

GPC-3、CD10、CD147、CD138 免疫组织化学联合检测 对于高分化肝细胞癌与异型增生的鉴别诊断价值

刘杜先, 刘兰侠, 张杰东

[摘要] **目的:**探讨磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC-3)、CD10、CD147 和 CD138 在高分化肝细胞癌与异型增生病理鉴别诊断中的联合互补诊断价值。**方法:**应用免疫组织化学法检测 76 例高分化肝细胞癌和癌周异型增生结节内 GPC-3、CD10、CD147 和 CD138 的表达情况并进行分析。**结果:**高分化肝细胞癌组织中 GPC-3、CD10、CD147 较异型增生结节内高表达,且异型增生结节内表达常常杂乱不均;而 CD138 在异型增生结节中高表达,高分化肝细胞癌组织中弱表达或不表达。高分化肝细胞癌和异型增生结节组织内 GPC-3、CD10、CD147 和 CD138 的表达差异均有统计学意义($P < 0.01$)。4 种标记联合检测诊断高分化肝细胞癌的灵敏度达 96.05%,而特异性仅为 52.6%。**结论:**GPC-3、CD10、CD147 和 CD138 对高分化肝细胞癌与异型增生具有较高的病理鉴别诊断价值,可作为肝穿标本内两者区别的客观辅助指标。

[关键词] 肝细胞肝癌;异型增生结节;磷脂酰肌醇蛋白多糖-3;CD 147;CD10;CD138;免疫组织化学

[中图分类号] R 735.7

[文献标志码] A

DOI:10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2019.12.022

Differential diagnostic value of the combined immunohistochemistry detection of GPC-3, CD10, CD147 and CD138 in highly differentiated hepatocellular carcinoma and dysplasia

LIU Du-xian, LIU Lan-xia, ZHANG Jie-dong

(Department of Pathology, Nanjing Hospital Affiliated to Nanjing University of Traditional Medicine, The Second Hospital of Nanjing, Nanjing Jiangsu 210003, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the differential diagnostic value of the combined immunohistochemistry detection of GPC-3, CD10, CD147 and CD138 in highly differentiated hepatocellular carcinoma and dysplasia. **Methods:** The levels of GPC-3, CD10, CD147 and CD138 in 76 cases with highly differentiated hepatocellular carcinoma and peripheral dysplastic nodules were explored using immunohistochemistry, and the result of which was analyzed. **Results:** Compared with the dysplastic nodules, the levels of GPC-3, CD10 and CD147 in highly differentiated hepatocellular carcinoma tissue were higher, and these expressions in dysplastic nodules were often disorder and uneven. The expression levels of CD138 in dysplastic nodules and highly differentiated hepatocellular carcinoma tissue were high and weak or no, respectively. The differences of the levels of GPC-3, CD10, CD147 and CD138 were statistically significant between highly differentiated hepatocellular carcinoma tissue and dysplastic nodule ($P < 0.01$). The sensitivities of the combined detection of four markers in highly differentiated hepatocellular carcinoma tissue and dysplastic nodule were 96.05% and 52.6%, respectively.

Conclusions: The pathologic differential diagnosis value of the combined detection of GPC-3, CD10, CD147 and CD138 in highly differentiated hepatocellular carcinoma and dysplasia is higher, which can be used as the objective auxiliary indicators between the two in liver biopsy specimens.

[Key words] hepatocellular carcinoma; dysplastic nodule; phosphatidylinositol proteoglycan-3; CD147; CD10; CD138; immunohistochemistry

肝细胞性肝癌(HCC)发病率居世界第五位,因癌死亡原因的第三位,每年有超过 60 万病人死于该病^[1],目前 HCC 在我国死亡率居各种肿瘤死亡率的第二位^[2]。随着诊断手段的增加及临床筛选的重视,发现早期 HCC 并进行有效的治疗逐步成为可

能。而肝活检标本内早期高分化肝细胞肝癌(HDHCC)与异型增生结节(DN)的鉴别诊断一直困扰着病理学界,尽管肝癌国际合作组织提供了较为详细的组织学诊断标准,但实际工作中阅片医生的诊断标准的尺度把握参差不齐,主观性因素常常导致最终诊断的偏差。因此,在组织形态学基础上探寻能区分两者的相对特异的免疫组织化学(免疫组化)标记或联合标记成为研究热点。本文将探究磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC-3)、CD10、CD147、CD138 免疫组化标记在 HDHCC 与 DN 中的表达情况,寻求区分 HDHCC 与 DN 的客观诊断依据。

[收稿日期] 2018-11-22 [修回日期] 2019-09-14

[基金项目] 江苏省南京市卫计委一般性课题(YKK15143)

[作者单位] 南京中医药大学附属南京医院,江苏省南京市第二医院病理科,210003

[作者简介] 刘杜先(1971-),男,硕士,副主任医师。

[通信作者] 刘兰侠,副主任医师。E-mail:740490287@qq.com

1 材料与方法

1.1 标本来源 选择 2013 年 4 月至 2018 年 9 月我院经病理确诊且资料完整的 HDHCC 病例 76 例,术前均未经放疗、化疗。76 例中男 48 例,女 28 例,年龄 32 ~ 81 岁。挑取带有癌组织且癌旁 DN 的蜡块,行免疫组化 GPC-3、CD10、CD147、CD138 标记。

1.2 试剂 鼠抗人单克隆抗体 CD10 (克隆号:56C6)、CD147 (克隆号:1A6)、CD138 (克隆号:MI15) 及 SP 试剂盒均购自北京中衫生物技术公司,鼠抗人单抗 GPC-3 (克隆号:MAXIM001) 购自福州迈新生物技术开发有限公司。

1.3 方法 组织抗原修复:标本经 10% 中性甲醛溶液固定,常规脱水透明、石蜡包埋,免疫组化防脱片切片厚度 4 μm 。常规脱蜡水化放于蒸馏水中备用。采用 EDTA 抗原修复液经高压锅抗原修复。全自动免疫组化染色机染色:将修复过的组织切片插入机器染色卡槽,自动运行染色步骤(内源性过氧化物酶阻断,一抗孵育,二抗孵育,DAB 显色)。

1.4 结果判定 GPC-3 和 CD147 细胞质内出现黄色或棕黄色颗粒为阳性。CD10 和 CD138 细胞膜或细胞质均可着色,以细胞膜为主。阳性表达评价标准:在高倍显微镜下($\times 400$ 倍)随机选取 5 个视野,观察阳性细胞占比率。阴性(-):占比率 $< 10\%$;弱阳性(+):占比率 $10\% \sim 25\%$;中等阳性(2+):占比率 $26\% \sim 50\%$;强阳性(3+):占比率 $> 50\%$ 。

1.5 统计学方法 采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 电镜观察结果 HE 染色示:HDHCC 与 HD 组织形态学非常接近,鉴别相当困难,尤其是活检标本更加困难(见图 1)。免疫组化示:HDHCC 中 GPC-3、CD10、CD147 较 DN 内高表达,且 DN 内表达常常杂乱不均(见图 2 ~ 5);而 CD138 在 DN 中高表达,HDHCC 弱表达或不表达(见图 6)。

2.2 GPC-3、CD10、CD147 和 CD138 在 HDHCC 与 DN 内的表达 HDHCC 和 DN 内 GPC-3、CD10、CD147 和 CD138 的表达差异均有统计学意义($P < 0.01$)(见表 1)。

2.3 GPC-3、CD10、CD147 和 CD138 对 HDHCC 的联合检测 GPC-3、CD10、CD147 和 CD138 联合检测对于 HDHCC 的敏感度为 96.05% (70/76),特异度为 52.63% (见表 2),说明 4 种标记物联合检测能明显提高 HDHCC 的检出率,但特异度并不高,需要

紧密结合组织形态学改变来区分 HDHCC 与 DN。

表 1 GPC-3、CD10、CD147 和 CD138 在 HDHCC 与 DN 内的表达

分组	n	GPC-3		CD10		CD147		CD138	
		+	-	+	-	+	-	+	-
HDHCC	76	66	10	58	18	62	14	27	49
DN	76	31	45	28	48	24	52	44	32
χ^2	—	34.90		24.10		38.67		7.64	
P	—	< 0.01		< 0.01		< 0.01		< 0.01	

表 2 GPC-3、CD10、CD147 和 CD138 联合检测的敏感度和特异度[n;百分率(%)]

指标	灵敏度	特异度
GPC-3 + CD10	68(89.47)	48(63.15)
GPC-3 + CD10 + CD147	72(94.73)	43(56.57)
GPC-3 + CD10 + CD147 + CD138	73(96.05)	40(52.63)

3 讨论

肝癌尤其是 HDHCC 若能早发现、早诊断并积极治疗可获得极佳的预后。医学影像技术的进步使得更小的、更早的肝内结节得以发现,但结节的性质最终需要病理检查来确诊。病理临床实践中对 HDHCC 与 DN 的鉴别一直是学界热点和难点。鉴别的难点在于两者在形态学上比较接近或类似,实际工作中往往凭借阅片人的主观经验来区分。因此,寻求相对客观的单独或联合免疫组化标记作为鉴别辅助手段一直方兴未艾。近年来,国内外针对 HCC 采用免疫组化标记及基因检测等手段,以期揭示从肝硬化到异型增生,再到早期 HDHCC 过程中具有预警价值的客观指标,一些零散的、单个或少数联合的癌变相关抗原的免疫组化标记辅助鉴别诊断研究被报道^[3-8]。受相关报道启发,本研究对 HDHCC 标本行 GPC-3、CD10、CD147、CD138 联合标记,与瘤周 DN 相对照来观察两者表达有无差异性。

GPC-3 属硫酸类肝素糖蛋白聚糖家族成员,其一般在人体胚胎期表达,成人中则仅在胎盘组织内高表达,在正常肝脏组织中无 GPC-3 表达^[9-10]。本研究显示 GPC-3 蛋白在 HDHCC 组织中高表达,癌周 DN 内低表达或不表达,与文献^[5,11]报道结果一致。CD10 属金属蛋白酶家族成员,为 II 型单链穿膜糖蛋白,参与细胞生长、成熟、分化、增殖、迁移等生理调节过程,在肿瘤的发生发展中起重要生物学效应。本研究发现 CD10 在 HDHCC 细胞质及沿肝窦

呈小管状、分支状着色,且癌组织较周围异型增生组织高表达,与 KADOTA 等^[12]报道一致,对肝癌与异型增生具鉴别诊断价值。CD147 又称细胞外基质金属蛋白酶诱导因子,属免疫球蛋白超家族成员。CD147 广泛存在于多种细胞中,不仅参与胚胎发育、生精过程、淋巴细胞发育,还在肿瘤侵袭转化、心脏功能衰竭、肝组织损伤、病毒侵入细胞等多种生理病理过程中起重要作用^[13-15]。近年来,有关 CD147 在致癌作用、诱导免疫逃逸及靶向治疗方面的研究取得了较大进展^[16-19]。本研究显示 CD147 在 HDHCC 组织内的表达高于癌周 DN,提示 CD147 参

与肝癌发生过程且对 HDHCC 与 HD 的鉴别诊断具有一定价值。CD138 属整合素家族成员,为细胞表面跨膜乙酰肝素蛋白聚糖分子,起连接细胞表面介导与细胞外配体(如瘤细胞周围细胞上的血小板内皮细胞黏附因子等受体)作用,可维持细胞黏附稳定性,与细胞迁移密切相关^[20]。本研究显示肝细胞癌 CD138 表达缺失,与文献^[21]报道肝细胞癌变过程中可能与细胞-基质间黏附作用降低,细胞失去生长接触抑制功能而无限增殖有关。故 CD138 标记亦可以用于 HDHCC 与 HD 的鉴别诊断。

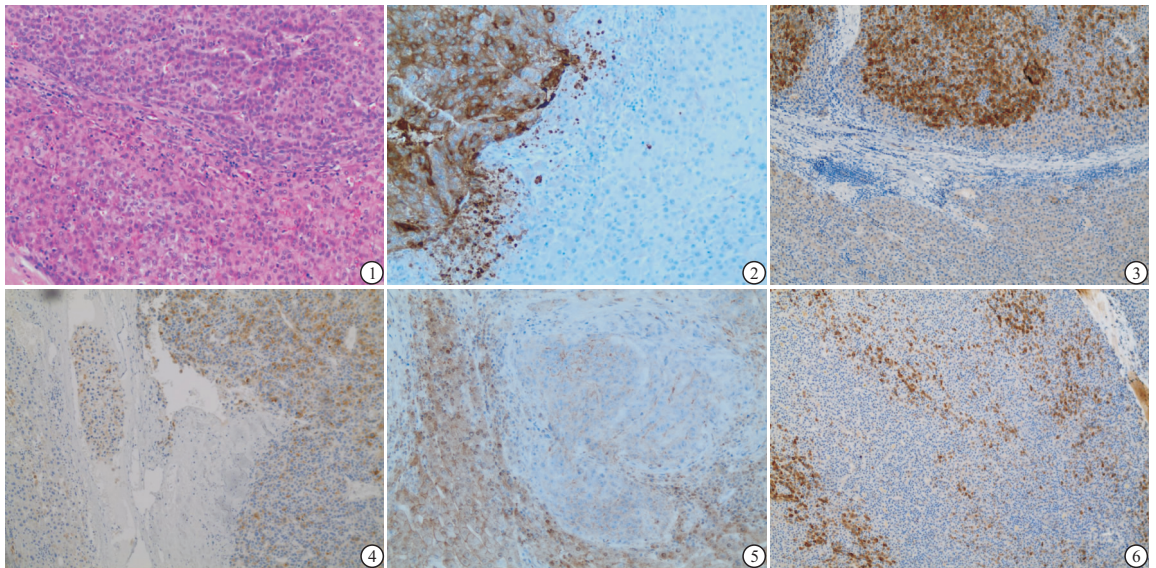


图1 HDHCC与HD组织形态学HE染色 图2 GPC-3免疫组化标记示HDHCC强阳性, DN阴性(DAB显色) 图3 CD10免疫组化标记示HDHCC强阳性, DN微弱阳性(DAB显色) 图4 CD147免疫组化标记示HDHCC强阳性, DN微弱阳性(DAB显色) 图5 CD138免疫组化标记示HDHCC微弱阳性, DN中等强度阳性(DAB显色) 图6 CD10免疫组化标记示癌结节内呈杂乱不均性分布(DAB显色)

综上所述, GPC-3、CD147、CD10 及 CD138 在 HDHCC 及癌旁 DN 中的表达差异明显,联合标记可明显提升两者鉴别的敏感度,且特异度较高。在肝活检组织形态学基础上进行 GPC-3、CD147、CD10 及 CD138 联合检测可作为客观辅助手段用于 HDHCC 与 HD 的鉴别诊断。

[参 考 文 献]

- [1] XIAO W, ZHAO S, SHEN F, *et al.* Overexpression of CD147 is associated with poor prognosis, tumor cell migration and ERK signaling pathway activation in hepatocellular carcinoma[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(3):2637.
- [2] CAO W, SHAMA M, IMAM R, *et al.* Study on diagnostic values of astrocyte elevated gene 1 (AEG-1) and glypican 3 (GPC-3) in hepatocellular carcinoma[J]. *Am J Clin Pathol*, 2019, 152(5):647.
- [3] WEE A. Diagnostic utility of immunohistochemistry in hepatocellular carcinoma, its variants and their mimics[J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2006, 14(3):266.
- [4] WANG HL, ANATELLI F, ZHAI QJ, *et al.* Glypican-3 as a useful

diagnostic marker that distinguishes hepatocellular carcinoma from benign hepatocellular mass lesions[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2008, 132(11):1723.

- [5] EL-SAADANY S, EL-DEMERDASH T, HELMY A, *et al.* Diagnostic value of Glypican-3 for hepatocellular carcinomas[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2018, 19(3):811.
- [6] COSTON WM, LOERA S, LAU SK, *et al.* Distinction of hepatocellular carcinoma from benign hepatic mimickers using Glypican-3 and CD34 immunohistochemistry[J]. *Am J Surg Pathol*, 2008, 32(3):433.
- [7] DI TOMMASO L, DESTRO A, SEOK JK, *et al.* The application of markers (HSP70 GPC3 and GS) in liver biopsies is useful for detection of hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2009, 50(4):746.
- [8] DI TOMMASO L, DESTRO A, FABBRIS V, *et al.* Diagnostic accuracy of clathrin heavy chain staining in a marker panel for the diagnosis of small hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2011, 53(5):1549.
- [9] CUI X, LI Z, GAO PJ, *et al.* Prognostic value of glypican-3 in patients with HBV-associated hepatocellular carcinoma after liver

- transplantation[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2015, 14(2): 157.
- [10] GERAMIZADEH B, SEIRFAR N. Diagnostic value of Arginase-1 and Glypican-3 in differential diagnosis of hepatocellular carcinoma, cholangiocarcinoma and metastatic carcinoma of liver [J]. *Hepat Mon*, 2015, 15(7): e30336.
- [11] 王娟, 张曙光, 孙颖, 等. 免疫组化检测 GPC-3 与 CK-19 在肝细胞癌诊断中的应用价值[J]. *临床和实验医学杂志*, 2017, 16(14): 1398.
- [12] KADOTA K, VILLENA-VARGAS J, NITADORI JI, *et al.* Tumoral CD10 Expression Correlates with Aggressive Histology and Prognosis in Patients with Malignant Pleural Mesothelioma [J]. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22(9): 3136.
- [13] DING P, ZHANG X, JIN S, *et al.* CD147 functions as the signaling receptor for extracellular divalent copper in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(31): 51151.
- [14] ZHU R, ZHANG CG, LIU Y, *et al.* CD147 monoclonal antibody mediated by chitosan nanoparticles loaded with adherin enhances antineoplastic activity and cellular uptake in liver cancer cells [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 17904.
- [15] 杨捷, 周晴, 徐小勇, 等. CD147 与肝癌关系的研究进展 [J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2015, 22(10): 1279.
- [16] YONG YL, ZHANG RY, LIU ZK, *et al.* Gamma-secretase complex-dependent intramembrane proteolysis of CD147 regulates the Notch1 signaling pathway in hepatocellular carcinoma [J]. *J Pathol*, 2019, 249(2): 255.
- [17] QI S, SU L, LI J, *et al.* YIPF2 is a novel Rab-GDP that enhances HCC malignant phenotypes by facilitating CD147 endocytic recycle [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(6): 462.
- [18] JIN J, WANG SJ, CUI J, *et al.* Hypo-phosphorylated CD147 promotes migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells and predicts a poor prognosis [J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2019, 42(4): 537.
- [19] WANG L, LI S, YU X, *et al.* α 2, 6-Sialylation promotes immune escape in hepatocarcinoma cells by regulating T cell functions and CD147/MMP signaling [J]. *J Physiol Biochem*, 2019, 75(2): 199.
- [20] VON MINCKWITZ G, PFITZNER BM, MÜLLER V, *et al.* 21P * Expression of CD138 / syndecan-1 in triple-negative breast Cancer-correlative study of GeparSixto [J]. *Annals Oncol*, 2015, 26(suppl 3): iii6.
- [21] MARTELLO M, REMONDINI D, BORSI E, *et al.* Abstract 3189: The alternate activation of hedgehog pathway, either in CD138⁺ or in CD138-CD19⁺ multiple myeloma primary cells, impacts on disease outcome [J]. *Cancer Research*, 2016, 76(14 Suppl): 3189.

(本文编辑 周洋)

[文章编号] 1000-2200(2019)12-1663-03

· 临床医学 ·

冠心病合并 2 型糖尿病病人心电图活动平板试验结果分析

顾 勇¹, 黄宇理², 李佳佳³, 宋兵蕾¹

[摘要] 目的: 总结冠心病合并 2 型糖尿病病人心电图活动平板试验(TET)结果。方法: 确诊为冠心病且符合条件行 TET 检查的 150 例病人作为研究对象, 按照是否合并 2 型糖尿病分为观察组(冠心病合并 2 型糖尿病)和对照组(单纯冠心病组), 比较 TET 检查结果。结果: 观察组 TET 阳性 60 例, 对照组 39 例, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 观察组 TET 阳性者病程 ≥ 5 年 32 例, < 5 年 28 例, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 观察组 TET 阳性者高糖化血红蛋白 37 例, 糖化血红蛋白正常 23 例, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论: TET 具有无创伤、操作简单、较为安全的优点, 对冠心病合并 2 型糖尿病病人的冠状动脉病变诊断具有较高的应用价值。

[关键词] 冠心病; 2 型糖尿病; 心电图活动平板试验

[中图分类号] R 541.4

[文献标志码] A

DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2019.12.023

心血管疾病是糖尿病病人的首要死因^[1-2], 约占糖尿病病人死亡原因的 3/4, 已成为现今危害我国人民健康的杀手。随着近年来我国人民生活水平的不断提高, 饮食结构的改变, 冠心病合并 2 型糖尿

病病人有逐年增高趋势。同时, 糖尿病又是心血管事件的主要危险因素^[3], 冠心病合并 2 型糖尿病病人的冠心病症状隐匿, 极易首发恶性心血管不良事件^[4], 因而如何及早发现并治疗此类高危病人对临床工作有重要意义。本文就心电图活动平板试验(TET)在冠心病合并 2 型糖尿病病人的应用价值作一探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 - 2015 年入住我院心血

[收稿日期] 2017 - 05 - 06 [修回日期] 2019 - 10 - 20

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院, 1 心电图室, 2. 心血管内科, 3. 手术室, 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 顾 勇(1983 -), 男, 医师。

[通信作者] 黄宇理, 硕士研究生导师, 主任医师, 副教授。E-mail: 13956382692@163.com