



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.08.007  
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2019.08.007  
Chinese Journal of General Surgery, 2019, 28(8):952-959.

· 基础研究 ·

## RCAS1/EBAG9 与 P53 蛋白在肝内胆管癌中的表达及临床意义

王逸君<sup>1</sup>, 徐自强<sup>1</sup>, 王志明<sup>2</sup>, 乐冬友<sup>1</sup>, 袁伟杰<sup>2</sup>, 许可<sup>3</sup>

(郴州市第一人民医院 1. 急诊科 3. 重症医学科, 湖南郴州 423000; 2. 中南大学湘雅医院 普通外科, 湖南长沙 410008)

### 摘要

**目的:** 探讨 RCAS1/EBAG9 与 P53 蛋白在肝内胆管癌 (ICC) 组织中的表达及临床意义。

**方法:** 用免疫组化法检测 41 例 ICC 组织及 9 例正常胆管组织中 RCAS1/EBAG9 和 P53 蛋白的表达, 分析 RCAS1/EBAG9 与 P53 蛋白的表达与 ICC 患者的临床病理因素和预后的关系。

**结果:** RCAS1/EBAG9 与 P53 蛋白在 ICC 组织中阳性率均明显高于与正常胆管组织 (均  $P < 0.05$ ); RCAS1/EBAG9 蛋白表达与肿瘤大小、病理分级、TNM 分期以及淋巴结转移有关 (均  $P < 0.05$ ), 而 P53 蛋白表达与肿瘤大小、病理分级以及 TNM 分期有关 (均  $P < 0.05$ )。ICC 中 RCAS1/EBAG9 与 P53 蛋白表达正相关 ( $r = 0.329, P = 0.018$ )。RCAS1/EBAG9 与 P53 蛋白阴性表达患者术后总生存期明显长于 RCAS1/EBAG9 与 P53 蛋白阳性表达患者 ( $\chi^2 = 3.862, P = 0.049$ ;  $\chi^2 = 4.977, P = 0.026$ )。单因素与多因素 Cox 回归分析表明, RCAS1/EBAG9 蛋白表达是 ICC 患者预后的独立危险因素 ( $HR = 3.657, 95\% CI = 1.111 \sim 12.040, P = 0.033$ )。

**结论:** RCAS1/EBAG9 与 P53 蛋白在 ICC 组织中表达增加, 并且与 ICC 患者不良临床病理特征及预后密切相关, 其中 RCAS1/EBAG9 可能起了关键作用。

### 关键词

胆管肿瘤; 胆管, 肝内; 抗原, 肿瘤; 免疫组织化学; 预后

中图分类号: R735.8

## RCAS1/EBAG9 and P53 protein expressions in intrahepatic cholangiocarcinoma and the clinical significance

WANG Yijun<sup>1</sup>, XU Ziqiang<sup>1</sup>, WANG Zhiming<sup>2</sup>, YUE Dongyou<sup>1</sup>, YUAN Weijie<sup>2</sup>, XU Ke<sup>3</sup>

(1. Department of Emergency Medicine 3. Department of Critical Care Medicine, Chenzhou First People's Hospital, Chenzhou, Hunan 423000, China; 2. Department of General Surgery, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

### Abstract

**Objective:** To investigate the protein expressions of RCAS1/EBAG9 and P53 in intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC) tissue and their clinical significance.

**Methods:** The protein expressions of RCAS1/EBAG9 and P53 in 41 specimens of ICC tissue and 9 specimens of normal bile duct tissue were detected by immunohistochemical staining. The relations of RCAS1/EBAG9 and P53 protein expressions with the clinicopathologic characteristics and prognosis of the patients were analyzed.

**基金项目:** 湖南省自然科学基金资助项目 (2018JJ6065)。

**收稿日期:** 2019-03-04; **修订日期:** 2019-07-14。

**作者简介:** 王逸君, 郴州市第一人民医院副主任医师, 主要从事普通外科及急诊医学方面的研究。

**通信作者:** 王志明, Email: zhimingwang@cus.edu.cn

**Results:** The positive expression rates of both RCAS1/EBAG9 and P53 proteins in ICC tissue were significantly higher than those in normal bile duct tissue (both  $P < 0.05$ ). The RCAS1/EBAG9 protein expression was significantly related to tumor size, pathological grade, TNM stage and lymph node metastasis, while P53 protein expression was significantly associated with tumor size, pathological grade, and TNM stage (all  $P < 0.05$ ). There was a positive correlation between RCAS1/EBAG9 and P53 protein expression in ICC tissue ( $r = 0.329$ ,  $P = 0.018$ ). The overall postoperative survival time in patients with negative RCAS1/EBAG9 or P53 protein expression was significantly longer than that in patients with positive RCAS1/EBAG9 or P53 protein expression ( $\chi^2 = 3.862$ ,  $P = 0.049$ ;  $\chi^2 = 4.977$ ,  $P = 0.026$ ). Results of univariate and multivariate Cox regression analysis showed that RCAS1/EBAG9 protein expression was an independent risk factor for the prognosis of ICC patients ( $HR = 3.657$ , 95%  $CI = 1.111-12.040$ ,  $P = 0.033$ ).

**Conclusion:** The RCAS1/EBAG9 and P53 protein expressions are increased in ICC tissue, and are closely associated with unfavorable clinicopathologic features and outcomes of the ICC patients, in which, the RCAS1/EBAG9 may probably play a causal role.

### Key words

Bile Duct Neoplasms; Bile Ducts, Intrahepatic; Antigens, Neoplasm; Prognosis

**CLC number:** R735.8

肝内胆管癌 (intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC) 起源于次级胆管以及分支上皮细胞的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>, 可沿着胆管周围或纵行浸润生长, 转移及侵袭能力极强<sup>[2]</sup>, 严重危害着人们的身体健康<sup>[3]</sup>。目前根治手术仍然是治疗 ICC 的最佳治疗方案<sup>[4]</sup>, 但大多数患者确诊时为时已晚, 无法手术治疗<sup>[5-7]</sup>。近年发现了一种新的癌抗原 RCAS1, 即表达于人子宫腺癌细胞株 (SiSo) 上的与受体相关肿瘤抗原, 后来被证实与雌激素受体结合片段相关基因 9 (estrogen receptor-binding fragment-associated gene 9, EBAG9) 为同种蛋白<sup>[8-9]</sup>, RCAS1/EBAG9 高表达的患者往往预后不良, 而人类恶性肿瘤中多数存在 P53 突变, 但在 ICC 中 RCAS1/EBAG9 与 P53 蛋白的研究很少。本研究旨在探讨 RCAS1/EBAG9 与 P53 蛋白在 ICC 中的表达及临床意义, 试图为早期临床诊治 ICC 提供新的靶点, 从而为 ICC 的诊治提供一种新的思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 标本来源及分组** ICC 组织 41 例: 男 23 例, 女 18 例; 年龄 34~74 岁, 平均 (55.35 ± 13.02) 岁, 术前均未行放疗、化疗及免疫治疗。标本收集于 2008 年 7 月—2013 年 10 月湘雅医院经过外科手术患者, 按 WHO 病理分级标准分: 低分化癌 25 例, 中高分化癌 16 例; 按临床病理分型: 肿块型 26 例,

管周浸润型 6 例, 混合型 9 例; 按组织学分型分: 腺癌 27 例, 乳头状腺癌 8 例, 其他类型癌 6 例; 按淋巴结转移分: 转移 28 例, 无转移 13 例; 按肝外侵犯分: 侵犯 5 例, 无侵犯 36 例; 按 TNM 分期: I~II 期 10 例, III~IV 期 31 例; 按病灶个数: 单个 34 例, 多个 7 例; 按最大直径分: >5 cm 24 例, <5 cm 17 例; 按术前血清 CEA 水平: 正常 26 例, 升高 15 例; 按术前血清 CA19-9 水平分: 正常 22 例, 升高 19 例; 按术前血清 AFP 水平分: 正常 35 例, 升高 6 例。正常胆管组 9 例, 标本均取自胆管结石患者行 Roux-en-Y 胆肠吻合的正常胆管组织, 男 4 例, 女 5 例; 年龄 32~71 岁, 平均 (51.61 ± 7.17) 岁。上述组织放入 10% 福尔马林中固定, 并包埋在石蜡块中, 以备免疫组化用, 蜡块作 3~4 μm 的切片 3 张, 其中 1 张行 HE 常规染色, 另 2 张分别行 RCAS1/EBAG9、P53 免疫组化检测, 且 HE 常规染色均由湘雅医院病理科高年资医生病理检查证实。

### 1.1.2 抗体

RCAS1/EBAG9 抗体 (鼠抗人单克隆抗体 22-1-1) 购自美国 Proteintech 公司, 适用的稀释浓度为 1:75。小鼠抗人 P53 单克隆抗体 (DO-7), 购自北京中杉金桥公司, 适用的稀释浓度分别为 1:50。免疫组化试剂盒购自上海晶美生物技术有限公司。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 免疫组织化学步骤** 采用 SP 法检测 RCAS1/EBAG9 与 P53 的表达。检测方法按试剂盒说明书进行, 用已知阳性的正常前列腺组织切片作

为 RCAS1/EBAG9 的阳性对照。以磷酸盐缓冲液代替一抗作为阴性对照。

**1.2.2 结果判断** 每张切片随机连续观察 5 个高倍视野，每处视野计数 100 个细胞。结果判定标准：RCAS1/EBAG9 免疫组化染色以细胞浆或 / 和细胞核中出现棕黄色颗粒为阳性，采用半定量积分法统计检测结果。具体评分标准<sup>[10]</sup>：(1) 着色强度：无着色为 0 分、淡黄色为 1 分、黄色为 2 分、深棕黄色为 3 分；(2) 阳性细胞数：无阳性细胞为 0 分、<25% 为 1 分、25%~50% 为 2 分、>50% 为 3 分。(1)(2)项相加，0~2 分为阴性(-)、3~4 分为阳性(+)、5~6 分为强阳性(++)。P53 免疫组化染色以细胞核中出现棕黄色物质为阳性表达(+)，无棕黄色物质为阴性表达(-)。

### 1.3 随访资料

通过门诊复查以及电话联系进行随访。生存时间以月计算，自手术当天起开始计算生存时间。如果死亡原因为 ICC 复发导致患者死亡，则以死亡日期为截止日期，若在最后截止日期患者仍然生存则以最后 1 次随访日期为截止日期，另外，将死于 ICC 以外原因归为失访，本研究最后随访截止日期 2018 年 10 月 31 日。

### 1.4 统计学处理

采用 SPSS 20.0 对实验数据进行统计分析。采用四格表资料的  $\chi^2$  检验或 Fisher 确切概率法，Wilcoxon 秩和检验，双变量 Spearman's 相关分析，Kaplan-Meier 法绘制生存曲线及 Log-rank 检验术后生存率分析，采用 Cox 回归模型进行单因素及多因素生存分析。检验结果取双侧，检验水准  $\alpha=0.05$ ， $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 RCAS1/EBAG9 蛋白与 P53 蛋白在 ICC 组织中的表达

在 41 例 ICC 组织中 RCAS1/EBAG9 蛋白阳性率为 78.0%，9 例正常胆管组织 RCAS1/EBAG9 蛋白无表达，ICC 组织 RCAS1/EBAG9 蛋白阳性率明显高于正常胆管组，差异有统计学意义 ( $\chi^2=46.61$ ,  $P=0.000$ )；在 41 例 ICC 组织 P53 蛋白阳性率为 43.9%，9 例正常胆管组织 P53 蛋白无阳性表达，ICC 组织 P53 蛋白阳性率明显高于正常胆管组，差异有统计学意义 ( $\chi^2=23.06$ ,  $P=0.000$ ) (图 1) (表 1)。

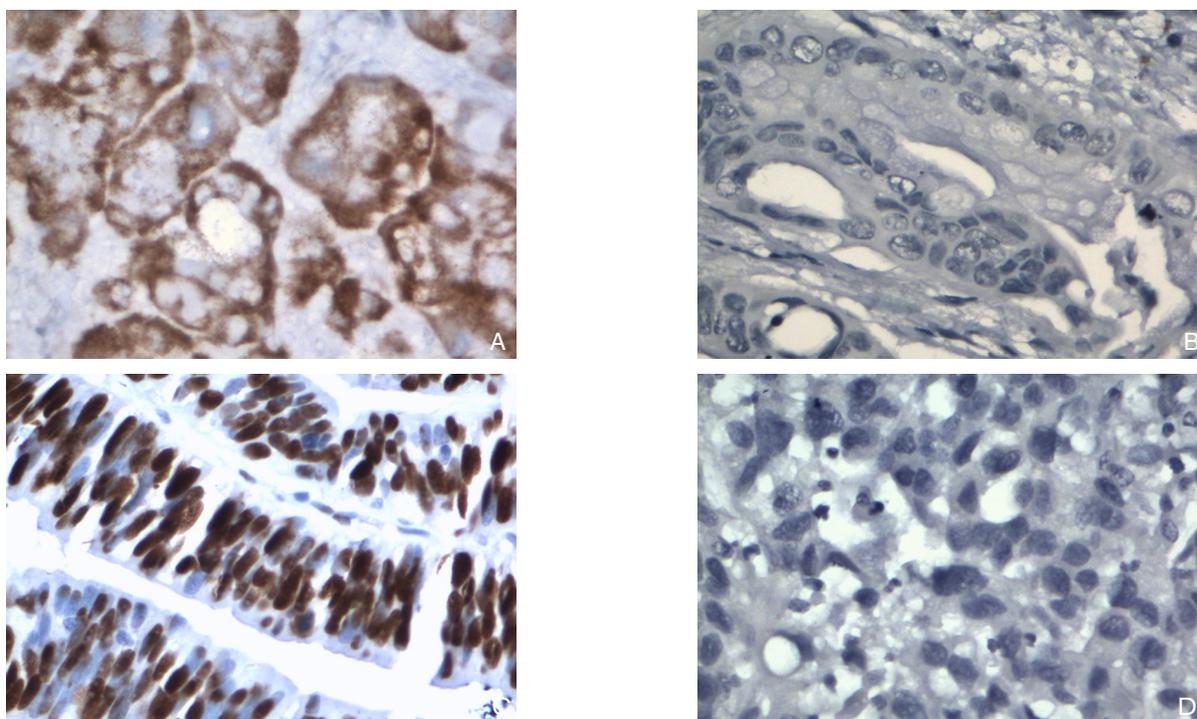


图 1 免疫组化检测 RCAS1/EBAG9 与 P53 蛋白表达 (SP×400) A: ICC 组织 RCAS1/EBAG9 阳性表达; B: ICC 组织 RCAS1/EBAG9 阴性表达; C: ICC 组织 P53 阳性表达; D: ICC 组织 P53 阴性表达

**Figure 1** Immunohistochemical staining for expressions of RCAS1/EBAG9 and P53 A: Positive expression of RCAS1/EBAG9 in ICC tissue; B: Negative expression of RCAS1/EBAG9 in ICC tissue; C: Positive expression of P53 in ICC tissue; D: Negative expression of P53 in ICC tissue

表1 RCAS1/EBAG9蛋白与P53蛋白在ICC组织和正常胆管中的阳性表达率比较[n(%)]

组织	RCAS1/EBAG9			P53	
	(-)	(+)	(++)	(-)	(+)
ICC (n=41)	9 (22.0)	9 (22.0)	23 (56.0)	23 (56.1)	18 (43.0)
正常胆管 (n=9)	9 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	9 (100.0)	0 (0.0)
$\chi^2$		33.33			7.80
P		0.000			0.005

## 2.2 RCAS1/EBAG9与P53蛋白表达与ICC临床病理特征的关系

RCAS1/EBAG9蛋白表达与ICC肿瘤直径( $\chi^2=4.495$ ,  $P=0.034$ )、病理分级( $\chi^2=5.341$ ,  $P=0.021$ )、TNM分期( $\chi^2=4.101$ ,  $P=0.043$ )以及淋巴结转移( $\chi^2=4.604$ ,  $P=0.032$ )有关,与年龄、性别、部位、病理分型、组织学分型、病灶个

数、肝外侵犯肝外以及术前血清CEA、CA19-9与AFP水平无关(均 $P>0.05$ );P53蛋白表达与ICC肿瘤直径( $\chi^2=4.894$ ,  $P=0.027$ )、病理分级( $\chi^2=6.740$ ,  $P=0.009$ )以及TNM分期( $\chi^2=4.486$ ,  $P=0.034$ )有关,与年龄、性别、部位、病理分型、组织学分型、TNM病灶个数、肝外侵犯以及术前血清CEA、CA19-9与AFP水平无关(均 $P>0.05$ )(表2)。

表2 RCAS1/EBAG9与P53表达与ICC患者临床资料的关系[n(%)]

Table 2 Relations of RCAS1/EBAG9 and P53 expressions with clinicopathologic features of ICC patients [n(%)]

资料	n	RCAS1/EBAG9		$\chi^2$	P	P53蛋白		$\chi^2$	P
		阴性	阳性			阴性	阳性		
年龄(岁)									
<60	19	5 (35.7)	14 (64.3)	0.062	0.803	9 (47.4)	10 (52.6)	1.096	0.295
≥60	22	4 (18.2)	18 (81.8)			14 (63.6)	8 (36.4)		
性别									
男	23	4 (17.4)	19 (82.6)	0.174	0.677	15 (65.2)	8 (34.8)	1.769	0.183
女	18	5 (27.8)	13 (72.2)			8 (44.4)	10 (55.6)		
位置									
肝左叶	17	3 (17.6)	14 (82.4)	0.407	0.816	10 (58.8)	7 (41.1)	0.598	0.742
肝右叶	19	5 (26.3)	14 (73.7)			11 (58.9)	8 (42.1)		
其他	5	1 (20.0)	4 (80.0)			2 (40.0)	3 (60.0)		
病理分型									
肿块型	26	4 (15.4)	22 (84.6)	1.736	0.420	17 (65.4)	9 (34.6)	2.682	0.262
管周浸润型	6	2 (33.3)	4 (66.7)			2 (33.3)	4 (66.7)		
混合型	9	3 (33.3)	6 (66.7)			4 (44.4)	5 (55.6)		
组织学分型									
腺癌	27	6 (22.2)	21 (77.8)	0.314	0.855	15 (53.6)	13 (46.4)	0.238	0.888
乳头状腺癌	8	2 (25.0)	6 (75.0)			5 (62.5)	3 (37.5)		
其他	6	2 (33.3)	4 (66.7)			3 (60.0)	2 (40.0)		
病理分级									
低分化癌	25	2 (8.0)	23 (92.0)	5.341	0.021	10 (40.0)	15 (60.0)	6.740	0.009
中高分化癌	16	7 (43.8)	9 (56.2)			13 (81.2)	3 (18.8)		
淋巴结转移									
无	13	6 (46.2)	7 (53.8)	4.604	0.032	5 (38.5)	8 (61.5)	2.404	0.121
有	28	3 (10.7)	25 (89.3)			18 (64.3)	10 (35.7)		
肝外侵犯									
无	36	7 (22.2)	29 (77.8)	0.097	0.755	22 (58.3)	14 (41.7)	1.575	0.210
有	5	2 (40.0)	3 (60.0)			1 (20.0)	4 (80.0)		
TNM分期									
I-II	10	5 (50.0)	5 (50.0)	4.101	0.043	9 (90.0)	1 (10.0)	4.486	0.034
III-IV	31	4 (12.9)	27 (87.1)			14 (45.2)	17 (54.8)		
病灶个数									
单个	34	6 (17.6)	28 (82.4)	0.933	0.334	21 (61.8)	13 (38.2)	1.424	0.233
多个	7	3 (42.9)	4 (57.1)			2 (28.6)	5 (71.4)		

表 2 RCAS1/EBAG9 与 P53 表达与 ICC 患者临床资料的关系 [n (%)] (续)

Table 2 Relations of RCAS1/EBAG9 and P53 expressions with clinicopathologic features of ICC patients [n (%)] (continued)

资料	n	RCAS1/EBAG9		$\chi^2$	P	P53 蛋白		$\chi^2$	P
		阴性	阳性			阴性	阳性		
最大直径 (cm)									
> 5	24	2 (8.3)	22 (91.7)	4.495	0.034	10 (41.7)	14 (58.3)	4.894	0.027
≤ 5	17	7 (41.2)	10 (58.8)			13 (76.5)	4 (23.5)		
术前 AFP									
正常	35	7 (20.0)	28 (80.0)	0.038	0.845	22 (62.9)	13 (37.1)	2.760	0.097
升高	6	2 (33.3)	4 (66.7)			1 (16.7)	5 (83.3)		
术前 CA19-9									
升高	19	3 (15.8)	16 (84.2)	0.258	0.612	9 (47.4)	10 (52.6)	1.096	0.295
正常	22	6 (27.3)	16 (72.7)			14 (63.6)	8 (36.4)		
术前 CEA									
升高	15	4 (26.7)	11 (73.3)	0.026	0.871	10 (66.7)	5 (33.3)	1.073	0.300
正常	26	5 (19.2)	21 (80.8)			13 (50.0)	13 (50.0)		

### 2.3 ICC 组织中 RCAS1/EBAG9 与 P53 蛋白表达的相关性

双变量 Spearman's 秩相关分析结果显示, RCAS1/EBAG9 与 P53 蛋白表达正相关 ( $r=0.329$ ,  $P=0.018$ ) (表 3)。

表 3 ICC 组织中 RCAS1/EBAG9 与 P53 蛋白表达之间的关系

Table 3 The relationship between RCAS1/EBAG9 and P53 protein expressions in ICC tissue

RCAS1/EBAG9	P53		合计
	阳性	阴性	
(-)	3	6	9
(+)	1	8	9
(++)	14	9	23
合计	18	23	41

### 2.4 RCAS1/EBAG9 及 P53 蛋白表达与 ICC 术后生存时间的关系

41 例患者中位总生存时间为 29.7 个月。

RCAS1/EBAG9 阳性与阴性表达的患者中位总生存时间分别为 23.6、43.8 个月, P53 阳性与阴性表达的患者中位总生存时间分别为 19.2、34.4 个月。采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线及生存曲线 Log-rank 检验结果显示, RCAS1/EBAG9 阳性与阴性表达的患者术后总生存时间之间的差别有统计学意义 ( $\chi^2=3.862$ ,  $P=0.049$ ), RCAS1/EBAG9 阴性表达患者术后生存期延长, 同样, P53 阴性表达患者术后生存期延长 ( $\chi^2=4.977$ ,  $P=0.026$ ) (图 2)。

采用单因素 Cox 回归分析表明, 病理分级、TNM 分期、淋巴结转移、侵犯肝外组织以及 RCAS1/EBAG9 与 P53 蛋白表达均可预测 ICC 患者预后 (均  $P<0.05$ ) (表 4); 采用多因素 Cox 回归分析表明, 病理分级、淋巴结转移、侵犯肝外组织以及 RCAS1/EBAG9 蛋白表达是 ICC 患者预后的独立影响因素 (均  $P<0.05$ ) (表 5)。

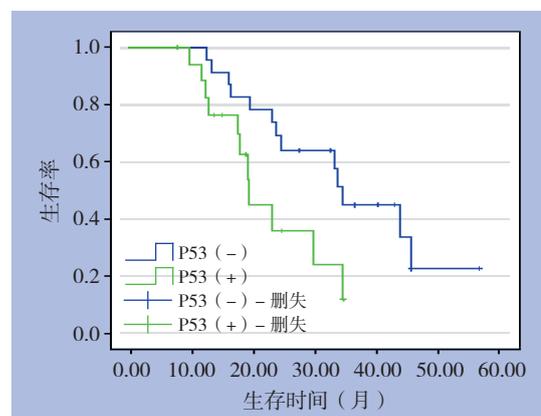
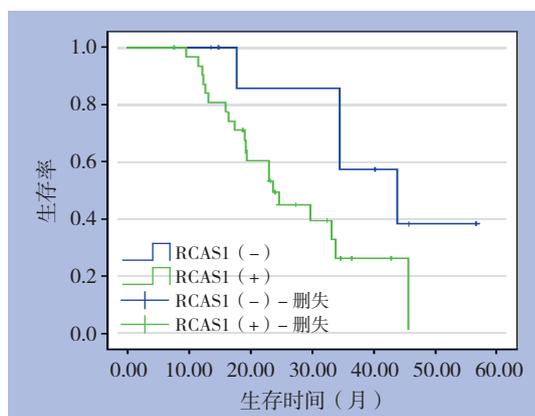


图 2 ICC 患者生存曲线图

Figure 2 Survival curves of the ICC patients

表4 41例ICC患者病理资料单因素Cox回归分析

Table 4 Univariate Cox analysis of the clinicopathologic data of the 41 ICC patients

因素	总体生存率	
	HR (95% CI)	P
RCAS1/EBAG9 蛋白表达 (阳性 vs. 阴性)	0.191 (0.043~0.848)	0.029
P53 蛋白表达 (阳性 vs. 阴性)	0.186 (0.068~0.505)	0.001
性别 (男 vs. 女)	0.518 (0.225~1.193)	0.122
年龄 (<60岁 vs. ≥60岁)	1.022 (0.455~2.296)	0.958
淋巴结转移 (是 vs. 否)	3.240 (1.070~9.813)	0.038
侵犯肝外组织 (是 vs. 否)	2.868 (1.195~6.886)	0.018
TNM 分期 (I~II vs. III~IV)	0.269 (0.077~0.939)	0.040
肿瘤位置 (右叶 vs. 非右叶)	1.692 (0.739~3.876)	0.213
病理分型 (肿块型 vs. 其他型)	2.554 (0.987~6.607)	0.053
病理分级 (低分化癌 vs. 中高分化癌)	3.003 (1.114~8.100)	0.030
CA19-9 (正常 vs. 升高)	2.292 (0.978~5.367)	0.056
组织学分型 (腺癌 vs. 其他)	0.718 (0.303~1.700)	0.451
CEA (正常 vs. 升高)	0.661 (0.274~1.596)	0.3581
AFP (正常 vs. 升高)	0.994 (0.232~4.257)	0.993
最大直径 (≤5cm vs. >5cm)	0.658 (0.280~1.547)	0.337
病灶个数 (单个 vs. 多个)	0.446 (0.143~1.388)	0.163

表5 多因素Cox回归模型分析结果

Table 5 Results of multivariate Cox regression model analysis

因素	总体生存率	
	HR (95% CI)	P
P53 蛋白表达 (阳性 vs. 阴性)	0.438 (0.181~1.056)	0.066
淋巴结转移 (是 vs. 否)	0.251 (0.087~0.725)	0.011
肝外侵犯 (是 vs. 否)	0.151 (0.024~0.967)	0.046
TNM 分期 (I~II vs. III~IV)	0.193 (0.032~1.152)	0.071
病理分级 (低分化癌 vs. 中高分化癌)	0.202 (0.051~0.803)	0.023
RCAS1/EBAG9 蛋白表达 (阳性 vs. 阴性)	3.657 (1.111~12.040)	0.033

### 3 讨论

RCAS1/EBAG9是Sonoda等<sup>[8-9, 11]</sup>在1996年发现一种新的肿瘤抗原,它是通过CPG(CPG是由CPG二核苷酸序列聚集而成)基因组合克隆出来,肿瘤细胞是通过RCAS1/EBAG9的表达来逃避免疫攻击,从而诱导阳性受体免疫细胞凋亡<sup>[12]</sup>。最新研究表明,RCAS1/EBAG9在多种肿瘤细胞膜上呈高表达<sup>[13-16]</sup>,Enjoji等<sup>[17]</sup>发现,胆管腺癌和胆管癌中均有RCAS1高表达,Suzuoki等<sup>[18]</sup>研究发现,RCAS1在肝外胆管癌高表达是一个独立的不良预后因素,而在正常胆道上皮细胞中没有表达。本研究也发现,在ICC组织中检测到了RCAS1/EBAG9蛋白高表达,而在正常胆管组织无表达,提示了RCAS1/EBAG9蛋白可能是ICC肿瘤标志物之一,这对ICC早发现早诊断早治疗具有临床指导意义,也为早期外科手术提供机遇。

Aoki等<sup>[19]</sup>发现在肝非癌组织RCAS1/EBAG9低表达,而高表达与肿瘤低分化程度和增殖活性升高相关;在甲状腺癌中,RCAS1/EBAG9可能参与甲状腺癌的侵袭转移<sup>[20]</sup>。已有大量相关的研究表明,RCAS1/EBAG9在膀胱癌<sup>[15]</sup>、非小细胞肺癌<sup>[21]</sup>与胆管癌<sup>[22]</sup>中高表达,并且与肿瘤临床分期、分化程度、预后明显相关。在本研究也发现,RCAS1/EBAG9高表达与ICC肿瘤体积大、低分化、进展期以及淋巴结转移相关,阴性表达的患者术后总生存时间延长;经过单因素与多因素Cox回归分析表明,低分化、肝外侵犯、淋巴结转移与RCAS1/EBAG9阳性表达等因素是ICC独立消极预后影响因素,推测RCAS1/EBAG9参与了肿瘤进展及转移,是独立的消极预后因素,可作为判断ICC进展与预后的一项重要指标。

人类恶性肿瘤中多数存在P53突变<sup>[23]</sup>,P53基因突变可导致缺陷DNA大量复制,甚至导致恶变<sup>[24]</sup>。

Meng等<sup>[25]</sup>发现,胆管癌患者中P53蛋白高表达,笔者<sup>[26]</sup>前期研究发现,肝外胆管癌患者P53蛋白阳性表达率为45.2% (19/42),并且低分化、淋巴结及远处转移患者表达升高,阴性表达患者术后总生存时间延长,结合前期研究,P53蛋白也是肝内外胆管癌进展与预后的一项重要指标。

目前更精确的RCAS1/EBAG9的细胞学活性和生物化学活性尚不清楚。Wu等<sup>[27]</sup>实验表明,P53表达可能干扰RCAS1/EBAG9表达,通过P53敲低RCAS1/EBAG9表达可显著降低结直肠癌细胞系HT-29体外增殖能力,RCAS1/EBAG9在体内可能是P53的靶基因。本研究结果显示ICC组织中RCAS1/EBAG9蛋白与P53蛋白表达正相关性,联合检测RCAS1/EBAG9与P53,可提高ICC诊治水平,为判断ICC进展与预后提供新思路。

综上所述,本研究中RCAS1/EBAG9与P53在ICC组织中表达增加,可能是ICC肿瘤标志物,并且与患者不良临床病理特征及预后密切相关,可作为预测ICC患者预后因子,可望作为生物学治疗的作用靶点。联合检测ICC的RCAS1/EBAG9与P53,可为早发现早诊断早治疗提供依据。但RCAS1/EBAG9和P53蛋白更精确的作用机制尚有待进一步探索。

## 参考文献

- [1] 周霞.《2014年美国肝胆胰学会共识声明:肝内胆管癌管理》摘译[J].临床肝胆病杂志,2015,31(10):1584-1587. doi:10.3969/j.issn.1001-5256.2015.10.005.  
Zhou X. An excerpt of intrahepatic cholangiocarcinoma: expert consensus statement[J]. Journal of Clinical Hepatology, 2015, 31(10):1584-1587. doi:10.3969/j.issn.1001-5256.2015.10.005.
- [2] Sakamoto Y, Kokudo N, Matsuyama Y, et al. Proposal of a new staging system for intrahepatic cholangiocarcinoma: analysis of surgical patients from a nationwide survey of the liver cancer study group of Japan[J]. Cancer, 2016, 122(1):61-70. doi: 10.1002/cncr.29686.
- [3] 李丽, 勾春燕, 李晶滢, 等. 肝炎病毒相关肝内胆管细胞癌的流行病学特点分析92例[J]. 世界华人消化杂志, 2014, 22(21):3148-3152. doi: 10.11569/wcjd.v22.i21.3148.  
Li L, Gou CY, Li JY, et al. Hepatitis virus-related intrahepatic cholangiocarcinoma: Analysis of 92 cases[J]. World Chinese Journal of Digestology, 2014, 22(21):3148-3152. doi: 10.11569/wcjd.v22.i21.3148.
- [4] Conci S, Ruzzenente A, Viganò L, et al. Patterns of Distribution of Hepatic Nodules (Single, Satellites or Multifocal) in Intrahepatic Cholangiocarcinoma: Prognostic Impact After Surgery[J]. Ann Surg Oncol, 2018, 25(12):3719-3727. doi: 10.1245/s10434-018-6669-1.
- [5] Hoffmann K, Hinz U, Stravodimos C, et al. Risk assessment for liver resection[J]. Surgery, 2018, 164(5):998-1005. doi: 10.1016/j.surg.2018.06.024.
- [6] Chang WW, Hsiao PK, Qin L, et al. Treatment outcomes for unresectable intrahepatic cholangiocarcinoma: Nationwide, population-based, cohort study based on propensity score matching with the Mahalanobis metric[J]. Radiother Oncol, 2018, 129(2):284-292. doi: 10.1016/j.radonc.2018.09.010.
- [7] Kizy S, Altman AM, Marmor S, et al. Surgical resection of lymph node positive intrahepatic cholangiocarcinoma may not improve survival[J]. HBP (Oxford), 2019, 21(2):235-241. doi: 10.1016/j.hpb.2018.08.006.
- [8] Nakashima M, Sonoda K, Watanabe T. Inhibition of cell growth and induction of apoptotic cell death by the human tumor-associated antigen RCAS1[J]. Nat Med, 1999, 5(8):938-942. doi: 10.1038/11383.
- [9] Ikeda K, Sato M, Tsutsumi O, et al. Promoter analysis and chromosomal mapping of human EBAG9 gene[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 273(2):654-660. doi: 10.1006/bbrc.2000.2920.
- [10] Kazmierczak W, Lazar A, Tomaszewska R, et al. Analysis of the intensity of immune cell infiltration and immunoreactivity of RCAS1 in diffuse large B-cell lymphoma of the palatine tonsil and its microenvironment[J]. Cell Tissue Res, 2015, 361(3):823-831. doi:10.1007/s00441-015-2157-0.
- [11] Sonoda K, Nakashima M, Kaku T, et al. A novel tumor-associated antigen expressed in human uterine and ovarian carcinomas[J]. Cancer, 1996, 77(8):1501-1509. doi: 10.1002/(SICI)1097-0142(19960415)77:8<1501:AID-CNCR12>3.0.CO;2-3.
- [12] Miyazaki T, Ikeda K, Sato W, et al. Extracellular vesicle-mediated EBAG9 transfer from cancer cells to tumor microenvironment promotes immune escape and tumor progression[J]. Oncogenesis, 2018, 7(1):7. doi: 10.1038/s41389-017-0022-6.
- [13] Lin CY, Chao A, Wang TH, et al. Nucleophosmin/B23 is a negative regulator of estrogen receptor  $\alpha$  expression via AP2 $\gamma$  in endometrial cancer cells[J]. Oncotarget, 2016, 7(37):60038-60052. doi: 10.18632/oncotarget.11048.
- [14] Józwicki W, Brożyna AA, Siekiera J, et al. Expression of RCAS1 correlates with urothelial bladder cancer malignancy[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(2):3783-3803. doi: 10.3390/ijms16023783.
- [15] Xu C, Yu LK, Zhang X. Serum receptor-binding cancer antigen

- expressed on SiSo cells (RCAS1) as a diagnostic and prognostic marker for non-small cell lung cancer[J]. *Tumori*, 2014, 100(4):107e-111e. doi: 10.1700/1636.17920.
- [16] Han SX, Wang J, Wang LJ, et al. The role of RCAS1 as a biomarker in diagnosing CRC and monitoring tumor recurrence and metastasis[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(6):6149–6157. doi: 10.1007/s13277-014-1814-3.
- [17] Enjoji M, Nakashima M, Nishi H, et al. The tumor-associated antigen, RCAS1, can be expressed in immune-mediated diseases as well as in carcinomas of biliary tract[J]. *J Hepatol*, 2002, 36(6):786–792.
- [18] Suzuoki M, Hida Y, Miyamoto M, et al. RCAS1 expression as a prognostic factor after curative surgery for extrahepatic bile duct carcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2002, 9(4):388–393.
- [19] Aoki T, Inoue S, Imamura H, et al. EBAG9/RCAS1 expression in hepatocellular carcinoma :correlation with tumor dedifferentiation and proliferation[J]. *Eur J Cancer*, 2003, 39(11):1552–1561. doi: 10.1016/s0959-8049(03)00362-9.
- [20] Giaginis C, Demetriou N, Alexandrou P, et al. Receptor-binding cancer antigen expressed on SiSo cells (RCAS1) expression in human benign and malignant thyroid lesions[J]. *Med Sci Monit*, 2012, 18(4):R123–129. doi: 10.12659/msm.882613.
- [21] Tsoukalas N, Kostakis ID, Siakavellas S, et al. The clinical and pathological significance of RCAS1 expression as a prognostic biomarker in non-small cell lung cancer[J]. *In Vivo*, 2014, 28(3):375–381.
- [22] Oshikiri T, Hida Y, Miyamoto M, et al. RCAS1 as a tumour progression marker: an independent negative prognostic factor in gallbladder cancer[J]. *Br J Cancer*, 2001, 85(12):1922–1927. doi: 10.1054/bjoc.2001.2192.
- [23] Synnott NC, Madden SF, Bykov VJN, et al. The Mutant p53-Targeting Compound APR-246 Induces ROS-Modulating Genes in Breast Cancer Cells[J]. *Transl Oncol*, 2018, 11(6):1343–1349. doi: 10.1016/j.tranon.2018.08.009.
- [24] Li H, Zhou ZQ, Yang ZR, et al. MicroRNA-191 acts as a tumor promoter by modulating the TET1-p53 pathway in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Hepatology*, 2017, 66(1):136–151. doi: 10.1002/hep.29116.
- [25] Meng X, Tackmann NR, Liu S, et al. RPL23 Links Oncogenic RAS Signaling to p53-Mediated Tumor Suppression[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(17):5030–5039. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-3420.
- [26] 王逸君, 袁伟杰, 王志明, 等. Maspin在原发性胆管癌组织中的表达及其临床意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2017, 26(8):973–979. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.08.004.
- Wang YJ, Yuan WJ, Wang ZM, et al. Maspin expression in primary cholangiocarcinoma tissue and its clinical significance[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2017, 26(8):973–979. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.08.004.
- [27] Wu S, Wu F, Jiang Z. Identification of hub genes, key miRNAs and potential molecular mechanisms of colorectal cancer[J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(4):2043–2050. doi: 10.3892/or.2017.5930.

( 本文编辑 姜晖 )

**本文引用格式:** 王逸君, 徐自强, 王志明, 等. RCAS1/EBAG9与P53蛋白在肝内胆管癌中的表达及临床意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(8):952–959. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.08.007

**Cite this article as:** Wang YJ, Xu ZQ, Wang ZM, et al. RCAS1/EBAG9 and P53 protein expressions in intrahepatic cholangiocarcinoma and the clinical significance[J]. *Chin J Gen Surg*, 2019, 28(8):952–959. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.08.007