

ATDC 在肝癌中表达及临床意义

汪伟民,蔡炜龙,潘杰,许洪宝
(湖州市中心医院,浙江 湖州 313000)

摘要: [目的] 研究 ATDC 在肝癌中表达及临床意义。[方法] 采用免疫组化方法检测 56 对肝癌及癌旁组织中 ATDC 表达情况,分析其表达与临床资料及预后的关系。[结果] ATDC 在肝癌组织中表达显著性高于癌旁组织 ($P<0.05$); ATDC 高表达与患者 TNM 分期 ($P=0.001$) 及转移 ($P=0.01$) 显著性相关; ATDC 高表达患者术后 5 年生存率与生存时间均显著性低于低表达者 ($P=0.04$)。[结论] 肝癌中 ATDC 高表达与高恶性度及预后不良相关,可作为肝癌诊断、治疗及预后判定的重要标志物。

关键词: ATDC; 免疫组织化学; 肝癌; 恶性进展

中图分类号: R735.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2017)05-0409-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2017.05.B010

Expression of ATDC in Hepatic Carcinoma and its Clinical Significance

WANG Wei-min, CAI Wei-long, PAN Jie, et al.

(Huzhou Central Hospital, Huzhou 313000, China)

Abstract: [Objective] To investigate the expression of ataxia-telangiectasia group D complementing gene(ATDC) in hepatocellular carcinoma(HCC) and its clinicopathological significance. [Methods] The expression of ATDC was detected by immunohistochemistry in cancer tissue and corresponding paracancerous tissue of 56 patients with HCC. The correlation of ATDC expression with clinicopathological characteristics and prognosis of HCC patients was analyzed. [Results] The ATDC expression in HCC was significantly higher than that in corresponding paracancerous tissues. The ATDC expression was significantly correlated with TNM stage($P=0.001$) and tumor metastasis($P=0.01$). Patients with higher ATDC expressions had poorer 5-year survival after surgery and shorter survival time than those with lower ATDC expression($P=0.04$). [Conclusion] Higher ATDC expression in HCC is associated with advanced malignancy and poor prognosis, indicating that ATDC might be used as a biomarker for diagnosis, treatment and prognosis for HCC patients.

Subject words: ATDC; immunohistochemistry; HCC; malignant progression

肝癌是常见的消化道恶性肿瘤之一,肝癌死亡率在全球恶性肿瘤中排第三位^[1,2],因此寻求肝癌诊断、生物治疗靶点及预后判定分子标志物对于提高患者临床预后至关重要。我们的前期研究发现 ATDC (Ataxia-Telangiectasia Group D Complementing gene) 在胃癌中高表达与其恶性进展密切相关^[3],其在肝癌中表达及意义尚不清楚,本研究将应用免疫组化方法研究 ATDC 在肝癌中表达的临床意义。

通讯作者: 许洪宝,科主任,副主任医师,学士;湖州市中心医院普外科,浙江省湖州市红旗路 198 号(313000);E-mail: wangweiming2@163.com

收稿日期: 2016-06-18; **修回日期:** 2016-12-19

1 资料与方法

1.1 资料及随访

肝癌及癌旁组织均来自 2007 年 6 月至 2009 年 6 月湖州市中心医院手术切除标本。入选患者均签署知情同意手术切除标本研究应用,排除术前接受过放、化疗患者。其中男性 35 例,女性 21 例,年龄 28~72 岁,平均 51.5 ± 14.2 岁。HE 染色证实为肝癌和癌旁组织(距肿瘤边缘 3~5cm),组织病理学分级按美国癌症联合会(AJCC)标准进行。导致肝癌可能的病因如下:乙型病毒性肝炎 39 例(69.6%)、丙肝 7 例

(12.5%)、酒精性肝病 (10.7%) 及不明原因 4 例 (7.1%)。随访以患者门诊就诊、电话及信件进行,失访者已被排除本研究,时间终点为术后 5 年,若术后 5 年内死亡生存时间从手术时至死亡时间,按月计算。

1.2 免疫组化染色及结果判定

手术切除标本均经福尔马林固定及石蜡包埋,保存于湖州市中心医院病理科。按 4μm 厚度切片,经贴片及烘烤后进行免疫组化实验^[3]。切片经脱水、抗原封闭、抗原修复后,加入兔抗人 ATDC 多克隆抗体(1:200;Abcam),4℃冰箱中过夜后,经清洗后加入山羊抗兔二抗(1:1000;北京中杉公司)。室温静置 1h 后清洗,显色及封片。细胞浆(或)核呈黄色或棕黄色被认为阳性细胞,结果判定依据阳性着色细胞比例及强度^[3],阳性细胞比例按无、<30%、30%~60%及≥60%分别为 0、1、2、3 分;阳性染色强度按无、弱、一般及强分别为 0、1、2 及 3 分。结果两组分值相加:0~2 分阴性(-),3~6 分为阳性(+).

1.3 统计学处理

应用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析,肝癌与癌旁组织比较采用χ²检验,ATDC 表达与患者临床资料相关性采用 Kruskal-Wallis H 检验,生存分析采用 Kaplan-meier 方法。P<0.05 差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ATDC 在肝癌及癌旁组织中的表达

ATDC 在肝癌细胞浆呈阳性表达 (Figure 1A),在癌旁组织中大多数呈阴性表达(Figure 1B)。ATDC 在肝癌组织中阳性、阴性表达率分别为 73.2%(41/56)、26.8%(15/56);在癌旁组织中阳性、阴性表达率分别为 19.6%(11/56)、80.4%(45/56)。ATDC 在肝癌组织中阳性表达率显著性高于癌旁组织 (P<0.01),提示 ATDC 在肝癌组织中表达增强。

2.2 ATDC 在肝癌组织中表达与临床参数相关性

将患者依据平均年龄分为>52 岁和≤52 岁两

组,依据 TNM 分期分为 T₁₊₂ 期及 T₃₊₄ 期两组;依据手术时是否有转移分为已发生转移(包括肝内转移)和未发生转移两组。ATDC 在肝癌组织中与患者病因(P=0.61)、年龄(P=0.22)及性别(P=0.32)无显著性相关;但其阳性表达率与患者 TNM 分期(P=0.001)、转移(P=0.01)呈显著性相关。

2.3 生存分析

至随访终点,患者生存率与死亡率分别为 30.4%(17/56)、69.6%(39/56);其中 ATDC 阴性患者生存率与死亡率分别为 60%(9/15)、40%(6/15),ATDC 阳性患者生存率与死亡率分别为 14.6%(6/41)、85.4%(35/41)。Kaplan-meier 生存分析提示 ATDC 阴性患者术后生存时间显著性长于阳性患者

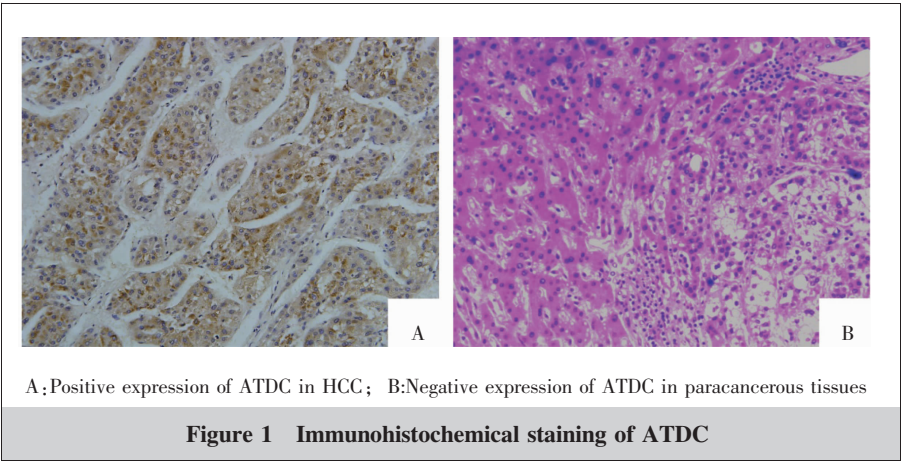


Table 1 The relationship of ATDC expression with clinical data in HCC

Clinical data	N	ATDC expression		P
		Negative	Positive	
Cause of disease				0.610
HBV	39	11	28	
HCV	7	2	5	
Alcoholic hepatitis	3	2	1	
Unclear	4	0	4	
Age(years old)				0.220
>52	26	9	17	
≤52	30	6	24	
Gender				0.320
Male	35	11	24	
Female	21	4	17	
TNM stage				0.001
T ₁₊₂	21	11	10	
T ₃₊₄	35	4	31	
Metastasis				0.001
No	19	9	10	
Yes	37	6	31	

($P=0.04$, Figure 2)。说明 ATDC 阳性表达提示患者术后预后较差,生存时间较短。

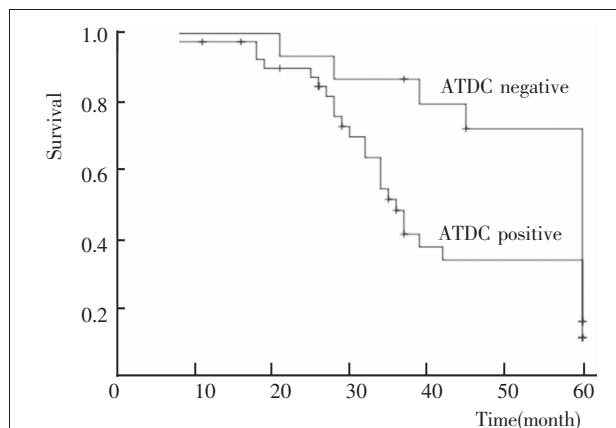


Figure 2 Kaplan-meier survival analysis showed that patients' survival time with negative ATDC expression was significantly longer than patients with positive expression

3 讨论

我们的前期研究表明,ATDC 在胃癌中高表达与患者恶性进展及 Hp 感染密切相关^[3]。国外学者报道应用基因表达芯片发现 ATDC 在膀胱癌^[4]、子宫内膜癌^[5]和多发性骨髓瘤^[6]中表达显著强于其对应的正常组织,但在这几种肿瘤中具体作用与机制未做深入研究。到目前为止,ATDC 在肝癌中表达及其临床意义尚不清楚。我们推测,ATDC 在肝癌中可能存在高表达,在肝癌发生、发展过程中起重要作用。基于此,本研究对 56 例本院行肝癌切除术患者肝癌及癌旁组织进行免疫组化染色。结果表明,ATDC 在肝癌细胞浆中呈阳性表达,其在肝癌组织中阳性表达率显著性高于癌旁组织,这一结果与 ATDC 在胃癌及食管癌^[7]中表达趋势相一致,进一步说明 ATDC 高表达与肿瘤发生密切相关。我们进一步分析了 ATDC 表达与肝癌患者临床参数的相关性,发现其高表达与患者较晚的 TNM 分期及手术时是否发生转移密切相关,而与患者导致肝癌病因、年龄及性别无显著性相关。另外,ADTC 高表达患者术后生存率与生存时间均显著性低于阴性表达患者。这些研究结果表明 ATDC 在肝癌发生、发展的恶性进展过程中起重要作用。

ATDC (又称为 TRIM29),定位于人类染色体 11q23,其基因编码 588 个氨基酸组成的 ATDC 蛋

白,属于锌指家族蛋白之一,以二聚体或异二聚体形式,参与核酸的结合,发挥多种不同的生物学功能,尤其是在肿瘤发生发展、恶性增殖分化等恶性生物学过程中扮演转录调控因子的作用^[8]。前期研究报道发现,ATDC 在不同肿瘤中表达呈现差异,在胃癌中高表达与胃癌的发生发展相关,也可作为胃癌转移的重要分子标志物^[9]。在食管癌研究中,通过高通量筛选方法发现其在迁移与增殖能力强的食管癌细胞系中表达显著升高^[10],体现了肿瘤的异质性。据报道,ATDC 能够与抑癌基因 p53 相结合,抑制 p53 核活性,从而降低 p53 转录调控相关基因的表达水平^[8]。在食管癌的研究中,ATDC 高表达与患者恶性进展密切相关,应用 siRNA 技术下调 ATDC 表达后,流式细胞术发现处于 G₁ 期细胞比例明显增多,S 期细胞比例显著性降低^[7],表明其具有阻止细胞由 G₁ 期进入 S 期的作用,从而抑制细胞的生长、增殖与分化。另外,ATDC 可以通过调节细胞周期蛋白 E (cyclin E)及磷酸化的 Rb 来调节细胞的生长与增殖能力^[11]。在胰腺导管癌研究中,ATDC 在胰腺导管癌细胞中异常高表达,可通过直接对 MK2 的 Ser550 位点磷酸化,在肿瘤细胞 DNA 损伤及放疗抵抗信号转导中起重要作用^[12]。上述研究表明 ATDC 可能通过多种信号转导通路来参与肝癌的恶性进展,但具体是通过哪种信号通路发挥作用尚需深入研究。

综上,本文应用免疫组化染色方法,结合患者临床资料及生存情况,初步探讨了 ATDC 在肝癌中高表达的临床意义,对肝癌患者术后生存时间判定具有一定价值。这些研究结果需进一步扩大样本量加以验证,其在肝癌中的具体作用机制也需进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Ferlay J,Shin HR,Bray F,et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008:Globocan 2008[J]. Int J Cancer, 2010, 127(12):2893-2917.
- [2] Jemal A,Bray F,Center MM,et al. Global cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2):69-90.
- [3] Wang WM,Cai WL,Pan J,et al. Expression of ATDC in gastric cancer and its relationship with helicobacter pylori infection[J]. Chin J Gastroenterol, 2012, 17(1):23-26. [汪伟民,蔡炜龙,潘杰,等. ATDC 在胃癌中的表达及其与幽门螺杆菌感染的关系[J]. 胃肠病学, 2012, 17(1):23-26.]

- [4] Dyrskjot L, Kruhoffer M, Thykjaer T, et al. Gene expression in the urinary bladder: a common carcinoma in situ gene expression signature exists disregarding histopathological classification [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(11): 4040–4048.
- [5] Mutter GL, Baak JP, Fitzgerald JT, et al. Global expression changes of constitutive and hormonally regulated genes during endometrial neoplastic transformation [J]. *Gynecologic Oncology*, 2001, 83(2): 177–185.
- [6] Zhan F, Hardin J, Kordsmeier B, et al. Global gene expression profiling of multiple myeloma, monoclonal gammopathy of undetermined significance, and normal bone marrow plasma cells [J]. *Blood*, 2002, 99(5): 1745–1757.
- [7] Lai W, Zhao J, Zhang C, et al. Upregulated ataxia-telangiectasia group D complementing gene correlates with poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Dis Esophagus*, 2013, 26(8): 817–822.
- [8] Shio T, Tsukiyama T, Sato T, et al. TRIM29 negatively regulates p53 via inhibition of Tip60 [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813(6): 1245–1253.
- [9] Kosaka Y, Inoue H, Ohmachi T, et al. Tripartite motif—containing 29 (TRIM29) is a novel marker for lymph node metastasis in gastric cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2007, 14(9): 2543–2549.
- [10] Chattopadhyay I, Singh A, Phukan R, et al. Genome-wide analysis of chromosomal alterations in patients with esophageal squamous cell carcinoma exposed to tobacco and betel quid from high-risk area in India [J]. *Mutat Res*, 2010, 696(2): 130–138.
- [11] Dho SH, Kwon KS. The Ret finger protein induces apoptosis via its RING finger-B box-coiled-coil motif [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(34): 31902–31908.
- [12] Wang L, Yang H, Palmboos PL, et al. ATDC/TRIM29 phosphorylation by ATM/MAPKAP kinase 2 mediates radioresistance in pancreatic cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(6): 1778–1788.

2017 杭州国际肿瘤学论坛(HISO)第一轮通知

为充分把握国际肿瘤学研究前沿进展,进一步促进国内、外肿瘤学领域的交流与合作,凝聚学术共识,由美国 MD 安德森癌症中心与浙江省肿瘤医院联合主办,浙江省癌症中心、肿瘤学杂志社协办的“第五届杭州国际肿瘤学论坛暨 2017 年浙江省肿瘤医院-美国 MD 安德森癌症中心姐妹医院联合会议”(5th Hangzhou International Symposium of Oncology, HISO & 2017 MDACC-ZJCH Sister Hospital Joint Conference),将于 2017 年 10 月 20~22 日在美丽的杭州举行。

“杭州国际肿瘤学论坛”是国家级继续教育项目,在前四届会议成功举办的基础上,第五届“杭州国际肿瘤学论坛”以“凝聚学术共识,促进国际交流”为主题,将邀请美国、德国、荷兰及国内知名肿瘤学专家和学者,对肿瘤基础、临床及转化研究中的重大问题进行探讨。本次会议将对全程参会者授予国家级 I 类教育学分 8 分。