

CHI3L1 在原发性肝癌中的表达及与预后的关系

陈莎莎 衣玉兰 王光*

海军军医大学转化医学研究中心临床肿瘤研究所

DOI:10.12238/bmtr.v4i3.5211

[摘要] 目的: 探究几丁质酶-3样蛋白1 CHI3L1在原发性肝癌组织中的表达及其与预后的关系。方法: 收集2003年4月至2009年9月在海军军医大学附属东方肝胆外科医院行手术切除的77例原发性肝癌患者癌组织及相应癌旁组织,利用免疫组织化学染色法检测CHI3L1在两种组织中的表达量,并分析CHI3L1的表达和患者临床特征及预后的关系。结果: CHI3L1在原发性肝癌中的阳性表达率低于癌旁组织,差异具有统计学意义($P < 0.05$); 与低表达组相比,CHI3L1高表达组的累计复发率更低($p < 0.05$),并且总体生存时间更长($p < 0.05$)。此外,CHI3L1的表达与患者性别、年龄、门脉癌栓及抑癌因子P53均无统计学差异(> 0.05)。结论: CHI3L1在原发性肝癌组织中的阳性表达率较低,并且高表达的患者预后较好,提示我们可以将CHI3L1作为原发性肝癌的一个预后参考指标,对患者预后判断具有一定的参考价值。

[关键词] 原发性肝癌; CHI3L1; 预后

中图分类号: R657.3+1 **文献标识码:** A

Expression of CHI3L1 in Primary Hepatocellular Carcinoma and Its Relationship with Prognosis

Shasha Chen Yulan Yi Guang Wang*

Institute of Clinical Oncology, Translational Medicine Research Center, Naval Medical University

[Abstract] Objective: To investigate the expression of Chitinase-3 like protein 1 CHI3L1 in primary hepatocellular carcinoma (HCC) and its relationship with prognosis. Methods: Tumor tissues and paracancerous tissues of 77 HCC patients who had undergone surgical resection in East Hepatobiliary Surgery Hospital affiliated to Naval Medical University from April 2003 to September 2009 were collected, and immunohistochemical staining method was used to detect CHI3L1 expression in both kinds of organizations, then the relationship between CHI3L1 expression and the clinical features and prognosis of patients was analyzed. Results: The positive expression rate of CHI3L1 in HCC was lower than that in corresponding paracancerous, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Compared with the low-expression group, the cumulative recurrence rate was lower in the high-expression CHI3L1 group ($P < 0.05$), and the overall survival time was longer ($P < 0.05$). In addition, there were no significant differences in CHI3L1 expression with gender, age, portal vein tumor plug and tumor suppressor P53 ($P > 0.05$). Conclusions: The positive expression rate of CHI3L1 in primary hepatocellular carcinoma is low, and the prognosis of patients with high expression is better, suggesting that we can take CHI3L1 as a prognostic reference index of primary hepatocellular carcinoma, which has a certain reference value for the prognosis of patients.

[Key words] primary hepatocellular carcinoma; CHI3L1; prognosis

肝癌是全球第六大常见癌症,也是第三大致死癌症^[1],其有多个亚型,其中肝细胞癌(HCC)约占78%,是目前世界上最常见的亚型,其他亚型包括胆管癌(15%)、肝母细胞瘤(7%)和各种肝肉瘤(7%)^[2]等。HCC对我国人民的生命健康造成了严重危害:最新癌症数据表明,在我国所有恶性肿瘤中,HCC的发病率排第四位,死亡率排第三位^[3]。目前HCC常规的治疗方式仍存在局限性,并

且容易复发。肝细胞癌(HCC)是一种高度异质性的疾病,对其准确预后具有很大挑战性,因此寻找有效的预后生物标志物尤为重要。

几丁质酶-3样蛋白1(CHI3L1)又称YKL-40,是一种高度保守的糖蛋白,主要由巨噬细胞、中性粒细胞以及胚胎干细胞产生^[4-6]。研究表明,CHI3L1与细胞再生、细胞存活、细胞侵袭和促

进血管生成有关^[7,8]。CHI3L1与炎症反应和相关组织损伤之间的关系已在许多疾病中得到证实:在呼吸道合胞病毒(RSV)感染的小鼠中,CHI3L1可能会增强气道粘液的产生和炎症细胞募集^[9];在乙醇喂食的CHI3L1-/-小鼠中,中性粒细胞受到明显抑制^[10];此外,CHI3L1还可以下调促炎细胞因子的表达^[11]。然而,CHI3L1在肝癌中较少报道,本文旨在探究CHI3L1与肝癌的关系。

1 材料与方法

1.1 材料与样本

本研究收集的样本为2003年4月至2009年9月在海军军医大学附属东方肝胆外科医院行手术切除的77例原发性肝癌患者癌组织及相应癌旁组织。患者年龄在10~79岁之间;其中男性63例,女性14例。记录患者肝癌的大小、是否存在门脉癌栓等临床特征,并对患者进行随访,末次随访时间为2012年3月。记录患者肝癌复发和全因死亡的时间。将组织样本按照癌、癌旁的顺序制成组织芯片。本研究得到了海军军医大学东方肝胆外科医院医学研究伦理委员会的批准,所有进入研究的患者均已签署知情同意书。

1.2 免疫组织化学研究CHI3L1在原发性肝癌中的表达

将组织芯片置于60℃烤箱一小时,脱蜡至水,滴加3% H_2O_2 ,室温20分钟,双蒸水洗3次,每次5分钟。酸性修复液煮沸15分钟,自然冷却至室温,双蒸水洗3次,每次5分钟。滴加1%BSA,室温封闭30分钟。去除封闭液,滴加兔抗人CHI3L1一抗,置于湿盒并4℃过夜。之后室温复温15分钟,PBS(0.01M)洗4次,每次5分钟。滴加兔二抗,再次置于湿盒,37℃30分钟,PBS洗涤4次,每次5分钟。DAB显色10~15分钟,显微镜观察到明显砖红色即用双蒸水终止显色。苏木素复染10分钟,1%盐酸分化后用流水冲洗返蓝,沥干,脱水透明。滴加中性树脂后盖上盖玻片,彻底干燥即可封固,显微镜下观察阳性染色。

免疫组织化学评分方法:采用Image Scope Count程序对每个芯片点进行“阳性Pixel”计算,每个组织芯片点的组化评分计算方法为 $\log_{10}[255/\text{平均强度}]$,其中平均强度=(弱阳性像素总强度+阳性像素总强度+强阳性像素总强度)/(弱阳性像素数量+阳性像素数量+强阳性像素数量)。

1.3 统计学分析

本研究采用SPSS 25.0统计软件进行分析。计数资料以百分比表示,采用 χ^2 检验。采用Kaplan-Meier曲线分析CHI3L1的表达与原发性肝癌患者预后的关系。 $p<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CHI3L1在原发性肝癌和癌旁的表达情况

我们利用免疫组织化学染色法检测了CHI3L1在77例肝细胞癌患者样本组成的组织芯片的表达及定位情况,发现CHI3L1主要为胞浆着色,并且癌组织的着色情况明显弱于癌旁组织(如图1A),说明CHI3L1在肝癌中低表达。我们进一步对所有染色结果进行统计分析发现,CHI3L1在74%的癌组织中的表达低于癌旁组织(如图1B)。

A: 免疫组织化学染色法检测CHI3L1在原发性肝癌组织和癌

旁组织中的表达情况;B: CHI3L1在原发性肝癌组织和癌旁组织中的表达数据分析统计($n=77$)。

2.2 CHI3L1的表达与肝癌患者预后的关系

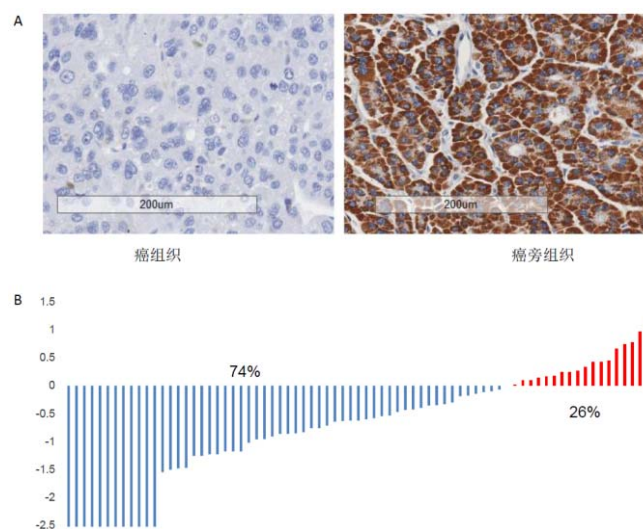


图1 CHI3L1在肝癌组织中的表达情况

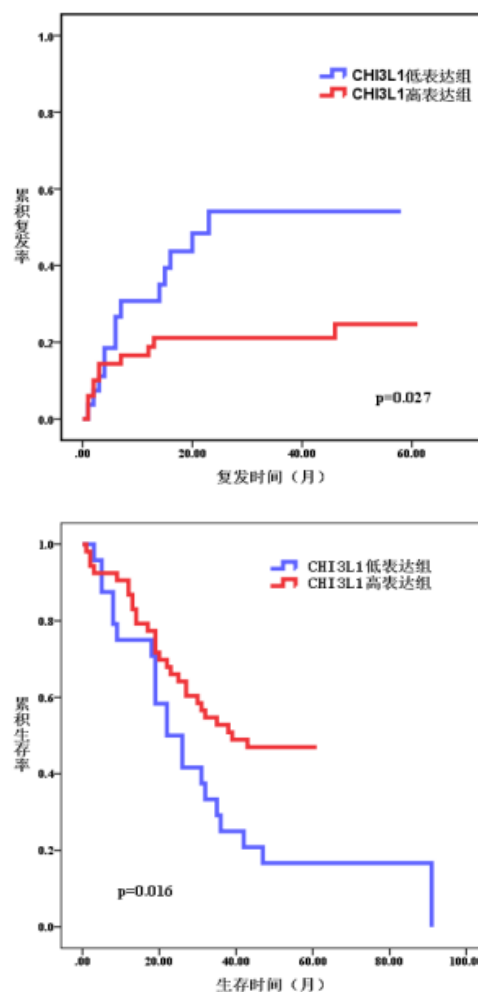


图2 CHI3L1在肝癌组织中的表达与患者预后的关系

我们利用Aperio Image Scope对组织芯片位点评分并计算

平均染色强度,通过计算约登指数,确定最佳cutoff值,进一步将患者分为CHI3L1高表达组和CHI3L1低表达组。如图2所示,与CHI3L1低表达组相比,CHI3L1高表达组累计复发率更低($p<0.05$),并且总体生存时间更长($p<0.05$)。

2.3 CHI3L1的表达与肝癌临床病理特征的关系

从表1可以看出,CHI3L1的表达与患者性别、年龄、门脉癌栓及抑癌因子P53均无统计学差异($p>0.05$),但CHI3L1的表达水平与肿瘤大小呈现正相关趋势($p=0.056$)。

表1 CHI3L1的表达与肝癌患者临床病理特征的关系(n=77)

临床病理参数	例数	CHI3L1 表达[n (%)]		P
		低表达	高表达	
性别				0.582
男	63	21 (33.3)	42 (66.7)	
女	14	3 (21.4)	11 (78.6)	
年龄				0.273
≤50	36	9 (25.0)	27 (75.0)	
>50	41	15 (36.6)	26 (63.4)	
门脉癌栓				0.173
阴性	60	21 (35.0)	39 (65.0)	
阳性	17	3 (17.6)	14 (82.4)	
P53				0.128
阴性	24	8 (50.0)	8 (50.0)	
阳性	53	16 (26.2)	45 (73.8)	
肿瘤大小				0.059
≤5	39	8 (21.1)	30 (78.9)	
>5	38	16 (41.0)	23 (59.0)	

3 讨论

肿瘤相关性炎症是恶性肿瘤的生物学特征之一。淋巴细胞浸润在癌症发生中具有重要意义,炎症和癌症之间的关系一直是人们研究的重点。炎症可以抑制癌症,也可以促进癌症;当炎症发展成为非可控炎症时,炎症细胞释放活性氧等物质诱发基因突变,同时炎症因子也可抑制抑癌基因的活性,从而促进肿瘤发生。

CHI3L1主要由活化的巨噬细胞和中性粒细胞表达^[13],研究发现CHI3L1具有很强的抗炎特性。在由硫代乙酰胺(TAA)诱导形成的急性肝损伤实验中发现,CHI3L1通过抑制T-bet/STAT3

信号通路,抑制CD4+ IFN- γ +Th1细胞的免疫反应,从而减轻肝损伤^[14]。在本研究中,我们发现CHI3L1在HCC患者的癌组织中的阳性表达率要明显低于癌旁组织,猜测可能是由于肿瘤微环境的变化导致了CHI3L1的表达受抑制,从而抑制了相关的细胞免疫反应,促进了肿瘤的生长,但具体机制还需要进一步的实验验证。本研究的意义在于发现了在原发性肝癌中CHI3L1高表达的患者预后较好,可将CHI3L1作为原发性肝细胞癌的一个预后参考指标,对患者预后判断具有一定的参考价值。

【参考文献】

[1]Freddie,B.;Jacques, F.;Torre,L.A.;Siegel,R.L.;Ahmedin, J.; Isabelle, S., Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. 2013.

[2]Lucas; Nature,L.J.,A preventable cancer.2014.

[3]Chen, W.;Zheng, R.;Baade, P. D.;Zhang,S.;Zeng, H.;Bray, F.; Jemal, A.;Yu, X. Q.; He,J.J. C.A.C.J.f.C., Cancer statistics in China, 2015.2016,66(2).

[4]Johansen,J.S.;Hoyer,P.E.;Larsen, L.A.;Price,P.A.;Møllgard, K. J.J. o. H.; Society, C. O. J. o. t. H., YKL-40 protein expression in the early developing human musculoskeletal system. 2007, 55(12):1213-28.

[5]Johansen, J. S.; Schultz, N. A.; Jensen, B. V. J. F. O., Plasma YKL-40: a potential new cancer biomarker? 2009, 5 (7):1065-1082.

[6]Møllgard,K.;Brochner, C. B.;Johansen,J. S.;Larsen,L.A.;Bak, M.;Mikkelsen, H. B.; Byskov, A. G.;Andersen, C. Y. J. J. o. H.; Society, C. O. J. o. t. H., YKL-40 is differentially expressed in human embryonic stem cells and in cell progeny of the three germ layers.2012,60(3):188-204.

[7]CHI3L1 (YKL - 40) is expressed in human gliomas and regulates the invasion, growth and survival of glioma cells %J International Journal of Cancer.2011,128 (6).

[8]Singh, S. K.; Bhardwaj, R.;Wilczynska, K. M.;Dumur, C. I.; Kordula, T. J. J. o. B. C., A Complex of Nuclear Factor I-X3 and STAT3 Regulates Astrocyte and Glioma Migration through the Secreted Glycoprotein YKL-40. 2011, 286 (46):39893-39903.

[9]Min, J. K.;Shim, D. H.;Cha, H.;Moon, K.;Chang, M. Y.;Su, J. H.; Kim, K. W.; Park, J. H.;Lee, C. G.; Elias, J. A. J. W.-B. O. O., Chitinase3-like 1 protein plays a critical role in respiratory syncytial virus - induced airway inflammation.74(4).

[10]Chitinase-3-like-1 deficiency attenuates ethanol-induced liver injury by inhibition of sterol regulatory element binding protein 1-dependent triglyceride synthesis. %J Metabolism: clinical and experimental. 2019.

[11]Lee, C. G.; Da Silva, C. A.; Dela Cruz, C. S.; Ahangari, F.;Ma, B.;Kang, M. J.;He, C. H.;Takyar, S.; Elias, J. A. J. A. R. o.

P., Role of chitin and chitinase/chitinase-like proteins in inflammation, tissue remodeling, and injury. 2011, 73 (1): 479-501.

[12] Greten, F. R.; Grivnick, S. I. J. I., Inflammation and Cancer: Triggers, Mechanisms, and Consequences. 2019, 51 (1): 27-41.

[13] Coffman, F. D. J. C. R. C. L., Chitinase 3-Like-1 (CHI3L1): a putative disease marker at the interface of proteomics and glycomics. 2008, 45 (6): 531-562.

[14] Zhang, S.; Dai, X.; Shi, Y.; Zhu, X.; Gu, J. J. A. o. T. M., CHI3L1 alleviate acute liver injury by inhibiting Th1 cells differentiation through STAT3 signaling pathway. 2021, 9 (7):

529.

作者简介:

陈莎莎(1987--), 女, 汉族, 江西省上饶市人, 硕士, 研究实习员, 研究方向: 肿瘤干细胞。

衣玉兰(1986--), 女, 汉族, 中国山东烟台人, 硕士, 研究实习员, 研究方向: 肿瘤免疫。

通讯作者:

王光(1990--), 男, 汉族, 山东德州人, 博士, 助理研究员, 研究方向: 肿瘤干细胞。

中国知网数据库简介:

CNKI介绍

国家知识基础设施 (National Knowledge Infrastructure, NKI) 的概念由世界银行《1998年度世界发展报告》提出。1999年3月, 以全面打通知识生产、传播、扩散与利用各环节信息通道, 打造支持全国各行业知识创新、学习和应用的交流合作平台为总目标, 王明亮提出建设中国知识基础设施工程 (China National Knowledge Infrastructure, CNKI), 并被列为清华大学重点项目。

CNKI 1.0

CNKI 1.0是在建成《中国知识资源总库》基础工程后, 从文献信息服务转向知识服务的一个重要转型。CNKI1.0目标是面向特定行业领域知识需求进行系统化和定制化知识组织, 构建基于内容内在关联的“知网节”、并进行基于知识发现的知识元及其关联关系挖掘, 代表了中国知网服务知识创新与知识学习、支持科学决策的产业战略发展方向。

CNKI 2.0

在CNKI1.0基本建成以后, 中国知网充分总结近五年行业知识服务的经验教训, 以全面应用大数据与人工智能技术打造知识创新服务业为新起点, CNKI工程跨入了2.0时代。CNKI 2.0目标是将CNKI 1.0基于公共知识整合提供的知识服务, 深化到与各行业机构知识创新的过程与结果相结合, 通过更为精准、系统、完备的显性管理, 以及嵌入工作与学习具体过程的隐性知识管理, 提供面向问题的知识服务和激发群体智慧的协同研究平台。其重要标志是建成“世界知识大数据 (WKBD)”、建成各单位充分利用“世界知识大数据”进行内外脑协同创新、协同学习的知识基础设施 (NKI)、启动“百行知识创新服务工程”、全方位服务中国世界一流科技期刊建设及共建“双一流数字图书馆”。