

β -catenin 和 Cyclin D1 在肝癌肝内转移中的作用

苏小康, 赵先明, 李锦清, 崔学教, 谢晓华, 杨海燕, 徐发彬, 石明

苏小康, 赵先明, 崔学教, 谢晓华, 杨海燕, 徐发彬, 广州中医药大学第一附属医院三外科 广东省广州市 510405
李锦清, 石明, 中山大学肿瘤医院肝胆科 广东省广州市 510060
苏小康, 男, 1969-07-25 生, 陕西省商州人, 汉族, 博士后, 讲师。
项目负责人: 苏小康, 510405, 广东省广州市机场路 16 号, 广州中医药大学第一附属医院三外科. suxibo@yeah.net
电话: 020-36591843 传真: 020-36590540
收稿日期: 2003-03-07 接受日期: 2003-03-29

Role of β -catenin and cyclin D1 expressions in intrahepatic dissemination of liver cancer

Xiao-Kang Su, Xian-Ming Zhao, Jin-Qing Li, Xue-Jiao Cui, Xiao-Hua Xie, Hai-Yan Yang, Fa-Bing Xu, Ming Shi

Xiao-Kang Su, Xian-Ming Zhao, Xue-Jiao Cui, Xiao-Hua Xie, Hai-Yan Yang, Fa-Bing Xu, Third Department of General Surgery, First Affiliated Hospital, Guangzhou Traditional Chinese Medical University, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China
Jin-Qing Li, Ming Shi, Department of Hepatobiliary Surgery, Cancer Hospital, Zhongshan University, Guangzhou 510060, Guangzhou Province, China
Correspondence to: Xiao-Kang Su, Third Department of General Surgery, First Affiliated Hospital, Guangzhou Traditional Chinese Medical University, 16 Jichang Road, Guangzhou 510405, Guangzhou Province, China. Suxibo@yeah.net
Received: 2003-03-06 Accepted: 2003-03-29

Abstract

AIM: To analyze the relationship between expressions of β -catenin and cyclin D1 and formation of portal vein tumor thrombus and clinical pathologic parameters.

METHODS: β -catenin and Cyclin D1 were tested in primary liver cancer, tumor thrombus and paracancer tissue in 32 cases of hepatic carcinoma with immunohistochemistry. Their effect on clinic pathologic parameters was also discussed.

RESULTS: The positive rates of β -catenin expression in primary liver cancer, tumor thrombus and paracancer tissue were 62.5 %, 81.25 %, and 9.38 %, respectively. The positive rates of β -catenin expression were also correlated with tumor thrombus, HBV infection and liver cirrhosis. The positive rates of cyclin D1 expression in primary liver cancer, tumor thrombus and paracancer tissue were 46.9 %, 75 %, and 18.8 %, respectively. It was also correlated with tumor thrombus, cell classification and differentiation. There were obvious differences among three groups in expression of β -catenin and cyclin D1.

CONCLUSION: β -catenin and cyclin D1 are helpful for initiation and progression of tumor thrombus and play an important role in the course of liver cirrhosis and HBV infection. Cyclin D1 influences tumor classification and

differentiation.

Su XK, Zhao XM, Li JQ, Cui XJ, Xie XH, Yang HY, Xu FB, Shi M. Role of β -catenin and cyclin D1 expressions in intrahepatic dissemination of liver cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11(9):1362-1364

摘要

目的: 探讨 β -catenin 和 Cyclin D1 与癌栓形成及临床病理参数的关系。

方法: 用免疫组化法检测 32 例肝癌原发灶、癌栓和癌旁组织中 β -catenin、Cyclin D1 的表达, 同时分析其与临床病理参数之间的关系。

结果: β -catenin 在原发灶、癌栓和癌旁组织中的阳性率分别为 62.5 %、81.25 %、9.38 %, 三者之间有显著差别; β -catenin 与癌栓形成、HBV 感染、肝硬化有关。Cyclin D1 在原发灶、癌栓和癌旁组织中的阳性率分别为 46.9 %、75 %、18.8 %, 三者之间有显著差别; Cyclin D1 与癌栓形成、组织类型、分化程度有关。

结论: β -catenin 和 Cyclin D1 促进癌栓形成, 参与 HBV 感染和肝硬化形成过程; Cyclin D1 影响肿瘤组织类型和分化程度。

苏小康, 赵先明, 李锦清, 崔学教, 谢晓华, 杨海燕, 徐发彬, 石明. β -catenin 和 Cyclin D1 在肝癌肝内转移中的作用. *世界华人消化杂志* 2003;11(9): 1362-1364

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1362.asp>

0 引言

β -catenin 不仅在钙粘蛋白(E-CD)介导的细胞黏附、细胞分化、细胞骨架中起重要作用, 而且是 WNT 信号传导通道的关键环节, 调控 Cyclin D1 及 C-myc 等原癌因的表达。Cyclin D1 能与细胞周期蛋白激酶(CDK4)结合, 激活的 CDK4- Cyclin D1, 复合物可以与多种蛋白协同作用促进细胞由 G1 期向 S 期的过度, 我们检测了 β -catenin 和 Cyclin D1 蛋白在肝癌组织、门脉癌栓及癌旁组织中的表达, 探讨了 β -catenin 和 Cyclin D1 与肝癌肝内播散和临床病理参数之间的关系, 现报告如下

1 材料和方法

1.1 材料 2000-07/2001-05 中山大学肿瘤医院肝胆外科手术切除原发性肝癌标本, 同时取肿瘤边缘 2 cm 外肝组织作癌旁组织, 男 25 例, 女 7 例, 年龄 26-64,

(中位 45 岁). 40 g/L 甲醛固定, 常规石蜡包埋, 5 μ m 连续切片. 根据 Enmondson 病理标准分为 I、II、III、IV 4 级. β -catenin、Cyclin D1 鼠抗人购自广州康润生物制品公司, SP 试剂盒购自美国 Vector 公司.

1.2 方法 免疫组化操作步骤按试剂盒说明操作, 并根据情况稍加改进, 两种方法均需微波抗原修复. 用试剂携带阳性片作为阳性对照, PBS液作为一抗作为阴性对照. 将阳性细胞按其数量及染色强度分为3级. 表达弱阳性(+): 细胞数量<10%, 染色强度弱阳性或仅个别细胞中至强阳性; 表达强阳性(+++): 阳性细胞数>60%, 中至强阳性染色, 少数可为弱阳性表达; 中度阳性(++): 阳性细胞数在 10-60% 之间; 无表达(-): Cyclin D1 染色强度与背景基本无差别, β -catenin 为细胞膜轻度染色.

统计学处理 用 SPSS10.0 行 FISHER 精确 χ^2 检验.

2 结果

2.1 β -catenin 的表达 癌旁组织中 β -catenin 均匀分布于细胞膜, 仅极个别标本中有胞质极弱着色, 细胞核无染色, 而在原发灶 62.5% (20/32), 癌栓 81.25% (26/32) 中出现在细胞质或核内沉积. 门静脉癌栓明显高于原发灶 ($P < 0.04$), 而在无门脉癌栓者原发灶中表达强度明显低于有转移灶者 (表 1).

表 1 HCC、癌栓、癌旁组织中 β -catenin 和 cyclin D1 蛋白的表达 ($n = 32$)

HCC	β -catenin				cyclin D1			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++
原发灶	12	9	7	4	17	6	5	4
癌栓	6	6	9 ^a	11	8	4	8	12 ^a
癌旁	29	2	1	0	26	4	2	0

^a $P < 0.05$.

表 2 β -catenin、cyclin D1 与临床病理参数之间的关系

参数	β -catenin		cyclin D1	
	N	A	N	A
HBV +	7	14	10	9
-	5	6 ^a	7	6
肝硬化 轻	7	16	9	9
重	5	4 ^a	8	6
肿瘤大小 小于 5 cm	6	12	10	10
大于 5 cm	6	8	7	5
包膜 完整	7	11	9	8
不完整	5	9	8	7
癌栓 有	3	15	4	13
无	9	5 ^a	13	2 ^a
组织类型 HCC	6	9	5	10
CC	6	11	12	5 ^a
混合型	1	1	0	0
分化程度 I	4	6	4	6
II	6	10	9	7 ^a
III	2	4	4	2

N: 细胞核 A: 细胞质 ^a $P < 0.05$

2.2 Cyclin D1 的表达 Cyclin D1 阳性染色有二种类型; 细胞核型: 定位于细胞核中, 细胞质型: 分布于细胞质中, 阳性细胞染色呈弥漫状分布. 肝癌原发灶中 46.9% 呈阳性表达, 癌栓中阳性率则高达 75.0%, 而癌旁组织中明显低, 仅 18.8%, 在三组间有明显差异, 依次为癌栓、原发性、癌旁 (表 1).

2.3 β -Catenin, Cyclin D1 与临床病理参数之间的关系 β -Catenin 的异常表达与 HBV 感染、肝硬化和癌栓形成有关, 而与肿瘤大小、包膜、组织类型和分化程度无关. Cyclin D1 在癌栓形成、组织类型和分化中有差异, 而在 HBV 感染, 肝硬化, 肿瘤大小、包膜中无差异 (表 2).

3 讨论

门静脉癌栓是原发性肝癌肝内转移的主要方式, 也是引起肝癌术后复发的重要原因 (术后复发率高达 60.8%), 严重影响临床疗效^[1, 2]. β -Catenin 在细胞黏附和 WNT 信号传导两个过程发挥作用, c-myc 和 Cyclin D1 是 WNT 通路中的核心环节^[3, 4], 无功能的 β -Catenin 在细胞过度沉积导致细胞内游离 β -Catenin 水平升高, 细胞过度增生^[5, 6]. 我们发现在转移灶中有 β -Catenin 异常表达, 而且在癌栓中明显高于原发灶和癌旁组织, 参与癌栓形成过程中多个环节: 黏附松散, 脱离复发灶, 到达转移部位的增生和黏附两方面发挥作用, 通过两个途径促进肝内播散. Cyclin D1 编码基因位于 11q3^[7, 8], 我们发现原发灶, 癌栓和癌变组织中表达不同, 癌栓中明显高于原发灶和癌旁组织. 提示 Cyclin D1 在原发灶形成和肿瘤细胞转移到门脉内继续增生都有促进作用.

β -Catenin 作为 WNT 通路中的关键环节, 并非单一上下游的线性运行^[9-11], 与其他信号通道可能相互影响, 从而形成复杂的网络效应, Gleason et al^[12] 人发现 WNT-1, Notch 信号通路 G 蛋白通路之间有相互作用, 提示 β -Catenin 异常表达在肿瘤发展过程中有多重效应^[13-15]. 本研究发现 HBV 感染肝硬化以及门脉癌栓形成与 β -Catenin 的异常表达密不可分, 可能在 HBV 感染或 HBX 基因插入诱导肝细胞恶变过程, 肝脏损伤纤维化修复过程中有 β -Catenin 或其信号传导机制的异常. 但是本研究发现 β -Catenin 对肿瘤大小, 包膜, 组织类型及分化程度的影响不大. Cyclin D1 是一种弱致癌基因, 与其他癌基因关系密切^[16-18], 在一些细胞种 Cyclin D1 本身并无转化作用^[19-21]. 但能与 ras 基因协同转化大鼠成纤维细胞^[22-24]. 野生型 P53 蛋白的积聚可引起 Cyclin D1 表达增加, Cyclin D1 基因扩增和 P53 突变是正相关, 因而 cyclin D1 异常表达进一步影响肿瘤临床病理参数^[25, 26], Cyclin D1 表达与乳腺癌组织类型有关^[27]. 在胰腺癌研究中, 发现 Cyclin D1 表达与年龄、分化程度、分期大小、部位、淋巴结转移无关, 但 Cyclin D1 阴性者生存期明显短^[28, 29], 本组资料中组织类型、分化程度、癌栓形成与 Cyclin D1 异常表达有关, 可能是 Cyclin D1

与其他癌基因协同作用的结果。Qin et al^[30]也发现肝癌中有 Cyclin D1 基因扩增或过度表达, 而且影响临床病理参数。

本结果显示 β -Catenin和Cyclin D1蛋白表达与肝癌肝内播散有关, 促进门静脉癌栓形成, 与部分临床病理参数密切相关, 通过WNT信号通路及细胞周期途径影响肝癌的发展, 针对上述环节的分子生物学治疗可能会阻止门脉癌栓的形成, 可以作为开展分子生物学治疗的靶点。但体内信号传递网络的复杂性和细胞周期调控的精确机制不是 β -Catenin和Cyclin D1能完全解释的, 对信号传递和细胞周期调控的进一步研究可能会给肝癌转移的治疗带来突破性的进展。

4 参考文献

- Belghiti J, Regimbeau JM, Durand F, Kianmanesh AR, Dondero F, Terris B, Sauvanet A, Farges O, Degos F. Resection of hepatocellular carcinoma: a European experience on 328 cases. *Hepato-gastroenterology* 2002;49:41-46
- Kew MC. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Toxicology* 2002;181-182:35-38
- Cui J, Zhou X, Liu Y, Tang Z, Romeih M. Wnt signaling in hepatocellular carcinoma: analysis of mutation and expression of beta-catenin, T-cell factor-4 and glycogen synthase kinase 3-beta genes. *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18:280-287
- Monga SP, Monga HK, Tan X, Mule K, Padiaditakis P, Michalopoulos GK. Beta-catenin antisense studies in embryonic liver cultures: role in proliferation, apoptosis, and lineage specification. *Gastroenterology* 2003;124:202-216
- Cui J, Zhou XD, Liu YK, Tang ZY, Zile MH. Abnormal beta-catenin gene expression with invasiveness of primary hepatocellular carcinoma in China. *World J Gastroenterol* 2001;7:542-546
- Jiang Y, Zhou XD, Liu YK, Wu X, Huang XW. Association of hTcf-4 gene expression and mutation with clinicopathological characteristics of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002;8:804-807
- Li QF, Ou-Yang GL, Peng XX, Hong SG. Effects of tachyplesin on the regulation of cell cycle in human hepatocarcinoma SMMC-7721 cells. *World J Gastroenterol* 2003;9:454-458
- Joo M, Kang YK, Kim MR, Lee HK, Jang JJ. Cyclin D1 overexpression in hepatocellular carcinoma. *Liver* 2001;21:89-95
- Ebert MP, Yu J, Hoffmann J, Rocco A, Rocken C, Kahmann S, Muller O, Korc M, Sung JJ, Malfertheiner P. Loss of Beta-catenin expression in metastatic gastric cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:1708-1714
- Lowy AM, Fenoglio-Preiser C, Kim OJ, Kordich J, Gomez A, Knight J, James L, Groden J. Dysregulation of beta-catenin expression correlates with tumor differentiation in pancreatic duct adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 2003;10:284-290
- Miyoshi K, Hennighausen L. beta-Catenin: a transforming actor on many stages. *Breast Cancer Res* 2003;5:63-68
- Gleason JE, Korswagen HC, Eisenmann DM. Activation of Wnt signaling bypasses the requirement for RTK/Ras signaling during *C. elegans* vulval induction. *Genes Dev* 2002;16:1281-1290
- Tsukashita S, Kushima R, Bamba M, Nakamura E, Mukaisho K, Sugihara H, Hattori T. Beta-catenin expression in intramucosal neoplastic lesions of the stomach. Comparative analysis of adenoma/dysplasia, adenocarcinoma and signet-ring cell carcinoma. *Oncology* 2003;64:251-258
- Li YJ, Ji XR. Relationship between expression of E-cadherin-catenin complex and clinicopathologic characteristics of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2003;9:368-372
- Qiang YW, Endo Y, Rubin JS, Rudikoff S. Wnt signaling in B-cell neoplasia. *Oncogene* 2003;22:1536-1545
- Liang RY, Liao ZS, Jiang SP, Zhang W, Li JG, Zheng DH. Expression of cyclin D1 and vascular endothelial growth factor (VEGF) in non-small cell lung carcinoma and their association with the prognosis. *Ai Zheng* 2003;22:86-90
- Hu JZ, Feng DY, Cheng RX. Expressions of p-MAPK, cyclin D1, p53 protein and their relationship in osteosarcoma. *Hunan Yike Daxue Xuebao* 2001;26:325-327
- Kolligs FT, Bommer G, Goke B. Wnt/beta-catenin/tcf signaling: a critical pathway in gastrointestinal tumorigenesis. *Digestion* 2002;66:131-144
- Gotoh J, Obata M, Yoshie M, Kasai S, Ogawa K. Cyclin D1 over-expression correlates with beta-catenin activation, but not with H-ras mutations, and phosphorylation of Akt, GSK3 beta and ERK1/2 in mouse hepatic carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2003;24:435-442
- Ryo A, Liou YC, Lu KP, Wulf G. Prolyl isomerase Pin1: a catalyst for oncogenesis and a potential therapeutic target in cancer. *J Cell Sci* 2003;116:773-783
- Sutherland RL, Musgrove EA. Cyclin D1 and mammary carcinoma: new insights from transgenic mouse models. *Breast Cancer Res* 2002;4:14-17
- Coleman ML, Marshall CJ, Olson MF. Ras promotes p21(Waf1/Cip1) protein stability via a cyclin D1-imposed block in proteasome-mediated degradation. *EMBO J* 2003;22:2036-2046
- Sa G, Hitomi M, Harwalkar J, Stacey AW, GC GC, Stacey DW. Ras is active throughout the cell cycle, but is able to induce cyclin D1 only during G2 phase. *Cell Cycle* 2002;1:50-58
- Wong NA, Morris RG, McCondochie A, Bader S, Jodrell DI, Harrison DJ. Cyclin D1 overexpression in colorectal carcinoma in vivo is dependent on beta-catenin protein dysregulation, but not k-ras mutation. *J Pathol* 2002;197:128-135
- Sauter ER, Takemoto R, Litwin S, Herlyn M. p53 alone or in combination with antisense cyclin D1 induces apoptosis and reduces tumor size in human melanoma. *Cancer Gene Ther* 2002;9:807-812
- Joo M, Lee HK, Kang YK. Expression of beta-catenin in hepatocellular carcinoma in relation to tumor cell proliferation and cyclin d1 expression. *J Korean Med Sci* 2003;18:211-217
- Ma L, Yin H, Yang W, Yang G, Lu Q, Liu X. Differential expression of cyclins D1, E and A in human breast diseases. *Huaxi Yike Daxue Xuebao* 2001;32:497-500
- Ghaneh P, Kawesha A, Evans JD, Neoptolemos JP. Molecular prognostic markers in pancreatic cancer. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2002;9:1-11
- Tang ZH, Qiu WH, Wu GS, Yang XP, Zou SQ, Qiu FZ. The immunotherapeutic effect of dendritic cells vaccine modified with interleukin-18 gene and tumor cell lysate on mice with pancreatic carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002;8:908-912
- Qin LX, Tang ZY. The prognostic molecular markers in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002;8:385-392