

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.11.023

Fascin-1 蛋白在结直肠癌中的表达及其临床意义

孔凡良, 胡丽霞, 李成发, 黄孟芹, 蒋英俊, 缪华伟, 吴燕, 王凤云
(安徽省合肥市第二人民医院血液肿瘤科 230011)

[摘要] **目的** 探讨 Fascin-1 蛋白在结直肠癌中的表达及其临床意义。**方法** 采用免疫组化 MaxVision 两步法检测 87 例结直肠癌和 28 例癌旁正常组织中 Fascin-1 蛋白的表达情况, 分析 Fascin-1 蛋白表达与结直肠癌临床病理特征的关系。Kaplan-Meier 和 Cox 回归模型分析 Fascin-1 蛋白表达与结直肠癌患者生存的相关性。**结果** Fascin-1 在结直肠癌组织和癌旁正常组织中的阳性表达率分别为 43.7%(38/87)和 7.1%(2/28), 二者差异有统计学意义($P < 0.05$)。Fascin-1 蛋白表达在不同年龄、TNM 分期、淋巴结转移及远处转移间差异均有统计学意义($P < 0.05$), 但是在不同性别、病理类型、肿瘤位置、分化程度间差异无统计学意义($P > 0.05$); Kaplan-Meier 分析显示 Fascin-1 蛋白高表达组患者的总生存率明显低于低表达组($P = 0.009$)。多因素 Cox 回归分析表明 Fascin-1 蛋白高表达是影响结直肠癌患者预后的独立危险因素(相对危险度[HR]=2.087, 95%CI:1.196~3.642, $P = 0.010$)。 **结论** Fascin-1 蛋白在结直肠癌组织中呈高表达, 其与患者的远期生存率相关。Fascin-1 蛋白可能是影响结直肠癌患者预后的独立危险因素。

[关键词] Fascin-1; 结直肠肿瘤; 免疫组织化学; 远期生存率**[中图分类号]** R73-31**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)11-1519-03

The expression of Fascin-1 in colorectal cancer and its clinical significance

Kong Fanliang, Hu Lixia, Li Chengfa, Huang Mengqin, Jiang Yingjun, Miao Huawei, Wu Yan, Wang Fengyun
(Department of Hematology and Oncology, the Second People's Hospital of Hefei, Hefei, Anhui 230011, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of Fascin-1 in colorectal cancer (CRC) and its clinical significance. **Methods** Immunohistochemistry MaxVision method was adopted to detect the protein expression of Fascin-1 in 87 CRC tissues and 28 para-cancer tissues, and analyzed the expressions of them and the relations to clinicopathologic characteristics. Kaplan-Meier plots and Cox proportional hazards regression model were used to analyze the prognostic value of Fascin-1 expression. **Results** The positive rates of Fascin-1 expression in CRC tissues and para-cancer tissues were 43.7%(38/87) and 7.1%(2/28) respectively, with significant difference ($P < 0.05$). Fascin-1 expression was correlated with age, TNM staging, regional lymph node metastasis and distant metastasis, with significant difference ($P < 0.05$), whereas it was not correlated with gender, tumor location, pathologic differentiation and pathology type, with no statistical difference ($P > 0.05$). In the Kaplan-Meier analysis, patients with Fascin-1 over-expression had significantly shorter overall survival than those patients with negative Fascin-1 expression ($P = 0.009$). Multivariable analysis by Cox regression model further showed that Fascin-1 over-expression was a significantly independent predictor of poorer overall survival (HR=2.087; 95%CI:1.196-3.642, $P = 0.010$). **Conclusion** The expression of Fascin-1 is high and its related to the long-term survival time of patients with CRC. It is an independent prognostic factor for CRC.

[Key words] Fascin-1; colorectal neoplasms; immunohistochemistry; long-term survival time

Fascin-1 蛋白的主要功能是与肌动蛋白结合, 其在人类诸多肿瘤中表达上调, 包括结直肠癌^[1]。但目前对于 Fascin-1 蛋白的表达与结直肠癌患者的远期生存率之间的确切关联鲜有研究。本研究采用免疫组化法检测结直肠癌组织和癌旁正常组织中 Fascin-1 的表达差异, 并通过对患者长期随访, 对 Fascin-1 与患者的远期生存率之间的关联进行研究, 进一步探讨 Fascin-1 蛋白在结直肠癌中的表达及其临床意义, 以期对该病的治疗及预后判断提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2009 年 6 月至 2014 年 7 月本院病理科诊断为结直肠癌的临床与病理资料齐全的石蜡组织标本 87 份, 患者术前均未接受过任何抗肿瘤治疗。其中男 46 例, 女 41 例; 年龄 36~77 岁, 中位年龄 63 岁。同时从距肿瘤至少 3 cm 处取相应癌旁组织 28 份, 并经病理检查确认无癌细胞浸润, 作为对照组。所有标本均用 10% 中性缓冲福尔马林溶液固定, 经石蜡包埋, 4 μm 连续切片采用免疫组化染色。

1.2 主要试剂 免疫组化试剂使用免疫组化浓缩型兔抗人 Fascin-1 单克隆抗体(cp-6848)购自德国 Celplor 公司, 免疫组化检测试剂盒为即用型快捷免疫组化 MaxVision 试剂盒和 DAB 显色试剂盒均购自福州迈新公司。

1.3 方法 免疫组化染色方法参照使用说明书操作, 采用 MaxVision 两步法进行免疫组化染色, 简要步骤按如下操作: 柠檬酸钠缓冲液高压抗原修复, 切片中滴加 Fascin-1 一抗, 4℃过夜, 去除一抗后滴加二抗, 然后试剂盒室温下孵育 20 min, 用 DAB 显色, 苏木精对比染色。Fascin-1 在间质的表达为自身切片的阳性对照, PBS 液取代一抗作阴性对照。

1.4 结果判断 免疫组化以癌及癌旁细胞质中出现棕黄色或棕褐色颗粒为阳性染色。免疫组化评定方法参考文献标准^[2-3]。按染色强度记分: 无色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分; 按染色程度记分: 无阳性细胞数为 0 分, 阳性细胞数 1%~25% 为 1 分, >25%~50% 为 2 分, >50%~75% 为 3 分, >75%~100% 为 4 分。两项相加得分

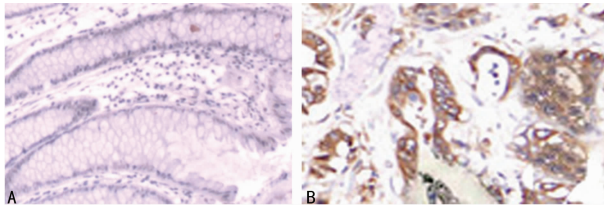
(0~7 分), ≥3 分为高表达。

1.5 随访 截至最后随访时间 2015 年 2 月,全部患者中位随访时间为 43.1 个月(7~68 个月)。患者总的生存时间定义为从手术之日起至末次随访或死亡之日。

1.6 统计学处理 采用 SPSS16.0 进行统计学分析。Fascin-1 表达与各个临床病理因素的分析采用 χ^2 检验,生存分析采用 Kaplan-Meier 方法和 Log-rank 检验。Fascin-1 表达与预后的关系采用单因素和多因素 Cox 回归模型进行分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Fascin-1 蛋白在结直肠癌及癌旁组织中的表达和分布 Fascin-1 免疫组化染色在结直肠癌中主要定位于细胞质或细胞膜上,呈局灶性或弥漫性黄色颗粒状,在结直肠正常组织中仅少量表达于细胞。87 份结直肠癌组织中,38 份(43.7%) Fascin-1 蛋白高表达,见图 1;28 份癌旁组织中,2 份(7.1%) Fascin-1 蛋白高表达,二者比较差异有统计学意义($\chi^2 = 12.465, P < 0.05$)。



A:癌旁正常组织;B:结直肠癌组织。

图 1 结直肠癌组织及癌旁正常组织中 Fascin-1 蛋白的表达(×100)

2.2 Fascin-1 蛋白的表达与结直肠癌患者临床特征的关系 Fascin-1 蛋白表达在不同年龄、TNM 分期、淋巴结转移及远处转移间比较差异有统计学意义($P < 0.05$);但是在不同性别、病理类型、肿瘤位置、分化程度间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

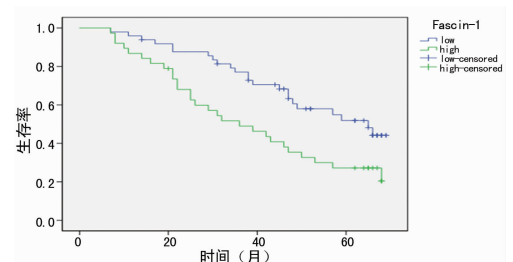
表 1 结直肠癌中 Fascin-1 蛋白表达与临床病理特征的关系

临床特征	n	高表达 (n=38)	低表达 (n=49)	χ^2	P
年龄(岁)				6.545	0.011
≥60	46	26	20		
<60	41	12	29		
性别				0.002	0.968
男	46	20	26		
女	41	18	23		
肿瘤位置				0.002	0.968
结肠	46	20	26		

续表 1 结直肠癌中 Fascin-1 蛋白表达与临床病理特征的关系

临床特征	n	高表达 (n=38)	低表达 (n=49)	χ^2	P
直肠	41	18	23		
TNM 分期				4.055	0.044
I + II	45	15	30		
III + IV	42	23	19		
淋巴结转移				18.237	0.001
有	33	24	9		
无	54	14	40		
病理类型				0.002	0.964
腺癌	80	35	45		
非腺癌	7	3	4		
分化程度				0.140	0.708
高/中分化	81	35	46		
低分化	6	3	3		
远处转移				6.050	0.014
有	19	13	6		
无	68	25	43		

2.3 Fascin-1 蛋白的表达与患者预后的关系 对 87 例获得随访结果的结直肠癌患者进行 Kaplan-Meier 生存分析,结果显示 Fascin-1 蛋白低表达组患者的总生存率明显高于高表达组,用 Log-rank 检验进行组间生存率检验结果显示 $\chi^2 = 6.833, P = 0.009$,即 Fascin-1 蛋白高表达与结直肠癌预后不良有关(图 2)。经 Cox 比例风险回归模型分析,单因素分析显示,Fascin-1 蛋白表达、远处转移与患者预后相关($P < 0.05$),见表 2。多因素 Cox 回归分析,Fascin-1 蛋白高表达是影响结直肠癌患者预后的独立危险因素[相对危险度(HR)=2.087, 95%CI:1.196~3.642, $P = 0.01$]。



low: Fascin-1 蛋白低表达;high: Fascin-1 蛋白高表达。

图 2 结直肠癌中 Fascin-1 蛋白表达与患者生存状况的关系

表 2 结直肠癌预后 Cox 模型分析

影响因素	单因素 COX 模型			多因素 COX 模型		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
Fascin-1 蛋白表达	2.049	1.179~3.562	0.011	2.087	1.196~3.642	0.010
年龄	1.409	0.805~2.466	0.230			
性别	0.820	0.473~1.421	0.479			
肿瘤位置	0.758	0.436~1.315	0.324			

续表 2 结直肠癌预后 Cox 模型分析

影响因素	单因素 COX 模型			多因素 COX 模型		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
TNM 分期	1.539	0.887~2.672	0.125			
淋巴结转移	1.602	0.916~2.801	0.098			
病理类型	0.769	0.370~3.837	0.769			
分化程度	1.533	0.550~4.272	0.414			
远处转移	2.163	1.142~4.096	0.018	2.231	1.165~4.272	0.015

3 讨 论

结直肠癌是全球第三大最常见恶性肿瘤,其死亡率在西方国家中位居第二^[4]。结直肠癌在我国大城市其发病率也逐年升高,已跃居癌症死亡率的第三位^[5]。近十年来随着手术技术的改进,以及化疗方案的不断更新,对于结直肠癌的治疗虽取得了重要的进展,但由于多数结直肠癌患者在行根治性手术时已发生微转移,以及患者对化疗药物产生耐药等的出现,复发和转移的结直肠癌往往难以治疗,使得患者的总生存率并没有显著改善^[6]。因此,寻找更有效的生物标志物预测结直肠癌患者预后仍是目前治疗的重点^[7]。在这些标志物分子中,Fascin 参与形成以肌动蛋白为基础的细胞组织结构,包括皮质细胞突起(如丝状伪足、树突和微绒毛等)和胞质微丝束^[8]。肿瘤细胞侵袭表型的一个重要标志是丝状伪足这一感觉细胞器的丰富性表达。体内和体外实验同时表明丝状伪足的形成的关键因素之一是肌动蛋白纤维的有效聚合^[9]。Fascin-1 是目前惟一已知的定位在整个丝状伪足上的肌动蛋白结合蛋白,通过 siRNA 干扰其缺失后则导致丝状伪足的持续性减少^[9]。此外一些研究表明 Fascin-1 能够显著增加细胞迁移^[10-11]。因此,Fascin-1 可能促进细胞迁移参与丝状伪足的形成。人类 Fascin-1 基因在 1994 年被克隆,其染色体位于 7q22,该基因编码分子量为 5.5×10^4 ku 的细胞骨架蛋白,其主要作用就是与 F-肌动蛋白结合。Fascin-1 蛋白的第 39 位的丝氨酸是蛋白激酶 C (PKC)的磷酸化位点,磷酸化后的该位点可调节 Fascin-1 蛋白与 F-肌动蛋白的结合活性,抑制 Fascin-1 肌钙蛋白的组装功能并影响到细胞膜表面伪足和微棘的形成^[12]。

既往的研究发现,Fascin-1 蛋白在成人的上皮组织中低表达或不表达,在许多上皮来源的(如肺癌、卵巢癌、胃癌及食管癌等)肿瘤细胞系及肿瘤组织中表达明显上调^[13],并可能与肿瘤侵袭及转移有关。本研究中在 28 份正常结直肠黏膜标本中有 2 份(7.1%)Fascin-1 蛋白呈高表达,在 87 份结直肠癌标本共 38 份(43.7%)Fascin-1 蛋白呈现高表达,二者比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。本结果显示,结直肠癌患者肿瘤组织中的 Fascin-1 蛋白表达明显高于癌旁组织,提示组织中 Fascin-1 蛋白的高水平表达可能在结直肠癌的发生和发展过程中发挥着重要作用,这与文献^[1]的研究一致。进一步分析 Fascin-1 蛋白的表达与结直肠癌患者临床特征的关系发现,Fascin-1 蛋白表达在不同性别、TNM 分期、淋巴结转移及远处转移间比较差异有统计学意义($P < 0.05$),表明 Fascin-1 蛋白的表达与结直肠癌生长、TNM 分期和远处转移具有相关性。

近年来发现,Fascin-1 蛋白表达与一些非结直肠癌患者的预后不良和(或)低的生存率呈正相关^[14-15],这与本研究结果一致。本研究通过长期随访,进一步探讨了 Fascin-1 蛋白表达与结直肠癌患者的远期生存率之间的关联。随访资料的 Kap-

lan-Meier 分析、单因素 Cox 回归分析及多因素 Cox 回归分析显示 Fascin-1 蛋白表达与结直肠癌的预后有关,Fascin-1 蛋白高表达提示患者预后差,因此 Fascin-1 蛋白表达可作为结直肠癌预后的指标之一。另外,单因素及多因素 Cox 分析显示远处转移与预后相关,说明远处转移状态是影响结直肠癌预后的重要因素,提示早期诊断、早期干预能够提高患者的生存率。

本研究证实 Fascin-1 蛋白在结直肠癌组织中呈高表达,与结直肠癌的远期生存率相关,其可能成为结直肠癌的预防及治疗提供新的靶点。

参考文献

- [1] Adams JC. Fascin-1 as a biomarker and prospective therapeutic target in colorectal cancer[J]. Expert Rev Mol Diagn,2015,15(1):41-48.
- [2] Soumaoro LT, Uetake H, Higuchi T, et al. Cyclooxygenase-2 expression:a significant prognostic indicator for patients with colorectal cancer[J]. Clin Cancer Res,2004,10(24):8465-8471.
- [3] Masunaga R, Kohno H, Dhar DK, et al. Cyclooxygenase-2 expression correlates with tumor neovascularization and prognosis in human colorectal carcinoma patients[J]. Clin Cancer Res,2000,6(10):4064-4068.
- [4] Zhou T, Zhang GJ, Zhou H, et al. Overexpression of microRNA-183 in human colorectal cancer and its clinical significance[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2014, 26(2):229-233.
- [5] Xu AG, Yu ZJ, Jiang B, et al. Colorectal cancer in Guangdong Province of China:a demographic and anatomic survey[J]. World J Gastroenterol,2010,16(8):960-965.
- [6] Zhao L, Wang H, Deng YJ, et al. Transgelin as a suppressor is associated with poor prognosis in colorectal carcinoma patients[J]. Mod Pathol,2009,22(6):786-796.
- [7] Liu Z, Dai W, Jiang L, et al. Over-expression of LGR5 correlates with poor survival of colon cancer in mice as well as in patients[J]. Neoplasma,2014,61(2):177-185.
- [8] Kureishy N, Sapountzi V, Prag S, et al. Fascins, and their roles in cell structure and function[J]. Bioessays,2002,24(4):350-361.
- [9] Oh SY, Kim YB, Suh KW, et al. Prognostic impact of fascin-1 expression is more significant in advanced colorectal cancer[J]. J Surg Res,2012,172(1):102-108.
- [10] Jawhari AU, Buda A, Jenkins M, et al. (下转第 1525 页)

于出现这种情况,无需特殊处理,一般可以自愈。而开放手术中,由于周围肌肉、软组织破坏较多,因此,建议小针线术中将漏口缝合,一般术后恢复情况也较好。

3.4 肥胖与非肥胖患者在两种手术方式中的比较 在开放手术中,肥胖患者术中出血量、手术切口长度及手术时间均大于非肥胖组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。考虑肥胖患者为达到手术界面引起切口过长及过深有关。这与其他国内外研究结果是一致的^[11-12]。在微创组中,术中出血量及手术切口长度两组患者比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

在术后 6 个月 VAS 评分中,肥胖组与非肥胖组患者之间差异无统计学意义($P > 0.05$),但是 ODI 评分比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。虽然国内外学者研究表明,在完成 TLIF 治疗 2 年随访后的患者,肥胖组和正常体重质量组 ODI 评分均有改善,差异无统计学意义($P > 0.05$)^[11-12]。但是他们随访结果时间长达 2 年,而本研究随访只有 6 个月。因此术后短期内肥胖组患者功能恢复较非肥胖组差。

在并发症方面,术中易有神经血管牵拉的并发症,在严重肥胖患者中可达 20% 以上^[13]。而且,由于肥胖患者脂肪过厚,常常需要扩大手术切口,增加术后液化及感染概率。有研究发现,肥胖患者行脊柱手术时并发症发生率更高,特别是切口并发症^[13],因此认为肥胖是引起脊柱手术切口并发症的一个重要因素。在本次研究中,开放组有 5 例患者(4 例为肥胖,1 例为非肥胖患者)出现切口愈合延迟,经加强换药后最终切口痊愈。而微创组手术切口愈合好。

综上所述,肥胖或非肥胖的腰椎管狭窄并不稳患者在接受开放 TLIF 或 MIS-TLIF 均可获得良好的术后效果。但是肥胖患者手术术中出血多、切口长、术后并发症多,而且短期内疗效较非肥胖患者差,因此,MIS-TLIF 对于治疗肥胖的腰椎管狭窄并不稳的患者是很好的治疗选择。

参考文献

- [1] Hangai M, Kaneoka K, Kuno S, et al. Factors associated with lumbar intervertebral disc degeneration in the elderly [J]. *Spine J*, 2008, 8(5): 732-740.
- [2] Meredith DS, Huang RC, Nguyen J, et al. Obesity increases the risk of recurrent herniated nucleus pulposus after lumbar microdiscectomy [J]. *Spine J*, 2010, 10(7): 575-580.
- [3] 刘伟. 腰椎管狭窄症与肥胖相关性的回顾性研究[D]. 广

西:广西中医药大学,2009.

- [4] Shin HC, Yi S, Kim KN, et al. Posterior lumbar interbody fusion via a unilateral approach[J]. *Yonsei Med J*, 2006, 47(3): 319-325.
- [5] Foley KT, Holly LT, Schwender JD. Minimally invasive lumbar fusion [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2003, 28(15 Suppl): S26-35.
- [6] Kim CW. Scientific basis of minimally invasive spine surgery: prevention of multifidus muscle injury during posterior lumbar surgery [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2010, 35(26 Suppl): S281-286.
- [7] 曾庆民, 陈国雄, 陈才, 等. 低剂量 X 线暴露人群外周血细胞效应的调查 [J]. *华南预防医学*, 2004, 30(1): 77.
- [8] Rodríguez-Vela J, Lobo-Escolar A, Joven E, et al. Clinical outcomes of minimally invasive versus open approach for one-level transforaminal lumbar interbody fusion at the 3- to 4-year follow-up [J]. *Eur Spine J*, 2013, 22(12): 2857-2863.
- [9] Seng C, Siddiqui MA, Wong KP, et al. Five-year outcomes of minimally invasive versus open transforaminal lumbar interbody fusion: a matched-pair comparison study [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2013, 38(23): 2049-2055.
- [10] Silva PS, Pereira P, Monteiro P, et al. Learning curve and complications of minimally invasive transforaminal lumbar interbody fusion [J]. *Neurosurg Focus*, 2013, 35(2): E7.
- [11] Wang J, Zhou YE, Zhang ZF, et al. Comparison of the clinical outcome in overweight or obese patients after minimally invasive versus open transforaminal lumbar interbody fusion [J]. *J Spinal Disord Tech*, 2014, 27(4): 202-206.
- [12] Terman SW, Yee TJ, Lau D, et al. Minimally invasive versus open transforaminal lumbar interbody fusion: comparison of clinical outcomes among obese patients [J]. *J Neurosurg Spine*, 2014, 20(6): 644-652.
- [13] Patel N, Bagan B, Vadera S, et al. Obesity and spine surgery: relation to perioperative complications [J]. *J Neurosurg Spine*, 2007, 6(4): 291-297.

(收稿日期:2015-12-15 修回日期:2016-01-29)

(上接第 1521 页)

- Fascin, an actin-bundling protein, modulates colonic epithelial cell invasiveness and differentiation in vitro [J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(1): 69-80.
- [11] Grothey A, Hashizume R, Sahin AA, et al. Fascin, an actin-bundling protein associated with cell motility, is up-regulated in hormone receptor negative breast cancer [J]. *Br J Cancer*, 2000, 83(7): 870-873.
 - [12] Larsson C. Protein kinase C and the regulation of the actin cytoskeleton [J]. *Cell Signal*, 2006, 18(3): 276-284.
 - [13] Kulasingam V, Diamandis EP. Fascin-1 is a novel biomarker of aggressiveness in some carcinomas [J]. *BMC Med*,

2013, 11(1): 53.

- [14] Hashimoto Y, Shimada Y, Kawamura J, et al. The prognostic relevance of fascin expression in human gastric carcinoma [J]. *Oncology*, 2004, 67(3/4): 262-270.
- [15] Yoder BJ, Tso E, Skacel M, et al. The expression of fascin, an actin-bundling motility protein, correlates with hormone receptor-negative breast cancer and a more aggressive clinical course [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(1): 186-192.

(收稿日期:2015-10-26 修回日期:2016-01-10)