

CCT亚基 γ 在人肝细胞癌组织中的表达及意义

谭晓虹, 曹骥, 欧超, 汪多平

谭晓虹, 广西医科大学附属肿瘤医院化疗三科 广西壮
族自治区南宁市 530021

曹骥, 欧超, 广西医科大学附属肿瘤医院实验研究部 广西壮
族自治区南宁市 530021

汪多平, 广西医科大学附属肿瘤医院头颈外科 广西南宁市
530021

广西科技厅自然科学基金资助项目, No. 桂科回0991017

作者贡献分布: 此课题由谭晓虹、曹骥及欧超设计; 研究过程由
谭晓虹、欧超及汪多平操作完成; 数据分析和论文写作由谭晓
虹与欧超完成。

通讯作者: 曹骥, 副研究员, 530021, 广西壮族自治区南宁市, 广
西医科大学附属肿瘤医院实验研究部. caojicn@yahoo.com.cn

电话: 0771-5330855

收稿日期: 2011-08-08 修回日期: 2011-10-02

接受日期: 2011-10-06 在线出版日期: 2011-10-08

Significance of expression of CCT subunit γ in human hepatocellular carcinoma

Xiao-Hong Tan, Ji Cao, Chao Ou, Duo-Ping Wang

Xiao-Hong Tan, the Third Department of Chemotherapy, Can-
cer Hospital Affiliated to Guangxi Medical University, Nan-
ning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Ji Cao, Chao Ou, Experimental Research Department, Can-
cer Hospital Affiliated to Guangxi Medical University, Nan-
ning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Duo-Ping Wang, Department of Head and Neck Surgery,
Cancer Hospital Affiliated to Guangxi Medical University,
Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region,
China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi,
Gui Ke Hui No.0991017

Correspondence to: Ji Cao, Associate Professor, Exper-
imental Research Department, Cancer Hospital Affiliated
to Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi
Zhuang Autonomous Region, China. caojicn@yahoo.com.cn

Received: 2011-08-08 Revised: 2011-10-02

Accepted: 2011-10-06 Published online: 2011-10-08

Abstract

AIM: To evaluate the significance of expression
of CCT subunit γ in human hepatocellular carci-
noma (HCC).

METHODS: The expression of CCT subunit γ
was detected by immunohistochemistry in 35
cases of HCC and tumor adjacent tissue and 12
cases of normal liver tissue.

RESULTS: The positive rate of CCT subunit γ
expression in HCC was significantly higher than

those in tumor adjacent and normal liver tissues
(88.57% vs 62.86%, 41.67%, both $P < 0.05$). The
expression of CCT subunit γ was not correlated
with age, hepatitis B surface antigen, portal
venous tumor emboli, AFP level, tumor size or
clinical stage (all $P > 0.05$), but was negatively
correlated with tumor differentiation ($P < 0.05$).

CONCLUSION: CCT subunit γ is overexpressed
in HCC, and CCT overexpression may be related
with HCC carcinogenesis.

Key Words: CCT subunit γ ; Hepatocellular carci-
noma; Immunohistochemistry

Tan XH, Cao J, Ou C, Wang DP. Significance of expression
of CCT subunit γ in human hepatocellular carcinoma.
Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2011; 19(28): 2987-2990

摘要

目的: 探讨CCT亚基 γ 在人肝细胞癌组织中的
表达和意义。

方法: 用免疫组织化学一步法检测35例肝癌及
癌旁组织、12例正常肝组织中的CCT亚基 γ 表达。

结果: CCT亚基 γ 在肝癌组织的阳性表达率为
88.57%(31/35), 在癌旁组织中的阳性表达率为
62.86%(22/35), 在正常肝组织中的阳性表达率
为41.67%(5/12)。CCT亚基 γ 在肝癌组织中的表
达明显高于癌旁组织和正常肝组织, 具有显
著性差异($P < 0.05$)。CCT亚基 γ 的表达与肝癌患
者年龄、乙肝表面抗原、有无门静脉癌栓、
AFP水平、肿瘤直径及临床分期均不相关
($P > 0.05$), 但CCT亚基 γ 的过度表达与肝癌患者
肿瘤细胞分化程度相关($P < 0.05$), 肿瘤细胞分
化程度越低, CCT亚基 γ 的表达越高。

结论: CCT亚基 γ 在人肝细胞癌组织中表达增
高可能与肝细胞的癌变有关。

关键词: CCT亚基 γ ; 肝细胞癌; 免疫组织化学

谭晓虹, 曹骥, 欧超, 汪多平. CCT亚基 γ 在人肝细胞癌组织中的
表达及意义. 世界华人消化杂志 2011; 19(28): 2987-2990
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2987.asp>

■背景资料

肝癌是一种常见
的恶性肿瘤, 严
重危害着人类健
康. 肝癌的发生和
发展是一个多因
素、多步骤、多
基因作用的复杂
过程, 找出肝癌中
具有异常表达的
基因或蛋白并对
其进行研究, 对肝
癌的诊治与治疗
具有重要的意义.
研究表明分子伴
侣蛋白可能参与
了肝癌的发生发
展过程。

■同行评议者

周晓武, 副主任医
师, 中国人民解放军
空军总医院普
通外科

■研究前沿

研究发现肝癌、胃癌、结直肠癌等肿瘤组织中出現分子伴侣蛋白的异常表达,但其具体机制尚不明。

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种常见的恶性肿瘤,严重危害着人类健康。2002年世界卫生组织发表的全球肿瘤统计分析报告表明,全世界新患肝癌人数约为626 000,死亡人数约为598 000;新患肝癌病例中的55%发生在中国^[1]。肝癌的发生和发展是一个多因素、多步骤、多基因作用的复杂过程,分子伴侣蛋白可能参与了肝癌的发生发展过程^[2,3]。伴侣蛋白携带t复合多肽1(the chaperonin containing tail-less complex polypeptide 1, CCT),是存在于真核细胞胞质中重要的分子伴侣^[4],主要功能是能够特异地帮助细胞内新生的肌动蛋白、微管蛋白、周期蛋白E等折叠^[5,6]。哺乳动物CCT由7-9种不同的亚基组成,而且每个亚基的作用互不相同^[7]。目前国内外关于CCT亚基 γ 和肝细胞癌的研究报道很少,本实验通过免疫组化检测人HCC、癌旁组织和正常肝组织中CCT亚基 γ 的表达,初步探讨CCT亚基 γ 在HCC发生和发展过程中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 收集广西医科大学附属肿瘤医院2006-2010年初治,经手术切除,有完整临床背景资料的肝细胞癌及癌旁组织石蜡标本各35例。男33例,女2例,年龄24-60(平均年龄47)岁,术后均经病理证实为肝细胞性肝癌。12例正常肝组织作为对照。兔抗CCT3(CCT亚基 γ)多克隆抗体购自美国Proteintech Group, Inc,鼠抗兔IgG购自天津津脉基因测绘技术有限公司,DAB显色试剂盒购自福州迈新公司,磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L, pH7.5)、柠檬酸盐抗原修复液(0.01 mol/L, pH6.0)为国产分析纯试剂,用双蒸水配置。

1.2 方法 常规制片,按免疫组织化学一步法进行染色,用已知标准片作为阳性对照,以磷酸缓冲液代替一抗作阴性对照。由两名经验丰富的病理科医师对结果进行判断。随机采集10个具有代表性的视野进行计数,取平均数值。结果判断标准:细胞质出现棕黄色颗粒为阳性细胞,(-)为无阳性细胞,弱阳性(+)为阳性细胞数 $\leq 25\%$,中等阳性(++)为阳性细胞数25%-50%,强阳性(+++)为阳性细胞数 $\geq 50\%$ 。

统计学处理 实验结果采用SPSS16.0统计软件进行统计分析,计数资料的差异性分析使用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CCT亚基 γ 在肝癌组织、癌旁组织、正常肝组织中的表达 CCT亚基 γ 阳性表达定位于细胞质(图1)。肝癌组织中CCT亚基 γ 阳性细胞呈弥漫性或小巢状分布,CCT亚基 γ 阳性表达率(88.57%)明显高于癌旁组织(62.86%)及正常肝组织(41.67%)(表1)。

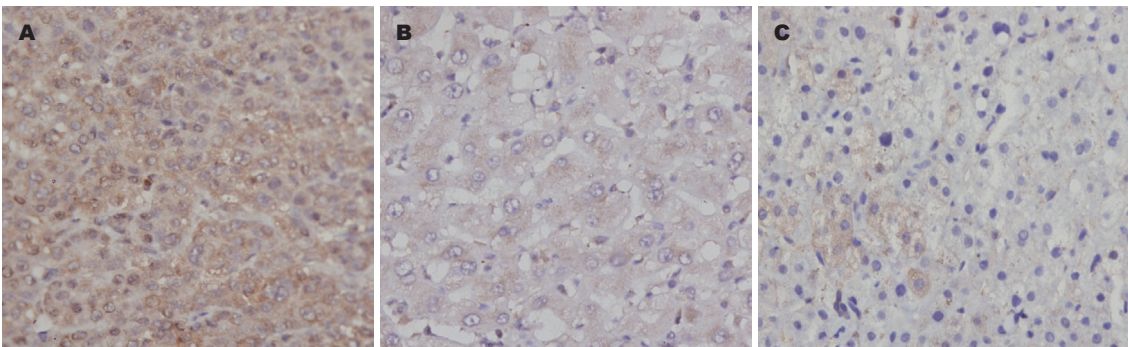
2.2 CCT亚基 γ 与肝癌临床病理特征的关系 CCT亚基 γ 的过度表达与肝癌患者年龄、乙肝表面抗原、有无门静脉癌栓、AFP水平、肿瘤直径及临床分期均不相关($P>0.05$),但CCT亚基 γ 的过度表达与肿瘤细胞分化程度相关($P<0.05$),即肿瘤细胞分化越低,CCT亚基 γ 的过度表达率就越高(表2)。

3 讨论

分子伴侣素或称分子伴侣蛋白(chaperonin)是一类能特异地结合和释放底物蛋白的蛋白分子,他们帮助底物蛋白实现正确折叠、寡聚体组装、向特定细胞器转运或变换活化/去活化构象等。分子伴侣素是进化上最为保守的蛋白之一,从结构上可以分为两类,一类见于原核细胞和真核细胞器,以GroEL和HSP60为代表;另一类见于古细菌和真核细胞,以thermosome和CCT为代表。CCT是一种广泛存在于真核细胞胞质中的异型杂合寡聚蛋白,由8个亚基CCT α , β , γ , δ , ϵ , ζ , η 和 θ 组成,在肌动蛋白、微管蛋白的组装和折叠中发挥重要的作用^[8-10]。

目前国内外对分子伴侣蛋白与肿瘤关系的研究陆续均有报道,陈志芬等^[11]报道HSP60在胃癌中的阳性率和过表达率均明显高于胃癌前病变,因此认为HSP60可能与胃癌的发生、发展有关。Coghlin等^[12]采用比较蛋白组学检测到CCT亚基 β 和亚基 ϵ 在结直肠癌中过表达,并且CCT亚基 β 的表达与病人的预后有关。王廷峰等^[13]报道CCT6A在结直肠癌组织中高表达,与肿瘤浸润深度和肿瘤大小有关,认为CCT6A可作为诊断结直肠癌的潜在标志物。王葵等^[14]用cDNA芯片研究人原发性肝癌伴和不伴门静脉癌栓形成的基因表达差异,结果发现CCT亚基 γ 基因表达共同上调。Yokota等^[15]通过免疫组化检测发现肝细胞癌和结肠癌组织高表达CCT亚基 β ,并与癌旁组织表达存在显著性差异。

本实验发现肝癌组织中CCT亚基 γ 表达明显高于癌旁组织及正常肝组织,并呈现正常肝组织、癌旁组织、肝癌组织表达逐渐增高的趋势,



■相关报道
王葵等用cDNA芯片研究人原发性肝癌伴和不伴门静脉癌栓形成的基因表达差异,结果发现CCT亚基 γ 基因表达共同上调。

图 1 CCT亚基 γ 在肝癌组织、肝癌癌旁组织、正常肝组织中的表达(免疫组织化学 $\times 200$). A: 肝癌组织; B: 癌旁组织; C: 正常肝组织.

表 1 CCT亚基 γ 在肝癌组织、癌旁组织和正常肝组织中的表达								
分组	<i>n</i>	+++	++	+	-	阳性表达率(%)	χ^2 值	<i>P</i> 值
肝癌组织	35	11	17	3	4	88.57	11.3258	0.0035
癌旁组织	35	2	10	10	13	62.86		
正常肝组织	12	0	0	5	7	41.67		

表 2 CCT亚基 γ 与肝癌临床病理特征的关系 <i>n</i> (%)				
临床特征	<i>n</i>	(++)-(+++)	表达 (-)-(+)表达	<i>P</i> 值
年龄(岁)				0.689
≤47	22	17(77.3)	5(22.7)	0.381
>47	13	11(84.6)	2(15.4)	
HBsAg				
阳性	25	21(84.0)	4(16.0)	0.008
阴性	10	7(70.0)	3(30.0)	
分化程度				
高分化	3	1(33.3)	2(66.7)	0.383
中分化	21	16(76.2)	5(23.8)	
低分化	11	11(100.0)	0(0.0)	
门静脉癌栓				0.415
有	13	9(69.2)	4(30.8)	
无	22	19(86.4)	3(13.6)	
AFP水平(μ g/L)				0.381
<400	19	14(73.7)	5(26.3)	
≥400	16	14(87.5)	2(12.5)	
肿瘤直径				0.415
<5cm	10	7(70.0)	3(30.0)	
≥5cm	25	21(84.0)	4(16.0)	
临床分期				
I-II	16	14(87.5)	2(12.5)	
III-IV	19	14(73.7)	5(26.3)	

这提示CCT亚基 γ 有可能参与了肝细胞癌的发生发展. CCT亚基 γ 的过度表达与肝癌细胞分化程度相关, 细胞分化越低, CCT亚基 γ 的过度表达率就越高. 推测CCT亚基 γ 有可能通过影响细胞肌

动蛋白、微管蛋白的组装和折叠, 导致微管蛋白和微丝蛋白失去正常构象而参与细胞的恶性转化^[16].

本研究通过免疫组织化学检测发现肝癌组织中CCT亚基 γ 表达增高并与肿瘤细胞分化程度呈负相关, 初步表明CCT亚基 γ 可能参与肝癌的分子发病机制, 但具体机制尚待深入研究.

4 参考文献

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108
- 2 Pang R, Tse E, Poon RT. Molecular pathways in hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett* 2006; 240: 157-169
- 3 李冬, 张建中. 肝细胞癌基础研究的某些进展. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1592-1601
- 4 Frydman J. Folding of newly translated proteins in vivo: the role of molecular chaperones. *Annu Rev Biochem* 2001; 70: 603-647
- 5 Won KA, Schumacher RJ, Farr GW, Horwich AL, Reed SI. Maturation of human cyclin E requires the function of eukaryotic chaperonin CCT. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 7584-7589
- 6 McCallum CD, Do H, Johnson AE, Frydman J. The interaction of the chaperonin tailless complex polypeptide 1 (TCP1) ring complex (TRiC) with ribosome-bound nascent chains examined using photo-cross-linking. *J Cell Biol* 2000; 149: 591-602
- 7 常晓燕, 陈杰. 伴侣素CCT的结构及与肌动蛋白、微管蛋白的作用机制. *国外医学·生理病理科学与临床分册* 2003; 23: 596-598
- 8 Fares MA, Wolfe KH. Positive selection and sub-functionalization of duplicated CCT chaperonin subunits. *Mol Biol Evol* 2003; 20: 1588-1597
- 9 Valpuesta JM, Martín-Benito J, Gómez-Puertas P,

■同行评价

本文应用免疫组织化学初步研究了CCT亚基 γ 在肝癌组织中的表达及意义,具有一定的新颖性,有一定的临床实用价值.

- Carrascosa JL, Willison KR. Structure and function of a protein folding machine: the eukaryotic cytosolic chaperonin CCT. *FEBS Lett* 2002; 529: 11-16
- 10 Kubota H. Function and regulation of cytosolic molecular chaperone CCT. *Vitam Horm* 2002; 65: 313-331
- 11 陈志芬, 邓长生, 夏冰, 朱尤庆, 曾俊, 龚玲玲. HSP60和CD44V6在胃腺癌中的表达及其意义. *世界华人消化杂志* 2001; 9: 988-991
- 12 Coghlin C, Carpenter B, Dundas SR, Lawrie LC, Telfer C, Murray GI. Characterization and over-expression of chaperonin t-complex proteins in colorectal cancer. *J Pathol* 2006; 210: 351-357
- 13 王廷峰, 冯波, 马君俊, 王磊, 郑民华, 陆爱国. 伴侣素CCT6A在结肠直肠癌中的表达及其意义. *外科理论与实践* 2009; 14: 335-338
- 14 王葵, 沈锋, 丛文铭, 施乐华, 吴孟超. 肝癌伴门静脉癌栓的基因表达研究. *癌症进展* 2005; 3: 417-422
- 15 Yokota S, Yamamoto Y, Shimizu K, Momoi H, Kamikawa T, Yamaoka Y, Yanagi H, Yura T, Kubota H. Increased expression of cytosolic chaperonin CCT in human hepatocellular and colonic carcinoma. *Cell Stress Chaperones* 2001; 6: 345-350
- 16 张瑜, 张怡, 林秋华. 孕激素对子宫内膜癌细胞系Ishikawa影响的蛋白质组学研究. *南方医科大学学报* 2006; 26: 1110-1113

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

● 消息 ●

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.625

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果11月26日由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布.《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示,2009年《世界华人消化杂志》总被引频次3 009次,影响因子0.625,综合评价总分49.4分,分别位居内科学类48种期刊的第6位、第9位、第6位,分别位居1 946种中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)的第87位、第378位、第351位;其他指标:即年指标0.112,他引率0.79,引用刊数473种,扩散因子15.72,权威因子1 170.03,被引半衰期4.0,来源文献量752,文献选出率0.93,地区分布数30,机构分布数30,基金论文比0.39,海外论文比0.01.

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊). (编辑部主任:李军亮 2010-11-28)