatocellular carcinoma[J]. Cancer, 2003, 98(1):119-127.
- [3] Ye QH, Qin LX, Forgues M, et al. Predicting hepatitis B virus positive metastatic hepatocellular carcinomas using gene expression profiling and supervised machine learning[J]. Nat Med, 2003, 9(4):416-423.
- [4] Peng SY, Ou YH, Chen WJ, et al. Aberrant expressions of annexin A10 short isoform, osteopontin and alpha-fetoprotein at chromosome 4q cooperatively contribute to progression and poor prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. Int J Oncol, 2005, 26(4):1053-1061.