

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.01.006

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.01.006>

上皮细胞黏附分子与肝母细胞瘤患儿病理特征及预后的相关性

姚远

(西安市儿童医院普外一科, 西安 710003)

[摘要] 目的: 研究上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, Ep-CAM)表达与肝母细胞瘤患儿病理特征及预后的相关性。**方法:** 以西安市儿童医院2015年1月至2017年1月收治的62例肝母细胞瘤患儿的肿瘤组织和癌旁组织为研究材料, 采用免疫组织化学法检测Ep-CAM表达。分析Ep-CAM表达情况与患儿性别、年龄、病理分期、病理类型等病理特征的关系, 并绘制患儿生存曲线, 分析上皮细胞黏附分子表达水平与预后的相关性。**结果:** 62例肝母细胞瘤肿瘤组织和癌旁组织Ep-CAM表达阳性率分别为75.81%和0.00%, 差异有统计学意义($P<0.05$)。肝母细胞瘤组织中Ep-CAM表达阳性与PRETEXT术前分期有关, 与患儿年龄、性别、术前甲胎蛋白水平和病理类型无关。PRETEXT分期Ⅲ期和Ⅳ期患儿肿瘤组织中Ep-CAM阳性表达率显著高于Ⅰ期和Ⅱ期患儿($P<0.05$)。Ep-CAM阳性和阴性患儿2年总生存率分别为34.04%(16/47)和86.67%(13/15), 差异有统计学意义($P<0.05$)。Log-rank分析Ep-CAM阳性和阴性患儿总的生存率差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论:** Ep-CAM蛋白在肝母细胞瘤组织中呈高表达, 与PRETEXT分期存在相关性, 是影响预后的关键因素, 可能作为肝母细胞瘤诊断和预后评估的新靶点加以深入研究。

[关键词] 肝母细胞瘤; 上皮细胞黏附分子; 病例特征; 预后; 免疫组织化学

Correlation between epithelial cell adhesion molecule and pathological features and prognosis of hepatoblastoma in children

YAO Yuan

(Department of General Surgery I, Xi'an Children's Hospital, Xi'an 710003, China)

Abstract **Objective:** To study the correlation between the expression of epithelial cell adhesion molecule (Ep-CAM) and the pathological characteristics and prognosis of hepatoblastoma in children. **Methods:** Ep-CAM expression in 62 cases of hepatoblastoma from January 2015 to January 2017 was detected by immunohistochemistry. The relationships between the Ep-CAM expression and the pathological characteristics (such as gender, age, pathological stage, and pathological type) were analyzed. The survival curve was drawn to analyze the correlation between the expression level of Ep-CAM and prognosis. **Results:** The positive rates of Ep-CAM expression in 62 cases of hepatoblastoma were 75.81% and 0.00%, respectively ($P<0.05$). The positive expression of Ep-CAM in hepatoblastoma was related

收稿日期 (Date of reception): 2019-04-17

通信作者 (Corresponding author): 姚远, Email: yaoyuan_xb@yeah.net

to PRETEXT stage, but not related to age, sex, preoperative alpha-fetoprotein level and pathological type of children. The positive expression rates of Ep-CAM in cancer tissues of children with PRETEXT stage III and IV were significantly higher than those in PRETEXT stage I and II ($P<0.05$). The 2-year overall survival rates of Ep-CAM positive and negative children were 34.04% (16/47) and 86.67% (13/15), respectively, with significant difference ($P<0.05$). Log-rank analysis showed that the overall survival rate of Ep-CAM positive and negative children was significantly different ($P<0.05$). **Conclusion:** Ep-CAM protein is highly expressed in hepatoblastoma tissues and correlates with PRETEXT staging. Ep-CAM protein is a key factor affecting the prognosis of hepatoblastoma. It may be a new target for diagnosis and prognosis evaluation of hepatoblastoma.

Keywords hepatoblastoma; epithelial cell adhesion molecule; case characteristics; prognosis; immunohistochemistry

肝母细胞瘤是常见的儿童肝脏恶性肿瘤, 5岁以内患儿所占比例达90%, 近年来随着手术、化疗等技术水平的提高, 肝母细胞瘤治疗效果有明显改善^[1]。该病早期多无临床症状, 发病较为隐匿, 约五分之一患儿在首诊时已经发生远处转移^[2]。因此早期诊断肝母细胞瘤对于提高患儿生存率和预后具有重要意义。上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, Ep-CAM)在细胞增殖、分化和迁移等多种生物学活动中具有重要作用, 在乳腺癌^[3]、胃癌^[4]等多种恶性肿瘤组织中已经发现Ep-CAM呈现高表达, 并对患者预后有一定预测价值。但在肝母细胞瘤中尚未见有关Ep-CAM表达与患者病理特征和预后相关性报道, 本研究采用免疫组织化学法这一在病理科普遍开展且操作简便快捷的手段对62例肝母细胞瘤患者Ep-CAM蛋白表达进行检测, 并结合随访资料分析Ep-CAM表达情况与患者预后的相关性。

1 对象与方法

1.1 对象

选取2015年1月至2017年1月期间西安市儿童医院收治的62例肝母细胞瘤患儿作为研究对象, 取肝母细胞瘤癌组织和癌旁组织作为研究样本。所有患儿均经手术切除标本或活检标本病理组织检查确诊为肝母细胞瘤且在术前或者活检前未接受任何治疗, 其中男24例, 女38例; 年龄8.5个月~12.8岁, 中位年龄2.1岁; 单纯胎儿型15例, 胚胎型9例, 混合型38例; PRETEXT分期^[5]为I期8例, II期11例, III期34例, IV期9例; 治疗方案: 肿瘤活检后顺铂+5-氟尿嘧啶+长春新碱5例、动脉化疗栓塞术7例、肿瘤根治术后结合顺铂+5-氟尿嘧啶+长春新碱治疗15例、化疗后肿瘤根治术治疗35例。本研究经西安市儿童医院医学

伦理委员会审核通过(西安市儿童医院生物科研伦理审批件No.20180008), 所有患者知情同意。

1.2 方法

1.2.1 观察指标

记录患者入院治疗时的年龄、性别、术前甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)水平、病理类型、PRETEXT分期、生存期等。生存期从确诊为肝母细胞瘤到因肿瘤引起患儿死亡或者随访结束。

1.2.2 免疫组织化学检测及方法

采用免疫组织化学法检测各样本Ep-CAM蛋白表达情况, 实验操作步骤严格按照S-P免疫组织化学检测试剂盒(美国R&D System, Inc公司)说明书进行。采用PBS缓冲液代替一抗作为阴性对照, 已知抗体阳性标本作为阳性对照。Ep-CAM蛋白主要定位于细胞膜, 相应位置表现为淡黄色至棕褐色即为阳性。观察并记录肝母细胞瘤肿瘤组织及癌旁组织中Ep-CAM阳性表达情况, 随后通过染色情况对不同病理特征患儿的Ep-CAM表达情况进行分析。染色结果判定标准: 阳性染色为棕色, 位于细胞质和细胞膜。随机抽取10个高倍镜视野进行观察。染色强度: 无着色计0分, 浅黄色计1分, 棕黄色计2分, 棕褐色计3分。阳性细胞百分数: 无阳性细胞计0分, <10%计1分, 11%~50%计2分, 51%~75%计3分, >75%计4分。以上述两者乘积作为最后结果, 其中0~2分为阴性(-), ≥ 3 分阳性。

1.3 统计学处理

采用SPSS 17.0软件进行统计学分析, 计数资料表示为例数(%), 进行 χ^2 检验。等级资料用频数表示, 多组采用Kruskal-Wallis检验进行比较, 两组间采用Mann-Whitney检验进行比较。采用Log-rank

分析评价Ep-CAM表达与生存时间的关系。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

性，两种组织中Ep-CAM表达阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2=75.688$ ， $P<0.001$ ；图1)。

2 结果

2.1 Ep-CAM 在肿瘤组织和癌旁组织中的表达比较

62例肝母细胞瘤肿瘤组织中Ep-CAM表达阳性47例，阳性率为75.81%；癌旁组织中无Ep-CAM阳

2.2 不同病理特征患儿 Ep-CAM 表达情况分析

患儿年龄、性别、术前甲胎蛋白水平和病理类型无关。PRETEXT分期III期和IV期患儿肿瘤组织中Ep-CAM阳性表达率显著高于I期和II期患儿($\chi^2=25.845$ ， $P<0.05$ ；表1)。

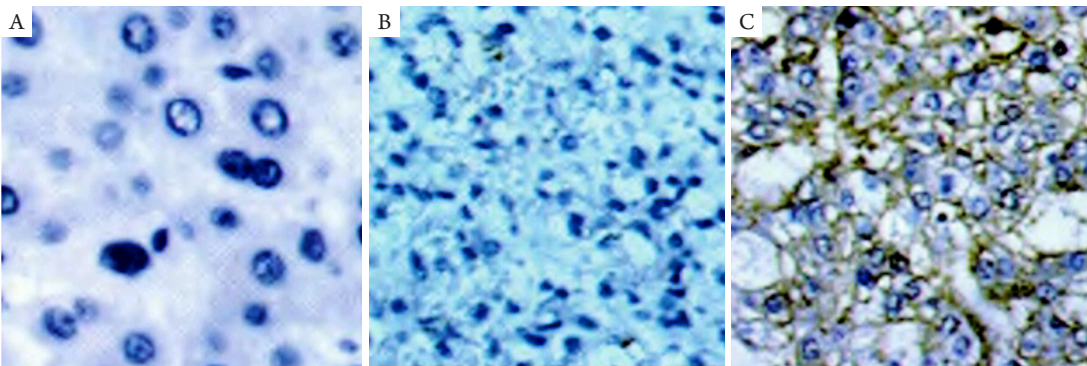


图1 Ep-CAM免疫组织化学检测结果(×400)

Figure 1 Immunohistochemical results of Ep-CAM (×400)

(A)癌旁组织阴性表达；(B)肝母细胞瘤阴性表达；(C)肝母细胞瘤阳性表达。

(A) Negative expression in paracancerous tissues; (B) Negative expression of hepatoblastoma; (C) Positive expression of hepatoblastoma.

表1 Ep-CAM表达与病理特征之间的关系					
Table 1 Correlation between the expression of Ep-CAM and the pathological characteristics					
病理特征	<i>n</i>	阴性	阳性	<i>t/χ²</i>	<i>P</i>
年龄/岁	62	24.64 ± 5.86	23.25 ± 4.27	0.312	0.687
性别/[例(%)]				0.528	0.467
男	24	7 (29.17)	17 (70.83)		
女	38	8 (21.05)	30 (78.95)		
术前甲胎蛋白/[例(%)]				0.813	0.367
≤100 pg/mL	11	1 (9.09)	10 (90.91)		
>100 pg/mL	51	14 (27.45)	37 (72.55)		
病理类型/[例(%)]				0.907	0.635
单纯胎儿型	15	5 (33.33)	10 (66.67)		
胚胎型	9	2 (22.22)	7 (77.78)		
混合型	38	8 (21.05)	30 (78.95)		
PRETEXT分期/[例(%)]				29.679	<0.001
I期	8	6 (75.00)	2 (25.00)		
II期	11	7 (63.64)	4 (36.36)		
III期	34	2 (5.88)	32 (94.12)		
IV期	9	0 (0.00)	9 (100.00)		

2.3 Ep-CAM 表达对患儿预后的影响

Ep-CAM阳性和阴性患儿2年总生存率分别为34.04%(16/47)和86.67%(13/15), Log-rank分析结果显示Ep-CAM蛋白表达阳性和阴性患儿总的生存率差异有统计学意义($P<0.05$, 图2)。

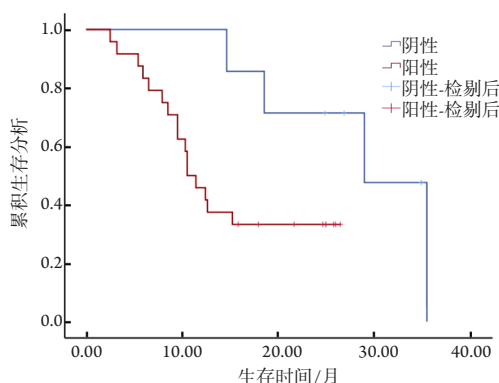


图2 Ep-CAM表达与患儿生存状况的相关性

Figure 2 Correlation between the expression of Ep-CAM and the prognosis of children

3 讨论

我国多数肝母细胞瘤患儿在确诊时已经为中晚期, 近20%患儿已发生远处转移, 严重影响治疗效果和预后。近年来的肿瘤研究热点多在肿瘤细胞转导、增殖、分化和迁移, 旨在揭秘肿瘤发生、进展及转移机制, 寻求更有效治疗方案和药物、降低肿瘤发生率和病死率^[6-7], 其中Ep-CAM因在以上过程中具有重要作用而受到众多研究人员的重视。

Ep-CAM最早是在结直肠癌组织中发现, 呈现高表达, 后来在胃癌、卵巢癌等恶性肿瘤组织中也被发现呈现为高表达状态^[8]。进一步的研究发现Ep-CAM是一种I型跨膜蛋白, 由胞外结构域、单次跨膜结构域和胞内结构域构成, 其中胞外结构域具有两个表皮生长因子样重复序列, 胞内结构域具有2个 α -激动大蛋白结合位点, 能够连接肌动蛋白细胞骨架^[9]。Ep-CAM通过破坏 α -连环蛋白和F-肌动蛋白之间的连接负性调节钙黏蛋白(cadherin)介导的细胞间黏附作用^[10]。不同发育时期及病理状态下肝细胞Ep-CAM表达有显著差异, 研究^[11-12]表明在约2月胎龄的胚胎肝细胞中Ep-CAM呈阳性表达, 而在正常成熟肝细胞中Ep-CAM呈阴性表达, 提示Ep-CAM在胚胎发育过程中具有重要作用。但在肝癌组织、再生肝细胞中Ep-CAM又呈阳性表达, 而一旦再生肝细胞分化成熟后,

Ep-CAM又呈阴性表达^[13]。

本研究结果显示肝母细胞瘤组织中Ep-CAM表达阳性率为75.81%, 而在癌旁组织中未见阳性表达, 而Ep-CAM表达阳性与PRETEXT分期有关, 与患儿年龄、性别、术前甲胎蛋白水平和病理类型无关。PRETEXT分期III期和IV期患儿肿瘤组织中Ep-CAM阳性表达率显著高于I期和II期患儿。陈立才等^[14]研究了Ep-CAM单克隆抗体靶向治疗肝母细胞瘤荷瘤SPF级裸小鼠模型的效果, 结果表明相较于注射生理盐水治疗的模型小鼠, 经Ep-CAM单克隆抗体治疗的小鼠肿瘤重量及体积均显著减少, Ep-CAM表达阳性率显著降低, 提示抗Ep-CAM单克隆抗体能够抑制肝母细胞瘤荷瘤裸鼠肿瘤的生长。本研究观察两组患儿2年存活率, 并进一步采用Log-rank方法分析了Ep-CAM表达阳性和阴性肝母细胞瘤患儿的生存状态, 结果表明Ep-CAM阳性和阴性患儿2年总生存率分别为34.04%(16/47)和86.67%(13/15), Ep-CAM阳性和阴性患儿总的生存率差异具有统计学意义($P<0.05$)。李朋飞等^[15]研究也显示Ep-CAM在肝母细胞瘤中的表达阳性率为73.1%, 且表达与否和患儿年龄、性别、肿瘤分期、病理类型等临床和病理特征并无明显相关性, 但Ep-CAM阴性患儿2年总生存期显著高于Ep-CAM阳性患儿, 与本研究结果一致。

综上, Ep-CAM蛋白在肝母细胞瘤组织中呈高表达, 与PRETEXT分期存在相关性, 是影响预后的关键因素, 可能作为肝母细胞瘤诊断和预后评估的新靶点加以深入研究。但本研究纳入样本量较少, 随访时间较短, 可能对结果造成一定偏倚, 接下来需要扩大样本量, 并延长随访时间, 以确定Ep-CAM蛋白表达对肝母细胞瘤患儿生存情况的影响。

参考文献

1. 白凤森, 袁新宇, 闫清淳, 等. 儿童肝母细胞瘤CT征象及其与病理的关系[J]. 中国医学影像技术, 2017, 33(9): 1297-1300.
BAI Fengsen, YUAN Xinyu, YAN Yuchun, et al. CT findings of pediatric hepatoblastoma and correlation with pathological subtypes[J]. Chinese Journal of Medical Imaging Technology, 2017, 33(9): 1297-1300.
2. 王焕民. 小儿肝母细胞瘤的诊断与治疗[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2013, 28(3): 166-167.
WANG Huanmin. Diagnosis and treatment of hepatoblastoma in children[J]. Chinese Journal of Applied Clinical Pediatrics, 2013, 28(3): 166-167.

3. 王皓冬, 李宗阔, 卫思梦, 等. 细胞粘附因子1及血管粘附因子对胃癌的诊断价值及其与患者预后相关性分析[J]. 中国实验诊断学, 2017, 21(6): 1041-1042.
WANG Haodong, LI Zongkuo, WEI Simeng, et al. Diagnostic value of cell adhesion factor-1 and vascular adhesion factor in gastric cancer and their relationship with prognosis[J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2017, 21(6): 1041-1042.
4. 严颖, 程建平, 邸立军, 等. 转移性乳腺癌上皮特异性细胞黏附分子(EpCAM) mRNA阳性循环肿瘤细胞检测及其临床价值[J]. 北京大学学报(医学版), 2012, 44(2): 275-280.
YAN Ying, CHENG Jianping, QIU Lijun, et al. Detection and clinical value of epithelial cellular adhesion molecule (EpCAM) mRNA positive circulating tumor cells in metastatic breast cancer[J]. Journal of Peking University. Health Science, 2012, 44(2): 275-280.
5. 中国抗癌协会小儿肿瘤专业委员会, 中华医学会小儿外科分会肿瘤专业组. 儿童肝母细胞瘤多学科诊疗专家共识(CCCG-HB-2016)[J]. 中华小儿外科杂志, 2017, 38(10): 733-739.
Chinese Anti-Cancer Association Pediatric Committee, China Medical Association Pediatric Onco-Surgery Group. Expert consensus for multidisciplinary management of hepatoblastoma (CCCG-HB-2016)[J]. Chinese Journal of Pediatric Surgery, 2017, 38(10): 733-739.
6. 李勇, 肖雅玲, 陈朝晖, 等. 姜黄素对人肝母细胞瘤细胞株HepG2增殖和转移的影响[J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(1): 117-120.
LI Yong, XIAO Yaling, CHEN Zhaohui, et al. Effects of curcumin on proliferation and metastasis of human hepatoblastoma cell line HepG2 in vitro[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2014, 23(1): 117-120.
7. 肖朝文, 王从俊, 李明杰, 等. 携带人黑色素瘤分化相关基因-7/白细胞介素-24基因的溶瘤腺病毒SG600-IL24选择性促进肝癌细胞凋亡和增殖阻滞[J]. 中华实验外科杂志, 2017, 34(7): 1091-1094.
XIAO Chaowen, WANG Congjun, LI Mingjie, et al. Oncolytic adenovirus SG600-IL24 expressing human melanoma differentiation associated gene-7/interleukin-24 selectively induces growth arrests and apoptosis in hepatocellular carcinoma cell lines[J]. Chinese Journal of Experimental Surgery, 2017, 34(7): 1091-1094.
8. 韩晓芳, 王晓成, 王嵩明. 密度梯度离心联合上皮细胞黏附分子免疫磁珠富集法检测卵巢癌循环肿瘤细胞及其与肿瘤复发转移的相关性[J]. 中国药物与临床, 2016, 16(4): 460-462.
HAN Xiaofang, WANG Xiaocheng, WANG Aiming. Circulating tumor cells of ovarian cancer detected by density gradient centrifugation in combination with epithelial cell adhesion molecule immunomagnetic enrichment and its relationship with tumor recurrence and metastasis[J]. Chinese Remedies & Clinics, 2016, 16(4): 460-462.
9. Yonaiyama S, Toyoki Y, Morohashi S, et al. Epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) overexpression is correlated with malignant potentials of intraductal papillary mucinous neoplasms (IPMNs) of the pancreas[J]. Biomed Res, 2013, 144(5): 87-95.
10. 周逢强, 齐艳美, 李新军, 等. 上皮黏附分子与 β -连环蛋白在结肠癌中的表达及临床意义[J]. 国际肿瘤学杂志, 2011, 38(11): 873-875.
ZHOU Fengqiang, QI Yamei, LI Xinjun, et al. Expression and clinical significance of EpCAM and β -catenin pathway in colon cancer[J]. Journal of International Oncology, 2011, 38(11): 873-875.
11. Münz M, Kieu C, Mack B, et al. The carcinoma-associated antigen EpCAM upregulates c-myc and induces cell proliferation[J]. Oncogene, 2004, 23(34): S748-S758.
12. Patriarca C, Macchi RM, Marschner AK, et al. Epithelial cell adhesion molecule expression (CD326) in cancer: A short review[J]. Cancer Treat Rev, 2012, 38(1): 68-75.
13. Yamashita T, Ji J, Budhu A, et al. EpCAM-positive hepatocellular carcinoma cells are tumor-initiating cells with stem/progenitor cell features[J]. Gastroenterology, 2009, 136(3): 1012-1024.
14. 陈立才, 李朋飞, 黄一敏, 等. 抗EpCAM单克隆抗体治疗肝母细胞瘤的动物实验研究[J]. 临床小儿外科杂志, 2019, 18(1): 63-68.
CHEN Licai, LI Pengfei, HUANG Yimin, et al. Targeting therapy of anti-EpCAM monoclonal antibody in hepatoblastoma animal model[J]. Journal of Clinical Pediatric Surgery, 2019, 18(1): 63-68.
15. 李朋飞, 黄一敏, 吕志宝, 等. EpCAM在小儿肝母细胞瘤中的表达及其临床意义[J]. 中华小儿外科杂志, 2018, 39(5): 340-344.
LI Pengfei, HUANG Yimin, LÜ Zhibao, et al. Expression and clinical significance of EpCAM in children with hepatoblastoma[J]. Chinese Journal of Pediatric Surgery, 2018, 39(5): 340-344.

本文引用: 姚远. 上皮细胞黏附分子与肝母细胞瘤患儿病理特征及预后的相关性[J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(1): 35-39. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.01.006

Cite this article as: YAO Yuan. Correlation between epithelial cell adhesion molecule and pathological features and prognosis of hepatoblastoma in children[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2020, 40(1): 35-39. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.01.006