



DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2023.02.12

文章编号: 2095-1264(2023)02-0205-05

前列腺特异性膜抗原表达水平对原发性肝细胞癌 预后的预测价值

程秋华, 符国珍*

(中南大学湘雅医学院附属海口医院 肝胆外科, 海南 海口, 570208)

摘要: **目的** 探讨前列腺特异性膜抗原(PSMA)表达水平与原发性肝细胞癌(HCC)临床病理特征和预后的关系。**方法** 回顾性分析2014年1月—2015年12月中南大学湘雅医学院附属海口医院收治的100例HCC患者的临床资料,采用免疫组织化学染色(IHC)法检测HCC组织中PSMA和血管标记蛋白CD31的表达,根据PSMA表达水平将患者分为PSMA低表达组($n=72$)和PSMA高表达组($n=28$),分析HCC组织中PSMA表达水平与临床病理特征及预后的关系。采用Cox比例风险模型对HCC患者的预后影响因素进行单因素和多因素分析。**结果** HCC组织中PSMA表达水平与分化程度、T分期、淋巴结转移、TNM分期、Ki-67、随访期间远处转移、BCLC分期有关($P<0.05$)。单因素、多因素Cox回归分析结果显示,PSMA高表达、TNM分期Ⅲ—Ⅳ期、Ki-67 $\geq 10\%$ 、BCLC分期Ⅲ—Ⅳ期是HCC患者预后的独立危险因素($P<0.05$)。Kaplan-Meier生存曲线结果显示,PSMA低表达患者5年生存率较PSMA高表达患者显著延长,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** PSMA高表达不利于HCC患者的预后,其或可作为HCC的预后指标和血管治疗靶点。

关键词: 原发性肝细胞癌; 前列腺特异性膜抗原; 临床病理特征; 预后

中图分类号: R735.7 **文献标识码:** A

Prognostic value of prostate-specific membrane antigen expression level for hepatocellular carcinoma

CHENG Qiuhua, FU Guozhen*

(Department of Hepatobiliary Surgery, Haikou Affiliated Hospital of Central South University Xiangya School of Medicine, Haikou, 570208, Hainan, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between the expression of prostate-specific membrane antigen (PSMA) and the clinicopathological features and prognosis of hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** The clinical data of 100 HCC patients admitted to the Haikou Affiliated Hospital of Central South University Xiangya School of Medicine between Jan. 2014 and Dec. 2015 were analyzed retrospectively. The expressions of PSMA and CD31 were detected by immunohistochemistry staining (IHC). According to the expression level of PSMA, the patients were divided into the low PSMA expression group ($n=72$) and high PSMA expression group ($n=28$). The relationship of the expression level of PSMA with the clinicopathological features and prognosis was analyzed. Cox proportional risk model was used to analyze the prognostic factors of HCC patients. **Results** The expression level of PSMA in HCC was related to the differentiation degree, T stage, lymph node metastasis, TNM stage, Ki-67, distant metastasis during follow-up and BCLC stage ($P<0.05$). Univariate and multivariate Cox regression analysis showed that the highly-expressed PSMA, TNM stage Ⅲ—Ⅳ, Ki-67 $\geq 10\%$, and BCLC stage Ⅲ—Ⅳ were independent risk factors for prognosis of HCC patients ($P<0.05$). The results of Kaplan-Meier survival curve showed that the 5-year survival rate of patients with lowly-expressed PSMA in HCC was significantly higher

作者简介:程秋华,男,硕士,主治医师,研究方向:肝、胆、胰肿瘤及门脉高压外科治疗。

*通信作者:符国珍,男,博士,主任医师,研究方向:肝、胆、胰、脾疑难病诊断及治疗。

than that of patients with highly-expressed PSMA ($P<0.05$). **Conclusion** The highly-expressed PSMA is not conducive to the prognosis of patients with HCC. PSMA may be a new prognostic index and target of vascular therapy for HCC patients.

Keywords: Hepatocellular carcinoma; Prostate-specific membrane antigen; Clinicopathological feature; Prognosis

前言

肿瘤血管生成是实体瘤的共同特征,肿瘤相关血管系统是实体瘤生长、侵袭和转移的病理基础。通过干扰血管生长因子或直接靶向肿瘤相关血管中的特异性表达分子抑制肿瘤血管生成已被证实是肿瘤治疗的有效策略^[1]。然而,非恶性组织中也可表达相同的血管生长因子。因此,识别肿瘤相关血管系统中特异性表达的分子标志物对促进实体瘤的精准靶向治疗具有重要意义。前列腺特异性膜抗原(prostate-specific membrane antigen, PSMA)属于Ⅱ型跨膜蛋白,含有大量细胞外结构域、跨膜结构域以及一个短的细胞内结构域^[2]。大量研究报道证实,PSMA 几乎在前列腺癌的所有阶段均表达上调,并被认为是前列腺癌理想的治疗靶点^[3]。近年来,越来越多的文献报道 PSMA 在乳腺癌、肺癌、胃癌、结直肠癌、胰腺癌等多种肿瘤的血管系统中也有表达^[4-8]。然而,PSMA 在原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中的研究报道较少。本研究收集 100 例 HCC 患者的临床资料,探讨 HCC 组织中 PSMA 表达水平与患者临床病理特征和预后的关系,以期 HCC 临床治疗靶点的选择提供循证医学证据。

1 资料与方法

1.1 研究对象 回顾性分析 2014 年 1 月—2015 年 12 月中南大学湘雅医学院附属海口医院收治的 100 例 HCC 患者的临床资料。纳入标准:病理标本完整,术后病理检查证实为 HCC;术前未接受过射频消融术、放化疗及介入治疗;无其他脏器严重疾病。排除标准:伴心、肝、脾、肺、肾等重要脏器损伤;合并胆管细胞癌、肝转移癌等其它恶性肿瘤;合并呼吸系统或血液系统疾病;伴精神疾病及语言功能障碍;合并急、慢性感染;临床及随访资料不完整。本研究已获得我院医学伦理委员会批准。

1.2 研究方法 PSMA 和 CD31 免疫组织化学染色(immunohistochemical staining, IHC)方法:组织标本经 10% 甲醛固定,常规石蜡包埋并切片;60℃烘片,常规二甲苯脱蜡,梯度乙醇复水,柠檬酸缓冲液高压修复抗原,3% 双氧水封闭后滴加一抗与辣根过

氧化物酶标记羊抗兔 IgG 二抗,染色并封片,其他操作按照试剂盒说明书进行。一抗兔抗人 PSMA、CD31 单克隆抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司,IHC 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术公司。本研究选取 CD31 作为定位参考,PSMA 及 CD31 同时定位于 HCC 血管内皮细胞,阳性染色呈浅黄色、黄色、棕黄色。

PSMA 表达强度判定方法:显微镜下观察组织切片上每个小块的所有区域,判定染色颜色和染色血管的比例。有 CD31 染色区域未见区域内 PSMA 染色标记 0 分,有 CD31 染色区域可见 1%~50% 区域内 PSMA 染色标记 1 分,有 CD31 染色区域可见 >50% 区域内 PSMA 染色标记 2 分。定义 0~1 分为 PSMA 低表达,2 分为 PSMA 高表达^[9]。

随访:采用电话或门诊的方式对所有患者进行为期 5 年的随访,随访至 2020 年 3 月 1 日或患者死亡,记录两组患者的总生存时间(overall survival, OS)。

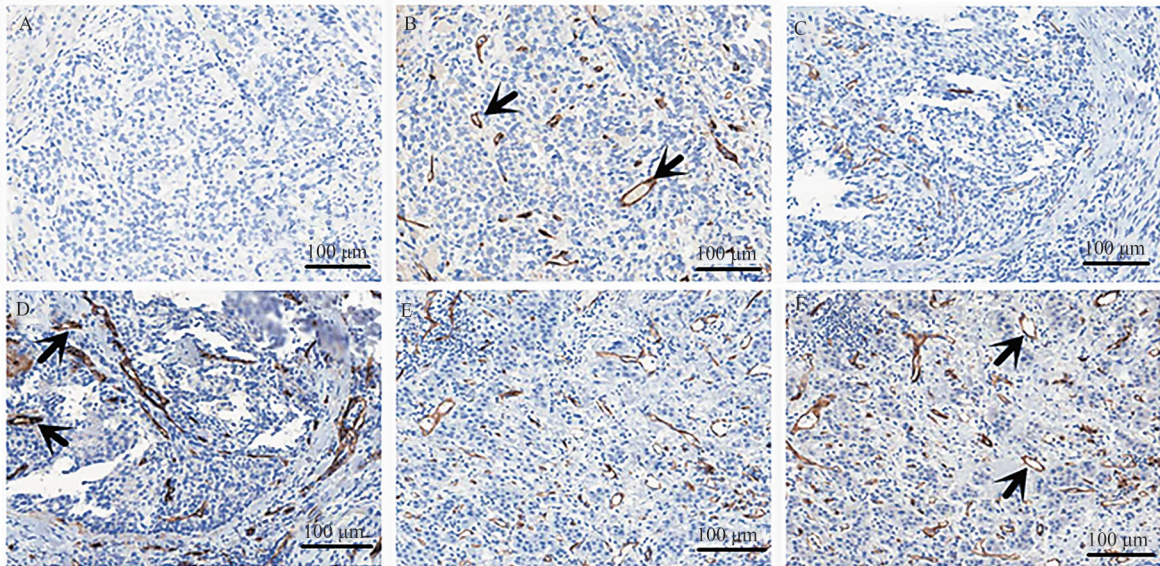
1.3 统计学分析 应用 SPSS 18.0 软件进行统计分析。计数资料以例数表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Cox 比例风险模型对预后影响因素进行单因素、多因素分析;Kaplan-Meier 法绘制生存曲线;Log-rank 法进行差异性检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PSMA 在 HCC 组织中的表达 PSMA 表达于 HCC 组织的血管内皮细胞。100 例患者中,PSMA 低表达 72 例、高表达 28 例(图 1)。

2.2 HCC 组织中 PSMA 表达水平与临床病理特征的关系 HCC 组织中 PSMA 表达水平与患者性别、年龄无关($P>0.05$),与分化程度、T 分期、淋巴结转移、TNM 分期、Ki-67、随访期间远处转移、BCLC 分期有关($P<0.05$)(表 1)。

2.3 影响 HCC 患者预后的单因素、多因素 Cox 回归分析 单因素分析结果显示,PSMA、T 分期、淋巴结转移、随访期间远处转移、TNM 分期、分化程度、Ki-67、BCLC 分期与 HCC 患者的 OS 有关($P<0.05$),性别、年龄与 HCC 患者的 OS 无关($P>0.05$)。将单因素分析结果中有统计学意义的变量进一步行多



注：(A) PSMA 在 HCC 肿瘤相关血管中无表达；(C) PSMA 在 HCC 肿瘤相关血管中阳性表达率≤50%；(E) PSMA 在 HCC 肿瘤相关血管中阳性表达率>50%；(B、D、F)同一视野下，CD31 在 HCC 肿瘤相关血管中的表达。

Note: (A) No PSMA expression in HCC tumor-related vessels; (C) The positive rate of PSMA expression was ≤50% in HCC tumor-related vessels; (E) The positive rate of PSMA expression was >50% in HCC tumor-related vessels; (B, D, F) Positive CD31 expression in HCC tumor-related vessels under the same vision.

图 1 PSMA 和 CD31 在 HCC 肿瘤相关血管中的表达
Fig. 1 Expressions of PSMA and CD31 in HCC tumor-related vessels

表 1 HCC 组织中 PSMA 表达水平与临床病理特征的关系

Tab. 1 Relationship between the expression level of PSMA and clinicopathological characteristics in HCC					
因素	分类	PSMA 低表达(n=72)	PSMA 高表达(n=28)	χ^2	P
性别	男	46	20	0.511	0.475
	女	26	8		
年龄/岁	<60	52	20	0.214	0.643
	≥60	20	8		
分化程度	高分化	36	5	8.610	0.003
	低、中分化	36	23		
T 分期	T ₁ -T ₂	65	20	5.618	0.018
	T ₃ -T ₄	7	8		
淋巴结转移	N ₀	65	20	5.618	0.018
	N ₁	7	8		
TNM 分期	I - II	62	17	7.838	0.005
	III - IV	10	11		
Ki-67	<10%	29	5	4.516	0.033
	≥10%	43	23		
随访期间远处转移	M ₀	68	20	10.113	0.001
	M ₁	4	8		
BCLC 分期	I - II	60	17	5.824	0.016
	III - IV	12	11		

因素分析,结果显示,PSMA 高表达、TNM 分期Ⅲ-Ⅳ期、Ki-67≥10%、BCLC 分期Ⅲ-Ⅳ期是 HCC 患者预后的独立危险因素($P<0.05$)(表 2)。

2.4 HCC 组织中 PSMA 表达水平与预后的关系

随访时间为 12 ~ 63 个月,平均(50.15±12.45)个月。随访结束时,PSMA 低表达组患者的生存率为 18.06% (13/72),高于 PSMA 高表达组的 10.71% (3/28),但差异无统计学意义($\chi^2=0.354$, $P=0.552$)。

表 2 影响 HCC 患者预后的 Cox 回归分析

Tab. 2 Cox regression analysis of prognosis in patients with HCC

影响因素	单因素分析			多因素分析		
	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P
性别(女 vs. 男)	1.092	0.701 ~ 1.688	0.672	1.122	0.688 ~ 1.802	0.611
年龄(≥ 60 岁 vs. < 60 岁)	1.218	0.778 ~ 1.902	0.374	1.359	0.826 ~ 2.212	0.201
PSMA(高表达 vs. 低表达)	2.844	1.768 ~ 4.526	0.000	2.415	1.268 ~ 4.588	0.006
T 分期(T_3 - T_4 vs. T_1 - T_2)	4.665	2.603 ~ 8.441	0.000	0.974	0.335 ~ 2.804	0.955
淋巴结转移(N_1 vs. N_0)	6.001	3.154 ~ 10.998	0.000	0.855	0.325 ~ 2.331	0.751
随访期间远处转移(M_1 vs. M_0)	3.701	1.111 ~ 11.895	0.028	0.715	0.192 ~ 2.779	0.648
TNM 分期(Ⅲ-Ⅳ vs. Ⅰ-Ⅱ)	6.889	3.845 ~ 12.157	0.000	5.441	1.515 ~ 17.625	0.006
分化程度(高分化 vs. 低、中分化)	1.542	1.002 ~ 2.352	0.042	1.061	0.559 ~ 1.898	0.826
Ki-67($\geq 10\%$ vs. $< 10\%$)	2.077	1.305 ~ 3.177	0.002	1.644	1.001 ~ 2.706	0.044
BCLC 分期(Ⅲ-Ⅳ vs. Ⅰ-Ⅱ)	6.441	3.412 ~ 11.254	0.000	5.015	1.142 ~ 15.234	0.007

PSMA 低表达组患者 5 年生存率高于 PSMA 高表达组, 差异有统计学意义($\chi^2=8.652$, $P=0.000$)(图 2)。

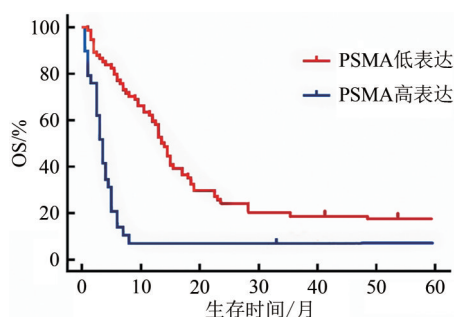


图 2 PSMA 低表达组和高表达组患者的生存曲线

Fig. 2 Survival curves of HCC patients with low expression and high expression of PSMA

3 讨论

实体瘤的生长严重依赖于其获得血液供应的能力, 靶向破坏肿瘤血管是实体瘤治疗的有效策略之一。血管生成抑制剂已被证实在大多数肿瘤中具有有效的抗肿瘤活性, 因此, 寻找在肿瘤相关血管系统中特异性表达的新的分子靶点或许是临床研究的侧重点。PSMA 是一种横跨细胞膜的 II 型上皮细胞糖蛋白, 最初被发现在正常前列腺组织中表达^[3]。后来有研究发现, PSMA 在不同类型的前列腺组织中均有表达, 在前列腺癌中过表达^[10], 并被证实是前列腺癌的理想治疗靶点^[3]。近年来, 研究发现 PSMA 可在多种实体瘤的肿瘤相关血管中选择性表达^[4-8]。因此, PSMA 或可成为实体瘤抗血管生成治疗的有效靶点。

PSMA 表达水平与肿瘤患者临床病理特征相关, 并可预测某些肿瘤患者的预后。Wernicke 等^[11]研究发现, PSMA 在乳腺癌相关新生血管中呈阳性表达, 其表达水平与肿瘤大小、Ki-67 增殖指数和 10 年生存率显著相关。Haffner 等^[12]研究显示, PSMA 高表达及低表达口腔鳞状细胞癌患者的 OS(18.2 个月 vs. 77.3 个月)存在显著差异, PSMA 高表达可作为不良预后的独立预测指标。Jiao 等^[9]研究发现, PSMA 在 HCC 新生血管中高表达, 其表达水平与肿瘤分期、分化程度、淋巴结转移、Ki-67 增殖指数等临床病理特征有关, 且 PSMA 高表达的 HCC 患者预后较差。CD31 是血管源性肿瘤标志物, 本研究将其作为定位参考, 发现 PSMA 及 CD31 共同定位于 HCC 组织的血管内皮细胞, 阳性染色呈浅黄色、黄色、棕黄色, PSMA 与 CD31 共表达, 说明 PSMA 在 HCC 新生血管生成中可能起到一定作用。本研究还发现, HCC 组织中 PSMA 表达水平与性别、年龄无关, 与分化程度、T 分期、淋巴结转移、TNM 分期、Ki-67、随访期间远处转移、BCLC 分期有关, 表明 PSMA 对 HCC 的病情评估和恶性程度判断具有一定的临床参考价值。此外, PSMA 低表达患者 5 年生存率显著高于 PSMA 高表达患者, 且 PSMA 高表达不利于 HCC 患者的预后。

肿瘤相关血管系统是实体瘤生长、侵袭和转移的病理基础, 而 PSMA 在血管生成中起着重要作用。动物实验证实, PSMA 表达阴性的动物血管生成严重受阻^[13]。PSMA 可能通过涉及层粘连蛋白特异性整合素和 p21 活化激酶的自动调节回路促进内皮细胞侵袭和血管生成^[14]。此外, 基质金属蛋白酶 2 和

PSMA 可将层粘连蛋白依次消化成小肽,通过整合素 $\alpha 6 \beta 1$ 和黏着斑激酶增强内皮细胞的黏附和迁移,从而促进血管生成^[15]。但 PSMA 调控血管生成的具体机制目前尚未明确,需进一步研究。PSMA 具有一个大的胞外结构域,可被抗体、肽、RNA 适体和小分子识别,使其成为理想的治疗靶点^[16-17]。由于 PSMA 在 HCC 血管系统中有表达,这些 PSMA 靶向策略也可能适用于 HCC 治疗。

综上所述,HCC 组织中 PSMA 高表达不利于患者预后,PSMA 或可作为新的 HCC 预后指标和抗血管生成治疗靶点。但本研究为单中心研究,样本量小,还需要多中心、大样本研究结果加以佐证。

参考文献

- [1] ZHAO S, ZHANG Y, WANG L, et al. Adeno-associated virus 2 mediated gene transfer of vascular endothelial growth factor Trap: a new treatment option for glioma [J]. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20(1): 65-72. DOI: 10.1080/15384047.2018.1504725.
- [2] KASOHA M, UNGER C, SOLOMAYER E F, et al. Prostate-specific membrane antigen (PSMA) expression in breast cancer and its metastases [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2017, 34(8): 479-490. DOI: 10.1007/s10585-018-9878-x.
- [3] 汪静. 68Ga/177Lu-PSMA 在前列腺癌靶向诊疗中的作用[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2019, 39(2): 65-66. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.02.001.
- [4] BRADBURY R, JIANG W G, CUI Y X. MDM2 and PSMA play inhibitory roles in metastatic breast cancer cells through regulation of matrix metalloproteinases [J]. *Anticancer Res*, 2016, 36(3): 1143-1151.
- [5] SCHMIDT L H, HEITKÖTTER B, SCHULZE A B, et al. Prostate specific membrane antigen (PSMA) expression in non-small cell lung cancer [J]. *PLoS One*, 2017, 12(10): e0186280. DOI: 10.1371/journal.pone.0186280.
- [6] WANG L, LI L, GUO Y, et al. Construction and in vitro/in vivo targeting of PSMA-targeted nanoscale microbubbles in prostate cancer [J]. *Prostate*, 2013, 73(11): 1147-1158. DOI: 10.1002/pros.22663.
- [7] HANGAARD L, JOCHUMSEN M R, VENDELBO M H, et al. Metastases from colorectal cancer avid on 68Ga-PSMA PET/CT [J]. *Clin Nucl Med*, 2017, 42(7): 532-533. DOI: 10.1097/RLU.0000000000001700.
- [8] REN H, ZHANG H, WANG X, et al. Prostate-specific membrane antigen as a marker of pancreatic cancer cells [J]. *Med Oncol*, 2014, 31(3): 857. DOI: 10.1007/s12032-014-0857-z.
- [9] JIAO D, LI Y, YANG F, et al. Expression of prostate-specific membrane antigen in tumor-associated vasculature predicts poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Transl Gastroenterol*, 2019, 10(5): 1-7. DOI: 10.14309/ctg.0000000000000041.
- [10] 张庆皎. 前列腺癌组织中 PSMA 的表达变化及意义[J]. *山东医药*, 2009, 49(38): 50-51. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2009.38.023.
- [11] WERNICKE A G, VARMA S, GREENWOOD E A, et al. Prostate-specific membrane antigen expression in tumor-associated vasculature of breast cancers [J]. *APMIS*, 2014, 122(6): 482-489. DOI: 10.1111/apm.12195.
- [12] HAFFNER M C, LAIMER J, CHAUX A, et al. High expression of prostate-specific membrane antigen in the tumor-associated neo-vasculature is associated with worse prognosis in squamous cell carcinoma of the oral cavity [J]. *Mod Pathol*, 2012, 25(8): 1079-1085. DOI: 10.1038/modpathol.2012.66.
- [13] CONWAY R E, PETROVIC N, LI Z, et al. Prostate-specific membrane antigen regulates angiogenesis by modulating integrin signal transduction [J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(14): 5310-5324. DOI: 10.1128/mcb.00084-06.
- [14] CONWAY R E, JOINER K, PATTERSON A, et al. Prostate specific membrane antigen produces pro-angiogenic laminin peptides downstream of matrix metalloproteinase-2 [J]. *Angiogenesis*, 2013, 16(4): 847-860. DOI: 10.1007/s10456-013-9360-y.
- [15] CONWAY R E, ROJAS C, ALT J, et al. Prostate-specific membrane antigen (PSMA)-mediated laminin proteolysis generates a pro-angiogenic peptide [J]. *Angiogenesis*, 2016, 19(4): 487-500. DOI: 10.1007/s10456-016-9521-x.
- [16] BENEŠOVÁ M, SCHÄFER M, BAUDER-WÜST U, et al. Pre-clinical evaluation of a tailor-made DOTA-conjugated PSMA inhibitor with optimized linker moiety for imaging and endoradiotherapy of prostate cancer [J]. *J Nucl Med*, 2015, 56(6): 914-920. DOI: 10.2967/jnumed.114.147413.
- [17] 陈利星, 邹思娟, 朱小华. 放射性核素标记前列腺特异性膜抗原小分子抑制剂靶向前列腺癌的显像与治疗[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2018, 38(1): 53-58. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.01.014.

校稿:李征 于静

本文引用格式: 程秋华, 符国珍. 前列腺特异性膜抗原表达水平对原发性肝细胞癌预后的预测价值[J]. *肿瘤药学*, 2023, 13(2): 205-209. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2023.02.12.

Cite this article as: CHENG Qiuhua, FU Guozhen. Prognostic value of prostate-specific membrane antigen expression level for hepatocellular carcinoma [J]. *Anti-tumor Pharmacy*, 2023, 13(2): 205-209. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2023.02.12.