

PRR11 在肝癌中的表达及其与预后的关系

祁馨卉¹, 栾玉婷², 韩涛¹, 杨晓丹¹, 李清², 郑振东¹

(1.沈阳军区总医院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 沈阳药科大学临床药理学系, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: [目的] 研究肝癌组织中富含脯氨酸蛋白 11 (PRR11) 表达与肝癌临床病理参数之间的关系, 以及 PRR11 表达对肝癌患者预后的影响。[方法] 通过构建含 243 例肝癌的组织芯片, 用免疫组化方法检测 PRR11 蛋白在肝癌组织中的表达。[结果] 243 例肝癌组织标本中, PRR11 高表达与性别、AFP 水平、HBSAg、HBeAg 水平有关。Kaplan-Meier 生存分析显示: PRR11 高表达患者总生存期短于低表达患者 (36.5 个月 vs 46.3 个月, $P=0.007$), 且病理分期 (I ~ II vs III ~ IV; 60.7 个月 vs 19.5 个月, $P=0.001$)、主瘤直径 ($\leq 5\text{cm}$ vs $>5\text{cm}$; 55.9 个月 vs 19.5 个月, $P<0.001$)、有无癌栓 (无 vs 有; 49.3 个月 vs 22.7 个月, $P<0.001$)、子灶数目 (≤ 1 个 vs >1 个; 50.0 个月 vs 22.5 个月, $P<0.001$) 与总生存期均显著相关。Cox 风险回归模型分析显示 PRR11 表达是肝癌患者的独立预后因素 ($P=0.007$)。[结论] PRR11 在部分肝癌组织中高表达, 是肝癌患者独立的不良预后因素。

关键词: PRR11; 肝细胞肝癌; 预后

中图分类号: R735.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2018)08-0769-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2018.08.B003

Expression of Proline Rich Protein 11 in Hepatocellular Carcinoma and Its Relationship with Prognosis

QI Xin-hui¹, LUAN Yu-ting², HAN Tao¹, YANG Xiao-dan¹, LI Qing², ZHENG Zheng-dong¹

(1. The General Hospital of Shenyang Military Command, Shenyang 110016, China; 2. Clinical Department of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: [Objective] To investigate the expression of proline protein 11 (PRR11) in hepatocellular carcinoma (HCC) and its relationship with clinicopathological features and the prognosis of patients with HCC. [Methods] The expression of PRR11 protein was detected by immunohistochemical staining in tissue specimens of 243 HCC patients. [Results] The expression of PRR11 was positively correlated with gender, AFP level, HBsAg and HBeAg levels of HCC patients. Kaplan-Meier survival analysis showed that the overall survival (OS) in patients with low PRR11 expression was significantly longer than that in patients with high PRR11 expression (46.3 months vs 36.5 months, $P=0.007$). The OS was also significantly correlated with the pathological stage (I ~ II vs III ~ IV; 60.7 months vs 19.5 months, $P=0.001$), tumor diameter ($\leq 5\text{cm}$ vs $>5\text{cm}$; 55.9 months vs 19.5 months, $P<0.001$), tumor embolus (No vs Yes; 49.3 months vs 22.7 months, $P<0.001$) and number of sub-foci (≤ 1 vs >1 ; 50.0 months vs 22.5 months, $P<0.001$). Cox risk regression model analysis showed that PRR11 expression was an independent prognostic factor for HCC patients. [Conclusion] PRR11 is highly expressed in HCC tissues and is an independent prognostic factor for HCC patients.

Subject words: PRR11; HCC; prognosis

肝细胞肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是常见的消化道恶性肿瘤之一, 随着发病率的逐年增加, 目前 HCC 已成为全球范围内第 5 大常见癌症, 其死亡率位居全球癌症相关死因的第 3 位^[1], 在我

国居疾病发病率的第 2 位^[2]。HCC 的发生、发展是一个渐进的过程, 多数患者诊断时已错过了最佳手术时期, 故 HCC 的 5 年生存率多低于 15%^[3]。目前对 HCC 的筛查主要依赖于血清学检测及影像学检测, 但仍有 20% 的肝癌患者特异性肿瘤标志物甲胎蛋白 (alpha-fetoprotein, AFP) 呈阴性。探索新的肿瘤相关靶点提高肝癌的检出率以及寻找新的治疗靶点是当前热点的问题。

富含脯氨酸蛋白 11 (proline-rich protein 11, PRR11) 基因位于人类染色体 17q22, 相对分子量为

基金项目: 中国博士后科学基金面上项目 (2015M582822); 辽宁省博士科研启动基金 (201501022); 军队医学科技青年培育计划 (15QN005)

通讯作者: 郑振东, 主任, 副主任医师, 博士; 沈阳军区总医院肿瘤科, 辽宁省沈阳市沈河区文化路 83 号 (110016), E-mail: zhengzhdong@163.com

祁馨卉、栾玉婷为共同第一作者

收稿日期: 2017-07-02; 修回日期: 2017-12-18

40 085 D^[4,5]。包含 1 个二联核定位信号, 2 个脯氨酸富集区域和 1 个锌指结构域。脯氨酸富集基序可通过与 SH3 域相连接, 起到调节蛋白与蛋白之间的相互作用, 进而参与细胞信号转导, 引起一系列肿瘤相关事件; 锌指结构域可参与调节基因的转录^[6,7]。PRR11 蛋白的作用靶标可能为膜蛋白受体、黏附分子、生长因子、转录因子、启动子等与肿瘤产生、增殖、侵袭及转移密切相关的蛋白及基因位点^[8]。近年来随着研究的深入, 发现 PRR11 与食管癌、乳腺癌、胰腺癌、肺癌、结肠癌、胆管癌等密切相关^[9]。在本研究中, 我们评估了 243 例 HCC 患者病理组织中 PRR11 的表达情况, 分析其与临床病理特征之间的相关性, 判断其与肝癌患者预后的相关性。

1 材料与方法

1.1 标本

收集我院 2005~2010 年的部分肝癌标本, 与患者签订知情同意书, 构建含有 243 例肝癌原发灶的肝癌组织芯片。其中男性 206 例, 女性 37 例, 年龄 10~78 岁, 中位年龄 50 岁。所有患者具有完整的随访资料, 最长随访 80 个月, 最短 2 个月。采用电话随访的方式, 随访截止时间为 2016 年 6 月 30 日。

1.2 免疫组化

染色的切片在显微镜下观察, 选取能反映整体情况的典型视野, 通过成像装置对所选取的典型视野拍照, 图片质量为 300bpi, 分别拍摄 100 倍和 400 倍图片, 并于不同的视野多次取景拍摄, 将图片输入到 Image Scope 软件中, 对图片的阳性着色区域进行划定, 并计算像素数量和像素面积, 综合进行评分, 最终结果以数值形式存在, 同时每张图片采用 3 个点取平均值。从组织学水平上反映了 PRR11 基因在肝癌组织中的表达情况。

1.3 数据分析

对所有表达 PRR11 的患者根据评分取中位数, 将 PRR11 表达分为高表达及低表达两组, 比较两组患者年龄、性别、病理分期、肿瘤直径、子灶数目、有无包膜、有无癌栓、有无肝硬化、AFP 表达、是否伴有 HBsAg 及 HBeAg 的差异。

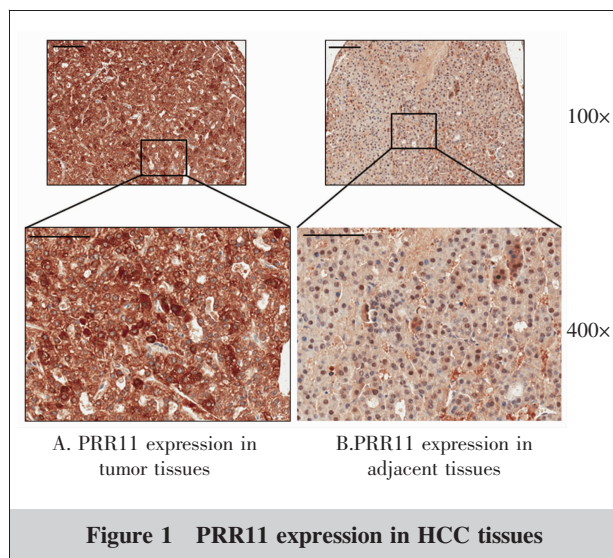
采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析, 计数资料采用 χ^2 检验; 应用 Kaplan-Meier 法对临床参数进

行单因素生存分析, 并将具有统计学意义的单因素纳入多因素分析, 通过 Cox 风险回归模型进行分析。

2 结果

2.1 PRR11 表达与肝癌临床病理特征的关系

根据吸光度值进行评分, 根据评分分为 PRR11 低表达组、高表达组, 低表达组中位评分 0.213, 高表达组中位评分 0.413。通过免疫组化检测, 评估了 PRR11 在肝癌组织中的表达状况, PRR11 在细胞胞质中显色。PRR11 在肝癌组织及癌旁组织中的表达见 Figure 1。通过对临床资料的分析发现, PRR11 表达与患者性别、AFP 水平、是否伴有 HBsAg 及 HBeAg 间存在相关性; 而与患者年龄、病理分级、肿瘤直径、有无包膜、有无癌栓、子灶数目、是否伴有肝硬化无明显相关性。见 Table 1。



2.2 PRR11 表达与肝癌患者总生存时间的相关性

PRR11 高表达患者总生存期为 36.5 个月, PRR11 低表达患者总生存期为 46.3 个月, PRR11 高表达患者总生存期短于低表达患者 ($P=0.007$) (Figure 2)。病理分期 (I~II vs III~IV: 60.7 个月 vs 19.5 个月, $P=0.001$)、主瘤直径 ($\leq 5\text{cm}$ vs $>5\text{cm}$: 55.9 个月 vs 19.5 个月, $P<0.001$)、有无癌栓 (无 vs 有: 49.3 个月 vs 22.7 个月, $P<0.001$)、子灶数目 (≤ 1 个 vs >1 个: 50.0 个月 vs 22.5 个月, $P<0.001$) 与总生存期均相关, 而患者年龄、性别、有无包膜、是否伴发肝硬化、AFP 是否高表达、是否伴有 HBsAg 及 HBeAg 与总生存期无

Table 1 Correlation between PRR11 expression and clinicopathologic factors of HCC

Index	PRR11 low expression (N=121) (%)	PRR11 high expression (N=122)(%)	P
Age(years)	51 (10~78)	48(21~78)	0.529
Gender			
Male	96(79.3)	110(90.2)	0.015
Female	25(20.7)	12(9.8)	
TNM stage			
I ~ II	46(38.0)	46(37.7)	0.530
III~IV	75(62.0)	76(62.3)	
Tumor size(cm)			
≤5	61(50.4)	71(58.2)	0.130
<5	60(49.6)	51(41.8)	
Tumor envelope			
No	54(44.6)	54(44.3)	0.520
Yes	67(55.4)	68(55.7)	
Tumor embolus			
No	85(70.2)	75(61.5)	0.096
Yes	36(29.8)	47(38.5)	
Sub focal number			
Single	109(90.0)	103(84.4)	0.120
Multiple	12(10.0)	19(15.6)	
Cirrhosis			
No	59(48.8)	60(49.2)	0.52
Yes	62(51.2)	62(50.8)	
AFP(ng/ml)			
≤400	89(73.6)	66(54.1)	0.001
>400	32(26.4)	56(45.9)	
HBsAg			
Negative	34(28.1)	12(9.8)	<0.001
Positive	87(71.9)	110(90.2)	
HBeAg			
Negative	44(36.4)	89(73.0)	<0.001
Positive	77(63.6)	33(27.0)	

Table 2 Multivariate analysis of Cox risk regression model on prognosis of patients with HCC

Index	n	OS(months)	P(univariate)	P(multivariate)	OR	95%CI
PRR11 expression						
High	121	36.5	0.007	<0.001	0.504	0.351~0.723
Low	122	46.3				
TNM stage						
I / II	92	60.7	0.001	<0.001	0.097	0.054~0.172
III/IV	151	19.5				
Tumor size(cm)						
≤5	132	55.9	0.001	<0.001	0.391	0.267~0.574
>5	111	19.5				
Tumor embolus						
Yes	83	22.7	0.001	0.201	0.787	0.545~1.136
No	160	49.3				
Sub focal number						
0/1	212	50	0.001	0.458	1.153	0.791~1.68
>1	31	22.5				

明显相关性。

Cox 比例风险回归模型多变量分析结果显示, PRR11 表达、病理分期、肿瘤直径是肝癌患者独立的预后因素(Table 2)。

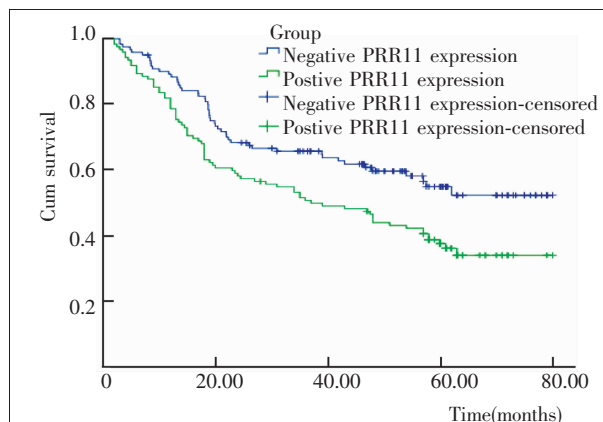


Figure 2 The relationship between the expression of PRR11 and OS

3 讨论

HCC 的发生是一个多步骤的过程,包括许多与细胞增殖、凋亡、侵袭和转移相关的基因变化,且与手术切除后的血管浸润、转移和复发具有高度的潜在关系,导致预后不良^[10]。近年来,随着分子治疗技术的发展,在 HCC 的发展过程中发生变化的生物标志物的研究日益受到人们的关注^[11~13]。大量的研究表明,一些肿瘤标志物有希望成为治疗 HCC 的分子靶标^[14~16]。

PRR11 作为近年的研究热点,在肿瘤发生发展中的研究越来越受到重视。研究表明,PRR11 大量表达于细胞质^[17],可与在肿瘤发生过程中的相关转录因子如 E2F1、E2F4 等结合^[18]。PRR11 依赖于细胞周期呈阶段性表达,高表达于 M 期,G₁ 至 S 期表达逐渐降低。研究发现,沉默 PRR11 基因

诱导 S 期阻滞,抑制细胞活力,并导致参与细胞周期调控、肿瘤发生和代谢途径等多个重要通路中的关键基因表达失调^[17,19]。可见 PRR11 与肿瘤发生、进展密切相关。与正常组织相比,PRR11 在多数肿瘤组织中的表达明显升高,且其表达量随着恶性程度增加而升高^[20]。

有研究发现,PRR11 蛋白在各种消化系统上皮及其来源的肿瘤中表达存在较大的差异,PRR11 蛋白表达阳性率在食管癌中为 93.0%,胃癌中为 64.6%,结肠癌中为 64.5%,胰腺导管癌中为 87.7%,肝细胞癌中为 53.3%,胆管细胞癌中为 63.3%^[21,22]。在正常食管上皮、胆管上皮中呈低表达水平。Ji 等^[17]发现 PRR11 基因是在细胞周期及肿瘤发展过程中起到一定作用的肿瘤相关基因,参与细胞周期调控及肿瘤发生,被认为是肺癌相关的一种潜在的诊断和治疗的新靶点,且与肺癌预后相关^[23,24]。PRR11 在胃癌发生、发展过程中也可能起到一定作用,与胃癌患者的不良预后相关^[25]。在 PRR11 基因与肝内胆管细胞癌相关性的研究中发现,PRR11 蛋白过表达与肝内胆管细胞癌淋巴结转移、血清 CA-199 增高相关,为肝内胆管细胞癌患者的独立不良预后因素^[17]。PRR11 基因在乳腺癌上皮-间质转化的发生发展过程中也起到一定作用^[22]。

本研究通过观察 PRR11 蛋白在 HCC 中的表达情况,分析并探讨其与 HCC 临床病理参数的相关性。结果表明,PRR11 高表达与患者的性别、AFP 水平、是否伴有 HBsAg 及 HBeAg 之间存在相关性;而与患者的年龄、病理分级、肿瘤直径、有无包膜、有无癌栓、子灶数目、是否伴有肝硬化无明显相关性。Kaplan-Meier 生存分析发现 PRR11 高表达的 HCC 患者其预后较低表达者差,总体生存期短,提示 PRR11 在 HCC 的发生、发展过程中可能发挥重要作用。并发现 PRR11 表达、病理分期、主瘤直径、有无癌栓、子灶数目对 HCC 患者的总生存期有影响。将对总体生存期有意义的变量纳入多因素分析,采用 Cox 逐步回归模型分析 HCC 患者预后的独立危险因素发现,PRR11 表达、病理分期及主瘤直径是影响 HCC 患者预后的独立危险因素。由此我们可以推测,PRR11 在 HCC 发生、发展过程中的可能起到重要作用,可作为判断 HCC 预后的指标,并可能为 HCC 患者复发转移提供有效的评判工具。

本研究通过对临床资料的统计分析得出,PRR11 基因可能在 HCC 的发生、发展、侵袭及转移中扮演着重要的角色,可能是 HCC 患者筛查、治疗及预测预后的重要靶标,虽然其机制及意义有待进一步研究,但为进一步探讨 PRR11 在 HCC 中的作用机制奠定了基础。

参考文献:

- [1] Bruix J, Gores GJ, Mazzaferro V. Hepatocellular carcinoma: clinical frontiers and perspectives [J]. Gut, 2014, 63(5): 844-855.
- [2] 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.
- [3] Stefaniuk P, Cianciara J, Wiercinska-Drapalo A. Present and future possibilities for early diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(4): 418-424.
- [4] Olsen JV, Blagoev B, Gnäd F, et al. Global, in vivo, and site-specific phosphorylation dynamics in signaling networks [J]. Cell, 2006, 127(3): 635-648.
- [5] Olsen JV, Vermeulen M, Santamaria A, et al. Quantitative phosphoproteomics reveals widespread full phosphorylation site occupancy during mitosis [J]. Science Signaling, 2010, 3(104): ra3.
- [6] Ball LJ, Ronald K, Jens S, et al. Recognition of proline-rich motifs by protein-protein interaction domains [J]. Angewandte Chemie, 2005, 44(19): 2852-2869.
- [7] Sera T. Zinc-finger-based artificial transcription factors and their applications [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2009, 61(7): 513-526.
- [8] Ai Q, Bu YQ, Liu Z, et al. Preliminary analysis of structure and function of human PRR11 promoter [J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2011, 27(4): 356-363. [艾青, 卜友泉, 刘竹, 等. 人 PRR11 启动子的结构与功能初步分析 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2011, 27(4): 356-363.]
- [9] Wang Y, Zhang Y, Zhang C, et al. The gene pair PRR11 and SKA2 shares a NF-Y-regulated bidirectional promoter and contributes to lung cancer development [J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 2015, 1849(9): 1133-1144.
- [10] Poon TP, Fan ST, Wong J. Risk factors, prevention, and management of postoperative recurrence after resection of hepatocellular carcinoma [J]. Ann Surg, 2000, 232(1): 10-24.
- [11] Mischak H, Allmaier G, Apweiler R, et al. Recommenda-

- tions for biomarker identification and qualification in clinical proteomics[J]. *Sci Transl Med*, 2010, 2(46):42–46.
- [12] Mann CD, Neal CP, Garcea G, et al. Prognostic molecular markers in hepatocellular carcinoma: a systematic review [J]. *Eur J Cancer*, 2007, 43(6):979–992.
- [13] Wang Y, Shen Z, Zhu Z, et al. Clinical values of AFP, GPC3 mRNA in peripheral blood for prediction of hepatocellular carcinoma recurrence following OLT [J]. *Hepat Mon*, 2011, 11(3):195–199.
- [14] Huynh H. Molecularly targeted therapy in hepatocellular carcinoma[J]. *Biochem Pharmacol*, 2010, 80(5):550–560.
- [15] Marra M, Sordelli IM, Lombardi A, et al. Molecular targets and oxidative stress biomarkers in hepatocellular carcinoma: an overview[J]. *J Transl Med*, 2011, 9(1):171–185.
- [16] Gonzalez SA, Keffe EB. Diagnosis of hepatocellular carcinoma: role of tumor markers and liver biopsy[J]. *Clin Liver Dis*, 2011, 15(2):297–306.
- [17] Ji Y, Xie M, Lan H, et al. PRR11 is a novel gene implicated in cell cycle progression and lung cancer [J]. *Int J Biol Cell*, 2013, 45(3):645–656.
- [18] Weinmann AS, Yan PS, Oberley MJ, et al. Isolating human transcription factor targets by coupling chromatin immunoprecipitation and CpG island microarray analysis[J]. *Genes Dev*, 2002, 16(2):235–244.
- [19] Wang Y, Weng H, Zhang Y, et al. The PRR11-SKA2 bidirectional transcription unit is negatively regulated by p53 through NF-Y in lung cancer cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3):534.
- [20] Lan H. Study on the function of new gene PRR11 in cell proliferation and cell cycle[D]. Chongqing: Medical University of Chongqing, 2011. [兰欢. 新基因 PRR11 在细胞增殖和细胞周期中功能的研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2011.]
- [21] Chen Y, Cha Z, Fang W, et al. The prognostic potential and oncogenic effects of PRR11 expression in hilar cholangiocarcinoma. [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(24):20419–20433.
- [22] Zhou F, Liu H, Zhang X, et al. Proline-rich protein 11 regulates epithelial-to-mesenchymal transition to promote breast cancer cell invasion [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(12):8692–8699.
- [23] Zhang C, Zhang Y, Li Y, et al. PRR11 regulates late-S to G2/M phase progression and induces premature chromatin condensation (PCC)[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 458(3):501–508.
- [24] Spira A, Beane JE, Shah V, et al. Airway epithelial gene expression in the diagnostic evaluation of smokers with suspect lung cancer[J]. *Nature Med*, 2007, 13(3):361–366.
- [25] Song Z, Liu W, Xiao Y, et al. PRR11 is a prognostic marker and potential oncogene in patients with gastric cancer[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8):e0128943.

《肿瘤学杂志》关于“在线优先出版”的通告

为了加快学术论文传播速度,缩短出版周期,使作者研究成果的首发权及时得到确认,《肿瘤学杂志》自 2016 年实行“在线优先出版”,经同行评议通过采用的稿件,经编辑部加工处理后在中国知网(CNKI)实行电子版在线优先出版。具体如下:

(1)在线投稿接收之后,编辑部核实文稿的题目、作者、单位等版权信息,作者提供相关信息,供在线出版使用。此信息为文稿最终确认的出版信息,此后作者不再予以更改。

(2)在线出版的 PDF 全文是经作者最终校对的修改定稿。待编辑部完成整个校对流程后替换为正式出版稿,同时给出完整的发表年份、卷、期、起止页码和唯一的文献识别 DOI 号码。

(3)在线出版的文献是《肿瘤学杂志》印刷版本的在线优先网络版,完全满足国内外学术交流的在线检索和引用。