

doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2015.21.1139

·论著·

结肠癌组织中 Cofilin-1 蛋白的表达及临床病理意义

刘艳¹,林建姣¹,胡红松¹,刘荣火¹,章任兵²(深圳市龙岗区人民医院消化内科¹、病理科²,广东 深圳 518172)

【摘要】目的 探讨结肠癌组织中 Cofilin-1 蛋白的表达及其与肿瘤侵袭和转移的关系。**方法** 应用免疫组织化学 SP 法检测 60 例结肠癌组织、40 例癌旁正常组织、26 例转移淋巴结组织标本中 Cofilin-1 蛋白的表达水平,并结合临床病理参数进行分析。**结果** Cofilin-1 蛋白在结肠癌组织、转移淋巴结组织中表达率分别为 76.7%、61.5%,均明显高于癌旁正常组织中的 32.5% 表达率。Cofilin-1 在结肠癌组织、转移淋巴结组织中的表达率明显高于癌旁正常组织,差异均有统计学意义($P<0.05$)。Cofilin-1 蛋白的表达水平与结肠癌组织分化程度、Dukes 分期、浆膜侵犯及淋巴结转移有关($P<0.05$),而与性别、年龄、肿瘤大小无明显相关($P>0.05$)。Cofilin-1 与结肠癌预后密切相关($P<0.05$)。**结论** 检测 Cofilin-1 蛋白的表达有助于判断结肠癌的浸润、转移及预后。

【关键词】丝切蛋白-1;结肠癌;转移;预后**【中图分类号】** R735.3⁵ **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2015)21—3130—03

Expression and clinicopathological significance of Cofilin-1 protein in colonic cancer. LIU Yan¹, LIN Jian-jiao¹, HU Hong-song¹, LIU Rong-huo¹, Zhang Ren-bing². Department of Gastroenterology¹, Department of Pathology², Longgang District People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen 518172, Guangdong, CHINA

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of Cofilin-1 protein and its clinicopathological significance in colonic cancer. **Methods** The expression of Cofilin-1 protein in 60 colonic cancer specimens, 40 adjacent normal tissues, 26 lymph node metastasis tissues was detected by SP method. Meanwhile, the relationship between the expression of Cofilin-1 and the clinical pathologic factors was analyzed. **Results** The positive rate of Cofilin-1 expression was 76.7% in colonic cancer specimens, 61.5% in lymph node metastasis tissues, which were significantly higher than 32.5% in adjacent normal tissues ($P<0.05$). Positive expression of Cofilin-1 protein was significantly associated with histology grading, Dukes stage, serosal invasion and lymph node metastasis ($P<0.05$), but not with gender, age and the size of tumor ($P>0.05$). Cofilin-1 was closely related to the prognosis of colonic cancer ($P<0.05$). **Conclusion** The detection of Cofilin-1 protein can help judge the invasion, metastasis and prognosis of colonic cancer.

【Key words】 Cofilin-1 protein; Colonic cancer; Metastasis; Prognosis

结肠癌是结肠黏膜上皮和腺体在环境或遗传等多种致癌因素作用下发生的恶性病变,预后不良。近年来结肠癌的发病率与死亡率有逐年上升的趋势,肿瘤转移是结肠癌高死亡率的主要原因^[1-2]。现有的治疗方法包括手术切除、化疗都没有改变结肠癌的自然发生发展过程。因此,寻找治疗结肠癌的新方法势在必行,肿瘤的基因治疗是目前的研究热点。丝切蛋白(Cofilin)是一种肌动蛋白结合蛋白,能诱导片状伪足形成,增强肿瘤细胞的运动和迁移。Cofilin-1 是其 1 型^[3]。目前 Cofilin-1 在肿瘤中表达与临床病理的关系研究不多,与结肠癌的关系报道更是少见。本实验

利用免疫组织化学 SP 法检测结肠癌组织、癌旁正常组织和转移淋巴结组织标本中 Cofilin-1 蛋白的表达情况,并探讨其临床病理意义,以期为肿瘤侵袭转移机制和结肠癌的早期诊断及治疗提供更多的依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2007 年 4 月至 2012 年 4 月肠镜或术后病理证实的 60 例临床资料完整且保存完好的结肠癌患者术后石蜡标本作为研究对象,术前均未进行放化疗。其中男性 37 例,女性 23 例;年龄 28~75 岁,平均 48.5 岁。病理确诊高/中分化 33 例,低分化 27 例;肿瘤直径≤5 cm 者 36 例,>5 cm 者 24 例;

通讯作者:林建姣。E-mail:yilianyiyu@163.com

[9] Eleuterio JR, Giraldo PC, Goncalves AI, et al. Prognostic markers of high grade squamous intraepithelial lesions: the role of p161 NK4a and high-risk human papillomavirus [J]. Acta Obstet Gyneecol Scand, 2007, 86(1): 94-98.

[10] Brance M, Giotti M, Giorgi G, et al. Predicting high risk human ap-

illomavirus infection, progression of cervical intraepithelial neoplasia, and prognosis of cervical cancer with a panel of 13 biomarkers tested in multivariate modeling [J]. Int J Gyneecol Pathol, 2008, 27 (2): 265-273.

(收稿日期:2015-03-12)

伴淋巴结转移26例,侵及浆膜28例。并取40例患者正常黏膜组织(远离癌组织5 cm以上)及26例患者的转移淋巴结组织同时纳入研究。以电话及门诊复查方式进行随访,随访日始至手术日,截至2014年6月。

1.2 试剂 兔抗人Cofilin-1多克隆抗体、SP检测试剂盒及DAB染色试剂盒购于武汉博士德生物技术有限公司。

1.3 实验方法 组织蜡块切片,HE染色,观察组织形态特点。按照试剂盒说明书步骤进行免疫组织化学SP法染色,5 μm连续切片。设正常结肠组织为对照组,切片常规脱蜡至水,高温高压进行抗原修复,一抗1:200 4℃孵育过夜,DAB显色,苏木精对比染色,磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为阴性对照。

1.4 结果判定标准 免疫组化结果由两名医师记录,并独立阅片,每例切片选择10个高倍视野(10×40倍)。Cofilin-1蛋白在细胞质中呈棕黄色颗粒为阳性表达,按染色强度和阳性细胞百分比综合评分。染色强度:0分:无染色;1分:弱阳性;2分:中度阳性;3分:强阳性。按阳性细胞百分比:1分:1%~25%;2分:26%~50%;3分:51%~75%;4分:76%~100%。然后按照阳性细胞数×染色强弱计算总分,总分<4分为阴性,≥4分为阳性。

1.5 统计学方法 应用SPSS17.0统计软件进行数据分析,计数资料及率的比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 结肠癌组织、转移淋巴结组织和癌旁正常组织Cofilin-1蛋白表达水平比较 Cofilin-1蛋白在60例结肠癌组织、26例转移淋巴结组织中表达率分别为76.7%、61.5%,均明显高于40例癌旁正常组织的32.5%。Cofilin-1在结肠癌组织、转移淋巴结组织中的表达率明显高于癌旁正常组织,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 Cofilin-1在结肠癌组织中的表达 图像Cofilin-1蛋白表达定位于细胞质,呈棕黄色,见图1、图2。

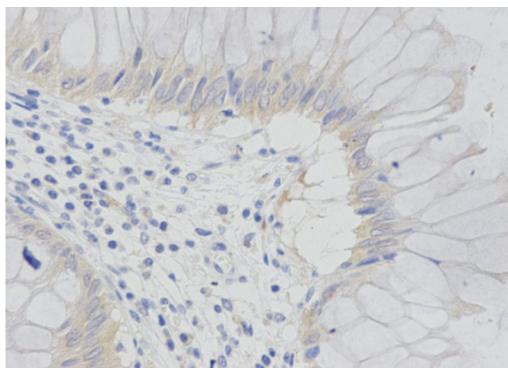


图1 癌旁正常组织Cofilin-1的表达(SP,×400)

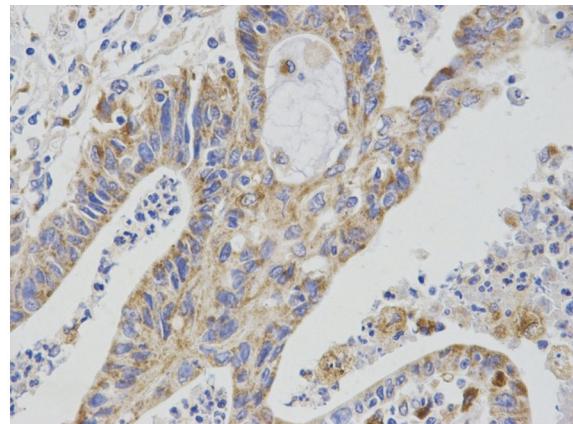


图2 结肠癌组织Cofilin-1的表达(SP,×400)

2.3 Cofilin-1蛋白表达与结肠癌临床病理学特征的关系 Cofilin-1蛋白阳性表达在结肠癌组织分化程度、Dukes分期、浆膜侵犯及淋巴结转移间差异有统计学意义($P<0.05$),而与患者性别、年龄、肿瘤大小间差异均无统计学意义($P>0.05$),见表1。

表1 Cofilin-1蛋白表达与结肠癌临床病理学特征的关系(例)

临床病理参数	例数	Cofilin-1阳性表达	χ^2 值	P值
性别			1.05	>0.05
男	37	30		
女	23	16		
年龄(岁)			0.01	>0.05
≥50	22	17		
<50	38	29		
肿瘤直径(cm)			0.99	>0.05
≤5	36	26		
>5	24	20		
组织分化			4.10	<0.05
高/中	33	22		
低	27	24		
Dukes分期			5.15	<0.05
A+B	33	29		
C+D	27	17		
浆膜侵犯			4.67	<0.05
有	28	25		
无	32	21		
淋巴结转移			5.87	<0.05
有	26	16		
无	34	30		

2.4 Cofilin-1蛋白在结肠癌组织中的表达与患者预后的关系 60例患者随访3年以上,有2例失访。58例患者中有33例存活,3年生存率为56.9%。生存组结肠癌组织中Cofilin-1阳性表达率明显低于死亡组,差异有统计学意义($\chi^2=6.73$, $P<0.05$),见表2。

表 2 Cofilin-1 蛋白表达与结肠癌患者预后的关系[例(%)]

组别	Cofilin-1 表达	
	阳性	阴性
生存组(n=33)	21(63.6)	12(36.4)
死亡组(n=25)	23(92.0)	2(8.0)

3 讨 论

肿瘤的转移过程相当复杂,由多种因素和多种步骤共同参与。近来研究发现,Cofilin-1蛋白在此过程中扮演了重要角色。Cofilin属于肌动蛋白解聚因子家族,由5个 α 螺旋、5个 β 折叠及C末端的一个短 β 链构成,呈现一个折叠结构,富集于运动前沿如细胞褶皱处和伪足^[4]。Cofilin蛋白有两种亚型,即Cofilin-1和Cofilin-2。Cofilin-1定位于11q13染色体。Cofilin在去磷酸化的形式下激活,继而与肌动蛋白丝(F肌动蛋白)结合,实现对F肌动蛋白的剪切;同时增加肌动蛋白单体(G肌动蛋白)从纤维末端的解离速度,使F与G肌动蛋白加速解聚,从而重构细胞前端的伪足和片层结构,调节细胞向前“迈步”^[3,5]。通过上述一系列细胞功能转换,Cofilin实现了对肿瘤细胞的发生、运动方向的确定、胞核分裂、转移速度及侵袭性的重要调控作用^[6]。

研究发现,Cofilin-1在食管癌、胃癌、肺癌、卵巢癌、原发性乳腺浸润性导管癌细胞及神经胶质瘤中都有较高表达,且在肿瘤早期即能检测到^[7-8]。通过对胃肠内分泌细胞肿瘤标本进行研究发现,Cofilin-1与肿瘤侵袭深度明显相关,其可能是预测胃肠内分泌细胞肿瘤预后的分子标记^[9]。Wang等^[10]发现,Cofilin-1与食管癌病理学分类、淋巴结转移和临床分期有关,其表达水平有助于评价食管癌患者的预后。易晓雷等^[11]发现Cofilin-1在原发性肝癌转移组及低分化组中的阳性表达率明显高于无肿瘤转移组及高+中分化组,提示Cofilin蛋白表达与肝癌进展及预后密切相关。国外研究发现在SW620细胞(结肠癌细胞系)中,活化的Cofilin-1的表达与CD44的表达呈显著的正相关,而CD44分子与结肠癌细胞的侵袭性密切关联^[12]。另有研究发现,凝血因子Xa可通过LIMK1介导Cofilin-1失活抑制癌细胞迁移^[13]。通过小干扰RNA技术,使得Cofilin表达下降,发现可以抑制肿瘤细胞的生长及侵袭^[14]。这些研究均提示Cofilin-1蛋白的表达活性与肿瘤细胞的侵袭性密切相关。

Cofilin-1与结肠癌相关性的研究目前为止比较少见。本研究结果提示:Cofilin-1在结肠癌组织、转移淋巴结组织中的表达率明显高于癌旁正常组织;Cofilin-1蛋白的表达与结肠癌患者的年龄、性别、肿瘤大小无关,而与组织学分级、Dukes分期、浆膜侵犯及淋巴结转移有关;Cofilin-1的表达与患者生存预后密切相关;上述结果均说明其在肿瘤增殖、转移过程

中发挥重要的作用。其作用机制及细胞内信号调节等方面还不是很清楚,可能是Cofilin通过一系列的调控因素,如酪氨酸激酶、上皮生长因子、磷酸肌醇、原肌球蛋白、细胞外钙等介导了肌动蛋白的聚合,改变了细胞的正常功能,从而促进结肠肿瘤侵袭和转移,确切机制还有待于进一步的研究。因此,检测Cofilin-1蛋白可能成为预测早期结肠癌预后的重要指标,控制肿瘤细胞中Cofilin蛋白的异常表达可能成为临床抗肿瘤转移的治疗及判断预后的重要策略。

参 考 文 献

- 贾莹莹,王进,杨丽敏. USP22 和 Nanog 在结肠癌组织中的表达及临床意义[J]. 世界华人消化杂志, 2013, 21(8): 719-723.
- 杨万广,王万鹏,张谢夫. ALDH1A2, MMP2 和 E-cadherin 在结肠癌组织中的表达及相关性[J]. 世界华人消化杂志, 2013, 21(4): 362-366.
- Bryce NS, Schevzov G, Ferguson V, et al. Specification of actin filament function and molecular composition by tropomyosin isoforms [J]. Mol Biol Cell, 2003, 14(3): 1002-1016.
- Ghosh M, Song X, Mouneimne G, et al. Cofilin promotes actin polymerization and defines the direction of cell motility [J]. Science, 2004, 304(5671): 743-746.
- Delorme V, Machacek M, DerMardirossian C, et al. Cofilin activity downstream of Pak1 regulates cell protrusion efficiency by organizing lamellipodium and lamella actin networks [J]. Dev Cell, 2007, 13(5): 646-662.
- Kaji N, Muramoto A, Mizuno K. LIM kinase-mediated Cofilin phosphorylation during mitosis is required for precise spindle positioning [J]. J Biol Chem, 2008, 283(8): 4983-4992.
- Peng XC, Gong FM, Zhao YW, et al. Comparative proteomic approach identifies Pkm2 and Cofilin-1 as potential diagnostic, prognostic and therapeutic targets for pulmonary adenocarcinoma [J]. PLoS One, 2011, 6(11): e27309.
- Nishimura S, Tsuda H, Kataoka F, et al. Overexpression of Cofilin 1 can predict progression-free survival in patients with epithelial ovarian cancer receiving standard therapy [J]. Hum Pathol, 2011, 42(4): 516-521.
- Yan B, Yap CT, Wang S, et al. Cofilin immunolabelling correlates with depth of invasion in gastrointestinal endocrine cell tumors [J]. Acta Histochem, 2010, 112(1): 101-106.
- Wang WS, Zhong HJ, Xiao DW, et al. The expression of CFL1 and N-WASP in esophageal squamous cell carcinoma and its correlation with clinicopathological features [J]. Dis Esophagus, 2010, 23(6): 512-521.
- 易晓雷,李旭辉,汪杰,等.内皮细胞分化基因-1和丝切蛋白-1在原发性肝细胞癌中的表达及其与预后的关系[J].中华实验外科杂志,2013,30(10):2060-2063.
- Subramanian V, Vincent IR, Jothy S. Upregulation and dephosphorylation of Cofilin: modulation by CD44 variant isoform in human colon cancer cells [J]. Exp Mol Pathol, 2005, 79(3): 187-193.
- 杨邦敏,姜浩,苏琦. Cofilin 与肿瘤[J].现代生物医学进展,2012,12(3): 597-600.
- 詹建伟,姜支农,焦德敏,等.丝切蛋白在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义[J].肿瘤学杂志,2014,20(1): 47-50.

(收稿日期:2015-03-06)