



國立臺灣大學臨床醫學研究所

碩士論文

Graduate Institute of Clinical Medicine

College of Medicine

National Taiwan University

Master Thesis

RBMV基因的表現在人類肝細胞癌之預後所扮演的角色
The role of RNA binding motif on Y Chromosome (RBMV)
expression in the outcome of human hepatocellular carcinoma

高佩琪

Pei-Chi Kao

指導教授：張美惠 教授

Advisor: Professor Mei-Hwei Chang

中華民國 一零三年 八月

August 2014



國立臺灣大學碩士學位論文
口試委員會審定書

RBMY 基因的表現在人類肝細胞癌之預後所扮演的角色

The role of RNA binding motif on Y Chromosome (RBMY)
expression in the outcome of human hepatocellular carcinoma

本論文係高佩琪君 (P00421014) 在國立臺灣大學臨床醫學
研究所完成之碩士學位論文，於民國 103 年 07 月 28 日承下列
考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

張美惠

(簽名)

陳慧沁 (指導教授)

柯景勳

系主任、所長

高嘉宏

(簽名)

(是否須簽章依各院系所規定)

誌謝

感謝指導教授張美惠老師的指導，吳嘉峯醫師以及蔡慧慧博士在旁協助，李伯皇教授及鄭永銘教授的幫忙，還有感謝臺大公共衛生學院流行病學與預防醫學研究所李文宗教授及廖淑芬老師。感謝家人的支持。



中文摘要



〔研究背景及目的〕

肝臟惡性腫瘤是人類最好發的癌症之一，其中肝細胞癌與肝母細胞癌是最主要的兩種類型。研究顯示B型肝炎帶原是導致肝細胞癌的重要危險因子之一，台灣的研究顯示大約百分之八十的成人肝細胞癌和幾乎百分之百的孩童肝細胞癌與B型肝炎帶原有密切的關係。肝母細胞癌佔了小於五歲的孩童之原發肝腫瘤的百分之九十。肝癌好發於男性，在青春期之前的男童亦然，尤其是B型肝炎相關之肝癌男女比例特高，男女比介於二比一與七比一之間；而肝母細胞癌發生於男性的比例也是較高，其原因仍待研究。

RBMY基因位於所有哺乳類動物的Y染色體上，與男性精子發育有關。過去的研究發現，在一位患有肝細胞癌的孩童基因體中，RBMY基因被B型肝炎DNA所嵌入。後續研究也顯示利用基因反轉錄方法，在九十名罹患肝細胞癌的男性病患中，有三十二名(36%)患者的肝癌細胞組織，以及在六名罹患肝母細胞癌的男孩童中，有四名(67%)孩童的肝母細胞癌內，偵測到RBMY轉錄體的表現，但在同一病人的非癌性肝組織中則無。另外，也在活體小鼠的實驗中，發現到RBMY基因具有癌前病變及致癌性。本研究目的在於釐清RBMY基因的表現與人類肝細胞癌之預後，是否有相關聯存在。

〔研究方法〕

本研究收案 197 個患有肝細胞癌且在台大醫院接受開刀之男性病患當作基本研究組，他們的肝組織會藉由手術中而取得，並以冷凍方式包埋切片。另外也找來 75 位患有肝細胞癌且在台大醫院開刀之男性病患當作驗證組，他們的肝組織檢體是以福馬林固定的方式。所有個案的病歷記載皆詳細回顧並整理，包括病人的臨床表徵，腫瘤的美國癌症聯合委員會分期、病理組織分級，與病人存活情況。再利用免疫組織化學染色法的方法來偵測病人肝腫瘤細胞中，RBMY 蛋白質的表現情況，並且與他們的臨床及存活情況相互比較。



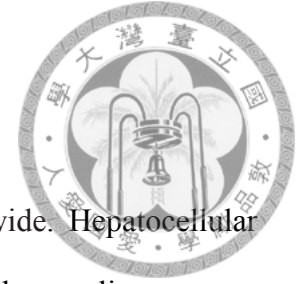
〔結果〕

共計有 143 位基本研究組的病人，藉由免疫組織化學染色法，可以在肝細胞癌細胞內檢測出 RBMY 的表現(72.6%)，包含了 RBMY 蛋白質表現在細胞核與細胞質兩個地方。RBMY 的表現與美國癌症聯合委員會分期 (AJCC) 較高，有顯著相關性($p=0.034$)，且有較低的存活率，尤其是細胞質內帶有 RBMY 表現的病人，其五年存活率較其他病患為最差($p=0.0027$)。而在驗證組也同樣證實了這樣的結果。

〔結論〕

肝細胞癌病人身上 RBMY 的表現，與美國癌症聯合委員會腫瘤分期較高有顯著的相關聯。另外，RBMY 也是個肝細胞癌的重要預後因子。

Abstract



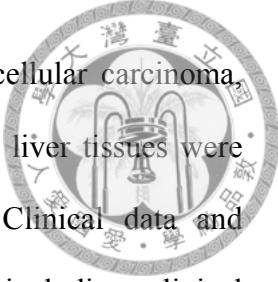
Background and aim:

Liver cancer remains one of the commonest cancers worldwide. Hepatocellular carcinoma (HCC) and hepatoblastoma (HB) are two major types of human liver cancer. Chronic infection with hepatitis B virus (HBV) has been closely associated with the development of HCC, which was found in around 80% of adult HCC and nearly 100% of childhood HCC. HB accounted for 90% of primary malignant liver tumor in children less than 5 years of age in Taiwan. Male predominance had been observed in both adult and childhood HCC, especially HBV-related HCC, with man to woman sex ratio ranging from 2:1 to 7:1. HB occurs in males significantly more frequently than it does in females and the reason remains obscure.

The RNA-binding motif gene on Y chromosome (RBMV gene), encoding a male germ cell-specific RNA binding protein associated with spermatogenesis, was found integrated by HBV DNA in a childhood HCC tissue. The RBMY transcripts, expressed exclusively in the testis of normal people, were detected by reverse transcription – polymerase chain reaction in 32 (36%) out of 90 male HCCs and in 4 (67%) of 6 male HB in a previous study. Nontumor liver counter parts were all negative for RBMY transcripts. Besides, previous study also revealed liver-specific RBMY transgenic mice developed hepatic pre-cancerous lesions, adenoma, and HCC. This study was aimed to evaluate the expression of RBMY in HCC patients to determine if a correlation between RBMY expression and the survival outcome existed.

Methods:

We enrolled total 197 male patients of hepatocellular carcinoma, from National Taiwan University Hospital as the baseline-study group. The HCC liver tissues were collected from the surgery and they were dealt with frozen embedded. To elaborate our



model further, an additional cohort of 75 male patients of hepatocellular carcinoma, from the same hospital was enrolled as the validation group. Their liver tissues were collected from the surgery and dealt with paraffin embedded. Clinical data and pathologic findings were obtained from the medical records, including clinical presentation, American joint committee on cancer (AJCC) pathologic staging system, tumor grading, and survival condition. We checked the RBMY protein expression status by immunohistochemistry assessment. We evaluated the correlation between the clinical presentation and survival condition with RBMY protein expression.

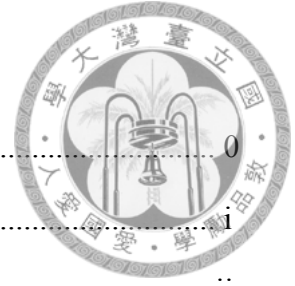
Results:

RBMY protein was expressed in 143 (72.6%) of baseline-study group, including two patterns of RBMY protein distribution within HCC hepatocytes, including nucleus and cytoplasm. RBMY protein expression correlated with high grade AJCC staging ($p=0.034$) and also contributed to poor prognosis trend, especially those with RBMY protein expression within the cytoplasm of hepatocytes ($p=0.0027$). We confirmed the similar results in the validation group.

Conclusions:

RBMY protein expression correlated with higher AJCC tumor stage and was a significant prognostic factor for human hepatocellular carcinoma.

目錄



口試委員會審定書.....	0
誌謝.....	i
中文摘要.....	ii
英文摘要.....	iv
緒論	1
研究方法與材料.....	4
結果.....	7
討論.....	10
展望.....	12
參考文獻.....	13
表格.....	19
圖片.....	24

[緒論]

肝臟的惡性腫瘤在現今的社會仍然相當普遍，不論是台灣、東南亞、甚至歐洲國家或是北美 (El-Serag HB, 2002; Bosch et al., 2004; Nordenstedt et al., 2010)，其中以肝細胞癌與肝母細胞癌為最主要的兩種惡性腫瘤。已經明確知道肝細胞癌的危險因子為 B 型肝炎病毒(HBV)感染、C 型肝炎病毒(HCV)感染、黃麴毒素、過量酒精的攝取，以及男性性別 (Montesano et al., 1997; El-Serag and Rudolph, 2007)等。慢性 B 型肝炎感染已經被證實會造成肝細胞癌的產生 (Beasley RP, 1982)，它會引起大約台灣百分之八十的成人肝細胞癌以及幾乎百分之百的孩童肝細胞癌 (Chen et al., 1986; Chang et al., 1989)。病例對照研究法也顯示出，慢性 B 型肝炎帶原者比起一般民眾有高達一百倍的風險可能形成肝細胞癌 (Beasley RP and Hwang LY, 1984; Beasley RP, 1988)。基因遺傳學的研究也發現，在肝細胞癌的染色體上，B 型肝炎病毒的遺傳物質 DNA 會嵌入肝癌細胞的遺傳物質 DNA，而造成肝癌細胞的 DNA 突變、減少、複製以及易位，種種複雜的關係存在 (Brechot et al. 2000; Buendia MA, 2000)。


肝細胞癌的發生率，不論年齡，性別的差異情形如下所述：男比女的比例約為二到四比一；尤其在 B 型肝炎感染引起之肝細胞癌更是明顯，其男比女的比例上升甚至可高到七比一 (Parkin et al., 2001; Kao et al., 2010; Yang et al., 2010)。另外也有研究指出，雄性激素的上升與受到 B 型肝炎病毒感染之男性病人得到肝細胞癌有很大的相關性 (Yu et al., 2000)。然而，罹患肝細胞癌，不分年齡，即使是在青春之前，男女比例仍約為四到五比一，這點很難單單用雄性激素的升高來解釋 (Ni et al., 1991; Chang et al., 2000)。近年來，分子醫學逐漸蓬勃發展中，已經有研究發現，雄性激素的受體表現與否和肝細胞癌的發生有密切的關係存在 (Ma WL and Hsu CL, 2008)。猜測性別的差異也許可以就三個部份來解釋：第一、男性比較容易暴露在肝癌的危險因子中，例如喝酒、較易受病毒性肝炎的感染；第二、雌性激素可以抑制某些細胞激素引發的發炎反應；第三、雄性激素會作用在雄性



激素的受體上，進而造成肝細胞的增生 (Naugler et al., 2007; Yang et al., 2010)。

肝母細胞癌佔了小於五歲的孩童，原發肝細胞惡性腫瘤的百分之九十以上，算是孩童原發惡性肝腫瘤中的第一名 (Darbari et al., 2003)。目前認為肝母細胞癌的癌細胞是源自於肝內幹細胞，具有分化能力，因此在肝母細胞癌的組織內仍可發現肝臟細胞或是膽管上皮細胞的特徵 (Schnater et al., 2003)。也曾經有研究發現，低出生體重兒 (Oue et al., 2003; McLaughlin et al., 2006)、Beckwith-Wiedemann 過度生長症候群 (Tan et al., 2006)、Gardner's syndrome 以及家族性的腺瘤息肉增生症 (Krush et al., 1988; Hirschman et al., 2005; Aretz et al., 2006)，這些因素都與肝母細胞癌發生率增加有關係。肝母細胞癌在男童的發生率也確實比女童還要來的高，目前對於這部分的機轉仍是尚未清楚 (Weinberg et al., 1983; Stiller et al., 2006)。

RBMV (RNA-binding motif (RRM) gene on Y chromosome) 基因，在所有哺乳類的 Y 染色體上可以找到。RBMV 蛋白質在 N 端有一段可與核糖核酸結合的結構區域 (RNA recognition motifs, RRM), C 端則具有由四個胺基酸 (serine, arginine, glycine and tyrosine) 組成的高度重覆片段，稱為 SRGY box (Ma et al., 1993)。RBMV 有一個同源體位於 X 染色體上，稱做 RBMX。一般情況下，RBMX 是廣泛性的表現與作用，而 RBMV 基因的轉錄體只會在男性的睪丸中生殖細胞核內 (即精原細胞、精母細胞、及圓形精子細胞) 有所表現，並不會在男性睪丸以外的組織，例如大腦、心臟、腎臟、肝臟、肺臟、前列腺體，或是骨骼肌中表現出來 (Ma et al., 1993; Elliott et al., 1997; Delbridge et al., 1999)。具有表現型的 RBMV 基因主要是位在 Y 染色體長臂上 AZFb (azoospermia factor) 區塊，如果 AZFb 區塊有微小的缺失，就會影響到 RBMV 的表現，進而會造成男性的不孕症 (Elliott et al., 1997; Foresta et al., 2001)。目前已知 RBMV 藉由和 SR 蛋白質或是 STAR (signal transduction and activation of RNA family) 蛋白質相互作用，進而調節生殖細胞內核糖核酸選擇性剪接、或是轉錄前的處理過程，但確切的機制仍尚在研究中 (Venables et al., 2000; Elliott DJ., 2004)。



之前的研究發現，B型肝炎病毒感染所引起的肝細胞癌，百分之八十的細胞內可偵測到B型肝炎病毒的去氧核糖核酸嵌入宿主的染色體 (Chen et al., 1986)。在一位罹患肝細胞癌男童的肝癌細胞內發現到，B型肝炎病毒的去氧核糖核酸嵌入RBMY基因的intron 6。接著利用反轉錄聚合酶鏈式反應，驗證了B型肝炎病毒去氧核糖核酸的嵌入，造成RBMY基因在肝癌細胞中有所表現，而同一位病人的非肝癌細胞內就檢測不到RBMY基因的轉錄體。接著，又在其他八位肝細胞癌病童的肝組織也進行一樣的反轉錄聚合酶鏈式反應，發現約有三位(37.5%)男性病童，其肝癌細胞內可檢測出RBMY基因的轉錄體。至於在膽道閉鎖造成的肝硬化組織內，完全不會偵測到RBMY基因轉錄體的表現 (Tsuei et al., 2002)。

後續研究也發現，利用反轉錄聚合酶鏈式反應，可以在九十位罹患肝細胞癌男性病人中，其中有三十二名病人(36%)的肝細胞癌檢體帶有RBMY基因的轉錄體；同時也在六位罹患肝母細胞癌的男童中，發現四名病人(67%)的肝母細胞癌檢體檢測出RBMY基因的轉錄體。罹患肝細胞癌的女性病患、以及其他種癌症組織，包括膽道癌、大腸癌、胃癌、肺癌、攝護腺癌、以及腎臟惡性腫瘤，都沒有檢測出RBMY基因轉錄體的表現 (Tsuei et al., 2004)。有研究證實，在B型肝炎轉殖小鼠身上，雄性激素受體會促進肝細胞癌的生成 (Wu et al., 2010)。後來，在肝癌細胞株或是人類肝細胞癌組織內皆驗證了，RBMY的表現會抑制雄性激素受體的拮抗體表現，進而增加雄性激素的受體表現 (Tsuei et al., 2011)。這也許暗示著RBMY與肝臟惡性腫瘤男性病患較多有相關性。另外，在裸鼠活體身上轉殖RBMY基因，會造成肝臟腫塊及惡性腫瘤的產生，這些結果顯現出RBMY擁有使肝臟細胞致癌的能力 (Tsuei et al., 2011)。在肝臟惡性腫瘤男性病患身上，已發現到RBMY基因的相關表現，但其對於臨床表現的影響甚至病人的預後，目前尚未清楚。希望藉由這次的研究能找出RBMY蛋白質的表現情況與肝臟惡性腫瘤病人的臨床、病理表徵及存活預後，是否有相關性的存在。



〔研究方法與材料〕

(1) 病人與組織來源及分類

從西元2005年到西元2007年，共有197位在台灣大學附設醫院進行肝細胞癌開刀的男性病患當作基本研究組，他們開刀時的平均年齡為57.0歲。肝臟檢體的取得都是經由手術中獲得，並以冷凍方式包埋切片。術後這群病人都是在台灣大學附設醫院進行追蹤。病人臨床資料的取得是藉由醫療病歷的記載回顧而加以整理，包括開刀時的年齡、手術前胎兒蛋白指數(alpha-fetoprotein, AFP)、開刀前B型肝炎感染(B型肝炎表面抗原陽性, HBsAg (+))及C型肝炎感染(C型肝炎抗體陽性, anti-HCV Ab (+))的情況，其中139人為B型肝炎感染病患，44人為C型肝炎感染者，有五位是共同感染到B型及C型肝炎。也根據臨床資料與病理報告，依據美國癌症聯合委員會分期(American Joint Committee on Cancer, AJCC) (Edge et al., 2010)，將病人分成四期，第一期的AJCC為低期別，沒有血管的侵犯，第二期為單顆腫瘤帶有血管侵犯或是多顆小腫瘤(皆小於五公分)，第三期為多顆大腫瘤或是有腫瘤侵犯到門靜脈或是肝靜脈的大分支，甚至直接侵襲到周邊組織，而第四期為周邊淋巴結的轉移。第二期以上我們認定為高期別。另外，還依據Edmondson and Steiner提出的分級方式(Edmondson and Steiner, 1954)，將肝癌細胞病理組織分為四級，第一級為分化良好的組織，第二級為分化中等的組織，第三級為分化不良的組織，而第四級為未分化的組織。病人術後有無早期復發，以及術後五年內的存活情況也都會詳細記載。若是在術後追蹤的一年內，被臨床醫師偵測到肝癌腫瘤再度在肝臟內存在，定義為早期復發 (early tumor recurrence, ETR) (Poon et al., 2000; Yuan et al., 2005)。術後五年內的存活情況，起點為接受肝臟手術當日，研究終點為術後追蹤至少滿五年或是在五年內死亡或失聯，其中只有16位病患於追蹤時，中途失聯。

另外從西元1982年到西元1994年，找來75位曾在台灣大學附設醫院進行肝細胞癌開刀的男性病患當作驗證組，用來確認基本研究組中所得到的RBMV的表現與存活的關係。他們開刀時的平均年齡為56.5歲。他們的肝組織檢體藉由手術中取

得，以福馬林固定。術後在同一家醫院追蹤。病人臨床資料的取得是藉由醫療病歷的記載回顧而加以整理，研究起點為接受肝臟手術當日，研究終點為追蹤至少滿五年或是死亡或失聯。本研究已取得台灣大學附設醫院研究倫理委員會之許可。




(2) 免疫組織化學染色法分析 RBMY 蛋白質的表現

基本研究組病人手術中取來的肝細胞癌組織檢體，我們會先使用OCT複合物於液態氮中作用五分鐘，再儲存於負八十度C的冰庫內。使用時，把OCT冷凍組織切成五到八微米的切片，再用磷酸緩衝液(phosphate buffer solution; PBS)浸泡，使用乙酮固定並作用於負二十度C的環境下，回溫且風乾後，用百分之一濃度的triton X-100浸泡五分鐘。

免疫組織化學染色法的操作主要是採用“UltraVision Quanto Detection System” (Thermo Scientific, Fremount, CA) 試劑套組，並依據賣方所提供的建議執行：首先，在室溫中，用百分之三的雙氧水浸泡十分鐘，以便消除細胞內生性過氧小體的活性。之後用PBS緩衝液徹底沖洗三次，每次五分鐘，再使用試劑套組中所提供的ultra V block於室溫下處理五分鐘以阻斷組織中的雜訊，不須沖洗，直接加入本實驗室自製的抗人類RBMY單株抗體(anti-human RBMY monoclonal antibody)。抗體先以PBS緩衝液稀釋，比例為一比五，靜置於四度C的冰箱內作用二十四小時。接著，以PBS緩衝液沖洗五分鐘，重複三次，加入“Primary Antibody Amplifier Quanto” 放置在室溫下十分鐘。再用PBS緩衝液以上述方式沖洗。再者，加入“HRP Polymer Quanto”繼續在室溫下作用一小時。在三次PBS緩衝液沖洗後，加入“DAB Quanto Chromogen” 和“DAB Quanto Substrate”之混合液。最後用hematoxylin染色，再用micromount(Surgipath, Richmond, IL)封片。

驗證組的肝細胞癌組織檢體，主要是經由福馬林固定，再以石蠟包埋處理。因此在進行免疫組織化學法之前，須將檢體浸泡於Trilogy™ reagent(Cell Marque, Rocklin, CA)，並微波加熱十分鐘，以便同時去除福馬林(deparaffinization)，再水化



(rehydration), 及修復抗原(antigen unmasking)。為了更全面修復因石蠟包埋而造成檢體中的抗原被破壞, Trilogy處理後的檢體需再浸泡於AR-10 antigen retrieval solution pH 10 (BioGenix, San Ramon, CA), 微波十分鐘, 放在室溫下冷卻二十分鐘, 使用無離子水清洗兩次, 最後用PBS緩衝液浸泡, 接著進行上述的免疫組織化學染色法。

為了驗證本實驗室自製的抗人類RBMV單株抗體染色結果的正確性, 我們以人類睪丸組織的免疫組織化學染色作為正控制 (positive control), 其結果與過去已發表的現象雷同 (Elliott et al., 1997), 即在睪丸組織的細胞內, RBMY只在細胞核中被染出, 細胞質內完全沒有表現。而在人類肝細胞癌細胞內進行同樣的免疫組織化學染色法, 發現不論是基本研究組還是驗證組的檢體, RBMY的表現不只在細胞核內, 更在細胞質內有所表現。這點是與睪丸組織的細胞內RBMV的表現, 有所不同。

(3) 統計分析

本研究中, 資料的處理是使用 STATA(StataCorp LP, Texas, USA)以及 Statistical Analysis System(SAS institute Inc.)統計軟體來進行統計分析。 X^2 test 用來進行臨床、病理各項特徵與 RBMY 表現的單變項分析。存活分析是以 Kaplan-Meier 圖表來表達, 而存活曲線差異的評估是使用 log-rank test。存活曲線的起點為手術日, 終點為術後滿五年或是五年內死亡或失聯。存活情況與臨床、病理表徵及 RBMY 的表現之單變項及多變項分析則是利用 Cox proportional hazards model 及 Wald chi-square test。P 值小於 0.05, 表示具有統計上的顯著意義, 若 P 值介於 0.1 至 0.05 間, 認為具有差異的趨勢存在。

[結果]



1) RBMY 蛋白質在基本研究組肝細胞癌的組織之表現


利用免疫組織化學染色法，我們發現到 RBMY 蛋白質在肝細胞癌組織的表現具有三種不同的情況：單純在細胞核中表現，單純在細胞質內表現，或是細胞核和細胞質內都有表現(圖 1)。共計在 197 位肝癌病人中，有 143 位病人肝癌細胞內，藉由免疫組織化學染色法，不論是在細胞核或是細胞質內，可以在肝癌細胞內檢測出 RBMY 蛋白質(72.6%)。在這其中，有 25 位只在細胞質內表現 RBMY 蛋白質(12.7%)，43 位只有在細胞核內表現 RBMY 蛋白質(21.8%)，75 位在細胞質和細胞核內都有表現 RBMY 蛋白質(38.1%)，剩下的 54 位病人則是都不表現(27.4%)。

2) 基本研究組 RBMY 蛋白質的表現與臨床、病理表徵的關係

分析臨床、病理表徵與肝癌組織 RBMY 蛋白質表現的關係，發現與無 RBMY 蛋白質表現者相比，肝癌病患之肝組織具有 RBMY 蛋白質的表現者其美國癌症聯合委員會分期(AJCC)期別較高，此具統計學上有意義的差別($p=0.034$)。RBMY 蛋白質的表現與病人開刀時的年紀、手術前的胎兒蛋白指數高低、B 型肝炎感染情況、C 型肝炎感染情況、肝臟惡性腫瘤細胞的病理分級程度、以及早期復發，都無明顯的相關性(表 1)。

3) 基本研究組 RBMY 蛋白質在細胞質內的表現與否，是病人五年存活機率的預測因子

我們發現 RBMY 蛋白質的表現與否和病人五年存活機率具有相關的趨勢，肝癌組織內具有 RBMY 蛋白質表現的病人，五年存活機率較差($p=0.06$) (圖 2A)。倘若把 RBMY 蛋白質在肝癌組織內的表現分成前述的三種類型：單純在細胞核中表現，單純在細胞質內表現，細胞核和細胞質內都有表現，再與病人的五年存活機率來加以分析，發現在細胞核、質均表現 RBMY 者五年存活率比 RBMY 不表現者或 RBMY 只表現於細胞核者較差，而僅在細胞質內表現 RBMY 蛋白質的病人，其五年存活率為最差($p=0.0027$) (圖 2B)。



為了更加地釐清 RBMY 蛋白質的表現與病人存活的关系，我們把各臨床與病理表徵、RBMY 蛋白質表現的各種情況，與病人五年存活機率進行了單變項分析(表 2)。RBMY 蛋白質在細胞質內的表現($p=0.0032$)、手術前的胎兒蛋白指數較高($p=0.0001$)、美國癌症聯合委員會分期較高(AJCC) ($p < 0.0001$)，以及早期肝癌復發($p < 0.0001$)，這些因子都和病人五年存活機率有顯著相關性。RBMY 蛋白質在細胞核內表現有無，其五年存活情況在統計上則無顯著的差異。

接著在 Cox 比例風險模式中，進行影響存活率的因子之多變項分析。排除美國癌症聯合委員會分期(AJCC)，手術前的胎兒蛋白指數，以及早期肝癌復發這些因素的影響力之後，帶有 RBMY 蛋白質在細胞質內的表現，對於病人的存活分析仍具有統計上顯著的意義($p = 0.026$; HR 1.71) (表 2)。

4) 驗證組的相關結果

在 75 位驗證組的病人當中，共計有 28 位病人肝細胞癌組織內，藉由免疫組織化學染色法，可以在肝癌細胞內檢測出 RBMY 蛋白質的表現，不論是在細胞核或是細胞質內(37.3%)。在這其中，有 11 位只在細胞質內表現 RBMY 蛋白質(14.7%)，17 位在細胞質和細胞核內都有表現 RBMY 蛋白質(22.7%)，剩下的 47 位病人則是都不表現(62.7%)。驗證組中，肝癌組織 RBMY 蛋白質表現者與無 RBMY 蛋白質表現者相比，肝癌病患之肝組織具有 RBMY 蛋白質的表現者與美國癌症聯合委員會分期(AJCC)期別較高，有明顯相關($p=0.002$)。

RBMY 蛋白質的表現與否和病人五年存活機率在驗證組仍具有相關的趨勢。肝癌組織內具有 RBMY 蛋白質表現的病人，其五年存活機率較差($p=0.003$)(圖 3A)。倘若把 RBMY 蛋白質在肝癌組織內的表現分成前述的三種類型，再與病人的五年存活機率加以分析，仍然是僅在細胞質內表現 RBMY 蛋白質的病人，表現出最差的五年存活機率($p=0.002$) (圖 3B)。

RBMY 蛋白質在細胞質內的表現($p=0.0038$)、美國癌症聯合委員會分期(AJCC)較高($p=0.0029$)，與早期肝癌復發($p < 0.0001$)，這些因子在單變項分析中也展現與存活情況有顯著相關性(表 3)。接著，進行存活機率的因子之多變項分析後，發現

美國癌症聯合委員會分期(AJCC)較高($p=0.0083$)，和早期肝癌復發($p<0.0001$)，這些因素對於病人的存活分析具有統計上顯著的意義，而 RBMY 蛋白質在細胞質內的表現與否，和病人存活機率無明顯相關，但仍帶有風險存在(HR 1.26) (表 3)。




[討論]



男性患者在肝細胞癌比女性高的發生率，一直在許多的研究中都有發表，在台灣也是如此，不只是成人，甚至罹患肝細胞癌的孩童，男女的比例也高達四到五比一 (Ni et al., 1991; Chang et al., 2000)。對於肝細胞癌存活率，性別也是存在著極大的差異 (Parkin et al., 2001)。RBMV 位在哺乳動物的 Y 染色體上，主要作用是影響生殖能力 (Elliott et al., 1997; Foresta et al., 2001)。正常的情況下，RBMV 基因只會在男性睪丸的生殖細胞核內表現，並不會在其他組織中有所展現。近幾年來開始有研究發現，RBMV 可以在人類肝臟惡性腫瘤細胞內有所表現，而且僅限在肝臟惡性腫瘤細胞，若是其他的肝臟非惡性腫瘤細胞或是其他組織細胞腫瘤，則檢測不到 RBMY 的表現 (Tsuei et al., 2002)。另外，不論是在生物體外或是活體實驗，都已經證實 RBMY 基因確實有致癌性 (Tsuei et al., 2004; Tsuei et al., 2011)。

本研究是第一篇探討肝細胞癌內 RBMY 的表現與病人之臨床、病理表徵與存活率的相關性。在本研究中，利用免疫組織化學染色法，在肝細胞癌的病患身上，不論是基本研究組或是驗證組，約有三分之一以上的病患其肝細胞癌腫瘤細胞中帶有 RBMY 的表現。特別的是，RBMV 在肝細胞癌腫瘤細胞內不僅僅在細胞核中有所表現，在細胞質內也有所顯現，這點，與生殖細胞內 RBMY 只活躍在細胞核內，是大不相同的。而驗證組的免疫組織化學染色法的結果，並沒有發現到 RBMY 單獨在肝癌細胞核中有所表現，與基本研究組有些微不同，猜測可能與驗證組的肝組織檢體年代較為久遠，保存狀況不一，有所關聯。

在基本研究組或是驗證組中，探索 RBMY 的表現與臨床、病理表徵的關聯，皆發現 RBMY 的表現與美國癌症聯合委員會分期 (AJCC) 較高，有顯著相關 ($p=0.034$)，而 AJCC 分期較高，就暗示著腫瘤細胞已經有血管的侵犯，這一點和病人較差的預後息息相關 (Pan et al., 2003)。因此我們猜測，肝細胞癌腫瘤細胞內 RBMY 的表現也許與血管新生及腫瘤之侵襲與轉移等相關因子有相互作用存在，進而能造成腫瘤細胞持續惡化或是復發。然而這部分仍尚待後續相關研究。



本研究中也發現到，肝癌組織內帶有 RBMY 表現的病人，其五年存活率有較低的趨勢($p=0.06$)，準確一點地說，細胞質內帶有 RBMY 的表現的病人，其五年存活率較其他病患為差($p=0.0027$)。這部分同樣地在驗證組中也證實了($p=0.002$)。另外，排除了美國癌症聯合委員會分期(AJCC)較高，手術前的胎兒蛋白指數，以及早期肝癌復發機率較高等因子的影響後，細胞質內帶有 RBMY 的表現與存活率的相關性，仍具有統計上顯著的意義($p=0.026$)或是高風險存在。因此我們推測，肝癌細胞細胞質內 RBMY 的表現對於五年存活率是個預後因子。而在驗證組中進行存活率之多變項分析，僅發現到 RBMY 蛋白質在細胞質內的表現似乎有降低存活率的風險(HR1.26)，但未到達統計上的意義，猜測可能與驗證組的樣本數較小、肝組織檢體保存年代久遠，有所相關，且多變項分析因子之一，早期肝癌復發，有 12 筆資料的遺失，會造成多變項分析的樣本數更加地減少($n=63$)，而樣本數小容易造成顯著性的消失，這些都可能把 RBMY 蛋白質在細胞質內的表現與存活率相關的顯著性掩蓋住。

生殖細胞內，RBMY 的表現僅在細胞核內，且主要是與 SR 蛋白質，STAR (signal transduction and activation of RNA family) 蛋白質，或 Tra2B 蛋白質相互作用，進而調節生殖細胞內核糖核酸選擇性剪接、或是轉錄前的處理過程，接著影響後續相關反應。在肝癌細胞內，我們發現到 RBMY 在細胞質與細胞核中皆有所表現，但單獨是細胞質中的 RBMY 表現與肝癌病人五年存活機率高度相關，這暗示著在細胞質內活躍的 RBMY 是經由某種的核定位訊號 NLS (nuclear localization signal) 及 NES (nuclear export signal)，才能在細胞核、質游走而進行作用，來影響肝癌病人的預後情況。由於肝癌細胞 RBMY 在細胞質內的表現，與 RBMY 在生殖細胞核內的作用點位完全不同，猜測兩者機轉大相逕庭。即使目前我們的研究團隊初步的研究結果顯示，RBMY 在肝癌細胞質內可能是透過 WNT 訊息傳遞系統而有所作用，但 RBMY 經過怎樣的途徑，來影響肝癌病人的預後，其詳細的機轉尚未明朗，仍需更多的研究來探討。

〔展望〕

藉由本研究，我們發現 RBMY 在肝細胞癌腫瘤細胞內的表現與在生殖細胞內的表現大不相同，RBMY 在肝細胞癌腫瘤細胞質內是有所表現的，推測可能與 RBMY 在肝細胞癌的致癌機轉，扮演息息相關之角色，尚待未來更多的研究來探討。另外也發現對於肝細胞癌腫瘤細胞，RBMY 蛋白質的表現，特別是在細胞質內表現，對於病人的臨床病理腫瘤分期，及存活的情況是個重要的預後因子，儘管詳細的機制仍未明朗，仍期許 RBMY 在未來對於肝細胞癌預後的評估以及病人後續的追蹤或是輔助性治療的選擇上，能有所助益。



參考文獻



Aretz S, Koch A, Uhlhaas S, Friedl W, Propping P, von Schweinitz D, and Pietsch T. Should children at risk for familial adenomatous polyposis be screened for hepatoblastoma and children with apparently sporadic hepatoblastoma be screened for APC germline mutations? *Pediatr Blood Cancer* 2006;47:811-818.

Beasley RP, Hwang LY. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. *Semin Liver Dis.* 1984 May;4(2):113-21.

Beasley RP. Hepatitis B virus. The major etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer.* 1988 May 15;61(10):1942-56.

Bosch FX, Ribes J, Diaz M, and Cleries R. Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. *Gastroenterology* 2004; 127 (5 suppl 1): S5–S16.

Bréchet C, Gozuacik D, Murakami Y, and Paterlini-Bréchet P. Molecular bases for the development of hepatitis B virus (HBV)-related hepatocellular carcinoma (HCC). *Semin Cancer Biol.* 2000 Jun;10(3):211-31.

Buendia MA. Genetics of hepatocellular carcinoma *Semin. Cancer Biol* 2000;10, 185–200.

Chang MH, Chen DS, Hsu HC, Hsu HY, and Lee CY. Maternal transmission of hepatitis B virus in childhood hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1989; 64, 2377-2380.

Chang MH, Chen PJ, Chen JY, Lai MY, Hsu HC, Lian DC, Liu YG, and Chen DS. Hepatitis B Virus integration in hepatitis B virus related hepatocellular carcinoma in Childhood. *Hepatology* 1991;13:316-320.

Chang MH, Shau WY, Chen CJ, Wu TC, Kong MS, Liang DC, Hsu HM, Chen HL, Hsu HY, and Chen DS; Taiwan Childhood Hepatoma Study Group. Hepatitis B vaccination and hepatocellular carcinoma rates in boys and girls. *JAMA* 2000, 127: 3040-3042.

Chen JY, Harrison TJ, Lee CS, Chen DS, and Zuckerman AJ. Detection of hepatitis B virus DNA in hepatocellular carcinoma. *Br J Exp Pathol.* 1986 Apr;67(2):279-288.

Darbari A, Sabin KM, Shapiro CN, and Schwarz KB.. Epidemiology of primary hepatic malignancies in U.S. children. *Hepatology.* 2003;38:560–566

Delbridge ML, Lingenfelter PA, Disteché CM, and Graves JA. The candidate spermatogenesis gene RBMY has a homologue on the human X chromosome. *Nat Genet.* 1999 Jul; 22(3):223-224

Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A, and editors. *AJCC cancer staging manual*, 7th ed. New York: Springer, 2010

Edmondson HA, Steiner PE. Primary carcinoma of the liver: a study of 100 cases among 48,900 necropsies. *Cancer.* 1954 May;7(3):462-503

Elliott DJ, Millar MR, Oghene K, Ross A, Kiesewetter F, Pryor J, McIntyre M, Hargreave TB, Saunders PT, Vogt PH, Chandley AC, and Cooke H. Expression of RBM in the nuclei of human germ cells is dependent on a critical region of the Y chromosome long arm. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997 Apr 15; 94(8): 3848-3853

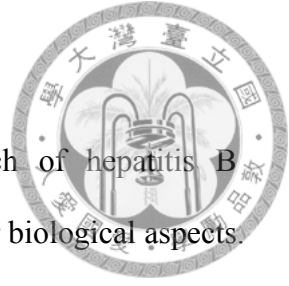
Elliott DJ. The role of potential splicing factors including RBMY, RMBX, hnRNP-G-T and STAR proteins in spermatogenesis. *Int J Androl.* 2004 Dec; 27(6): 328-334

El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma: an epidemiologic view. *J Clin Gastroenterol* 2002;35:S72-S78

El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology* 2007;132(7): 2557-2576

Foresta C, Moro E, and Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocr Rev.* 2001 Apr;22(2):226-239

Hirschman BA, Pollock BH, and Tomlinson GE. The spectrum of APC mutations in children with hepatoblastoma from familial adenomatous polyposis kindreds. *J Pediatr*



2005; 147:263-266.

Kao JH, Chen PJ, Chen DS. Recent advances in the research of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: epidemiologic and molecular biological aspects. *Adv Cancer Res.* 2010;108:21-72.

Koike K, Tsutsumi T, Fujie H, Shintani Y, and Kyoji M. Molecular mechanism of viral hepatocarcinogenesis. *Oncology* 2002; 62(suppl 1): 29–37.

Krush AJ, Traboulsi EI, Offerhaus JA, Maumenee IH, Yardley JH, and Levin LS. Hepatoblastoma, pigmented ocular fundus lesions and jaw lesions in Gardner syndrome. *Am J Med Genet* 1988;29:323-332.

Ma K, Inglis JD, Sharkey A, Bickmore WA, Hill RE, Prosser EJ, Speed RM, Thomson EJ, Jobling M, Taylor K, Wolfe J, Cooke HJ, Hargreave TB, and Candley AC. A Y chromosome gene family with RNA-binding protein homology: Candidates for the azoospermia factor AZF controlling human spermatogenesis. *Cell* 1993; 75: 1287–1295.

Ma WL, Hsu CL, Androgen receptor is a new potential therapeutic target for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2008; 135: 947–955.

McLaughlin CC, Baptiste MS, Schymura MJ, Nasca PC, and Zdeb MS. Maternal and infant birth characteristics and hepatoblastoma. *Am J Epidemiol.*2006;163 (9):818–828

Montesano R, Hainaut P, and Wild CP. Hepatocellular carcinoma: from gene to public health. *J Natl Cancer Inst.* 1997 Dec 17;89 (24):1844-1851.

Naugler WE, Sakurai T, Kim S, Maeda S, Kim K, Elsharkawy AM, and Karin M. Gender disparity in liver cancer due to sex differences in MyD88-dependent IL-6 production. *Science.* 2007 Jul 6;317(5834):121-124

Ni YH, Chang MH, Hsu HY, Hsu HC, Chen CC, Chen WJ, and Lee CY.



Hepatocellular carcinoma in childhood: clinical manifestations and prognosis. *Cancer* 1991;68:1737-1741.

Nordenstedt H, White DL, and El-Serag HB. The changing pattern of epidemiology in hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2010 Jul;42 Suppl 3:S206-214

Oue T, Kubota A, Okuyama H, Kawahara H, Nara K, Kawa K, and Kitajima H. Hepatoblastoma in children of extremely low birth weight. *J Pediatr Surg* 2003;38:134-137

Pan HW, Ou YH, Peng SY, Liu SH, Lai PL, Lee PH, Sheu JC, Chen CL, and Hsu HC. Overexpression of osteopontin is associated with intrahepatic metastasis, early recurrence, and poorer prognosis of surgically resected hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2003 Jul 1; 98(1):119-127

Parkin DM, Bray F, Ferlay J, and Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer*. 2001 Oct 15;94(2):153-156

Poon RT, Fan ST, Ng IO, Lo CM, Liu CL, and Wong J. Different risk factors and prognosis for early and late intrahepatic recurrence after resection of hepatocellular carcinoma. *Cancer*. 2000 Aug 1;89(3):500-507

Schnater JM, Köhler SE, Lamers WH, von Schweinitz D, and Aronson DC. Where do we stand with hepatoblastoma? A review. *Cancer*. 2003 Aug 15;98(4):668-678.

Stiller CA, Pritchard J, and Steliarova-Foucher E. Liver cancer in European children: incidence and survival, 1978-1997. Report from the Automated Childhood Cancer Information System project. *Eur J Cancer*. 2006 Sep;42(13):2115-2123.

Tan TY, Amor DJ. Tumour surveillance in Beckwith- Wiedemann syndrome and hemihyperplasia: a critical review of the evidence and suggested guidelines for local practice. *J Paediatr Child Health* 2006;42:486-490

Tsuei DJ, Chang MH, Chen PJ, Hsu TY, and Ni YH. Characterization of Integration

Patterns and Flanking Cellular Sequences of Hepatitis B Virus in Childhood Hepatocellular Carcinomas. *Journal of Medical Virology*. 2002; 68: 513–521

Tsuei DJ, Hsu HC, Lee PH, Jeng YM, Pu YS, Chen CN, Lee YC, Chou WC, Chang CJ, Ni YH, and Chang MH. RBMY, a male germ cell-specific RNA-binding protein, activated in human liver cancers and transforms rodent fibroblasts. *Oncogene* 2004; 23, 5815–5822

Tsuei DJ, Lee PH, Peng HY, Lu HL, Su DS, Jeng YM, Hsu HC, Hsu SH, Wu JF, Ni YH, and Chang MH. Male germ cell-specific RNA binding protein RBMY: a new oncogene explaining male predominance in liver cancer. *PLoS One*. 2011 Nov;6(11):e26948.

Venables JP, Elliott DJ, Makarova OV, Makarov EM, Cooke HJ, and Eperon IC. RBMY, a probable human spermatogenesis factor, and other hnRNP G proteins interact with Tra2beta and affect splicing. *Hum Mol Genet*. 2000 Mar 22;9(5):685-694

Weinberg AG, Finegold MJ. Primary hepatic tumors of childhood. *Hum Pathology* 1983; 14: 512–537.

Wu MH, Ma WL, Hsu CL, Chen YL, Ou JH, Ryan CK, Hung YC, Yeh S, and Chang C. Androgen receptor promotes hepatitis B virus-induced hepatocarcinogenesis through modulation of hepatitis B virus RNA transcription. *Sci Transl Med*. 2010 May 19;2(32):32ra35.

Yang JD, Roberts LR. Hepatocellular carcinoma: A global view. *Nat Rev Gastroenterol hepatology* 2010; 7: 448-458.

Yu MW, Cheng SW, Lin MW, Yang SY, Liaw YF, Chang HC, Hsiao TJ, Lin SM, Lee SD, Chen PJ, Liu CJ, and Chen CJ. Androgen-receptor gene CAG repeats, plasma testosterone levels, and risk of hepatitis B-related hepatocellular carcinoma. *J. Natl Cancer Inst* 2000; 92: 2023-2028.

Yuan RH, Jeng YM, Chen HL, Hsieh FJ, Yang CY, Lee PH, and Hsu HC. Opposite roles of human pancreatitis-associated protein and REG1A expression in hepatocellular carcinoma: association of pancreatitis-associated protein expression with low-stage hepatocellular carcinoma, beta-catenin mutation, and favorable prognosis. Clin Cancer Res. 2005 Apr 1;11(7):2568-2575.

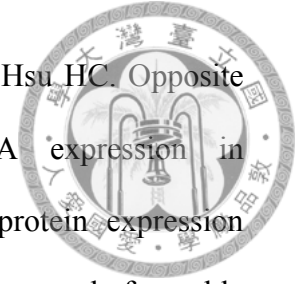


表 1. 基本研究組 RBMY 表現與臨床、病理表徵的單變項分析



變項	RBMY 蛋白質的表現		P 值
	總人數, n=197	陽性, n (%)	
OP Age (yr)			0.697
< 60	105	75 (71)	
≥ 60	92	68 (74)	
HBsAg			0.172
(-)	58	46 (79)	
(+)	139	97 (70)	
Anti-HCV Ab			0.119
(-)	153	107 (70)	
(+)	44	36 (82)	
AFP (ng/ml) (8 missing data)			0.942
<200	135	97 (72)	
≥200	54	40 (74)	
AJCC staging			0.034*
I	111	74 (67)	
II-IV	86	69 (80)	
Histology grading (5 missing data)			0.15
Grade 1-2	136	94 (69)	
Grade 3-4	56	46 (82)	
ETR (4 missing data)			0.46
(-)	142	102 (72)	
(+)	51	37 (73)	

縮寫: AJCC, American Joint Committee on Cancer 美國癌症聯合委員會分期; (+), present; (-) absent; AFP, alpha-fetoprotein, 胎兒蛋白指數; ETR, early tumor recurrence, 早期復發

* p < 0.05 by X² test

表2 基本研究組病人存活情況與臨床、病理表徵及RMBY蛋白質表現的單變項及多變項分析

單變項分析						多變項分析	
變項	死亡 人數	總人數 (存活人 年數)	死亡率	風險 比值	P值	風險 比值	P值
Age (yr)					0.9877		
< 60	43	105 (311.67)	0.14	1.00			
≥ 60	38	92 (269.57)	0.14	1.00			
RMBY_C					0.0032*	1.71	0.0260*
(-)	29	97 (447.01)	0.06	1.00			
(+)	52	100 (385.21)	0.13	1.98			
RMBY_N					0.8039		
(-)	34	79 (332.24)	0.10	1.00			
(+)	47	118 (499.98)	0.09	0.95			
HBsAg					0.4301		
(-)	21	58 (248.67)	0.08	1.00			
(+)	60	139 (583.55)	0.10	1.22			
Anti-HCV Ab					0.3951		
(-)	67	153 (653.97)	0.10	1.00			
(+)	14	44 (178.25)	0.08	0.78			
AFP(ng/ml) (8 missing data)					0.0001*	1.76	0.0189*
<200	45	135 (658.04)	0.07	1.00			
≥200	32	54 (177.86)	0.18	2.45			

單變項分析						多變項分析	
變項	死亡 人數	總人數 (存活人 年數)	死亡率	風險 比值	P值	風險 比值	P值
AJCC staging					<0.0001*	2.33	0.0007*
I	30	111 (541.66)	0.06	1.00			
II-IV	51	86 (290.56)	0.18	2.97			
Histology Grading (5 missing data)					0.316		
Grade 1-2	53	136 (611.01)	0.09	1.00			
Grade 3-4	24	56 (212.15)	0.11	1.28			
ETR (4 missing data)					<0.0001*	35.87	<0.0001*
(-)	40	142 (556.46)	0.07	1.00			
(+)	41	51 (24.77)	1.66	50.55			

縮寫: RBMY_C, RBMY蛋白質在肝癌細胞質內染出; RBMY_N, RBMY蛋白質在肝癌細胞核內染出; AFP, alpha-fetoprotein 胎兒蛋白指數; AJCC, American Joint Committee on Cancer 美國癌症聯合委員會分期; ETR, early tumor recurrence, 早期復發; (+), present; (-) absent;

* $p < 0.05$ by Wald chi-square test

表3 驗證組病人存活情況與臨床、病理表徵及RMBY蛋白質表現的單變項及多變項分析

變項	單變項分析				多變項分析		
	死亡人數	總人數 (存活人年數)	死亡率	風險比值	P值	風險比值	P值
Age (yr)					0.8517		
< 60	30	38 (202.88)	0.15	1.00			
≥ 60	33	37 (182.57)	0.18	1.05			
RMBY_C					0.0038*	1.26	0.4617
(-)	36	47 (302.89)	0.12	1.00			
(+)	27	28 (82.56)	0.33	2.13			
RMBY_N					0.2036		
(-)	47	58 (320.89)	0.15	1.00			
(+)	16	17 (64.56)	0.25	1.45			
HBsAg					0.9413		
(-)	20	22 (114.18)	0.18	1.00			
(+)	43	53 (271.27)	0.16	1.02			
AFP (ng/ml)					0.0561		
<200	32	39 (244.85)	0.13	1.00			
≥200	31	36 (140.60)	0.22	1.63			
AJCC staging					0.0029*	2.50	0.0083*
I	18	24 (199.29)	0.09	1.00			
II-IV	45	51 (186.16)	0.24	2.34			

單變項分析						多變項分析	
變項	死亡 人數	總人數 (存活人 年數)	死亡率	風險比 值	P值	風險 比值	P值
Histology Grading						0.3714	
Grade 1-2	38	46 (248.94)	0.15	1.00			
Grade 3-4	25	29 (136.51)	0.18	1.26			
ETR (12 missing data)						<0.0001*	
(-)	22	34 (314.95)	0.07	1.00		7.70	<0.0001*
(+)	29	29 (57.52)	0.50	7.38			

縮寫: RBMY_C, RBMY蛋白質在肝癌細胞質內染出; RBMY_N, RBMY蛋白質在肝癌細胞核內染出; AFP, alpha-fetoprotein 胎兒蛋白指數; AJCC, American Joint Committee on Cancer 美國癌症聯合委員會分期; ETR, early tumor recurrence, 早期復發; (+), present; (-) absent;

* p < 0.05 by Wald chi-square test

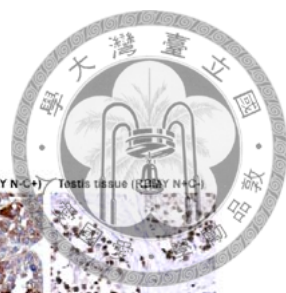
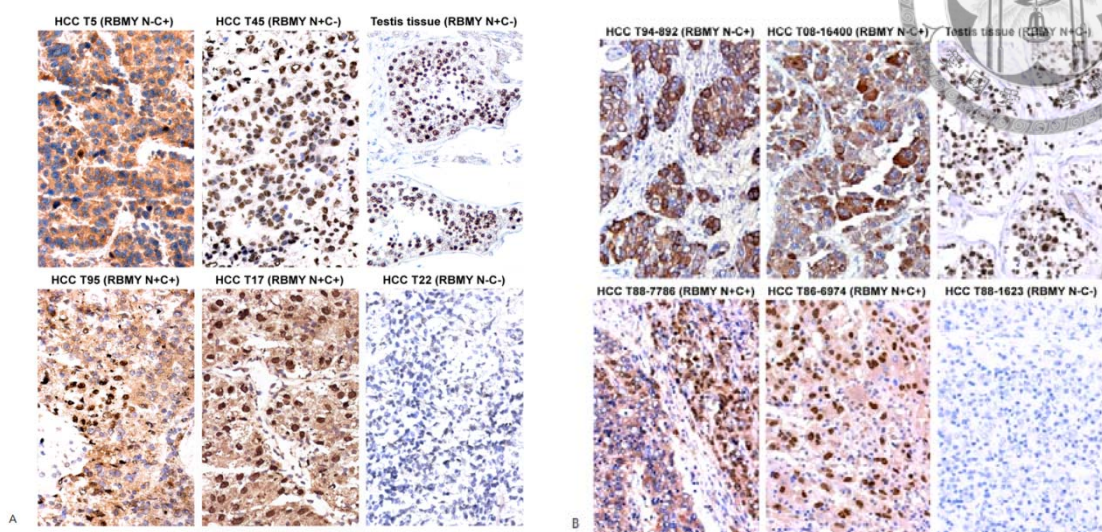


圖1. RBMY蛋白質在人類睪丸及肝臟惡性腫瘤中的表現



A圖：基本研究組的免疫組織化學染色法

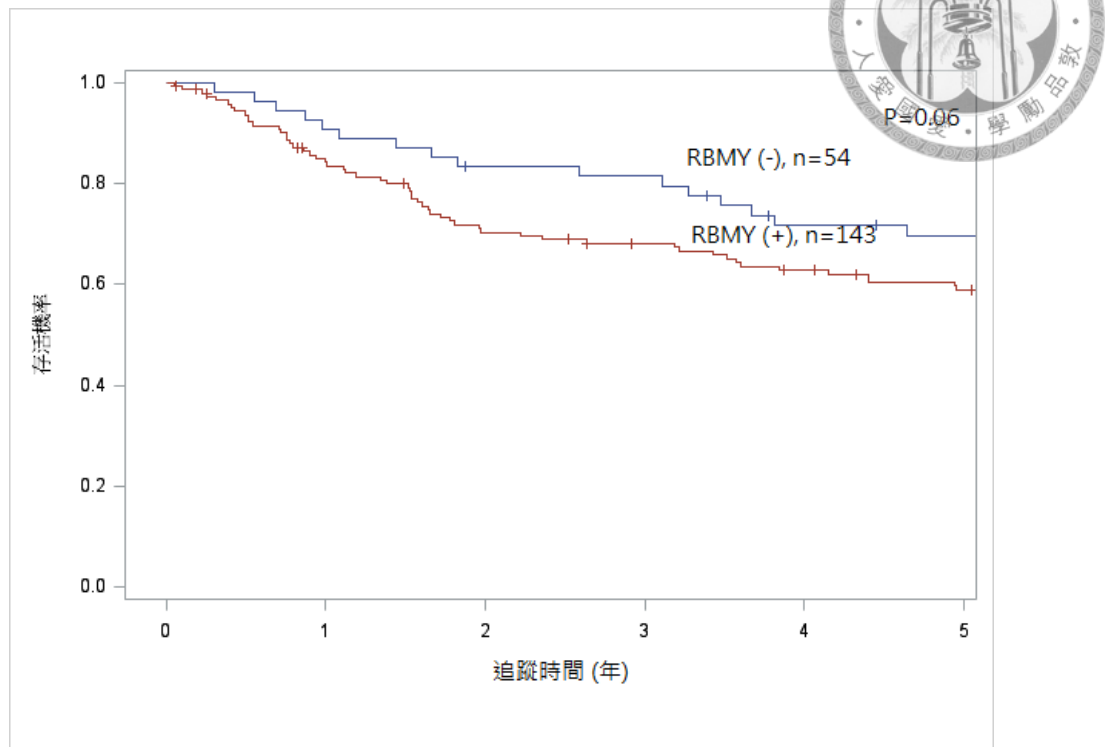
B圖：驗證組的免疫組織化學染色法

RBMY N+ C-：單純在細胞核中表現；RBMY N- C+：單純在細胞質內表現；

RBMY N+ C+：細胞核和細胞質內都有表現；RBMY N- C-：細胞核和細胞質內都不表現。

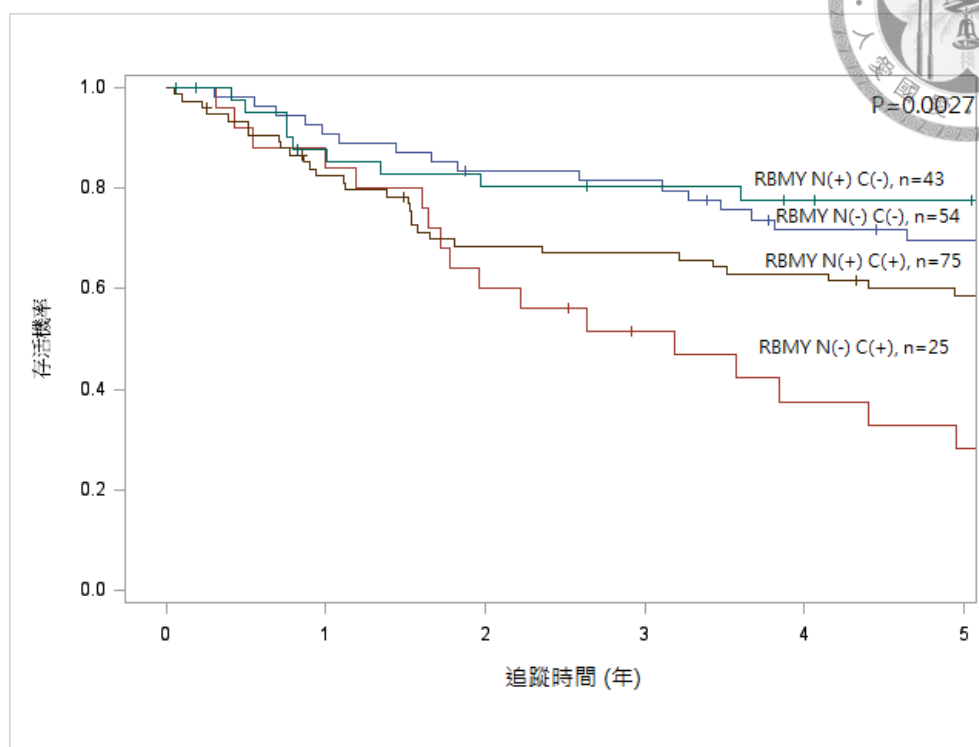
放大倍率200倍

圖2A



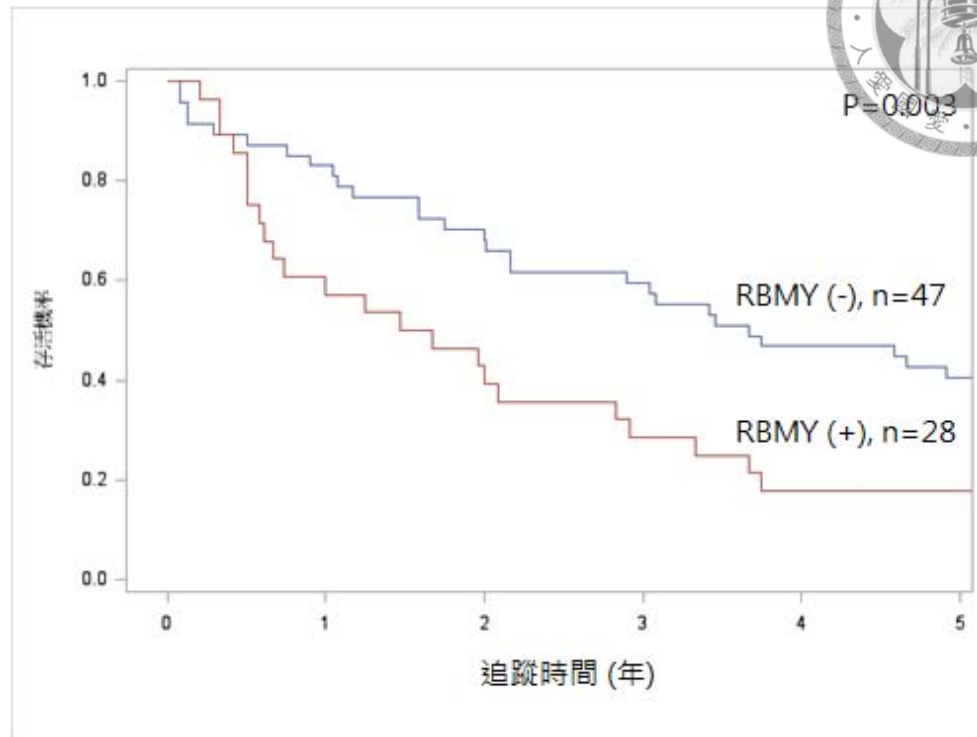
(基本研究組)罹患肝惡性腫瘤的197位病人之Kaplan-Meier 存活分析:具有RBMY
蛋白質表現者 (143位), 五年存活率有較差的趨勢, p 值為0.06。

圖2B



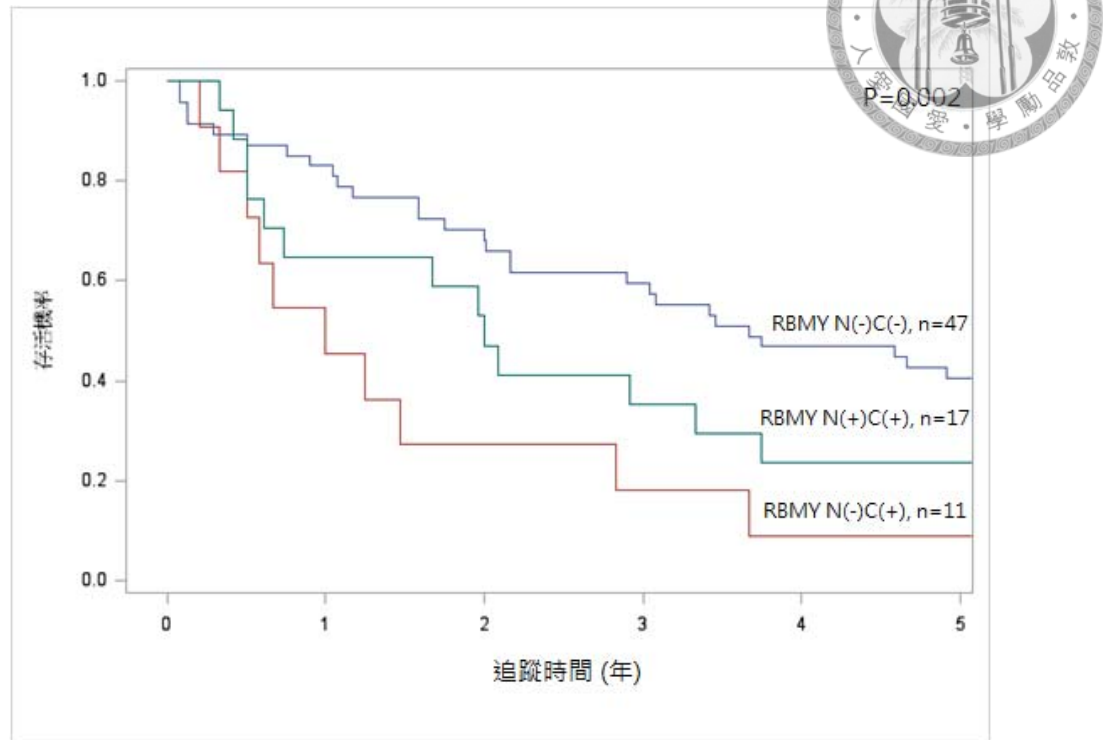
(基本研究組)罹患肝惡性腫瘤的197位病人之Kaplan-Meier 存活分析:僅在肝臟惡性腫瘤細胞的細胞質中具有RBMY蛋白質表現者 (25位), 表現出最差的五年存活率。在細胞核、質均表現RBMY者五年存活率比RBMY不表現者或RBMY只表現於細胞核者較差。p 值為0.0027。

圖3A



(驗證組)罹患肝惡性腫瘤的75位病人之Kaplan-Meier 存活分析:具有RBMY蛋白質表現者 (28位), 五年存活率較差, p 值為0.003。

圖3B



(驗證組)罹患肝惡性腫瘤的75位病人之Kaplan-Meier 存活分析:僅在肝臟惡性腫瘤細胞的細胞質中具有RBMY蛋白質表現者 (11位), 表現出最差的五年存活率, p 值為0.002。