

文章编号:1005-6947(2008)04-0336-04

· 结直肠癌专题研究 ·

结直肠癌分子生物学特征及临床特征与预后的关系

李军, 陈建中, 孙保军, 姜卫东

(上海市长宁区中心医院 外科, 上海 200336)

摘要:目的 研究结直肠癌分子生物学特征及临床病理特征与和预后关系方法 对317例结直肠癌患者的分子生物学特征及临床特征和预后进行单因素分析,取有统计学差异的因素进入Cox模型进行多因素分析并做风险评估结果 Kaplan-Meier法显示 p53, C-erb-2, nm23, CEA, 分化程度, Dukes分期这6种因素在分组间有统计学差异(均 $P < 0.05$)。而Cox模型分析显示 Dukes分期, C-erb-2, nm23, p53 这四种因素,是预测结直肠癌预后的独立因素($P < 0.05$, r 均 < 1)。Dukes分期升高和nm23表达阴性, p53和C-erb-2表达阳性者预后差;反之则预后较好。结论 结直肠癌C-erb-2, nm23, p53 癌基因与临床Dukes分期相结合能更好地预测其预后。

[中国普通外科杂志, 2008, 17(4): 336-339]

关键词: 结直肠肿瘤; 比例危险度模型; 分子生物学; 预后

中图分类号: R 735.3

文献标识码: A

The relationship between the molecular biology and the clinical characters and prognosis of colorectal cancer

LI Jun, CHEN Jianzhong, SUN Baojun, JIANG Weidong

(Department of Surgery, the Central Hospital of Chang Ning District of Shanghai, Shanghai 200333, China)

Abstract: **Objective** To study the relationship between the molecular biology and the clinicopathologic characters with prognosis of colorectal cancer. **Methods** The molecular biology traits and clinical characters and prognosis of 317 colorectal cancer patients were compared by mono-factorial analysis; some of them regarded as statistical difference by mono-factorial analysis were analyzed with Cox model. **Results** There was statistical difference for the p53, C-erb-2, nm23, CEA, cell differentiation and Dukes stages with Kaplan-meier's method ($P > 0.05$). p53, C-erb-2, nm23 and Dukes stages with Cox model ($P > 0.05$). The prognosis was worse with increase in Dukes stage, negative expression of gene nm23, and positive expression of gene p53 and C-erb-2. Reverse expressions had better prognosis. **Conclusions** It can be likely to get a more reliable prognosis predication if a combine examination together with p53, C-erb-2, nm23 and their clinical pathology such as Dukes stages, was done in colorectal cancer patients.

[Chinese Journal of General Surgery, 2008, 17(4): 336-339]

Key words: Colorectal Neoplasms; Proportional Hazards Models; Molecular Biology; Prognosis

CLC number: R 735.3

Document code: A

对结直肠癌预后因素的研究通常多从临床、病理^[1]或免疫组织化学等不同方面进行单因素分

析,而实际上影响预后的因素之间可能存在错综复杂的联系。本研究对结直肠癌相关的分子肿瘤学指标以及临床常用的Dukes分期、分化程度等临床病理学特征与预后的关系作一综合分析,报告如下。

收稿日期:2007-07-01; 修订日期:2007-12-15。

作者简介:李军,男,上海市长宁区中心医院主治医师,主要从事普外方面的研究。

通讯作者:李军 E-mail: upinarm@tom.com

1 材料与方 法

1.1 病例及一般材料

病例取自我院 2000 年 1 月—2004 年 12 月经手术治疗且术后病理证实的结直肠癌 345 例患者。其术前未行放疗和化疗,术后均采用以 5-FU + CF 为主的化疗方案。其中回盲部癌 21 例,结肠癌 189 例,直肠癌 99 例,肛管癌 9 例。随访截至 2006 年 10 月;随访时间 4 ~ 78 个月,中位时间 (39.79 ± 17.44) 月。失访 28 例,有效病例 317 例,其中男 143 例,女 174 例,年龄 31 ~ 89 (65.74 ± 12.54) 岁。

1.2 方 法

标本常规 HE 染色切片。p53 D07 抗体,p21,nm23 单克隆抗体及 PCNA PC10 均为 DAKO 公司产品,稀释度分别为 1:50,1:20,1:60 及 1:50。C-erb-2 蛋白为 Oncogene SciInc 产品,经 1:400 稀释。生物素标记马抗小鼠 IgG 和 ABC 试剂为 Vector 实验室产品。免疫组化染色用常规 ABC 法。以乳腺癌阳性标本作阳性对照,用 TBS 代替一抗作阴性对照。肿瘤细胞膜、浆或核出现棕色染色反应者为阳性。PCNA 增殖指数以随机计数 10 个高倍视野 1 000 个细胞中阳性细胞的百分率表示。根据《全国结直肠癌病理研究统一规范》的标准复查全部 HE 切片,观察结直肠癌的组织分化类型(高、中、低)。结合手术和病理进行 Dukes 分期(A,B,C1,C2,D)。

1.3 预后因素及其统计学处理

本组病例所分析的预后因素包括性别,年龄,分化程度,Dukes 分期,p53,p21,C-erb-2,CEA,nm23 和 PCNA(增殖细胞核抗原)。截至随访时死亡病例为完全数据,存活、失访、或死于其他疾病以截尾数据处理。采用 SPSS10.0 统计软件进行处理。Kaplan-Meier 法行单因素分析,取有统计学差异的因素进入 Cox 模型进行多因素分析,并评估风险度,获得风险方程。相关常数 B 为正数或相对危险度大于 1,则该因素对结直肠癌预后起危险作用,反之如 B 为负数或相对危险度小于 1,则该因素对结直肠癌预后起保护作用。

2 结 果

在 317 例标本中,1 年生存率为 93.7%;3 年生存率为 74.3%;5 年生存率 62.1%;对结直肠癌临床、病理学及分子生物学等因素进行单因素 Kaplan-Meier 法分析,结果显示 nm23,C-erb-2,CEA,肿瘤分化程度及 Dukes 分期等指标与预后有关(表 1)。

将 p53,C-erb-2,nm23,CEA,分化程度,Dukes 分期等因素进入 Cox 模型进行多因素分析并作风险评估,得出风险方程函数(表 2-3)(图 1)。Cox 模型检验 $\chi^2 = 138.523, P < 0.001$,故该模型成立。生存风险方程的各有关参数见表 2。根据表 2 得出风险方程函数为:

$$H(t) = [h_0(t)]e^{0.472nm23 + 0.361分化 - 0.410p53 - 0.656Cea - 0.656Cerb2 + 1.157Dukes'分期}$$

表 1 结直肠癌分子生物学特征和临床特征与预后生存率的关系

临床及分子生物学特征	总数	平均生存期(月)	1 年生存率(%)	3 年生存率(%)	5 年生存率(%)	P 值
年龄(岁)						
≤40	11	39.1 ± 6.2	91.7	41.7	8.3	
40 ~ 60	82	57.6 ± 2.1	92.6	74.7	55.7	0.2130
>60	221	57.9 ± 1.8	94.2	75.1	62.3	
性别						
男	142	53.9 ± 2.3	93.7	69.9	52.7	
女	175	61.2 ± 2.0	93.5	77.5	68.8	0.0293
p21 蛋白						
(+)	173	50.8 ± 1.9	92	68	58	
(-)	132	61.2 ± 2.0	96	80	67	0.1294
(±)	10	51.2 ± 8.5	80	50	30	
p53 蛋白						
(+)	173	53.8 ± 2.13	90	68	54	
(-)	132	61.1 ± 2.0	97	78	67	0.0389
(±)	10	56.6 ± 5.5	90	80	60	
nm23 蛋白						
(+)	178	64.5 ± 1.8	96	83	62	
(-)	119	50.2 ± 2.4	89	63	47	0.0000
(±)	19	49.7 ± 5.9	84	68	51	

续表1 结直肠癌分子生物学特征和临床特征与预后生存率的关系

临床及分子生物学特征	总数	平均生存期(月)	1年生存率(%)	3年生存率(%)	5年生存率(%)	P值
C-erb-2 蛋白						
(+)	128	48.2 ± 2.6	90	65	42	0.0000
(-)	169	63.1 ± 1.4	94	78	76	
(±)	18	61.7 ± 2.8	100	94	83	
CEA 蛋白						
(+)	227	52.9 ± 2.1	93	70	41	0.0021
(-)	76	66.9 ± 2.4	96	85	82	
(±)	18	61.7 ± 2.8	85	62	8	
PCNA (%)						
PCNA10 ~ 70%						
PCNA80	25	48.6 ± 4.4	82	60	33	0.4830
PCNA85	14	42.3 ± 4.9	93	85	29	
PCNA90	146	57.3 ± 2.1	93	74	27	
PCNA95	69	49.8 ± 4.1	93	46	0	
PCNA98	27	45.3 ± 2.3	91	20	0	
分化程度						
高	14	>60	100	100	100	0.0021
中	227	58.2 ± 1.7	95	76	60	
低	73	50.8 ± 3.4	86	63	47	
Dukes 分期						
A	14	>60	100	93	93	0.0000
B	83	71.4 ± 1.7	97	90	90	
C ₁	107	62.5 ± 2.2	97	84	70	
C ₂	92	42.9 ± 2.7	93	52	10	
D	19	17.0 ± 4.0	32	5	0	

表2 生存风险方程的协变量各参数

纳入因子	B(偏回归系数)	SE(标准误)	Wald 值(统计量)	Sig.(P值)	Exp(B)(风险度)
p53	-.410	0.179	5.270	0.022	0.664
nm23	0.472	0.161	8.570	0.003	1.603
C-erb-2	-.656	0.204	10.368	0.001	0.519
CEA	-.384	0.238	2.609	0.106	0.681
分化程度	0.361	0.212	2.904	0.088	1.435
Dukes 分期	1.157	0.144	65.011	0.000	3.182

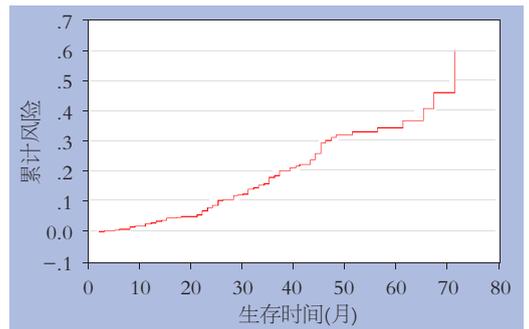


图1 Cox 纳入因子各因素相互作用后累计风险函数图

表3 入选 Cox 模型各因子间相互关系(r)

纳入因子	p53	nm23	C-erb-2	CEA	分化程度
nm23	-.067				
C-erb-2	0.113	0.084			
CEA	-.084	-.067	-.381		
分化程度	-0.128	0.139	-.016	-.059	
Dukes 分期	0.058	-.057	0.075	0.014	-.208

注:表内数据为相关系数值

3 讨论

本文结果显示,结直肠癌预后和年龄无关。这主要由于本组资料年龄梯度不大,大于60岁的患者占总样本的69.7%,而小于40岁的患者仅占总样本的3.5%,故上述结论与文献报道相左^[2]。

PCNA 作为 DNA 聚合酶的辅助蛋白直接参与细胞增殖过程的 DNA 复制,其表达反映细胞的增殖活性。由于本组资料中 PCNA 检测结果小于80%的样本占总样本的11%,故 $P > 0.05$,故排除该因素。但由资料仍能看到随着细胞增殖指

数的增加,1,3,5年的生存率存在逐步下降的趋势。这可能与PCNA系肿瘤发生发展早期事件有关。在癌前病变转化为恶性肿瘤后,均表现出高速增长的特点。

野生型p53是一种抑癌基因,对细胞生长起负调节作用;当p53基因突变或失活时,导致正常细胞转化为癌细胞,从而肿瘤发生^[3]。nm23蛋白是近年来人们发现的一种抗肿瘤转移基因;其表达降低、等位基因的缺失及分布特点与肿瘤的转移能力、复发性相关^[4]。最早发现的致癌基因C-erb-2是一种有酪氨酸激酶活性的185-kD糖蛋白,已有报道其表达对乳腺癌、胃癌和结直肠癌有预后意义^[5]。

本文入选的结直肠癌预后因素中,有统计学意义的因子有p53,C-erb-2,nm23,CEA,分化程度,Dukes分期,表明它们与结直肠癌预后有关。将它们带入Cox模型行多因素分析,得出有统计学差异的指标是:Dukes分期,C-erb-2,nm23和p53。但这些指标相关系数都不大,故相互独立(表3)。根据Wald值,它们对结直肠癌预后作用的大小依次是Dukes分期>C-erb-2>nm23>p53。其中nm23和Dukes分期的常数B大于0,且相对危险度(ExpB)大于1,故是危险因素,nm23表达阴性和Dukes分期增高能使生存率降低。C-erb-2和p53的常数B小于0,且相对危险度(ExpB)小于1,故是保护因素,其不表达能使生存率上升。Dukes分期每增高一级其死亡的风险增加3.182倍;C-erb-2阴性比其阳性死亡的风险减少0.519倍;p53阴性比阳性风险减少0.664倍;nm23阴性比阳性死亡风险增高1.603倍。而p53和C-erb-2同时表达阴性的患者死亡风险是两者同时表达阳性的患者的0.345倍;随着Dukes分期增高(A→D),nm23阴性表达比阳性表达死亡风险逐级增加5.102倍。

从图1中我们还可以看出,在结直肠癌术后前20个月中,其预后风险基本维持在一低水平,这可能与手术切除病灶和术后及时采用正规的化疗有关。但在随后30个月中,其预后风险逐步稳定增加,在术后50个月后,其风险又稳定在一比较固定的水平,提示在术后20~50个月中有必要加强随访。当然如像CEA指标那样方便地在外周血检测出其它肿瘤分子指标,这无疑为临床提供帮助。可喜的是,目前p53抗体检测试剂盒已可以方便快速地检测外周血清中的p53抗体^[6-7]。

与预后有关因素的分析中,分化程度、CEA均未入选,笔者认为这是因为各因素间一对一或多

对一复杂的相互关系使得它们对预后的影响被某些因素所掩盖。

结直肠癌的复发、转移是患者主要死亡原因,而肿瘤细胞复发、转移受转移相关基因及转移抑制基因的调控。因此多基因联合检测对结直肠癌患者预后评估的意义越来越备受重视。它能较全面准确地反映结直肠癌的发生和演变过程。相对于传统的判定指标如Dukes分期或TNM分期(仅能够提供手术切除区域内的癌播散程度和范围,而不能很好地说明肿瘤在体内其它部位的播散情况),分子生物学指标检测可为后者提供一些较可靠的信息和资料。对这些生物学指标与预后和复发关系的评价,并结合Dukes分期,无疑比单纯采用传统的评价指标更科学,它能对一些亚临床期结直肠癌术后复发和转移提供帮助。根据本研究的结果,笔者认为p53,C-erb-2,nm23,Cea等癌基因表达蛋白和Dukes分期、分化程度可作为估计结直肠癌患者预后的指标,其中p53,C-erb-2,nm23,Dukes分期可作为判断预后的独立指标,p53及C-erb-2蛋白的表达,尤其是2种蛋白同时表达且nm23不表达,可作为预后更差的指征。^[8-9]

参考文献:

- [1] 凌伟,颜亚平,李良月,等.结直肠癌预后影响因素分析:附112例报告[J].中国普通外科杂志,2007,16(9):923-925.
- [2] 蔡荣善,郑树,张苏展.不同年龄组结直肠癌预后多因素分析的比较[J].中华肿瘤杂志,2005,27(8):483-485.
- [3] 宫立群,朱日标,尹浩然,等.抑癌基因p53在胃癌组织的表达及临床意义[J].中国肿瘤临床,1999,26(8):598-600.
- [4] Steeg PS, Bevilacqua G, Kopper L, et al. Evidence for a novel gene associated with low tumor metastatic potential. [J]. Journal of the national cancer institute, 1988, 80(3):200-204.
- [5] 胡伯年,傅燕萍,车张云,等.C-erb-2,P53,P21基因在乳腺癌、胃癌和结直肠癌中过度表达的临床意义[J].实用肿瘤杂志,1998,13(2):99-102.
- [6] Takeda A, Shimada H, Nakajima K, et al. Clinical significance of serum p53 antibody detection in a chemosensitivity assay in cases of human colorectal cancer [J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2000, 27(6):879-883.
- [7] 张宏,丛进春,陈春生,等.结直肠癌患者血清p53抗体与p53蛋白表达关系的研究[J].中国普通外科杂志,2004,13(9):650-653.
- [8] Orita H, Maehara Y, Emi Y, et al. C-erb-2 expression is predictive for lymphatic spread of clinical gastric carcinoma. [J] Hepatogastroenterology, 1997, 44(13):294-298.
- [9] Carson DA, Lois A. Cancer progression and P53. [J]. Lancet, 1995, 346(8981):1009-1012.