

# 胆管细胞癌 CD133 表达的临床病理意义

李晓瑛 吕亚莉 刘琳 赵坡

**【摘要】 目的** 探讨胆管细胞癌中潜在的肿瘤干样细胞标记 CD133 的表达状况及其与临床病理的关系。**方法** 采用兔抗人 CD133 抗体和非生物素二步法免疫组织化学技术检测 53 例胆管细胞癌、30 例癌旁组织和 20 例正常胆管组织标本中 CD133 的表达状况并分析其与患者年龄、性别、肿瘤部位、组织学分级以及临床分期的关系。**结果** 胆管细胞癌的 CD133 表达较癌旁组织和正常胆管组织明显升高( $P < 0.001$ )。CD133 表达与年龄、性别及肿瘤部位无关( $P$  值分别为 0.779、0.256 和 0.409),但与癌组织学分级( $P = 0.014$ )及临床分期( $P = 0.028$ )呈正相关。Kaplan-Meier 生存分析提示 CD133 表达与胆管细胞癌的预后相关( $P = 0.004$ )。**结论** CD133 表达可能对胆管细胞癌的发生、演化和进展具有一定的作用,并可能成为辅助胆管细胞癌诊断及预后评价的一个新标记物。

**【关键词】** 胆管肿瘤; 病理学; 免疫组织化学

**Clinicopathological significance of expression of CD133 in cholangiocellular carcinoma** Li Xiao-ying, LV Ya-li, LIU Lin, ZHAO Po. Department of Rehabilitation, South Building Section and Department of Pathology, Chinese People's Liberation Army General Hospital, Beijing 100853, China  
Corresponding author: ZHAO Po, Email: zhaopo@301hospital.com.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate the expression of CD133 protein, and the possible relationship between CD133 expression and clinicopathological indices in cholangiocellular carcinoma. **Methods** Detecting CD133 protein expression in formalin-fixed, paraffin-embedded 53 cholangiocellular carcinomas, 30 adjacent non-neoplastic tissues and 20 normal bile ducts and analysing their relationships to patient's age, sex, site, histological grade, and clinical stage were carried out by two-step non-biotin immunohistochemical method. **Results** CD133 expression in cholangiocellular carcinoma was significantly higher than that in adjacent non-neoplastic or normal bile duct tissues ( $P < 0.001$ ). Carcinomas with positive expression of CD133 were significantly corresponding to the histological grade ( $P = 0.014$ ) and clinical stage ( $P = 0.028$ ), but not to the age ( $P = 0.779$ ), sex ( $P = 0.256$ ) and site ( $P = 0.409$ ), respectively. By Kaplan-Meier survival analysis, the expression of CD133 was significantly correlative with the median survival time ( $P = 0.004$ ). **Conclusions** The expression of CD133 may be associated with the carcinogenesis of cholangial epithelia, and the differentiation, development and the prognosis of the cholangiocarcinoma, thus may become a new adjunct diagnostic and prognostic markers in cholangiocellular carcinoma.

**【Key words】** Bile duct neoplasms; Pathology; Immunohistochemistry

胆管细胞癌是预后最为凶险的恶性肿瘤之一,近年来由于诊断水平的提高其发现率逐年上升。CD133 为一种潜在的癌干样细胞标记<sup>[1]</sup>,其表达已见于多种癌<sup>[2-5]</sup>。对于胆管癌 CD133 表达的研究报道较少<sup>[6]</sup>。本文调查 53 例胆管细胞癌中 CD133 的表达状况,以及 CD133 表达与临床病理的关系。

## 材料与方 法

1. 标本来源:53 例胆管细胞癌随机取自解放军总医院 1998 年 7 月至 2006 年 12 月外科手术切除,10% 甲醛固定、石蜡包埋标本,经病理诊断证实的标本。其中男 33 例,女 20 例;年龄 33~73 岁,平均年龄 56.3 岁,中位年龄 58.0 岁;其中  $\geq 60$  岁者 21 例, <60 岁者为 32 例;肿瘤发生部位位于肝内者 12 例,肝门部 27 例,肝外者为 14 例;按 2000 年 WHO 消化系统肿瘤病理组织学分类标准,其中胆管癌组织学分级 I 级(高分化癌)16 例,II 级(中分化癌)

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2012.01.078

作者单位:100853 北京,解放军总医院南楼临床部康复医学科(李晓瑛),医技部病理科(吕亚莉、刘琳、赵坡)

通讯作者:赵坡,Email:zhaopo@301hospital.com.cn

15例,Ⅲ级(低分化癌)22例;按2002年AJCC胆管癌TNM分期,其中I期13例,Ⅱ期14例,Ⅲ期18例,Ⅳ期8例。全部病例均获随访。同时分别取20例手术远端正常胆管组织以及30例癌旁胆管组织作为对照。

2. 免疫组织化学:切片脱蜡至水,采用枸橼酸缓冲液浸泡切片,高压锅上压后维持2 min以热修复抗原,3%过氧化氢封闭内源性过氧化物酶10 min,采用兔抗人CD133抗体(Abcam Inc., Cambridge, MA, USA),37℃孵育1 h,免疫组织化学染色按非生物素二步法试剂盒(美国Zymed公司产品)及方法进行。分别以已知阳性的乳腺癌作为CD133阳性对照;PBS和正常兔血清代替一抗作为阴性对照。

3. 结果判定标准:参照文献标准<sup>[7]</sup>,染色评分为:0分,所有细胞染色阴性;1分,弱阳性或局灶阳性<10%的细胞;2分,中度阳性染色覆盖10%~50%的细胞;3分,强阳性染色≥50%的细胞。判定结果分为两组:2~3分为阳性组;0~1分为阴性组。

4. 统计学分析:应用SPSS 10.0软件中Fisher确切概率法、Pearson  $\chi^2$  检验判断CD133蛋白表达与各临床指标的相互关系,随访材料用Kaplan-Meier法Log-rank检验作单因素生存分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

1. CD133表达状况:CD133主要表达于癌细胞的胞膜及胞质。分化好的癌组织CD133主要表达于腺管腔缘,而分化差的癌组织CD133表达则多弥漫强阳性表达(图1A,1B)。30例癌旁非癌胆管组织和20例正常胆管组织的CD133表达均为阴性;53例胆管癌组织中,CD133表达阳性者28(52.8%)例,阴性25例,组间比较差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。

2. CD133蛋白表达与临床病理特征的关系:本组53例胆管细胞癌中,CD133表达与患者年龄、性别以及发生部位无关( $P$ 值分别为0.779,0.256和0.409)。CD133蛋白阳性表达癌在癌组织学分级中的分布为I级癌25.0%(4/16),Ⅱ级癌53.3%(8/15),Ⅲ级癌72.7%(16/22),各级癌组间比较,差异有统计学意义( $P = 0.014$ )。CD133蛋白阳性表达癌在临床分期中的分布为I~Ⅱ期癌37.0%(10/27),Ⅲ~Ⅳ期癌69.2%(18/26),两组比较差

异有统计学意义( $P = 0.028$ )(表1)。

表1 胆管癌CD133表达与临床病理指标的关系[例,(%)]

临床病理指标	例数	CD133 +	CD133 -	$P$ 值
年龄				
≥60岁	21	12(57.1)	9(42.9)	0.779
<60岁	32	16(50.0)	16(50.0)	
性别				
男	33	15(45.5)	18(54.5)	0.256
女	20	13(65.0)	7(35.0)	
肿瘤位置				
肝内	12	8(66.7)	4(33.3)	0.409
肝门	27	12(44.4)	15(55.6)	
肝外	14	8(57.1)	6(42.9)	
病理分级				
I	16	4(25.0)	12(75.0)	0.014
II	15	8(53.3)	7(46.7)	
III	22	16(72.7)	6(27.3)	
临床分期				
I	13	4(30.8)	9(69.2)	0.028 <sup>a</sup>
II	14	6(42.9)	8(57.1)	
III	18	12(66.7)	6(33.3)	
IV	8	6(75.0)	2(25.0)	

注:<sup>a</sup> I~Ⅱ vs. Ⅲ~Ⅳ

3. CD133蛋白表达与预后的关系:本组53例胆管细胞癌中,CD133阴性癌患者的中位生存时间为28个月,CD133阳性癌的患者中位生存时间为16个月,两者比较差异有统计学意义(Log-rank = 8.175,  $P = 0.004$ ),见图2。

## 讨 论

肿瘤干细胞又称癌干细胞,是指癌组织中一些较少的具有无限自我更新潜能并促使肿瘤形成的细胞,而CD133是目前用于各种常见恶性肿瘤如乳腺癌<sup>[2,7]</sup>、结直肠癌<sup>[3,4,8]</sup>、脑恶性胶质瘤<sup>[5]</sup>、肺癌<sup>[9]</sup>、肝癌、胃癌<sup>[10]</sup>以及胰腺癌<sup>[11-12]</sup>等肿瘤干细胞或干样细胞研究的热点标记物之一。已有研究报道发现CD133表达与肿瘤的恶性生物学行为及预后相关<sup>[4,7-8,11-12]</sup>并且CD133可能成为分子靶向治疗的新靶标<sup>[10]</sup>。国外Shimada等<sup>[6]</sup>发现48.3%(14/29)原发性肝内胆管细胞癌的CD133表达阳性,正常胆管细胞表达阴性,但未作肝门部以及肝外胆管癌的检测。我们的研究与该作者的结果比较,肝内胆管

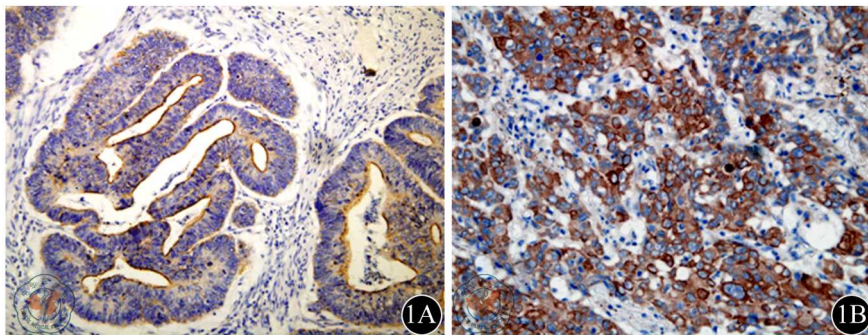


图1 胆管细胞癌CD133蛋白表达(免疫组织化学 ×200)。1A: 高分化胆管细胞癌肿瘤细胞CD133蛋白主要表达于癌腺管的腔缘; 1B: 低分化胆管癌肿瘤细胞CD133蛋白弥漫表达于癌细胞胞膜和胞质

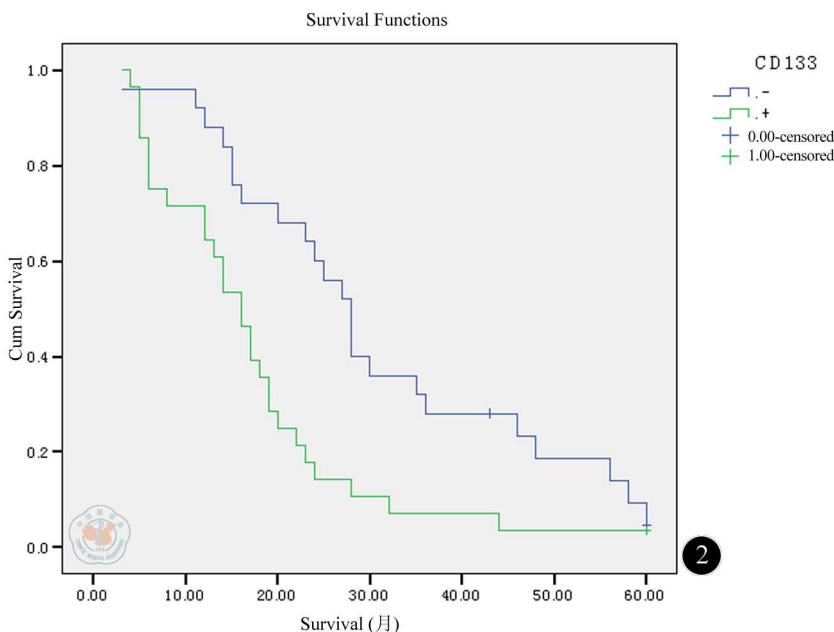


图2 胆管细胞癌CD133表达的生存函数曲线。绿线代表CD133阳性, 蓝线代表阴性

细胞癌者 CD133 表达阳性为 66.7% (8/12), 与 Shimada 等<sup>[6]</sup>的发现一致但阳性率偏高; 而我们报道肝门部胆管细胞癌的 CD133 表达阳性为 44.4% (12/27)、肝外胆管癌 CD133 阳性率为 57.1% (8/14); 肝内、肝外以及肝门部胆管癌的 CD133 总阳性率为 52.8% (28/53), 与 Shimada 等<sup>[6]</sup>在肝内胆管细胞癌的发现一致。我们的研究中胆管细胞癌组织 CD133 的表达率随组织学分级升高即癌细胞分化降低而表现逐渐升高的趋势, 提示 CD133 表达与癌组织分化程度差具有一定的相关关系 ( $P = 0.014$ )。我们的研究结果还显示 CD133 表达阳性多见于临床 III ~ IV 期癌 (69.2%),  $P = 0.028$ , 提示 CD133 可能为一重要的肿瘤基因蛋白, 在胆管细胞癌的发生和

演化中起着重要的作用。本文在病理分级、临床分期的结果与国外 Shimada 等<sup>[6]</sup>的研究不一致, 但与国外在结直肠癌和胰腺癌的结果相似<sup>[4,8,11-12]</sup>, 可能与 Shimada 等研究病例数较少 (仅 29 例) 有关。我们的随访预后分析结果还显示 CD133 阳性病例的中位生存期 (16 个月) 明显少于 CD133 阴性病例 (28 个月), 提示 CD133 表达与胆管细胞癌的预后相关 ( $P = 0.004$ ), 也与 Shimada 等<sup>[6]</sup>的结论相同, 进一步证实了该作者的发现。CD133 的表达用免疫组织化学方法易于检测, 因此可能成为新的辅助分子指标用于临床监测患者, 但其预后价值仍有待于结合更大样本的随访情况进一步确定。

## 参 考 文 献

- [1] Miraglia S, Godfrey W, Yin AH, et al. A novel five-transmembrane hematopoietic stem cell antigen; isolation, characterization, and molecular cloning. *Blood*, 1997, 90:5013-5021.
- [2] Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100:3983-3988.
- [3] Ricci-Vitiani L, Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, et al. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature*, 2007, 445:111-115.
- [4] Choi D, Lee HW, Hur KY, et al. Cancer stem cell markers CD133 and CD24 correlate with invasiveness and differentiation in colorectal adenocarcinoma. *World J Gastroenterol*, 2009, 15:2258-2264.
- [5] Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, et al. Identification of human brain tumour in initiating cells. *Nature*, 2004, 432:396-401.
- [6] Shimada M, Sugimoto K, Iwahashi S, et al. CD133 expression is a potential prognostic indicator in intrahepatic cholangiocarcinoma. *J Gastroenterol*, 2010, 45:896-902.
- [7] Liu Q, Li J, Zheng X, et al. Expression of CD133, PAX2, ESA, and GPR30 in invasive ductal breast carcinomas. *Chin Med J*, 2009, 122:2763-2769.
- [8] Horst D, Kriegl L, Engel J, et al. CD133 expression is an independent prognostic marker for low survival in colorectal cancer. *Br J Cancer*, 2008, 99:1285-1289.
- [9] Moreira AL, Gonen M, Rekhtman N, et al. Progenitor stem cell marker expression by pulmonary carcinomas. *Mod Pathol*, 2010, 23:889-895.
- [10] Smith LM, Nesterova A, Ryan MC, et al. CD133/prominin-1 is a potential therapeutic target for antibody-drug conjugates in hepatocellular and gastric cancers. *Br J Cancer*, 2008, 99:100-109.
- [11] Maeda S, Shinci H, Kurahara H, et al. CD133 expression is correlated with lymph node metastasis and vascular endothelial growth factor-C expression in pancreatic cancer. *Br J Cancer*, 2008, 98:1389-1397.
- [12] Hermann PC, Huber SL, Herrler T, et al. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer. *Cell Stem Cell*, 2007, 1:313-323.

(收稿日期:2011-04-25)

(本文编辑:戚红丹)

李晓瑛,吕亚莉,刘琳,等.胆管细胞癌 CD133 表达的临床病理意义[J/CD].中华临床医师杂志:电子版,2012,6(1):90-93.

中华医学会