

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.09.017

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20230328.1101.010.html\(2023-03-28\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20230328.1101.010.html(2023-03-28))

结直肠癌中 DRP1、p53 及 Ki67 的表达及临床意义*

丁剑锋¹, 刘颖², 靳钦², 王伟², 周正友^{3△}

(1. 南通大学附属医院创伤中心, 江苏南通 226001; 2. 南通大学附属医院病理科, 江苏南通 226001;

3. 南郊区人民医院病理科, 陕西汉中 723100)

[摘要] **目的** 观察结直肠癌动力相关蛋白 1(DRP1)、p53 及 Ki67 的表达情况, 并探讨其临床意义。**方法** 收集 2018 年 1 月至 2020 年 11 月于南通大学附属医院行结直肠癌根治术并经病理诊断为结直肠腺癌的 141 例患者癌组织及对应癌旁组织, 应用免疫组织化学法检测 DRP1、p53 及 Ki67 的表达情况, 并分析其与临床病理特征的相关性。**结果** 结直肠癌组织中 DRP1、p53、Ki67 阳性表达率均明显高于癌旁组织($P < 0.05$)。不同肿瘤浸润深度(N 分期)、淋巴结转移(T 分期)、TNM 分期及肿瘤分化程度的患者结直肠癌组织 DRP1 和 Ki67 阳性表达率比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。更高的肿瘤 T 分期、N 分期、TNM 分期患者结直肠癌组织中 p53 阳性表达率更高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结直肠癌组织中 DRP1 与 p53、Ki67 表达水平呈正相关($r = 0.348, 0.471, P < 0.001$), p53 与 Ki67 表达水平也呈正相关($r = 0.353, P < 0.001$)。**结论** DRP1 在结直肠癌组织中表达升高, 且与结直肠癌恶性生物学行为相关, DRP1 可能作为评估结直肠癌恶性程度和进展的有效指标。**[关键词]** 结直肠癌; 病理; 动力相关蛋白 1; p53; Ki67**[中图法分类号]** R735.34 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)09-1363-05

Expression and clinical significance of DRP1, p53 and Ki67 proteins in colorectal cancer*

DING Jianfeng¹, LIU Ying², JIN Qin², WANG Wei², Zhou Zhengyou^{3△}

(1. Trauma Center, the Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong, Jiangsu 226001, China;

2. Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong, Jiangsu 226001, China; 3. Department of Pathology, Nanzheng

People's Hospital, Hanzhong, Shaanxi 723100, China)

[Abstract] **Objective** To observe the expression of dynamin-related protein 1 (DRP1), p53 and Ki67 in**colorectal cancer**, and to explore their clinical significance. **Methods** From January 2018 to November 2020, the cancer tissues and corresponding adjacent tissues of 141 colorectal cancer patients who underwent radical resection of colon cancer and were diagnosed as colorectal cancer by pathology were collected. The expressions of DRP1, p53 and Ki67 were detected by immunohistochemistry, and their correlation with clinicopathological characteristics was analyzed. **Results** The positive expression rates of DRP1, p53 and Ki67 in colorectal cancer tissues were significantly higher than those in adjacent tissues ($P < 0.05$). The positive expression rate of DRP1 and Ki67 in colorectal cancer tissues was correlated with tumor invasion depth (N stage), lymph node metastasis (T stage), tumor node metastasis (TNM) stage, and tumor differentiation degree, with statistical significance ($P < 0.05$). The positive expression rate of p53 in colorectal cancer tissues of patients with higher T stage, N stage and TNM stage was higher, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The expression of DRP1 in colorectal cancer tissues was positively correlated with the expression of p53 and Ki67 ($r = 0.348, 0.471, P < 0.001$), the expression of p53 was also positively correlated with the expression of Ki67 ($r = 0.353, P < 0.001$). **Conclusion** The expression of DRP1 is increased in colorectal cancer tissues, and it is

* 基金项目: 2021 年度江苏省南通市级基础科学研究项目(JC2021029)。 作者简介: 丁剑锋(1981-), 主治医师, 硕士, 主要从事创伤的临床

诊疗研究。 △ 通信作者, E-mail: dingjfl98101@163.com。

related to the malignant biological behavior of colorectal cancer. DRP1 can be used as an effective indicator for evaluating the malignant degree and progression of colorectal cancer.

[Key words] colorectal cancer; pathology; dynamin-related protein 1; p53; Ki67

结直肠癌是一种发病率及病死率均较高的消化道恶性肿瘤^[1]。近年来,结直肠癌的发病率逐年上升,且患者年龄也呈现下降趋势^[2]。结直肠癌最常见的病理类型为腺癌,患者预后较差。目前,外科根治手术仍然是结直肠癌最主要的治疗方法。随着医疗技术的发展及靶向药物的应用,结直肠癌患者手术后 5 年生存率有了一定的改善,尽管如此,还是有相当一部分患者因肿瘤复发或转移而死亡。因此,探索结直肠腺癌诊断的有效分子标志物,研究其治疗靶点,对延长患者存活时间,提升患者生存质量有重要的临床意义。

动力相关蛋白 1(dynamin related protein 1, DRP1)是线粒体分裂的调控蛋白,DRP1 在较多恶性肿瘤细胞中表达上调,它参与了肿瘤的增殖和转移。p53 是一种抑癌基因,其突变后失去抑癌功能,且促进肿瘤的发展和转移。细胞核相关抗原 Ki67 是一种细胞核增殖抗原,其与肿瘤细胞的增殖密切相关,Ki67 指数是评估肿瘤恶性程度的指标之一。本研究通过检测结直肠癌组织中 DRP1、p53 及 Ki67 的表达,分析它们之间的相关性及其与临床病理特征间的关系,探寻结直肠癌新的治疗靶点。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2018 年 1 月至 2020 年 11 月于南通大学附属医院行结直肠癌根治术并经病理诊断为结直肠腺癌的 141 例患者癌组织标本和对应癌旁组织标本。患者临床信息来自病案资料。纳入标准:(1)行手术治疗且术后病理诊断为结直肠腺癌;(2)未接受过任何类型的术前治疗;(3)临床病理资料完整,未合并其他严重疾病。141 例患者中男 82 例,女 59 例;年龄 28~85 岁,中位年龄 55 岁;其中 54 例出现淋巴结转移;肿瘤 TNM 分期:Ⅰ、Ⅱ期 77 例,Ⅲ、Ⅳ期 64 例。本研究通过南通大学附属医院伦理委员会审核批准,所有患者签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 试剂与免疫组织化学染色

鼠抗人 DRP1、p53 及 Ki67 单克隆抗体,二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒,免疫组织化学试剂盒及配套物品购自北京中杉金桥有限公司。阴性对照组用磷酸盐缓冲溶液(PBS)替代一抗。试验标本经 4% 甲醛固定,常规脱水、包埋及切片,EnVision 法行免疫组织化学染色,操作步骤如下:恒温烤片机烤片,脱蜡,

乙醇梯度脱水,乙二胺四乙酸(EDTA)抗原修复,依次孵育一抗和二抗,DAB 显色,苏木素染色,封片。

1.2.2 结果判读

所有染色切片由两名病理医生单独阅片。DRP1 阳性结果显示细胞质内出现棕褐色颗粒。染色强度:0 分,无着色;1 分,浅黄色;2 分,棕黄色;3 分,棕褐色。阳性细胞率 $\leq 5\%$ 为 0 分, $> 5\% \sim 25\%$ 为 1 分, $> 25\% \sim 50\%$ 为 2 分, $> 50\%$ 为 3 分。染色强度与阳性细胞率评分的乘积记为最后评分: < 4 分判为阴性, ≥ 4 分判为阳性^[3]。

Ki67 和 p53 阳性结果定义为细胞核呈棕黄色。阳性细胞率 $\leq 10\%$ 为 1 分, $> 10\% \sim 50\%$ 为 2 分, $> 50\% \sim 80\%$ 为 3 分, $> 80\%$ 为 4 分。染色强度:0 分,无着色;1 分,浅黄色;2 分,棕黄色;3 分,棕褐色。染色强度与阳性细胞率评分的乘积视为最后评分: < 6 分判为阴性, ≥ 6 分判为阳性^[4]。

1.3 统计学处理

采用 SPSS21.0 软件进行数据统计分析,计数资料以例数或百分比表示,比较采用 χ^2 检验;采用 Spearman 相关系数进行相关性分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DRP1、p53 及 Ki67 在肿瘤中的表达

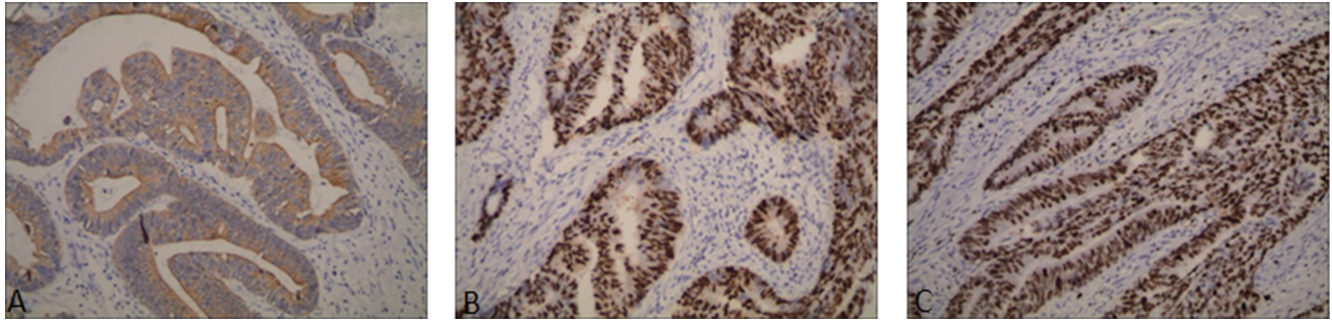
DRP1 阳性染色在细胞质,p53 及 Ki67 阳性染色在细胞核,见图 1。结直肠癌组织中 DRP1、p53 及 Ki67 的阳性表达率依次为 50.4%、54.6%、66.7%,阳性表达率均高于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.2 DRP1、p53 及 Ki67 的表达与结直肠癌患者各临床病理特点的关系

不同肿瘤浸润深度(N 分期)、淋巴结转移(T 分期)、TNM 分期及肿瘤分化程度的患者结直肠癌组织 DRP1 和 Ki67 表达比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);更高的肿瘤 T 分期、N 分期、TNM 分期患者结直肠癌组织 p53 阳性表达率更高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

2.3 结直肠癌组织 DRP1、p53 及 Ki67 表达的相关性

Spearman 相关性分析显示,结直肠癌组织 DRP1 与 p53、Ki67 表达水平均呈正相关($r = 0.348, 0.471, P < 0.001$),p53 与 Ki67 表达水平也呈正相关($r = 0.353, P < 0.001$)。



A:DRP1 呈高表达;B:p53 呈高表达;C:Ki67 呈高表达。

图 1 结直肠癌组织 DRP1、p53 及 Ki67 的表达情况 (EnVision 法,200×)

表 1 结直肠癌与癌旁组织中 DRP1、p53、Ki67 阳性表达率比较[n=141,n(%)]

组别	DRP1		p53		Ki67	
	-	+	-	+	-	+
结直肠癌组织组	70(49.6)	71(50.4)	64(45.4)	77(54.6)	47(33.3)	94(66.7)
癌旁组织组	95(67.4)	46(32.6)	127(90.1)	14(9.9)	122(86.5)	19(13.5)
χ^2	9.130		64.395		83.063	
P	0.003		<0.001		<0.001	

表 2 DRP1、p53、Ki67 表达与结直肠癌患者临床病理特点之间的关系[n=141,n(%)]

项目	n	DRP1		χ^2	P	p53		χ^2	P	Ki67		χ^2	P
		-	+			-	+			-	+		
T				10.282	0.001			4.031	0.045			16.525	<0.001
T ₁ +T ₂	41	29(70.7)	12(29.3)			24(58.5)	17(41.5)			24(58.5)	17(41.5)		
T ₃ +T ₄	100	41(41.0)	59(59.0)			40(40.0)	60(60.0)			23(23.0)	77(77.0)		
N				7.320	0.007			5.132	0.023			16.342	<0.001
N ₀	87	51(58.6)	36(41.4)			46(52.9)	41(47.1)			40(46.0)	47(54.0)		
N ₁ +N ₂	54	19(35.2)	35(64.8)			18(33.3)	36(66.7)			7(13.0)	47(87.0)		
M				0.000	0.992			0.017	0.895			0.254	0.615
M ₀	139	69(49.6)	70(50.4)			63(45.3)	76(54.7)			46(33.1)	93(66.9)		
M ₁	2	1(50.0)	1(50.0)			1(50.0)	1(50.0)			1(50.0)	1(50.0)		
TNM				13.283	<0.001			5.737	0.017			8.941	0.003
I+II	77	49(63.6)	28(36.4)			42(54.5)	35(45.5)			34(44.2)	43(55.8)		
III+IV	64	21(32.8)	43(67.2)			22(34.4)	42(65.6)			13(20.3)	51(79.7)		
部位				0.170	0.680			0.054	0.817			0.059	0.809
横结肠+升结肠+盲肠	83	40(48.2)	43(51.8)			37(44.6)	46(55.4)			27(32.5)	56(67.5)		
乙状结肠+降结肠+直肠	58	30(51.7)	28(48.3)			27(46.6)	31(53.4)			20(34.5)	38(65.5)		
大小				2.666	0.103			0.510	0.475			0.104	0.747
≤4 cm	23	15(65.2)	8(34.8)			12(52.2)	11(47.8)			7(30.4)	16(69.6)		
>4 cm	118	55(46.6)	63(53.4)			52(44.1)	66(55.9)			40(33.9)	78(66.1)		
分化				5.663	0.017			0.273	0.601			5.710	0.017
高+中分化	121	65(53.7)	56(46.3)			56(46.3)	65(53.7)			45(37.2)	76(62.8)		
低分化	20	5(25.0)	15(75.0)			8(40.0)	12(60.0)			2(10.0)	18(90.0)		

续表2 DRP1、p53、Ki67 表达与结直肠癌患者临床病理特点之间的关系 [$n=141, n(\%)$]

项目	n	DRP1		χ^2	P	p53		χ^2	P	Ki67		χ^2	P
		-	+			-	+			-	+		
性别				0.341	0.559			0.006	0.940			0.233	0.629
女	59	31(52.5)	28(47.5)			27(45.8)	32(54.2)			21(35.6)	38(64.4)		
男	82	39(47.6)	43(52.4)			37(45.1)	45(54.9)			26(31.7)	56(68.3)		
年龄				0.004	0.949			0.045	0.833			0.061	0.805
<60岁	52	26(50.0)	26(50.0)			23(44.2)	29(55.8)			18(34.6)	34(65.4)		
≥60岁	89	44(49.4)	45(50.6)			41(46.1)	48(53.9)			29(32.6)	60(67.4)		

3 讨论

结直肠癌的恶性程度较高。外科根治手术辅助化疗提高了结肠腺癌的总生存率^[1]。此外,抗血管内皮生长因子(VEGF)、抗血管内皮生长因子受体(VEGFR)、抗表皮生长因子受体(EGFR)及抗细胞程序性死亡配体-1(PDL-1)治疗目前已应用于临床^[5-6],但治疗效果各不相同。结直肠癌的其他基因靶向治疗仍需探索。因此,寻找可以预测结直肠癌患者预后并作为治疗靶点的生物标志物具有重要意义。

线粒体是生物细胞中至关重要的细胞器,它能提供细胞代谢所需的能量,并参与细胞蛋白质的合成及遗传等。正常情况下,线粒体的分裂与融合形成动态平衡,以维持线粒体的正常功能。动力相关蛋白DRP1是一种鸟苷三磷酸(GTP)酶,定位于细胞质;而人类DRP1基因位于染色体12p11.21区,DRP1是调控线粒体分裂的重要因子,也是维持线粒体融合与分裂动态平衡的关键因子^[7-8]。研究发现,DRP1参与了较多肿瘤的发生和发展^[3]。目前,甲状腺癌、卵巢癌、胶质细胞瘤、恶性黑色素瘤及胃癌等肿瘤中发现DRP1表达上调^[9-10];且有转移的乳腺癌中DRP1表达水平高于无转移的乳腺癌^[3]。恶性肿瘤是由于肿瘤细胞的增殖与凋亡失衡而导致,线粒体融合/分裂平衡又在调控细胞增殖周期中起到了重要作用。有研究提示,抑制细胞中DRP1表达能使细胞周期停滞于G₁期^[11]。还有研究发现,敲低皮肤鳞状细胞癌细胞株中的DRP1会使细胞分裂周期阻滞^[12]。IN-OUE-YAMAUCHI等^[13]报道,敲除结肠癌细胞中的DRP1能引起癌细胞凋亡增多。另外,胰腺癌和肝细胞癌中DRP1表达增加可以促进肿瘤的增殖^[14-15]。最近,在胃癌及肺癌组织中也发现DRP1呈高表达,且DRP1高表达与肿瘤的转移和高TNM分期相关,提示DRP1高表达可能促进肿瘤的进展^[6,8]。本研究发现,DRP1在结直肠癌组织中呈高表达。此外,本研究还发现结直肠癌组织DRP1高表达与肿瘤的不良生物学行为(较低的分化程度、高T分期、高N分期

及高TNM分期)相关,提示DRP1可能在结直肠癌的侵袭和转移中发挥了促进作用。本研究结果与上述文献相符。目前,DRP1的促瘤机制尚未明确,它可能通过调控线粒体分裂,从而影响细胞凋亡和增殖的平衡,最终参与并促进肿瘤形成。

Ki67为核增殖抗原,存在于细胞有丝分裂除G₀期外的各个周期,Ki67可以评估细胞增殖活跃程度。刘睿等^[16]研究提示,Ki67在大部分肿瘤包括结肠癌中高表达,而且与肿瘤进展及患者预后相关。p53分为野生型和突变型两种基因类型,野生型p53起抑瘤作用,突变型p53起促瘤作用。目前,突变型p53蛋白可用免疫组织化学方法检测。研究证实,大部分人类肿瘤中可以检测到p53突变^[16-17]。进展期大肠癌的多重恶性生物学行为与p53表达相关,检测p53蛋白有助于评估大肠癌患者预后^[17-18]。本研究联合检测结直肠癌组织中的DRP1、p53和Ki67,并分析三者的相关性,结果显示,结直肠癌中DRP1与Ki67、p53表达水平均呈正相关,表明DRP1可能促进了肿瘤的增殖,从而促进了肿瘤的形成。

综上所述,结直肠癌中DRP1高表达有着重要意义,今后也将通过更多的研究来探讨DRP1在结直肠癌发展中的机制及其与患者预后的关系,为预测结直肠癌患者预后提供新的标志物,并为结直肠癌患者的治疗提供新的方向。

参考文献

- [1] JIN Q, LIU G, BAO L, et al. High Spyl expression predicts poor prognosis in colorectal cancer [J]. Cancer Manag Res, 2018, 10: 2757-2765.
- [2] DAY L W, VELAYOS F. Colorectal cancer screening and surveillance in the elderly: updates and controversies [J]. Gut Liver, 2015, 9(2): 143-151.
- [3] 吕佳乐, 王雅, 朱云娜, 等. 动力相关蛋白1、Ki67在胃腺癌组织中的表达及其临床意义 [J/

- CD]. 消化肿瘤杂志(电子版), 2021, 13(2): 93-98.
- [4] 王玉. 胃癌组织中 Ki67、EGFR、p53 阳性表达情况及其临床意义分析[J]. 临床医学工程, 2021, 28(5): 595-596.
- [5] WANG J X, WU H L, ZHU M, et al. Role of anti-epidermal growth factor receptor therapy compared with anti-vascular endothelial growth factor therapy for metastatic colorectal cancer: an update meta-analysis of randomized clinical trials[J]. *Pathol Oncol Res*, 2020, 26(1): 159-166.
- [6] SEHDEV A, CRAMER H M, IBRAHIM A A, et al. Pathological complete response with anti-PD-1 therapy in a patient with microsatellite instable high, BRAF mutant metastatic colon cancer: a case report and review of literature [J]. *Discov Med*, 2016, 21(117): 341-347.
- [7] 刘宗志, 霍承瑜, 张超. 非小细胞肺癌患者癌组织乙酰化酶 4 和动态相关蛋白 1 表达及其与预后的关系[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2021, 35(10): 1025-1028.
- [8] DAI C Q, GUO Y, CHU X Y. Neuropathic pain: the dysfunction of Drp1, mitochondria, and ROS homeostasis[J]. *Neurotox Res*, 2020, 38(3): 553-563.
- [9] TSUYOSHI H, ORISAKA M, FUJITA Y, et al. Prognostic impact of dynamin related protein 1 (Drp1) in epithelial ovarian cancer [J]. *BMC Cancer*, 2020, 20(1): 467.
- [10] LIMA A R, CORREIA M, SANTOS L, et al. S616-p-DRP1 associates with locally invasive behavior of follicular cell-derived thyroid carcinoma [J]. *Endocrine*, 2021, 73(1): 85-97.
- [11] MITRA K, WUNDER C, ROYSAM B, et al. A hyperfused mitochondrial state achieved at G₁-S regulates cyclin E buildup and entry into S phase[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(29): 11960-11965.
- [12] KITAMURA S, YANAGI T, IMAFUKU K, et al. Drp1 regulates mitochondrial morphology and cell proliferation in cutaneous squamous cell carcinoma [J]. *J Dermatol Sci*, 2017, 88(3): 298-307.
- [13] INOUE-YAMAUCHI A, ODA H. Depletion of mitochondrial fission factor DRP1 causes increased apoptosis in human colon cancer cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 421(1): 81-85.
- [14] HUANG Q, CAO H, ZHAN L, et al. Mitochondrial fission forms a positive feedback loop with cytosolic calcium signaling pathway to promote autophagy in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2017, 403: 108-118.
- [15] LIANG J, YANG Y, BAI L, et al. DRP1 upregulation promotes pancreatic cancer growth and metastasis through increased aerobic glycolysis [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2020, 35(5): 885-895.
- [16] 刘睿, 杨垒, 颜浩. CK20、Nm23 与 Ki67 蛋白在结直肠癌组织中的表达及意义 [J]. 中国现代普通外科进展, 2020, 23(10): 797-800.
- [17] 陈晓丽. 免疫组织化学法测定 P53、nm23 对结肠癌的诊断价值 [J]. 中国社区医师, 2021, 37(18): 103-104.
- [18] 张海洋, 厉冰, 杨玉兵, 等. 大肠癌中抑制基因 BCL-2、p53 与 Beclin-1 的表达及其与肠癌生物学行为的关系 [J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(10): 1429-1433.

(收稿日期: 2022-08-26 修回日期: 2023-01-12)