

原发性肝癌组织中 PKM2、COX2 及 IAPs 的表达 及其与放疗敏感性的关系分析

徐明静^{1,2}, 芦东徽², 高世乐², 马欢², 方向², 钱立庭¹

摘要 目的 探究原发性肝癌患者癌组织中 M2 型丙酮酸激酶 (PKM2)、环氧化酶 2 (COX2) 及凋亡蛋白抑制因子 (IAPs) 的表达及其与放疗敏感性的关系。方法 选取接受三维适形放疗的原发性肝癌患者 105 例,经肝脏穿刺活检采集肝癌组织,采用免疫组化法检测肝癌组织中 PKM2、COX2 及 IAPs 家族[X 关联凋亡抑制因子(XIAP)、细胞内凋亡抑制蛋白 1(cIAP-1)]蛋白的表达,比较不同放疗效果和敏感性患者癌组织中 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白表达的差异,并分析上述蛋白表达与患者预后的关系。结果 105 例患者肝癌组织中 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白表达阳性率分别为 81.90%、74.28%、85.71% 及 82.86%; COX2、XIAP 蛋白阳性表达者治疗有效率与阴性者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);放疗敏感患者临床分期、分化程度、肿瘤直径、肝癌组织中 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白表达情况与放疗不敏感者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);高临床分期、低分化程度、COX2、XIAP 阳性表达是患者放疗不敏感的独立危险因素($P < 0.05$);XIAP 阳性表达者复发率和转移率与阴性表达者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 原发性肝癌患者癌组织中 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 阳性率高,其中 COX2、XIAP 蛋白表达与患者放疗效果、敏感性密切相关,XIAP 蛋白表达还与患者复发转移有关。

关键词 原发性肝癌; M2 型丙酮酸激酶; 环氧化酶 2; 凋亡抑制因子; 放疗敏感性; 预后

中图分类号 R 246.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)10-1612-05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.10.020

肝癌是最为常见的恶性肿瘤,可分为原发性和继发性两类,其中原发性肝癌起源于肝脏的上皮或间叶组织。我国是原发性肝癌的高发地区,其死亡率仅次于胃癌、肺癌,是危害性强的恶性肿瘤。目

前,原发性肝癌的具体发病机制尚不完全明了,可能与慢性肝炎感染、肝硬化、酒精、黄曲霉素、遗传等因素有关。三维适形放疗是临床原发性肝癌常用的治疗手段之一,但并不是所有患者都对其敏感。因此,探索相关生物学标志物监测放疗敏感度,将有助于患者放疗方案的制定与疗效的预测。肿瘤细胞凋亡受多种基因、信使调控,多项研究表明,M2 型丙酮酸激酶(M2-pyruvate kinase, PKM2)^[1]、环氧化酶 2(cyclooxygenase 2, COX2)^[2] 及凋亡蛋白抑制因子(inhibitor of apoptosis protein, IAPs)^[3] 可能参与抑制肿瘤细胞凋亡,产生放疗抵抗,最终导致放疗失败。但上述蛋白表达与原发性肝癌的患者放疗敏感性关系的报道较少,故本研究将检测原发性肝癌患者肝癌组织中 PKM2、COX2、X 关联凋亡抑制因子(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP)及细胞内凋亡抑制蛋白 1(cellular inhibitor of apoptosis protein 1, cIAP-1)蛋白的表达,具体分析其与放疗敏感性的关系,以探讨监测放疗敏感度的潜在标志物。

1 材料与方法

1.1 一般资料 收集 2015 年 1 月至 2018 年 6 月确诊为原发性肝癌患者 105 例,其中男 62 例,女 43 例,年龄 45~73(57.23 ± 9.52)岁;病理学类型:肝细胞癌 90 例,胆管细胞癌 4 例,混合型肝细胞-胆管细胞癌 11 例;临床分期:Ⅰ期 9 例,Ⅱ期 29 例,Ⅲ期 48 例,Ⅳ期 19 例;分化程度:低分化 28 例,中分化 40 例,高分化 37 例;肿瘤直径 ≥ 5 cm 者 91 例, < 5 cm 者 14 例;合并乙型病毒性肝炎 85 例。本次研究已通过医院伦理委员会批准。

1.2 纳入标准与排除标准 纳入标准:患者经肝脏穿刺活检病理检查确诊为原发性肝癌;具有三维适形放疗指征;初治病例;临床资料完整。

排除标准:复发性或转移性肝癌;合并有其他恶性肿瘤;伴有心、肝、肾等重要脏器功能障碍;合并全身免疫性疾病;精神异常、神志不清者;存在认知障碍者;治疗依从性差。

1.3 方法

2021-07-07 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:1808085MH239)

作者单位:¹ 安徽医科大学附属省立医院肿瘤内科,合肥 230000

² 安徽医科大学第一附属医院东区(肥东县人民医院)肿瘤内科,合肥 231600

作者简介:徐明静,男,主治医师,硕士研究生;

钱立庭,男,主任医师,博士,责任作者,E-mail: money2004@sina.com

1.3.1 免疫组化法检测肝癌组织中 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白表达 取活检组织样本,行常规石蜡包埋制片,脱蜡水化后滴加双氧水,封闭内源性过氧化物酶,水洗后滴加山羊血清室温下封闭 10 min,分别加入 PKM2(1:500)、COX2(1:1000)、XIAP(1:1000)及 cIAP-1(1:500)蛋白一抗工作液,4℃下孵育过夜;次日经磷酸盐缓冲液冲洗,再加入适量生物素标记的蛋白二抗工作液(1:4000),37℃下孵育 30 min;经磷酸盐缓冲液冲洗,加入二氨基联苯胺(DAB)显色 3~15 min,充分冲洗后加入苏木精复染,最后脱水、透明、封片。

1.3.2 染色结果判读标准^[4] 根据染色强度和阳性细胞数,综合判断癌组织中 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白的表达情况,其中 PKM2 阳性表达定位于细胞质,COX2、cIAP-1 阳性表达定位于细胞质,XIAP 阳性表达定位于细胞质和细胞核,阳性信号呈黄色和棕黄色。染色强度评分:无色为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;阳性细胞比例评分:阳性细胞 <5% 为 0 分,5%~25% 为 1 分,26%~50% 为 2 分,51%~75% 为 3 分,>75% 为 4 分,总分为染色强度和阳性细胞比例评分的乘积,其中 0 分为 -,1~4 分为 +,5~8 分为 ++,9~12 分为 +++, - 为阴性表达,+~+++ 为阳性表达。由 2 名资深病理科医师分开评估,共同商议出最终结果。

1.3.3 放疗方案 行 CT 扫描定位,采用三维适形放疗技术,应用瓦里安加速器 6MV-X 射线照射,总照射剂量为 60 Gy,2 Gy/次,1 次/d,每周照射 5 次。

1.4 疗效评估 参照实体瘤疗效判定标准^[5],将患者划分为完全缓解、部分缓解、稳定及进展,其中治疗有效率=(完全缓解+部分缓解+稳定)/总例数×100%,完全缓解和部分缓解为放疗敏感组,稳定和进展者为放疗不敏感组,比较不同放疗效果和敏感性患者癌组织中 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白表达的差异。

1.5 随访 随访至 2020 年 6 月 30 日,通过门诊复查形式,随访频率为 3 个月/次,记录患者复发率、转移率和生存率。

1.6 统计学处理 数据应用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,服从正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验进行比较;计数资料以例数(*n*)或率(%)表示,采用 χ^2 检验进行比较;选取单因素分析有统计学意义的因素,采用强迫引入法,纳入 Logistic 回归模型,进行多因素分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌组织中 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白的表达 本组 105 例患者肝癌组织中 PKM2 蛋白阳性 86 例,阴性 19 例,阳性率为 81.90%;COX2 蛋白阳性 78 例,阴性 27 例,阳性率为 74.28%;XIAP 蛋白阳性 90 例,阴性 15 例,阳性率为 85.71%;cIAP-1 蛋白阳性表达 87 例,阴性 18 例,阳性率为 82.86%。免疫组化检测结果见图 1。

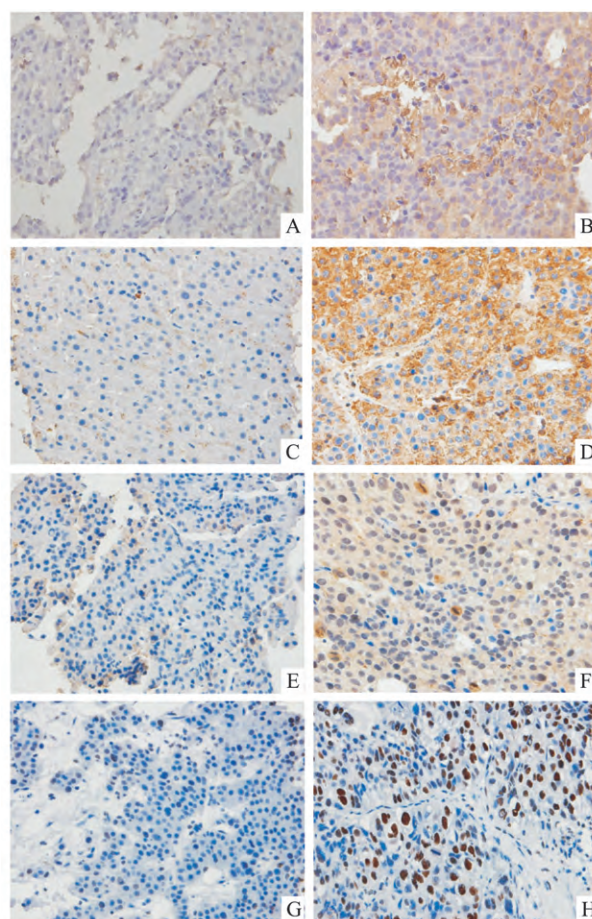


图 1 肝癌组织中 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白的表达 ×400

A: 女性,60 岁,PKM2 阴性表达(-);B: 男性,76 岁,PKM2 阳性表达(3+);C: 男性,59 岁,Ⅲ期,COX-2 蛋白阴性(-);D: 男性,70 岁,Ⅳ期,COX-2 蛋白阳(3+);E: 男性,71 岁,Ⅱ期,XIAP 蛋白阳性(1+);F: 女性,55 岁,Ⅲ期,XIAP 蛋白阳性(3+);G: 女性,46 岁,Ⅳ期,cIAP 蛋白阳性(1+);H: 男性,66 岁,Ⅳ期,cIAP 蛋白阳性(3+)

2.2 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白表达与放疗治疗效果的关系 COX2、XIAP 蛋白阳性表达者治疗有效率与阴性者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),但不同 PKM2、cIAP-1 蛋白表达者治疗有效率的比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表1 不同放疗效果患者 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白表达的比较

蛋白表达	治疗效果(<i>n</i>)				有效率	χ^2 值	<i>P</i> 值
	完全缓解	部分缓解	稳定	进展	[<i>n</i> (%)]		
PKM2							
阳性	15	26	24	21	65(75.58)	3.448	0.063
阴性	6	8	4	1	18(94.74)		
COX2							
阳性	11	25	22	20	58(74.36)	4.026	0.045
阴性	10	9	6	2	25(92.59)		
XIAP							
阳性	16	27	25	22	68(75.56)	4.639	0.031
阴性	5	7	3	0	15(100.00)		
cIAP-1							
阳性	14	27	25	21	66(75.86)	3.109	0.078
阴性	7	7	3	1	17(94.44)		

2.3 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白表达与放疗敏感性的关系 放疗敏感患者临床分期、分化程度、肿瘤直径、肝癌组织中 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白表达情况与放疗不敏感者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);但两组患者年龄、性别、病理学类型及是否合并乙型病毒性肝炎情况的比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表2。

2.4 患者放疗不敏感的多因素分析 以患者是否放疗敏感(敏感=0,不敏感=1)为因变量,上述有统计学意义的因素作为自变量,临床分期(I期=1,II期=2,III期=3,IV期=4)、分化程度(高分化=1,中分化=2,低分化=3)、肿瘤直径(<5 cm=1, ≥ 5 cm=2)、肝癌组织中 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白表达(阴性表达=1,阳性表达=2)分别赋值后纳入 Logistic 回归模型,结果显示高临床分期、低分化程度、COX2、XIAP 阳性表达是患者放疗不敏感的独立危险因素($P < 0.05$),见表3。

2.5 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白表达与患者预后的关系 截止至随访日期,105 例患者中 22 例复发,27 例转移,88 例存活;XIAP 阳性表达者复发率和转移率与阴性表达者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);但不同 PKM2、COX2、cIAP-1 蛋白表达者复发率、转移率、死亡率及不同 XIAP 表达患者的死亡率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表4。

3 讨论

原发性肝癌的临床治疗中,常对病灶处使用局部放射疗法,以快速杀灭局部癌细胞及邻近感染细胞,但是实际治疗过程中,不同的患者对放射治疗表

现出不同的敏感性,除了病理特征的影响外,还与患者自身个体化差异有关。因此,在原发性肝癌的治疗中,有效监测患者的放疗敏感性对于患者的个性化治疗尤为重要。

表2 患者放疗不敏感的单因素分析(n)

因素	放疗敏感组 (n = 55)	放疗不敏感组 (n = 50)	χ^2 值	P 值
年龄(岁)				
<60	33	23	2.063	0.151
≥60	22	27		
性别				
男	34	28	0.367	0.545
女	21	22		
病理学类型				
肝细胞癌	47	43	1.033	0.597
胆管细胞癌	3	1		
混合型肝细胞-胆管细胞癌	5	6		
临床分期				
I 期	9	0	41.940	<0.001
II 期	26	3		
III 期	18	30		
IV 期	2	17		
分化程度				
高分化	26	11	13.273	0.001
中分化	22	18		
低分化	7	21		
肿瘤直径(cm)				
<5	11	3	4.442	0.035
≥5	44	47		
合并乙型病毒性肝炎				
有	42	43	1.577	0.209
无	13	7		
PKM2 表达				
阳性	41	45	4.221	0.040
阴性	14	5		
COX2 表达				
阳性	36	42	4.716	0.030
阴性	19	8		
XIAP 表达				
阳性	43	47	5.352	0.021
阴性	12	3		
cIAP-1 表达				
阳性	41	46	5.618	0.018
阴性	14	4		

表3 患者放疗不敏感的多因素分析

因素	β	SE	Wald χ^2	OR	95% CI	P
临床分期	0.528	0.215	6.031	1.696	1.112 ~ 2.584	0.014
分化程度	0.637	0.310	4.222	1.891	1.030 ~ 3.472	0.040
COX2 阳性表达	0.462	0.159	8.443	1.587	1.162 ~ 2.168	0.004
XIAP 阳性表达	0.496	0.234	4.493	1.642	1.038 ~ 2.598	0.035

表4 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白表达与患者预后的关系

蛋白表达	复发(n = 22)			转移(n = 27)			生存(n = 88)		
	n	χ^2 值	P 值	n	χ^2 值	P 值	n	χ^2 值	P 值
PKM2									
阳性	18	0.373	0.541	20	1.504	0.220	70	2.041	0.153
阴性	4			7			18		
COX2									
阳性	19	2.125	0.145	22	0.985	0.321	65	0.051	0.822
阴性	3			5			23		
XIAP									
阳性	22	4.639	0.031	27	6.058	0.014	73	3.381	0.066
阴性	0			0			15		
cIAP-1									
阳性	17	0.611	0.434	23	0.139	0.710	71	1.811	0.178
阴性	5			4			17		

PKM2 是人体有氧糖酵解中的关键限速酶,其高水平代表糖酵解途径可为肿瘤细胞生长和增殖提供更多的能量和物质,这为肿瘤细胞的恶性增殖创造了有利条件。Liu et al^[6] 研究显示,PKM2 甲基化激活有氧糖酵解后,将促进肿瘤的发生。Long et al^[7] 研究发现,PKM2 在肺癌组织中高表达,并对患者预后有一定的预测能力。COX2 是催化花生四烯酸转化为前列腺素的重要限速酶,正常生理状态下,COX2 处于较低水平,当细胞接受某些细胞因子、内毒素、癌基因等刺激时,会大量产生 COX2,介导多种蛋白酶、炎性介质等引起炎症反应,参与多种疾病的发生。另外,COX2 还可通过前列腺素途径促进肿瘤的增殖,并抑制其凋亡。近年来研究^[8-9] 证实,COX2 在多种肿瘤组织中呈高表达,如肺癌、胃癌等,并与患者病理特征、预后有关。IAPs 可抑制多种刺激触发的凋亡,包括 XIAP、cIAP-1、cIAP-2 等 8 个成员,其特殊的杆状病毒 IAP 重复区序列,可有效抑制细胞凋亡蛋白酶半胱天冬酶(caspase)。汪灵等^[10] 研究指出,XIAP、cIAP-1 和 caspase-3 在乳腺癌组织中高表达,XIAP 和 caspase-3 可作为潜在的预后评估指标。本研究结果显示,肝癌组织中 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白表达阳性率分别为 81.90%、74.28%、85.71% 及 82.86%,与既往研究^[11-12] 结果基本相符。

细胞凋亡不仅与肿瘤的发生发展有关,还与治疗敏感性密切相关。马欢等^[13] 回顾性分析 80 例肝癌患者临床资料,发现 PKM2 在肝癌组织中阳性率高,且与放疗敏感性密切相关。Cheki et al^[14] 研究显示,COX2 在诱导肿瘤细胞对放疗抵抗中有重要作用,可能是放疗防护和放疗增敏的潜在靶点。细胞实验也表明,XIAP、cIAP-1 表达与肿瘤细胞放

疗敏感性有关^[15]。本研究中,COX2、XIAP 蛋白阳性表达者治疗有效率明显低于阴性者,PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 蛋白阳性表达者放疗敏感率也低于阴性者,表明肝癌组织中 PKM2、COX2、XIAP 及 cIAP-1 阳性表达可能放疗效果不佳。探究原发性肝癌患者放疗不敏感的影响因素发现,高临床分期、低分化程度、COX2、XIAP 阳性表达均是患者放疗不敏感的独立危险因素,可能是 COX2 高表达影响前列腺素代谢,加快细胞分裂,促进新生血管的形成,有利于肿瘤细胞的生长;而 XIAP 是最具有潜在抑制活性的 IAPs 成员,可直接抑制凋亡蛋白酶活性,抑制肿瘤细胞的凋亡,因此,COX2、XIAP 阳性表达患者放疗不敏感的风险也越高。另外,随访结果显示,肝癌组织中 XIAP 表达还与患者复发、转移有关。故放疗前 COX2、XIAP 表达的评估对于原发性肝癌患者有重要的临床意义。同时,对于 COX2、XIAP 阳性表达者,可在放疗前应用 COX2、XIAP 抑制剂,这可能是增加放疗敏感性和改善患者预后的新思路。

参考文献

- [1] Hsu M C, Hung W C. Pyruvate kinase M2 fuels multiple aspects of cancer cells: from cellular metabolism, transcriptional regulation to extracellular signaling[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 35.
- [2] Gungor H, Ilhan N, Eroksuz H. The effectiveness of cyclooxygenase-2 inhibitors and evaluation of angiogenesis in the model of experimental colorectal cancer[J]. Biomed Pharmacother 2018, 102: 221-9.
- [3] Cong H, Xu L, Wu Y, et al. Inhibitor of apoptosis protein (IAP) antagonists in anticancer agent discovery: Current status and perspectives[J]. J Med Chem, 2019, 62(12): 5750-72.
- [4] Hua Y, Zhu Y, Zhang J, et al. miR-122 targets X-linked inhibitor of apoptosis protein to sensitize oxaliplatin-resistant colorectal cancer cells to oxaliplatin-mediated cytotoxicity[J]. Cell Physiol

- Biochem, 2018, 51(5): 2148–59.
- [5] 刘秋华, 林榕波. 实体瘤疗效评价标准(RECIST) 指南 1.1 版 [C]. 全国临床肿瘤大会暨 CSCO 学术年会, 2009, 12(12): 451.
- [6] Liu F, Ma F, Wang Y, et al. PKM2 methylation by CARM1 activates aerobic glycolysis to promote tumorigenesis [J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(11): 1358–70.
- [7] Long L, Chen M, Yuan Y, et al. High expression of PKM2 synergizes with PD-L1 in tumor cells and immune cells to predict worse survival in human lung adenocarcinoma [J]. *J Cancer*, 2020, 11(15): 4442–52.
- [8] Sun Y, Dai H, Chen S, et al. Disruption of chromosomal architecture of COX2 locus sensitizes lung cancer cells to radiotherapy [J]. *Mol Ther*, 2018, 26(10): 2456–65.
- [9] Yoo H J, Kim T J, Kim D J, et al. Role of COX2 as a biomarker for estimating survival of patients with clinical stage I gastric cancer [J]. *Anticancer Res*, 2020, 40(1): 341–7.
- [10] 汪灵, 吴至佛, 邓增艳, 等. 乳腺癌组织中 cIAP1, XIAP 和 caspase-3 的表达及其临床意义 [J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(5): 69–77.
- [11] Lu S C, Zhong J H, Tan J T, et al. Association between COX-2 gene polymorphisms and risk of hepatocellular carcinoma development: A meta-analysis [J]. *BMJ Open*, 2015, 5(10): 8263–70.
- [12] Wu W Y, Kim H, Zhang C L, et al. Clinical significance of autophagic protein LC3 levels and its correlation with XIAP expression in hepatocellular carcinoma [J]. *Med Oncol*, 2014, 31(8): 108.
- [13] 马欢, 芦东徽, 徐滨, 等. 肝癌组织中 PKM2 表达及与放疗敏感性的关系 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2020, 36(2): 192–4.
- [14] Cheki M, Yahyapour R, Farhood B, et al. COX-2 in radiotherapy: A potential target for radioprotection and radiosensitization [J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2018, 11(3): 173–83.
- [15] Fang D, Wang H, Li M, et al. α -bisabolol enhances radiotherapy-induced apoptosis in endometrial cancer cells by reducing the effect of XIAP on inhibiting caspase-3 [J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(6): 1–9.

Expression of PKM2, COX2 and IAPs in cancer tissues of patients with primary liver cancer and its relationship with radiotherapy sensitivity

Xu Mingjing^{1,2}, Lu Donghui², Gao Shile², et al

[¹Dept of Oncology, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230000;

²Dept of Oncology, The East District of the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University (Feidong County People's Hospital), Hefei 231600]

Abstract Objective To explore the expression of M2 pyruvate kinase (PKM2), cyclooxygenase 2 (COX2) and inhibitor of apoptosis protein (IAPs) in cancer tissues of patients with primary liver cancer (PLC) and its relationship with radiotherapy sensitivity. **Methods** A total of 105 PLC patients who underwent three-dimensional conformal radiation therapy (CRT) were enrolled. Liver cancer tissues were collected by liver needle biopsy. The expression of PKM2, COX2 and IAPs protein families [X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP), cellular inhibitor of apoptosis protein 1 (cIAP-1)] in liver cancer tissues was detected by immunohistochemistry. The differences in expression of PKM2, COX2, XIAP and cIAP-1 in cancer tissues among patients with different radiotherapy effects and sensitivity were compared. The relationship between the expression of above-mentioned proteins and prognosis was analyzed. **Results** The positive expression rates of PKM2, COX2, XIAP and cIAP-1 in liver cancer tissues of the 105 patients were 81.90%, 74.28%, 85.71% and 82.86%, respectively. There were significant differences in response rate of treatment between patients with positive expression of COX2 and XIAP and those with negative expression ($P < 0.05$). There were significant differences in clinical staging, differentiation degree, tumor diameter, expression of PKM2, COX2, XIAP and cIAP-1 in liver cancer tissues between patients with radiotherapy sensitivity and those without radiotherapy sensitivity ($P < 0.05$). High clinical staging, poor differentiation, positive expression of COX2 and XIAP were independent risk factors of radiotherapy insensitivity ($P < 0.05$). There were significant differences in recurrence rate and metastasis rate between patients with positive expression of XIAP and those with negative expression ($P < 0.05$). **Conclusion** The positive rates of PKM2, COX2, XIAP and cIAP-1 are high in liver cancer tissues of PLC patients. The expression of COX2 and XIAP is closely related to radiotherapy effect and sensitivity, and the expression of XIAP is also related to recurrence and metastasis.

Key words primary liver cancer; M2 pyruvate kinase; cyclooxygenase 2; inhibitor of apoptosis protein; radiotherapy sensitivity; prognosis