

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.08.037

◇临床医学◇

## 线粒体解偶联蛋白2在肝癌组织中的表达 及其与紫杉醇化疗耐药的关系

赵义

作者单位:仪陇县人民医院肿瘤内科,四川 南充 637600

**摘要:**目的 研究线粒体解偶联蛋白2(uncoupling protein2,UCP2)在肝癌组织中表达的临床意义及其与紫杉醇化疗耐药的关系。方法 选取2012年2月至2013年2月在仪陇县人民医院住院的肝癌病人120例,比较不同病理资料的UCP2水平,通过对病人展开为期5年的随访,比较不同预后及紫杉醇的耐药情况。结果 肝癌组织UCP2阳性表达72例,表达率60.00%,高于癌旁组织的12例,表达率10.00%,不同组织分化、淋巴结转移、TNM分期、生存情况的UCP2水平及紫杉醇耐药情况比较,均差异有统计学意义( $P < 0.05$ );不同组织分化、淋巴结转移、TNM分期、生存情况及UCP2水平均为紫杉醇耐药的独立危险因素,UCP2水平与紫杉醇耐药情况呈正相关( $P < 0.05$ )。结论 UCP2阳性肝癌病人紫杉醇耐药性较高,生存情况较差,可作为病人预后评估的依据。

**关键词:**肝肿瘤; 抗药性,肿瘤; 线粒体膜转运蛋白质类; 线粒体解偶联蛋白2; 紫杉醇

## The clinical significance of UCP2 expression in hepatocellular carcinoma and its relationship with resistance to paclitaxel chemotherapy

ZHAO Yi

Author Affiliation: Department of Oncology, People's Hospital of Yilong County, Nanchong, Sichuan 637600, China

**Abstract: Objective** To explore the clinical significance of uncoupling protein 2 (UCP2) expression in hepatocellular carcinoma and its relationship with resistance to paclitaxel chemotherapy. **Methods** A hundred and twenty patients with hepatocellular carcinoma hospitalized in People's Hospital of Yilong County from February 2012 to February 2013 were selected as the research subjects. UCP2 levels of patients with different pathological data were compared after admission. And the patients were followed up for five years to compare prognoses and paclitaxel resistance. **Results** The positive expression of UCP2 in hepatocellular carcinoma tissues was significantly higher than that in normal liver tissues [72 cases (60.00%) vs. 12 cases (10.00%)]. There were significant differences in UCP2 levels and paclitaxel resistance in different tissue differentiation, lymph node metastasis, TNM staging, and survival ( $P < 0.05$ ). Different tissue differentiation, lymph node metastasis, TNM staging, survival and UCP2 level were independent risk factors for paclitaxel resistance, and UCP2 level was positively correlated with paclitaxel resistance ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The patients with UCP2 positive hepatocellular carcinoma have high resistance to paclitaxel and poor survival, which can be used as a basis for prognosis evaluation.

**Key words:** Liver neoplasms; Drug resistance, neoplasm; Mitochondrial membrane transport proteins; Mitochondrial uncoupling protein 2; Paclitaxel

肝癌是临床常见的肿瘤疾病之一,有研究报道显示,肝癌是全球第三大癌症相关性死因疾病,中国的肝癌病人约占世界的55%<sup>[1]</sup>,且其发病率呈现逐年上升趋势。目前对肝癌的治疗主要采取手术治疗,但是手术治疗仅适用于早期肝癌病人,所以对病人的及早发现以及预后评估具有重要意义。线粒体解偶联蛋白2(uncoupling protein2,UCP2)是线粒体解偶联蛋白家族成员之一,通过对肿瘤细胞的三羧酸循环产生热量<sup>[2]</sup>,抑制活性氧簇(reactive

oxygen species,ROS)产生,降低自由基产生,提升病人巨噬细胞免疫应激反应。在对病人的化疗过程中,紫杉醇被认为是目前最为优秀的抗癌天然物质<sup>[3]</sup>,其显著的生物活性对于病人血清肿瘤标志物水平的下降具有积极的作用。但是随着病人的治疗,紫杉醇的化疗耐药性呈现上升趋势<sup>[4]</sup>,本研究将通过UCP2在肝癌组织中表达的临床意义及其与紫杉醇化疗耐药的关系分析,为临床化疗耐药性预防提供科学依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取2012年2月至2013年2月在仪陇县人民医院住院的肝癌病人120例,随访时间从手术之日开始算起,对病人开展长达5年的随访,以病人的死亡作为终点事件,与疾病无关的死亡作为失访,平均随访时间为 $(58.72 \pm 10.22)$ 月;男性59例,女性61例,年龄 $(53.48 \pm 12.59)$ 岁,体质量指数(BMI)为 $(24.06 \pm 3.76)$ kg/m<sup>2</sup>;低分化肝癌61例,中分化肝癌30例,高分化肝癌29例,TNM分期:I期37例,II期83例。所有研究对象均对研究内容知情并签署知情同意书。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

纳入标准:①符合肝癌诊断标准<sup>[5]</sup>;②预计生存时间>6个月;③KPS<sup>[6]</sup>评分均≥70分;④所有病人均为早期肝癌,化疗方案均为紫杉醇联合奥沙利铂;⑤入组前,所有病人均进行手术治疗。排除标准:①心、肝、肾功能严重不全者;②存在交流障碍的病人;③血常规异常病人。

**1.2 研究方法** 病人入组后比较不同病理资料的UCP2水平,通过对病人展开为期5年的电话随访,比较不同预后以及紫杉醇的耐药情况。

### 1.3 观察指标

**1.3.1 UCP2水平检测** 收集手术过程中的肝癌组织及癌旁正常肝组织,进行石蜡包埋后,4 μm连续切片,对切片进行脱蜡水化处理,使用枸橼酸进行高温高压修复,对内源性过氧化酶进行封闭后,滴加一抗,-4℃24 h后,彻底清洗后滴加鼠二抗,37℃40 min后,使用DAB显色液进行显色,滴加苏木精后进行封片判定。免疫组化结果以高倍镜下,胞质内出现棕色颗粒为阳性标准,随机选取5个视野,每个视野观察100个细胞,观察阳性细胞的比例,比例在15%以下为阴性,比例在15%及以上为阳性。

**1.3.2 不同病理资料的UCP2水平比较** 分别针对不同年龄、性别、组织分化程度、肝内转移情况、TNM分期、淋巴结转移、生存情况以及紫杉醇耐药情况的UCP2水平进行比较。紫杉醇耐药判定<sup>[7]</sup>:连续使用2个疗程紫杉醇联合奥沙利铂化疗方案,未见肿瘤缩小甚至肿瘤增大。

**1.3.3 影响紫杉醇耐药的多因素分析** 使用logistic回归分析,分别以组织分化、淋巴结转移、TNM分期、生存情况和UCP2水平作为自变量,是否发生紫杉醇耐药为因变量,分析紫杉醇耐药的影响因素。

**1.3.4 Spearman相关性分析** 分别对以上影响紫杉醇耐药的多因素进行相关性分析。

**1.3.5 UCP2对肝癌病人生存状态的影响** 使用生存函数对不同UCP2表达情况病人的生存状态进行分析。

**1.4 统计学方法** 所有数据均使用统计软件SPSS 16.0进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 $t$ 检验;计数资料以%表示,采用 $\chi^2$ 检验,对单因素分析有统计学意义的,进一步行logistic回归分析,生存状态分析采用Kaplan-Meier函数, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 UCP2水平检测** 肝癌组织的UCP2的阳性表达情况明显高于癌旁正常肝组织,差异有统计学意义( $\chi^2 = 65.931, P = 0.000$ )。见表1。染色结果显示UCP2主要表达在细胞质中,并且正常肝组织中几乎无染色,而在肝癌组织中,细胞UCP2免疫组化呈现黄褐色,见图1。

表1 肝癌120例正常肝组织与肝癌组织  
UCP2水平检测/例(%)

| 组别    | UCP2(+)   | UCP2(-)    |
|-------|-----------|------------|
| 正常肝组织 | 12(10.00) | 108(90.00) |
| 肝癌组织  | 72(60.00) | 48(40.00)  |

注:UCP2为线粒体解偶联蛋白

**2.2 不同病理资料的UCP2水平比较** 不同组织分化、淋巴结转移、TNM分期、生存情况及紫杉醇耐药情况的UCP2水平比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

**2.3 影响紫杉醇耐药的多因素分析** 不同组织分化、淋巴结转移、TNM分期、生存情况以及UCP2水平均为紫杉醇耐药的独立危险因素,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3,4。

**2.4 Spearman相关性分析** 通过对以上影响因素的相关性分析,病人的紫杉醇耐药情况分别与组织分化、淋巴结转移、TNM分期、生存情况以及UCP2水平呈现正相关( $P < 0.05$ )。见表5。

**2.5 UP2、组织分化、颈淋巴结转移和TNM分期与病人的生存状态分析** 通过生存函数分析,UP2阳性病人的生存时间显著低于UP2阴性病人,差异有统计学意义。见表6、图2。

## 3 讨论

肝癌时我国常见的肿瘤性疾病之一<sup>[8]</sup>,具有显著的地域性,好发40~50岁之间<sup>[9]</sup>,有研究报道显示<sup>[10]</sup>,肝癌患病率呈现逐年上升趋势,多数病人病情发展较为隐匿,一旦被确诊,一般都已经发展为中晚期肝癌,所以在临床早期发现肝癌,对于病人

表2 肝癌120例不同病理资料线粒体解偶联蛋白(UCP2)水平比较/例

| 组别    | 例数 | UCP2(+) | UCP2(-) | $\chi^2$ 值 | P值    |
|-------|----|---------|---------|------------|-------|
| 年龄    |    |         |         | 0.000      | 1.000 |
| ≥55岁  | 35 | 21      | 14      |            |       |
| <55岁  | 85 | 51      | 34      |            |       |
| 性别    |    |         |         | 0.051      | 0.823 |
| 男     | 59 | 36      | 23      |            |       |
| 女     | 61 | 36      | 25      |            |       |
| 组织分化  |    |         |         | 64.821     | 0.000 |
| 低     | 61 | 15      | 46      |            |       |
| 高、中   | 59 | 57      | 2       |            |       |
| 淋巴结转移 |    |         |         | 17.291     | 0.000 |
| 有     | 50 | 41      | 9       |            |       |
| 无     | 70 | 31      | 39      |            |       |
| TNM分期 |    |         |         | 6.360      | 0.011 |
| I期    | 37 | 19      | 18      |            |       |
| II期   | 83 | 62      | 21      |            |       |
| 肝内转移  |    |         |         | 2.091      | 0.148 |
| 有     | 48 | 25      | 23      |            |       |
| 无     | 72 | 47      | 25      |            |       |
| 随访情况  |    |         |         | 43.46      | 0.000 |
| 5年生存  | 66 | 22      | 44      |            |       |
| 5年死亡  | 54 | 50      | 4       |            |       |
| 耐药情况  |    |         |         | 7.871      | 0.005 |
| 耐药    | 49 | 22      | 27      |            |       |
| 非耐药   | 71 | 50      | 21      |            |       |

表3 肝癌120例影响紫杉醇耐药相关因素的变量赋值

| 变量     | 赋值情况               |
|--------|--------------------|
| 组织分化   | 0 = 低分化, 1 = 高、中分化 |
| 淋巴结转移  | 0 = 无转移, 1 = 有转移   |
| TNM分期  | 0 = I期, 1 = II期    |
| 生存情况   | 0 = 5年生存, 1 = 5年死亡 |
| UCP2水平 | 0 = 阴性, 1 = 阳性     |

注:UCP2为线粒体解偶联蛋白

表4 肝癌120例影响紫杉醇耐药的多因素分析

| 变量     | $\beta$ 值 | 标准误   | Wald $\chi^2$ 值 | P值    | OR(95%CI)          |
|--------|-----------|-------|-----------------|-------|--------------------|
| 组织分化   | 1.018     | 2.361 | 1.322           | 0.001 | 1.019(1.012~1.234) |
| 淋巴结转移  | 1.321     | 3.232 | 1.255           | 0.002 | 1.232(1.001~1.987) |
| TNM分期  | 0.281     | 4.654 | 1.398           | 0.000 | 1.489(1.043~2.143) |
| 生存情况   | 1.233     | 3.221 | 1.422           | 0.000 | 1.443(1.021~2.109) |
| UCP2水平 | 1.532     | 3.221 | 1.541           | 0.000 | 1.229(1.032~2.113) |

注:UCP2为线粒体解偶联蛋白

表5 肝癌120例紫杉醇耐药情况Spearman相关性分析

| 变量     | r值    | P值    |
|--------|-------|-------|
| 组织分化   | 0.231 | 0.011 |
| 淋巴结转移  | 0.235 | 0.001 |
| TNM分期  | 0.281 | 0.002 |
| 生存情况   | 0.469 | 0.000 |
| UCP2水平 | 0.368 | 0.000 |

注:UCP2为线粒体解偶联蛋白

表6 肝癌120例线粒体解偶联蛋白(UP2)、组织分化、颈淋巴结转移和TNM分期与病人的生存状态分析

| 变量     | 生存状态Survival condition |              |       |
|--------|------------------------|--------------|-------|
|        | HR                     | 95%CI        | P值    |
| UP2    | 0.581                  | 0.191~0.173  | 0.001 |
| 组织分化   | 0.688                  | 0.211~0.962  | 0.000 |
| 颈淋巴结转移 | 0.164                  | 0.110~0.625  | 0.000 |
| TNM分期  | 9.132                  | 5.234~10.369 | 0.000 |

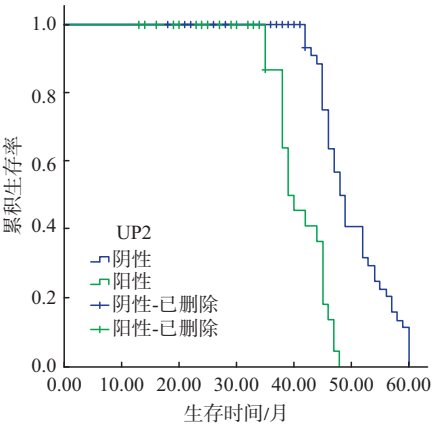


图2 肝癌120例线粒体解偶联蛋白(UP2)与病人的生存状态分析

的治疗以及预后具有积极的意义。而在肝癌的治疗过程中,由于耐药情况的时有发生,常常在病人的治疗中不能及时发现,甚至贻误病情,所以,在临床治疗中,通过对常规化疗方案病人的耐药性相关性分析,及时早期对病人的耐药情况进行综合评估,对于病人的治疗具有积极的意义<sup>[11]</sup>。

人体细胞的能量提供主要来源于线粒体,而线粒体的氧化磷酸化是其产生能量的主要方式,细胞内的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸和还原性二核苷酸的高能电子通过细胞线粒体的呼吸链进行能量释放,使高能电子与三磷酸腺苷再次进行磷酸化,最终形成人体易于吸收利用的能量<sup>[12]</sup>。但是,该种能量代谢过程并不能实现高效运转,必须通过UCP2的耦联作用才可实现<sup>[13]</sup>。本研究发现,癌变组织的UCP2阳性表达情况显著高于癌旁组织( $P < 0.05$ ),

分析其原因,可能是在肿瘤细胞中,由于肿瘤细胞的恶性增长,能量需求较高,病人的UCPS的偶联作用异常表达,UCP2阳性表达与病人的肿瘤发展密切相关,氧化磷酸化主要集中线粒体内膜,而UCP2作为阴离子转运体,通过对质子的旁路回流,形成质子漏,介导肿瘤细胞的适应反应,而肿瘤细胞证实通过其适应性反应,避免了氧化簇对其的凋亡调控,形成肿瘤细胞的恶性增长。此外,本研究对比了两组病人的不同病理资料UCP2水平,发现和不同组织分化、淋巴结转移、TNM分期、生存情况以及紫杉醇耐药情况之间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),这进一步证实了UCP2参与了肝癌的进展。蒋滢蕻等<sup>[14]</sup>通过对结肠癌肿瘤病人的UCP2的基因多态性分析,病人的不良生存结局与UCP2的表达呈现正相关,与正常人相比,肿瘤病人的UCP2表达水平较高,与本研究结果一致。

紫杉醇是临床常用的抗肿瘤类药物,属于具有抗癌活性的二萜生物碱类化合物,紫杉醇在临床中肿瘤病人的化疗中起到重要作用,但是对于恶性程度较高病人,往往在进行化疗治疗中,病人的紫杉醇耐药情况凸显,在病人的治疗过程中,由于耐药情况的无法预知性,多数病人在进行化疗过程中,由于药物的耐药情况而贻误病情,所以在临床中,通过对病人的耐药情况早期进行综合识别,对于病人的治疗具有重要意义。本研究通过分析发现,病人的不同组织分化、淋巴结转移、TNM分期、生存情况以及UCP2水平均为紫杉醇耐药的独立危险因素,且与病人的耐药情况呈现正相关,分析认为,随着病人的病理检测恶性程度的升高,病人的耐药情况呈现上升趋势,恶性分化程度、淋巴结转移、生存情况的变差都是在对病人的不断化疗基础上出现的进行性发展,肿瘤细胞通过自身形态的改变增加其能量代谢水平,提高自身的存活能力,而在此过程中,耐药细胞成倍增长,甚至发生转移,病人处于S期细胞显著减少,病人的耐药情况显著增加。在未来的研究中,将病人的组织分化、淋巴结转移、TNM分期以及UCP2水平的量化研究,通过数据模型的综合评估,及时对病人的化疗药物进行调整,对于病人的治疗具有重要意义。

综上所述,UCP2阳性肝癌病人的紫杉醇耐药性较高,生存情况较差,可作为病人预后评估的

依据。

(本文图1见封三)

## 参考文献

- [1] 文丽梅,卢帅,吕国栋,等.过氧化氢诱导人肝癌细胞BEL7402产生氧化应激细胞模型的建立[J].安徽医药,2019,23(1):37-41.
- [2] 王艺,张海洋,应国光,等.胃腺癌组织中UCP2的表达及其对癌细胞生物学功能的影响[J].肿瘤防治研究,2018,45(4):215-220.
- [3] 黄颖滨,陈光宇,汪洋,等.沉默微小RNA-16通过激活核因子- $\kappa$ B通路介导肝癌细胞化疗耐药[J].中华实验外科杂志,2018,35(9):1654.
- [4] 徐雅玲,梁菁.紫杉醇对肝癌细胞HepG2和大鼠原代培养肝细胞增殖抑制和诱导凋亡作用的研究[J].中国药理学通报,2018,34(7):993-998.
- [5] 刘会春.中国原发性肝癌治疗指南解读[J].肝胆外科杂志,2013,21(1):12-14.
- [6] FIRAT S, BOUSAMRA M, GORE E, et al. Comorbidity and KPS are independent prognostic factors in stage I non-small-cell lung cancer[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2002, 52(4): 1047-1057.
- [7] 高海洋.克唑替尼耐药细胞H2228/CR对紫杉醇及顺铂的敏感性变化及机制[J].山东医药,2017,57(4):25-28.
- [8] 张磊,陈磊,陈杰,等.积雪草酸通过抑制耐药相关蛋白表达增强U87MG胶质瘤细胞对紫杉醇的敏感性[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2018,25(4):340-345.
- [9] MADREITER-SOKOLOWSKI CT, GYÖRFFY B, KLEC C, et al. UCP2 and PRMT1 are key prognostic markers for lung carcinoma patients[J]. Oncotarget, 2017, 8(46): 80278-80285.
- [10] SREEDHAR A, PETRUSKA P, MIRIYALA S, et al. UCP2 over-expression enhanced glycolysis via activation of PFKFB2 during skin cell transformation [J]. Oncotarget, 2017, 8 (56): 95504 - 95515. doi: 10.18632/oncotarget.20762.
- [11] MIAO Y, DONG Y, HUANG P, et al. Increasing UCP2 expression and decreasing NOX1/4 expression maintain chondrocyte phenotype by reducing reactive oxygen species production [J]. Oncotarget, 2017, 8(38): 63750-63763.
- [12] CARON A, LABBÉ SM, CARTER S, et al. Loss of UCP2 impairs cold-induced non-shivering thermogenesis by promoting a shift toward glucose utilization in brown adipose tissue [J]. Biochimie, 2017, 134: 118-126.
- [13] BRONDANI LA, RECH TH, BOELTER G, et al. UCP2 Expression is increased in pancreas from brain-dead donors and involved in cytokine-induced  $\beta$  cells apoptosis [J]. Transplantation, 2017, 101(3): e59-e67. DOI: 10.1097/TP.0000000000001292.
- [14] 蒋滢蕻,杨雅兰,杨婷,等.UCP2 rs659366位点多态性与结直肠癌术后患者生存结局的关系[J].浙江大学学报(医学版), 2018, 47(2): 143-149.

(收稿日期:2019-04-22,修回日期:2019-06-20)