

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.24.009

文章编号: 1005-8982 (2019) 24-0049-05

高迁移率族蛋白 A2 与原发性肝细胞癌患者 临床病理特征及其预后的关系

杨晋, 夏先明, 贺凯, 张孟瑜, 冯春红, 秦蜀

(西南医科大学附属医院 肝胆外科, 四川 泸州 646000)

摘要: 目的 探讨高迁移率族蛋白 A2 (HMGA2) 表达与原发性肝细胞癌患者临床病理特征及其预后的关系。**方法** 选取 2010 年 1 月—2013 年 1 月在西南医科大学附属医院肝胆外科行手术切除的肝细胞癌患者 120 例。以免疫组织化学法检测患者手术切除标本的癌组织、癌旁组织及正常肝组织中 HMGA2 的表达, 记录患者临床病理特征并随访。统计分析 HMGA2 阳性表达与患者临床病理特征的关系, 以及对患者预后的影响。**结果** 免疫组织化学结果发现, HMGA2 阳性表达呈棕黄色或棕褐色颗粒, 主要定位于肿瘤细胞的细胞核。肝癌组织 HMGA2 阳性率比正常肝组织和癌旁组织高 ($P < 0.05$)。HMGA2 阳性表达率在临床分期、有肝门淋巴结转移及肝内转移肝细胞癌患者中较高 ($P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归模型结果显示, 临床分期、肝门淋巴结转移及肝内转移均是影响 HMGA2 阳性表达的独立危险因素 ($P < 0.05$)。两组患者的 3 年生存率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** HMGA2 阳性患者预后明显较差, HMGA2 可作为判断肝细胞癌患者预后的一个潜在指标。

关键词: 高迁移率族蛋白质类; 癌, 肝细胞; 预后

中图分类号: R 735.7

文献标识码: A

Association of HMGA2 expression with clinicopathological parameters and prognosis in primary hepatocellular carcinoma

Jin Yang, Xian-ming Xia, Kai He, Meng-yu Zhang, Chun-hong Feng, Shu Qin

(Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Southwest Medical University,
Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship of HMGA2 expression with clinicopathological parameters and prognosis in primary hepatocellular carcinoma. **Methods** The clinical data of 120 patients with hepatocellular carcinoma who underwent surgical resection from January 2010 to January 2013 in our hospital were collected. Immunohistochemical method was used to detect the expression of HMGA2 protein in cancer tissues, adjacent tissues and normal liver tissues of the resected specimens, and the clinicopathological parameters were recorded and followed up. The relationship between the positive expression of HMGA2 protein and clinical pathological parameters and prognosis of the patients was analyzed. **Results** Immunohistochemical staining showed that the positive expression of HMGA2 protein was brown or tan, mainly located in the nuclei of tumor cells. The positive rate of HMGA2 protein in HCC tissues was higher than in adjacent tissues and

收稿日期: 2019-06-16

normal liver tissues ($P < 0.05$). The expression of HMGA2 protein was higher in patients with hepatocellular carcinoma in high clinical stage, hilar lymph node metastasis and intrahepatic metastasis ($P < 0.05$). Multivariate analysis showed that clinical stage, hepatic hilar lymph node metastasis and intrahepatic metastasis were independent risk factors of HMGA2 protein expression ($P < 0.05$). The difference of 3-year survival rate between the two groups was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusions** The prognosis of patients with positive HMGA2 protein is poor, and HMGA2 protein can be used as a potential index to judge the prognosis of patients with HCC.

Keywords: high mobility group proteins; carcinoma, hepatocellular; prognosis

原发性肝癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一。我国由于乙肝人数多,患者治疗依从性差,全球每年约一半的新发肝癌病例发生在我国^[1]。但目前关于肝癌发生、发展的机制尚不明确,因此,阐明肝癌发生、发展过程中的分子生物学机制或将有助于肝癌患者的早期诊断和治疗^[2]。高迁移率族蛋白 A2 (high mobility group protein A2, HMGA2) 属于非组蛋白染色体蛋白,无转录活性^[3]。其对基因转录的调节作用主要通过与染色质结合或直接与蛋白发生作用而实现^[4]。HMGA2 一般只在胎发育早期高表达,在正常成体组织中 HMGA2 的表达水平极低或几乎检测不到^[5]。而在多种实体恶性肿瘤,例如胃癌、食管癌及结肠癌中 HMGA2 呈高表达,这提示 HMGA2 可能在恶性肿瘤的发生、发展过程中起重要作用^[6]。目前关于 HMGA2 与肝细胞癌关系的研究报道较少,因此本研究探讨 HMGA2 表达与原发性肝细胞癌患者临床病理特征及其预后的关系,旨在为进一步阐明 HMGA2 在肝细胞癌发生、发展中的作用提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2010 年 1 月—2013 年 1 月在西南医科大学附属医院肝胆外科行手术切除的肝细胞癌患者 120 例。其中,男性 79 例,女性 41 例;年龄 32 ~ 83 岁,中位年龄 54 岁。临床分期以中晚期为主,Ⅰ、Ⅱ期 55 例,Ⅲ、Ⅳ期 65 例。纳入标准:①病理类型为肝细胞癌,且为首次确诊。②患者行手术治疗,手术切除标本保存于本院病理科,且标本符合本研究实验设计要求,即包括癌组织、癌旁组织及正常组织。排除标准:①围手术期非肿瘤性病因死亡。②同时合并

有其他恶性肿瘤或有恶性肿瘤病史。③临床资料或随访信息不全。

1.2 试剂

鼠抗人 HMGA2 单克隆抗体(美国 Abcam 公司),免疫组织化学 SP 试剂盒购(美国 Zymed 公司)。一抗工作浓度为 1 : 100。二氨基联苯胺(Diaminobenzidine, DAB)显色试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.3 方法

采用免疫组织化学染色,组织均经甲醛固定后,石蜡包埋,厚切片,厚度约 4 μ m。对切片组织进行常规脱蜡、水化,过氧化氢去离子水孵育,阻断内源性过氧化物酶的干扰。乙二胺四乙酸液高温修复抗原,自然冷却后,磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)冲洗,滴加 100 μ l 鼠抗人 HMGA2 (浓度 1 : 100), 4℃冰箱孵育过夜。PBS 冲洗 3 次, 2 min/次。滴加二抗, 37℃环境下孵育 20 ~ 30 min。PBS 冲洗 3 次, 2 min/次。DAB 显色,苏木精复染,脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。以 PBS 代替一抗作为阴性对照。采用半定量积分法判断阳性结果,以出现棕色颗粒作为 HMGA2 阳性标准。染色强度评分:无染色 0 分,浅黄色 1 分,棕黄色 2 分,棕褐色 3 分;高倍镜(400 倍)下每张切片随机取 10 个视野,每个视野计数 100 个细胞,计算阳性细胞占同类细胞的百分数:细胞阳性率分为 0 ~ <25%、25% ~ <50%、50% ~ 75% 及 > 75%, 分别计为 0、1、2、3 和 4 分。两者乘积结果是 0 分为阴性(-), 1 ~ 4 分为弱阳性(+), 5 ~ 8 分为阳性(++), 9 ~ 12 分为强阳性(+++), 将弱阳性和阳性定义为低表达,强阳性定义为高表达,将患者分为 HMGA2 阳性组和 HMGA2 阴性组,分别为 59 和 61 例。

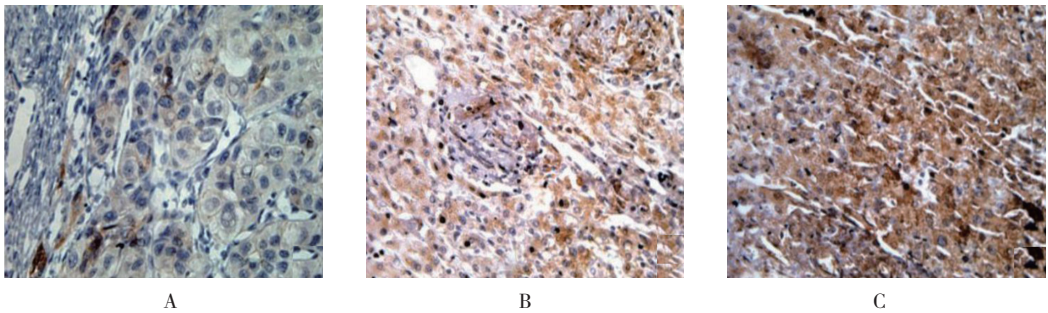
1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件。计数资料以率 (%) 表示, 比较用 χ^2 检验, 进一步的两两比较采用 χ^2 分割法; 绘制生存曲线, 比较采用 Log rank χ^2 检验; 影响因素的分析采用 Logistic 回归模型, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组织化学染色

HMGA2 阳性表达呈棕黄色或棕褐色细颗粒



A: HMGA2 在肝细胞癌组织中不表达; B: HMGA2 在肝细胞癌组织中低表达; C: HMGA2 在肝细胞癌组织中高表达。
图 1 HMGA2 在肝细胞癌组织中的表达 (免疫组织化学 $\times 400$)

细胞癌患者的 HMGA2 阳性表达率比较, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。HMGA2 阳性表达率在高临床分期、有肝门淋巴结转移及肝内转移肝细胞癌患者中较高。不同性别、年龄、肿瘤直径肝细胞癌患者的 HMGA2 阳性表达率比较, 经 χ^2 检验, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

2.3 肝细胞癌组织 HMGA2 阳性表达的多因素 Logistic 分析

将临床分期、肝门淋巴结转移及肝内转移纳入 Logistic 回归模型进行多因素分析, 结果发现临床分期、肝门淋巴结转移及肝内转移均是影响 HMGA2 阳性表达的独立危险因素 ($P<0.05$)。见表 2。

2.4 两组患者 3 年生存率比较

HMGA2 阳性组患者 3 年死亡 45 例, 生存率为 23.7%, HMGA2 阴性组患者 3 年死亡 33 例, 生存率为 45.9%, 经 Log rank χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2=6.481, P=0.011$)。见图 2。

状, 主要定位于肿瘤细胞的细胞核。在 120 例患者中, HMGA2 在癌组织中的阳性率为 35.8% (43/120), 在癌旁组织中的阳性率为 15.8% (19/120), 在正常肝组织中的阳性率为 8.3% (10/120), 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2=6.558, P=0.000$)。癌组织比正常肝组织和癌旁组织高。见图 1。

2.2 不同影响因素下肝细胞癌组织 HMGA2 阳性表达率比较

不同临床分期、肝门淋巴结转移及肝内转移肝

表 1 不同影响因素下肝癌组织 HMGA2 蛋白阳性表达率比较

因素	<i>n</i>	阳性 例（%）	χ^2 值	<i>P</i> 值
性别				
男性	79	37（46.84）	0.820	0.395
女性	41	22（53.66）		
年龄				
≤ 50 岁	55	29（52.73）	0.515	0.473
>50 岁	65	30（46.15）		
临床分期				
I、Ⅱ期	55	20（36.36）	6.659	0.010
Ⅲ、Ⅳ期	65	39（60.00）		
肿瘤直径				
≤ 5 cm	61	31（50.82）	0.136	0.781
>5 cm	59	28（47.46）		
肝门淋巴结转移				
有	58	39（67.27）	14.674	0.000
无	62	20（32.26）		
肝内转移				
有	75	46（61.33）	11.846	0.000
无	45	13（28.89）		

表 2 肝细胞癌组织 HMGA2 阳性表达的多因素 Logistic 回归分析相关参数

因素	b	S_b	Wald χ^2	$\hat{OR}$	95%CI		P 值
					下限	上限	
临床分期	2.732	0.579	5.553	16.432	0.335	3.238	0.019
肝门淋巴结转移	2.534	0.961	4.026	12.642	0.091	3.920	0.037
肝内转移	3.154	1.024	6.486	23.632	0.103	5.715	0.012

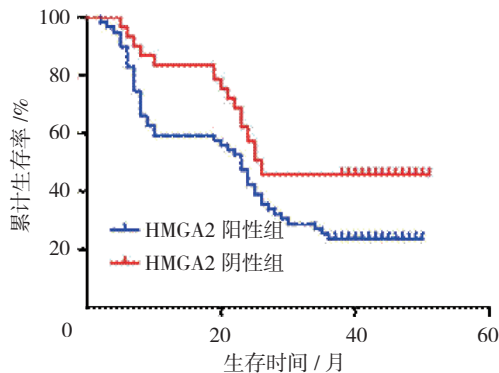


图 2 两组患者 3 年生存率比较

3 讨论

与其他恶性肿瘤一样,原发性肝细胞癌确切的病因及分子机制尚不完全清楚。其发病是一个阶段多、步骤多的复杂过程,受基因与环境双重因素影响,临床上以有肝区疼痛、腹胀及上腹部包块等症状为主^[7]。HMG 是由 HMGA 基因编码的一类非组蛋白家族,正常情况下,在高度分化或成熟细胞及组织中表达量极低,但在多种恶性肿瘤中,表达量则显著提高。闫艳琴等^[8]对 60 例食管鳞癌患者的病理标本进行检测后发现, HMGA2 在食管鳞癌组织及正常组织中的阳性率分别为 71.0% 和 4.8%, 差异有统计学意义。HELMKE 等^[9]研究结果表明, HMGA2 在结肠癌中的阳性率为 50%, 在正常组织中几乎检测不到。而关于 HMGA2 与肝细胞癌关系的研究则相对较少。刘蓓等^[10]运用逆转录聚合酶链反应 (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) 对 103 例肝癌患者的手术标本检测后发现, HMGA2 mRNA 在肝癌组织中的阳性表达率为 43.69%, 显著高于正常肝组织。本研究也发现, HMGA2 主要定位于肿瘤细胞的细胞核。与癌组织相比, 正常肝组织和癌旁组织 HMGA2 阳性率均较低。本研究中 HMGA2 阳性表达率较文献报道^[8-10]稍低, 可能与本研究中患者的纳入标准、排除标准更为严格及本研究采用的免疫组织化学法敏感性稍低于 RT-PCR 有关。

在免疫组织化学法基础上, 进一步分析 HMGA2 表达与肝细胞癌患者临床病理特征的关系。HMGA2 表达在高临床分期、有肝门淋巴结转移及肝内转移肝细胞癌患者中表达较高。进一步应用 Logistic 回归模型进行多因素分析, 结果发现临床分期、肝门淋巴结转移及肝内转移均是影响 HMGA2 表达的独立危险因素, 这表明 HMGA2 表达对肝细胞癌患者淋巴结转移及肝内转移均有重要影响, 这与刘颖等^[11]和吕柏楠等^[3]的研究结果基本一致。笔者推测可能的原因有: ①上皮钙黏蛋白基因的转录受生长因子 β 信号通路中的 SNAIL、TWIST 等基因调控, HMGA2 可通过上调相关基因的表达抑制上皮钙黏蛋白基因转录, 促进细胞间极性消失而诱发上皮细胞-间质转化 (epithelial mesenchymal transition, EMT), 而 EMT 正是上皮细胞来源的恶性肿瘤细胞获得迁移和侵袭能力的重要生物学过程^[12-13]。② HMGA2 表达与肿瘤血管生成密切相关。LI 等^[13]报道称 HMGA2 基因表达与血管内皮细胞增殖、迁移存在明显的相关关系, 高 HMGA2 表达的肿瘤组织微血管更为丰富。上述因素共同作用, 相互促进, 使得 HMGA2 阳性的肝癌细胞更易扩散, 形成肝内外转移灶。

本研究提示临床分期、肝门淋巴结转移及肝内转移与 HMGA2 阳性表达密切相关, 这表明 HMGA2 阳性患者出现转移的可能性更高, 临床分期更晚, 预后明显较差。因此, HMGA2 可作为判断肝细胞癌患者预后的一个潜在指标。

综上所述, HMGA2 定位于肿瘤细胞的细胞核, 主要表达于癌组织, 但在癌旁组织、正常肝组织中也有一定阳性率。临床分期、肝门淋巴结转移及肝内转移与 HMGA2 表达密切相关。HMGA2 阳性患者预后明显较差, HMGA2 可作为判断肝细胞癌患者预后的一个潜在指标。

参 考 文 献:

[1] MA X, YANG Y, LI H L, et al. Dietary trace element intake and

- liver cancer risk: results from two population-based cohorts in China[J]. *International Journal of Cancer*, 2017, 140(5): 1050-1059.
- [2] HAN K, KIM J H, KO G Y, et al. Treatment of hepatocellular carcinoma with portal venous tumor thrombosis: a comprehensive review[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(1): 407-416.
- [3] 吕柏楠, 石晓明, 吴胜春, 等. 胃癌组织高迁移率族蛋白 A2 与基质金属蛋白酶-9 表达与肿瘤侵袭转移的关系及预后意义 [J]. *河北医药*, 2014, 36(6): 819-822.
- [4] AGOSTINI A, BRUNETTI M, DAVIDSON B, et al. Genomic imbalances are involved in miR-30c and let-7a deregulation in ovarian tumors: implications for HMGA2 expression[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(13): 21554-21560.
- [5] 秦颖, 牛昀, 刘芬. 高迁移率族蛋白 A2 与肿瘤关系的研究新进展 [J]. *中华病理学杂志*, 2014, 43(1): 65-67.
- [6] PANAGOPOULOS I, BJERKEHAGEN B, GORUNOVA L, et al. Rearrangement of chromosome bands 12q14 ~ 15 causing HMGA2-SOX5 gene fusion and HMGA2 expression in extraskeletal osteochondroma[J]. *Oncology Reports*, 2015, 34(2): 577-584.
- [7] KIM H S, LEE K S, BAE H J, et al. MicroRNA-31 functions as a tumor suppressor by regulating cell cycle and epithelial-mesenchymal transition regulatory proteins in liver cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(10): 8089-8102.
- [8] 闫艳琴, 刘红涛, 冯天平, 等. HMGA1 和 HMGA2 蛋白在食管鳞癌中表达的相关性及其临床病理意义 [J]. *世界华人消化杂志*, 2010, 18(27): 2869-2873.
- [9] HELMKE B M, MARKOWSKI D N, MEYER A, et al. The expression of HMGA2 varies strongly among colon carcinomas[J]. *Anticancer Research*, 2012, 32(5): 1589-1593.
- [10] 刘蓓, 王琼, 贺玉娟, 等. HMGA2 在原发性肝细胞癌中表达的临床意义 [J]. *第二军医大学学报*, 2010, 31(2): 215-217.
- [11] 刘颖, 付启忠, 蒲琳, 等. 高迁移率族蛋白 A2 在肾癌中的表达及临床意义 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2017, 39(2): 127-132.
- [12] EJEAN T, SYLVIE T, LAIA C, et al. Regulation of transcription factor Twist expression by the DNA architectural protein high mobility group A2 during epithelial-to-mesenchymal transition[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(10): 7134-7145.
- [13] LI W, WANG Z, ZHA L, et al. HMGA2 regulates epithelial-mesenchymal transition and the acquisition of tumor stem cell properties through TWIST1 in gastric cancer[J]. *Oncology Reports*, 2017, 37(1): 185-192.

(李科 编辑)