

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.04.007

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.04.007

P-gp与pCEA, CD10在肝细胞癌毛细胆管中表达的比较及其在肝细胞癌诊断中的价值

孙薇¹, 赵有财², 田智丹², 杨小兵², 王劲松², 王晓蕾², 吕倩², 黄文斌²

(1. 江苏卫生健康职业学院病理学教研室, 南京 210029;

2. 南京医科大学附属南京医院/南京市第一医院病理科, 南京 210006)

[摘要] 目的: 比较P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)与pCEA, CD10在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)毛细胆管中的表达, 探讨P-gp在HCC诊断中的价值。方法: 应用免疫组织化学EnVision法对36例不同分化程度的HCC组织进行P-gp, pCEA, CD10标记, 观察它们在毛细胆管中表达的情况。结果: P-gp, pCEA和CD10在HCC毛细胆管着色的阳性率分别为80.6%(29/36), 75%(27/36)和55.6%(20/36); 3个标志物中P-gp的表达较弥漫; P-gp, pCEA和CD10阳性率随着HCC分化程度的降低而降低。结论: P-gp在HCC毛细胆管中表达的阳性率与pCEA相似, 两者均高于CD10, P-gp可作为HCC的辅助诊断标志物。

[关键词] 肝细胞癌; 毛细胆管; P-糖蛋白; pCEA; CD10

Comparison of the expression of P-gp, pCEA and CD10 in the bile canaliculi of hepatocellular carcinoma

SUN Wei¹, ZHAO Youcai², TIAN Zhidan², YANG Xiaobin², WANG Jingsong², WANG Xiaolei², LÜ Qian², HUANG Wenbin²

(1. Department of Pathology, Jiangsu Health Vocational College, Nanjing 210029; 2. Department of Pathology, Nanjing Medical University Affiliated Nanjing Hospital/Nanjing First Hospital, Nanjing 210006, China)

Abstract **Objective:** To compare the expression of P-gp, pCEA and CD10 in the bile canaliculi of hepatocellular carcinoma (HCC), and to explore the value of P-gp in the diagnosis of HCC. **Methods:** Immunohistochemical study (EnVision method) was used to detect the expression of P-gp, pCEA and CD10 in 36 cases of HCCs with different degrees of differentiation, and the expression of them in the bile canaliculi were observed. **Results:** The positive rate of P-gp, pCEA and CD10 in HCC (canalicular staining pattern) were 80.6% (29/36), 75% (27/36) and 55.6% (20/36), respectively. The expression of P-gp is the most extensive in the 3 markers. Its positive rate decreased from well to poorly differentiated HCCs. **Conclusion:** P-gp could be a valuable marker

收稿日期 (Date of reception): 2018-10-24

通信作者 (Corresponding author): 赵有财, Email: 893110640@qq.com

基金项目 (Foundation item): 南京市医学科技发展项目 (YKK18098)。This work was supported by Nanjing Medical Science and Technology Development Foundation, China (YKK18098).

in the assistant diagnosis of HCC. The positive rate of P-gp in the bile canaliculi of HCC was similar to that of pCEA, both were higher than that of CD10.

Keywords hepatocellular carcinoma; bile canaliculi; P-glycoprotein; pCEA; CD10

原发性肝癌是我国常见的消化系统恶性肿瘤类型之一, 是我国发病率第4和病死率第3的恶性肿瘤类型^[1]。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是原发性肝癌中最常见的组织学类型, 占85%~90%。伴有假腺样结构的HCC和低分化HCC在形态上与胆管细胞癌、肝转移性腺癌或其他转移性恶性肿瘤有时难以鉴别, 尤其在穿刺活检小标本。这时常常需要免疫组织化学来辅助鉴别诊断, pCEA, CD10和Villin等标志物因能标记HCC毛细胆管而常用于鉴别诊断。P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)在人体的许多正常组织和肿瘤细胞中都有不同程度的表达, 目前在临床上主要用于肿瘤细胞的多药耐药研究。前期研究^[2]发现P-gp能较好地显示正常肝组织和HCC中毛细胆管。本研究旨在进一步了解P-gp, pCEA和CD10这3种标志物在HCC毛细胆管中表达的差异及P-gp在HCC诊断中的价值。

1 材料与方法

1.1 临床资料

选取南京市第一医院2006年1月1日至2015年8月31日间病理确诊的HCC手术标本36例, 其中高分化7例, 中分化19例, 低分化10例。所有患者术前未接受放、化疗。本研究经南京市第一医院科研伦理委员会审核批准。

1.2 试剂

鼠抗人P-gp单克隆抗体(克隆号: G-1)购自美国Santa Cruz公司, 兔抗人CEA多克隆抗体购自广州安必平公司, 鼠抗人CD10单克隆抗体(克隆号: 56c6)购自德国Leica公司, 免疫组织化学EnVision试剂盒(K5007)购自美国DAKO公司。

1.3 方法

免疫组织化学染色采用EnVision法, 标本用10%中性缓冲甲醛液固定, 石蜡包埋, 4 μm厚切片, 脱蜡至水, 柠檬酸高压锅修复。抗原修复后, 3%过氧化氢水溶液消除内源性过氧化物酶20 min, PBS冲洗3 min×3次, 滴加一抗(P-gp, pCEA, CD10)4 ℃冰箱孵育过夜, PBS冲洗3 min×3次,

滴加EnVision二抗室温孵育30 min, PBS洗3 min×3次, DAB镜下控制显色。用HCC旁非肿瘤肝组织作阳性对照, PBS代替一抗作阴性对照。

1.4 阳性结果判断

毛细胆管免疫组化阳性结果判断: 在肿瘤组织中, 出现棕黄色颗粒聚集形成树枝状或环状结构为阳性, 前者为毛细胆管的纵切面, 后者为毛细胆管的横切面; 仅有膜表达, 而无树枝状或环状结构表达特征视为阴性。无肿瘤细胞毛细胆管表达为阴性、<10%的肿瘤细胞毛细胆管阳性为+, 10%~50%的肿瘤细胞毛细胆管阳性为++, >50%的肿瘤细胞毛细胆管阳性为+++。

2 结果

2.1 临床资料

36例HCC患者年龄38~78(平均55.1)岁。高分化HCC患者7例, 其中女1例, 男6例, 平均年龄57.4岁。中分化HCC患者19例, 其中女5例, 男14例, 平均年龄55.3岁。低分化HCC患者10例, 其中女2例, 男8例, 平均年龄53岁。肿瘤细胞最大径2.0~8.0(平均5.6) cm。

2.2 免疫组织化学染色结果

36例HCC中P-gp, pCEA和CD10毛细胆管阳性表达率分别为80.6%(29/36), 75%(27/36)和55.6%(20/36); 毛细胆管型阳性为++及以上占比分别为90%(26/29), 66.7%(18/27)和50%(10/20)。毛细胆管型阳性病例中仅出现毛细胆管着色的比率在P-gp, pCEA和CD10中分别为69%(20/29), 74.1%(20/27)和60%(12/20), 伴有细胞膜和/或胞质染色的比率在P-gp, pCEA和CD10中分别为31%(9/29), 25.9%(7/27)和40%(8/20), 但毛细胆管的染色强度强于肿瘤细胞膜(图1)。部分HCC伴有腺样结构, 腺样结构腔面表达P-gp, pCEA或CD10。P-gp, pCEA和CD10在高、中、低分化HCC中的阳性率分别为100%(7/7), 84.2%(16/19), 60%(6/10), 100%(7/7), 73.7%(14/19), 60%(6/10)和85.7%(6/7), 57.9%(11/19), 30%(3/10; 图2, 图3; 表1)。

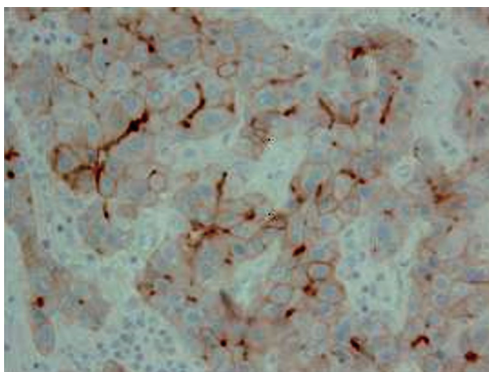


图1 P-gp在肝细胞癌中的表达，伴胞膜和胞质阳性表达，毛细胆管着色的强度强于细胞膜和胞质着色(EnVision, × 400)

Figure 1 Expression of P-gp in HCCs, the staining intensity of bile canaliculi was stronger than that of cell membrane and cytoplasm (EnVision, × 400)

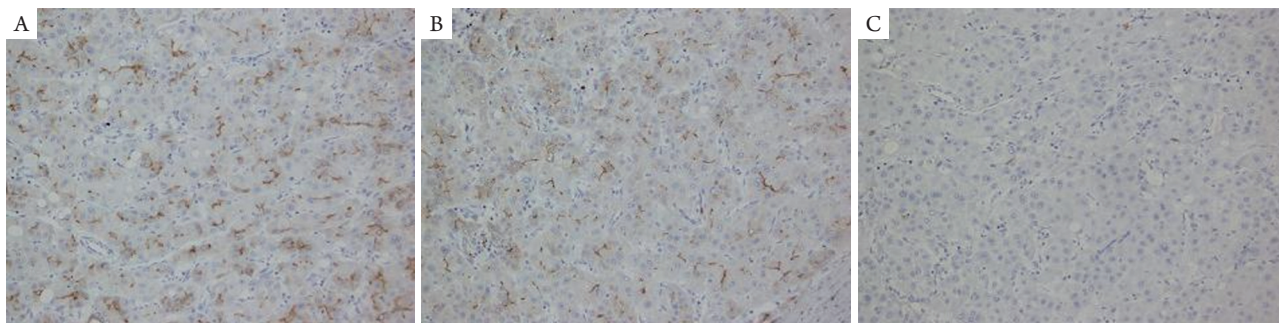


图2 中分化肝细胞癌P-gp, pCEA和CD10的表达(EnVision, × 200)

Figure 2 Expression of P-gp, pCEA and CD10 in moderately differentiated HCCs (EnVision, × 200)

(A) P-gp毛细胆管型表达+++; (B) pCEA毛细胆管型表达+++; (C) CD10阴性。

(A) P-gp (canalicular staining pattern, score +++); (B) pCEA (canalicular staining pattern, score +++); (C) CD10 (canalicular staining pattern, score 0).

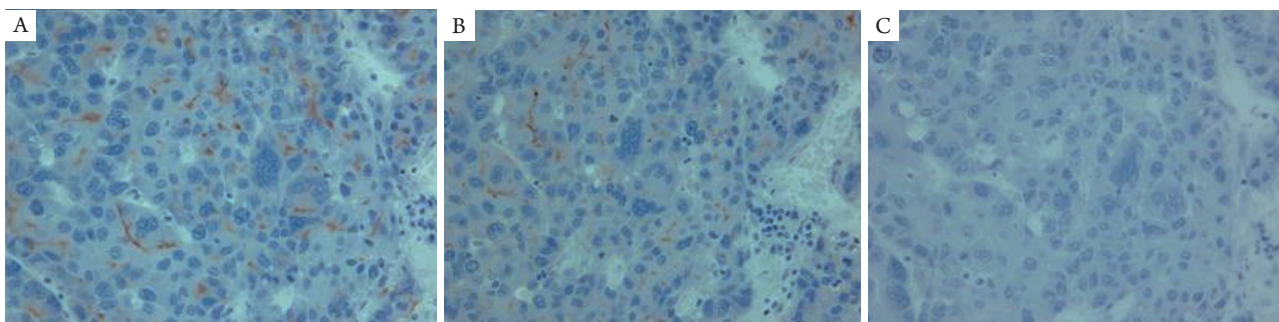


图3 低分化肝细胞癌P-gp, pCEA和CD10表达(EnVision, × 400)

Figure 3 Expression of P-gp, pCEA and CD10 in poorly differentiated HCCs (EnVision, × 400)

(A) P-gp毛细胆管型表达++; (B) pCEA毛细胆管型表达++; (C) CD10阴性。

(A) P-gp (canalicular staining pattern, score ++); (B) pCEA (canalicular staining pattern, score ++); (C) CD10 (canalicular staining pattern, score 0).

表1 P-gp, pCEA及CD10在肝细胞癌毛细胆管中的免疫组织化学表达结果

Table 1 Immunohistochemical results of P-gp, pCEA and CD10 in the bile canaliculi of HCC

抗体	高分化HCC/例				中分化HCC/例				低分化HCC/例			
	+	++	+++	阴性	+	++	+++	阴性	+	++	+++	阴性
P-gp	0	2	5	0	1	6	9	3	2	4	0	4
pCEA	2	3	2	0	2	9	3	5	5	1	0	4
CD10	2	2	2	1	5	4	2	8	3	0	0	7

3 讨论

HCC与胆管细胞癌及肝转移性恶性肿瘤的鉴别主要依靠肿瘤组织镜下的形态学特点,但这些肿瘤形态学改变多样,且相互重叠,有些病例仅从形态上进行鉴别诊断对病理医师来说常常是具有挑战性的。特别是对于肝穿刺活检组织,鉴别诊断就更加困难。此时,免疫组织化学检查起重要的辅助诊断作用。目前尚无一种高敏感性和高特异性的抗体可用于鉴别诊断,通常是采用几种抗体联合检测,如肝细胞性标志物Hep Par-1, GPC-3, Arg-1等和毛细胆管标志物pCEA, CD10, Villin等。

CEA是一种广泛存在于各种不同上皮及其肿瘤中的一种糖蛋白,其多克隆抗体(pCEA)可与毛细胆管上的糖蛋白起交叉反应而标记出正常肝细胞间的毛细胆管^[3]。这种特异性表达也见于HCC的毛细胆管结构,而被用来鉴别HCC和胆管细胞癌及肝脏转移癌^[3-5]。CD10为存在于细胞表面的锌依赖性金属蛋白酶,其功能主要是降低细胞对某些肽类激素的反应^[6]。在人体许多正常细胞(如肝细胞、肾小管、小肠黏膜、淋巴结生发中心细胞等)及肿瘤组织(如部分非霍奇金淋巴瘤、肾细胞癌、子宫内膜间质肿瘤)中都有表达。与pCEA相同,CD10也可在HCC和正常肝细胞间的毛细胆管上表达^[7]。本研究结果与文献^[4,5,7]报道相一致,pCEA和CD10能显示出不同分化程度HCC肿瘤组织中呈树枝状或环状表达的毛细胆管,其阳性表达率分别为75.0%和55.6%。

P-gp又称多药耐药蛋白,属于三磷酸腺苷结合盒式结构(ATP-binding cassette, ABC)转运蛋白超家族,在人体内由多药耐药基因MDR1编码^[8]。多数人体正常组织和几乎所有的肿瘤细胞都表达P-gp,它能够通过ATP分解提供的能量,将某些化学物质泵出细胞,降低其在细胞内的浓度,而这种外排药物的特性可导致肿瘤细胞内化疗药物浓度低于杀伤浓度,造成肿瘤细胞产生多药耐药

(multidrug resistance, MDR)。目前P-gp主要是被用于肿瘤细胞多药耐药的研究,虽然有其在人体正常肝细胞及HCC中表达的报道^[9-10],但尚未有关于P-gp在HCC辅助诊断价值方面的研究。前期研究^[2]发现P-gp(克隆号:G-1)能较好地显示正常肝组织和HCC中毛细胆管,具有较高的敏感性。P-gp在HCC中毛细胆管阳性表达率为80.6%,其阳性率与pCEA相似,两者均高于CD10。

在毛细胆管型阳性表达的病例中,部分同时伴有肿瘤细胞膜和/或细胞质表达,特别是细胞膜着色有时会给阳性定位带来困难。在本组病例中,毛细胆管着色的强度强于细胞膜着色,另外其呈树枝状或环状着色的特征易于与细胞膜着色区别。毛细胆管型阳性病例中伴有细胞膜和/或胞质染色的比率在P-gp, pCEA和CD10中分别为31.0%, 25.9%和40.0%, P-gp略高于pCEA,两者均低于CD10。这种表达模式文献中也有报道,pCEA出现毛细胆管阳性表达同时伴有细胞膜着色的比率达40%,而CD10为38.5%^[4]。部分伴有腺样结构的HCC,腺样结构腔面表达P-gp, pCEA或CD10,提示腺样结构可能为扩张的毛细胆管。

文献^[11]报道HCC的分化程度与pCEA表达的阳性率呈负相关。本研究结果也发现:随着分化程度的降低,P-gp, pCEA, CD10这3种抗体标记HCC毛细胆管的敏感性均依次下降,可能与低分化HCC中毛细胆管分化不成熟或缺失毛细胆管分化有关。在低分化HCC中,pCEA和P-gp的敏感性均为60%,而CD10仅为30%,显示出P-gp和pCEA在低分化HCC中具有较高的敏感性。另外毛细胆管型阳性病例中为++及以上者在P-gp, pCEA, CD10分别为90%, 66.7%和50%, P-gp的表达比较弥漫,这在HCC的诊断中具有更高的价值,尤其是在活检小标本的诊断和鉴别诊断中。本研究认为可选用P-gp和/或pCEA,联合HCC其他标志物(HepPar-1, GPC-3, Arg-1等)对肝细胞起源的肿瘤进行诊断和鉴别诊断。而CD10因其阳性率较

低,尤其在低分化HCC中阳性率显著低于P-gp和pCEA,且阳性表达范围较局限,对鉴别诊断的价值有待进一步研究。

参考文献

1. Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
2. 孙薇, 赵有财, 王劲松, 等. P-糖蛋白在肝细胞癌鉴别诊断中的价值[J]. *诊断病理学杂志*, 2017, 24(4): 274-277.
SUN Wei, ZHAO Youcai, WANG Jingsong, et al. Potential value of P-glycoprotein in the differential diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Chinese Journal of Diagnostic Pathology*, 2017, 24(4): 274-277.
3. Karabork A, Kaygusuz G, Ekinici C. The best immunohistochemical panel for differentiating hepatocellular carcinoma from metastatic adenocarcinoma[J]. *Pathol Res Pract*, 2010, 206(8): 572-577.
4. Morrison C, Marsh W Jr, Frankel WL. A comparison of CD10 to pCEA, MOC-31, and hepatocyte for the distinction of malignant tumors in the liver[J]. *Mod Pathol*, 2002, 15(12): 1279-1287.
5. Stroescu C, Herlea V, Dragnea A, et al. The diagnostic value of cyokeratins and carcinoembryonic antigen immunostaining in differentiating hepatocellular carcinomas from intrahepatic cholangiocarcinomas[J]. *J Gastrointest Liver Dis*, 2006, 15(1): 9-14.
6. Lin F, Abdallah H, Meschter S. Diagnostic utility of CD10 in differentiating hepatocellular carcinoma from metastatic carcinoma in fine-needle aspiration biopsy (FNAB) of the liver[J]. *Diagn Cytopathol*, 2004, 30(2): 92-97.
7. Lau SK, Prakash S, Geller SA, et al. Comparative immunohistochemical profile of hepatocellular carcinoma, cholangiocarcinoma and metastatic adenocarcinoma[J]. *Hum Pathol*, 2002, 33(12): 1175-1181.
8. Henneay M, Spiers JP. A primer on the mechanics of P-glycoprotein the multidrug transporter[J]. *Pharmacol Res*, 2007, 55(1): 1-15.
9. Fujiwara K, Shin M, Miyazaki T. A probable relationship between characteristic accumulation of doxorubicin and P-glycoprotein transporter in rat liver[J]. *J Mol Histol*, 2011, 42(5): 409-415.
10. Morimoto K, Nakakariya M, Shirasaka Y, et al. Oseltamivir (Tamiflu) efflux transport at the blood-brain barrier via P-glycoprotein[J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36(1): 6-9.
11. Chu PG, Ishizawa S, Wu E, et al. Hepatocyte antigen as a marker of hepatocellular carcinoma: an immunohistochemical comparison to carcinoembryonic antigen, CD10, and alpha-fetoprotein[J]. *Am J Surg Pathol*, 2002, 26(8): 978-988.

本文引用: 孙薇, 赵有财, 田智丹, 杨小兵, 王劲松, 王晓蕾, 吕倩, 黄文斌. P-gp与pCEA, CD10在肝细胞癌毛细胆管中表达的比较及其在肝细胞癌诊断中的价值[J]. *临床与病理杂志*, 2019, 39(4): 734-738. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.04.007

Cite this article as: SUN Wei, ZHAO Youcai, TIAN Zhidan, YANG Xiaobin, WANG Jingsong, WANG Xiaolei, LÜ Qian, HUANG Wenbin. Comparison of the expression of P-gp, pCEA and CD10 in the bile canaliculi of hepatocellular carcinoma[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2019, 39(4): 734-738. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.04.007