· 论著 ·

双向调节蛋白、转录因子 E2 启动子结合因子 1、白细胞介素 6 的表达与结直肠癌发生发展的相关性

陈艳昕[a]，刘庆滨[b]，黄江梅[a]，周颖[a]，肖芳[a]
（河北秦皇岛市第一医院，a 病理科，b 普外科，066000）

［摘要］ **目的**　观察结直肠癌患者的双向调节蛋白（AREG）、转录因子 E2 启动子结合因子 1（E2F-1）、白细胞介素 6（IL-6）的表达情况，并分析其临床意义。**方法**　选取在住院接受治疗的结直肠癌患者为研究对象，同时选取同期住院接受治疗的结肠息肉患者作为对照。观察两组患者 AREG、转录因子 E2F-1、IL-6 的表达，比较不同临床病理特征结直肠癌患者的 AREG、转录因子 E2F-1、IL-6 的表达，分析影响 AREG、转录因子 E2F-1、IL-6 表达的因素。**结果**　结直肠癌患者的 AREG、IL-6 水平，转录因子 E2F-1 阳性表达率高于结直肠息肉组；有淋巴结转移、组织学分型为黏液腺癌、TNM 分期为Ⅲ期 + Ⅳ期的结直肠癌患者的 AREG、IL-6 水平，转录因子 E2F-1 阳性表达率较高；回归分析结果显示组织学分型和 TNM 分期是影响表达的因素。**结论**　结直肠癌患者的 AREG、IL-6 水平，转录因子 E2F-1 阳性表达率较高，相关因子的表达与结直肠癌的组织学分型和 TNM 分期具有一定的相关性。

［关键词］ 结直肠癌；双向调节蛋白；E2F1 转录因子；白细胞介素 6
中图分类号：R735.3　　**文献标识码**：A　　DOI：10.3969/J.issn.1672-6790.2018.03.008

The correlation between the expression of AREG, transcription factor E2F-1 and IL-6 and the development of colorectal cancer

Chen Yanxin[*], *Liu Qingbin*, *Huang Jiangmei*, *Zhou Ying*, *Xiao Fang*（[*] *Department of Pathology*, *Qinhuangdao First Hospital*, *Qinhuangdao* 066000, *China*）

［**Abstract**］ **Objective**　To observe the expression of Two way regulatory protein (amphiregulin, AREG), transcription factor E2 promoter binding factor 1 (E2F-1), interleukin -6 (IL-6). in patients with colorectal cancer and to analyze its clinical significance. **Methods**　The patients with colorectal cancer who were treated in our hospital from August 2015 to July in 2017 were selected as the subjects. Meanwhile, the patients with colon polyps who were treated in our hospital during the same period were selected as the control group. The expressions of AREG, transcription factor E2F-1 and IL-6 in two groups were observed. The expressions of AREG, transcription factor E2F-1 and IL-6 in different clinicopathological characteristics were compared, and the factors influencing AREG, transcription factor E2F-1 and IL-6 expression were analyzed. **Results**　The AREG and IL-6 levels of colorectal cancer patients and the positive expression rate of transcription factor E2F-1 were higher than those in the colorectal polyp group. The AREG and IL-6 levels of colorectal cancer patients with lymph node metastasis and histological type were mucinous adenocarcinoma and stage TNM stage Ⅲ + Ⅳ. The positive rate of transcription factor E2F-1 was high. The single factor analysis showed lymph node metastasis, histological type and TNM stage were the dependent variable, the AREG and IL-6 levels in patients with colorectal cancer, the positive expression of transcription factor E2F-1 as independent variables. Regression analysis showed that the histological type and TNM stage were the factors affecting the expression. **Conclusion**　The AREG and IL-6 levels of colorectal cancer patients, the positive expression rate of transcription factor E2F-1 are higher, and the histological and TNM stages are the factors that affect the expression level.

［**Keywords**］ Colorectal neoplasms; amphiregulin; E2F1 transcription factor; Interleukin-6

结直肠癌（CRC）发病率高、死亡率逐年上升，是目前世界上最常见的恶性肿瘤之一[1]，根据世界癌症组织数据显示 2017 年结直肠癌的新发病例达到 132 700 例，其中 70 080 例是男性患者，是男性第

基金项目：河北省医学科学研究重点课题（20171258）
作者简介：陈艳昕，副主任医师，Email：yanxinchen2012@163.com

五大常见恶性肿瘤,女性患者有 62 620 例,同样也是女性第三大常见恶性肿瘤,是世界第四大常见恶性肿瘤之一[2-4]。我国结直肠癌的病死率约为 11.11/10 万,占全国恶性肿瘤病死率的第 5 位[5]。由于结直肠癌传统手术治疗难以达到彻底根治的效果,且患者术后生存率比较低,严重地威胁到了患者的生活质量,分子生物学研究为结直肠癌的治疗提供了新的途径,为此本文从分子生物学水平来探究结直肠癌发病机制,观察结直肠癌患者的双向调节蛋白(AREG)、转录因子 E2 启动子结合因子 1(E2F-1)、白细胞介素 6(IL-6)的表达情况,并分析其临床意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取 2015 年 8 月至 2017 年 7 月在我院接受治疗的结直肠癌患者为研究对象。纳入标准:(1)年龄≥18 周岁;(2)通过肠镜检查确诊为结直肠癌;(3)无其他部位原发肿瘤者;排除标准:(1)临床资料不全者;(2)合并其他系统严重疾病者。根据纳入排除标准共纳入研究对象 250 例,其中直肠癌者 110 例,左、右半结肠及乙状结肠癌 140 例;男 150 例,女 100 例,年龄范围 52 ~ 78 岁,年龄(65.3 ± 6.3)岁;淋巴结转移者 88 例,无淋巴结转移者 162 例;组织学分型:管腺癌 155 例,黏液腺癌 95 例;TNM 分期:Ⅰ期 + Ⅱ期 150 例,Ⅲ期 + Ⅳ期 100 例;肿瘤大小:< 5 cm 为 165 例,≥5 cm 为 85 例。选取同期在我院接受治疗的结肠息肉患者作为对照,纳入标准:年龄≥18 岁且无肿瘤疾病者,共纳入 250 例,男 145 例,女 105 例;年龄范围 54 ~ 75 岁,年龄(65.4 ± 5.4)岁。本项研究经我院伦理委员会评审通过,且参与本项研究的患者均签署知情同意书。

1.2 方法 进行血样采集,提前叮嘱患者空腹 8 h 以上,次日清晨使用一次性真空干燥采血管采取两组患者静脉血 3 mL,在 4 ℃冰箱内自然沉降过夜,次日 3000 g,离心 15 min,吸取上清,置于 -80 ℃冰箱内保存。

使用 ELISA 方法检测两组患者血清中 AREG 和转录因子 E2F-1、IL-6 的表达,严格按照 AREG、E2F-1、IL-6 检测试剂盒(武汉博士德生物技术有限公司)的说明书进行操作。

1.3 统计学处理 采用 SPSS11.5 统计软件进行分析。计数资料采用例或百分率表示,采用 χ^2 检验;计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验。采用回归分析法分析影响结直肠癌患者 AREG、转录因子E2F-1、IL-6 表达的因素。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者 AREG、转录因子 E2F-1、IL-6 表达情况的比较 结直肠癌患者的 AREG、IL-6 水平,转录因子 E2F-1 阳性表达率高于结直肠息肉组,差异有统计学意义。见表 1。

表 1 两组患者 AREG、转录因子 E2F-1、IL-6 表达情况的比较

组别	例数	AREG ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)	转录因子 E2F-1 阳性(例)	IL-6 ($\bar{x} \pm s$, mg/L)
结直肠息肉组	250	40.28 ± 4.15	20	11.84 ± 2.01
结直肠癌组	250	355.47 ± 35.23	135	30.25 ± 3.18
$t(\chi^2)$ 值		-140.487	(123.656)	-9.602
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:AREG 为双向调节蛋白,E2F-1 为 E2 启动子结合因子 1,IL-6 为白细胞介素 6,下表同

2.2 不同临床病理特征的患者 AREG、转录因子 E2F-1、IL-6 表达情况的比较有淋巴结转移、组织学分型为黏液腺癌、TNM 分期为Ⅲ期 + Ⅳ期的结直肠癌患者的 AREG、IL-6 水平,转录因子 E2F-1 阳性表达率较高。见表 2。

2.3 影响结直肠癌患者 AREG、转录因子 E2F-1、IL-6 表达的因素 将单因素分析有意义的淋巴结转移情况、组织学分型和 TNM 分期作为因变量,将结直肠癌患者 AREG、IL-6 水平,转录因子 E2F-1 阳性表达作为自变量,进行回归分析,结果显示组织学分型和 TNM 分期是影响表达的因素。见表 3 ~ 5。

表 3 结直肠癌患者 AREG 表达的影响因素分析

影响因素	β 值	标准误	$Wald\ \chi^2$ 值	P 值	OR (95% CI) 值
组织学分型	1.635	0.754	5.428	0.013	4.696 (1.608 ~ 12.782)
TNM	1.879	0.982	12.067	<0.001	5.362 (2.322 ~ 14.987)

表 4 结直肠癌患者 E2F-1 表达的影响因素分析

影响因素	β 值	标准误	$Wald\ \chi^2$ 值	P 值	OR (95% CI) 值
组织学分型	1.688	0.801	5.065	0.011	4.527 (1.487 ~ 10.356)
TNM	1.169	0.482	6.024	0.014	3.689 (1.124 ~ 9.063)

表 2　不同临床病理特征的患者 AREG、转录因子 E2F-1、IL-6 表达情况的比较

项目	例数	AREG($\bar{x}\pm s$, pg/mL)			转录因子 E2F-1 阳性(例)			IL-6($\bar{x}\pm s$, mg/L)		
		数值	t 值	P 值	数值	χ^2 值	P 值	数值	t 值	P 值
年龄			−0.051	0.480		0.720	0.396		0.193	0.424
≥65 岁	145	354.98 ± 30.86			75			31.25 ± 2.97		
<65 岁	105	355.19 ± 33.42			60			31.18 ± 2.63		
性别			−0.143	0.443		0.067	0.796		−0.162	0.436
男	150	355.28 ± 35.02			80			31.24 ± 3.26		
女	100	355.89 ± 29.86			55			31.31 ± 3.45		
部位			0.241	0.405		2.049	0.152		−1.090	0.138
直肠	110	355.96 ± 40.16			65			32.02 ± 3.08		
结肠	140	354.75 ± 38.73			70			32.45 ± 3.11		
淋巴转移			3.360	<0.001		74.477	<0.001		22.999	<0.001
有	88	360.46 ± 42.82			80			35.98 ± 3.75		
无	162	342.16 ± 40.19			55			26.32 ± 2.81		
组织学分型			−5.191	<0.001		102.366	<0.001		−13.715	<0.001
管腺癌	155	338.09 ± 50.16			45			28.03 ± 2.49		
黏液腺癌	95	370.12 ± 42.35			90			32.64 ± 2.72		
TNM			−6.279	<0.001		96.887	<0.001		−14.659	<0.001
Ⅰ期 + Ⅱ期	150	332.08 ± 39.47			43			27.96 ± 3.17		
Ⅲ期 + Ⅳ期	100	365.98 ± 45.12			92			34.02 ± 3.25		
肿瘤大小			−0.083	0.467		8.526	0.004		0.407	0.342
<5 cm	165	355.13 ± 43.02			100			30.35 ± 2.66		
≥5 cm	85	355.59 ± 38.46			35			30.19 ± 3.44		

表 5　结直肠癌患者 IL-6 表达的影响因素分析

影响因素	β 值	标准误	$Wald\ \chi^2$ 值	P 值	OR (95% CI) 值
组织学分型	1.982	1.021	11.356	<0.001	5.369 (2.389 ~ 15.698)
TNM	1.305	0.698	7.892	0.007	4.057 (1.287 ~ 8.876)

3　讨论

结直肠癌(结肠癌和直肠癌)是胃肠道中最常见的恶性肿瘤之一[6],早期症状不明显,随着疾病的发展,患者将合并腹泻、便秘、便血等症状,还可能出现腹痛、晚期贫血、体质量减轻等局部症状。结直肠癌发病率和致死率仅次于胃癌、食管癌和原发性肝癌[7]。结肠直肠癌的发生与基因、饮食、家族病史、吸烟、喝酒等因素有关,现代人饮食有许多偏向低纤高脂的精致饮食,以致结肠直肠癌的发病率逐年提高。由于近年来分子遗传学理论的不断发展以及分子生物学诊断水平的提高,人们对结直肠癌有了新的认识,临床开始从 DNA 突变、染色体异常,癌基因的激活、抑癌基因失去功能等方向探究结直肠癌的致病机理[8-9]。本组研究将选用AREG、E2F-1、IL-6 等细胞因子来探究结直肠癌的可能致病机理。

微效基因 AREG 是一种位于人的 4 号染色体的长臂上具有双功能生长调节作用的糖蛋白,具有激活成纤维细胞的增殖,抑制神经母细胞瘤和其他腺瘤细胞的生长等功能[10]。其功能主要表现为编码双调蛋白,属于表皮生长因子 EGF 家族成员之一[11-13]。现已证明,AREG 基因在正常组织中不表达或者微量表达,但在癌组织中是高表达的[14]。有文献[15]报道,AREG 基因对肺癌细胞的增殖有双向调节作用,但是目前还未见有文献报道 AREG 基因

的表达与结直肠癌的发生发展有直接关系。

转录因子 E2F-1 是细胞周期转录因子 E2F 的家族成员之一,它能参与多种病理、生理过程的调节。同时该物质还具有癌基因和抑癌基因的功能。在直肠癌的诊断中具有很重要的指导作用。IL-6 是一种细胞因子,属于白细胞介素的一种,它的靶细胞种类多样,它能调节多种细胞的生长与分化,在机体的抗感染免疫反应中有重要的作用。本研究通过实验发现 AREG、转录因子 E2F-1、IL-6 的表达水平可有效反映出结直肠癌患者进展情况,同时还可提示患者预后,或可作为结直肠癌进展及预后评估指标。

本次对于分子生物学相关指标的研究,具有下列几个方面的重要意义:(1)能够为结直肠癌的诊断学的提供新的研究方向;(2)能够为结直肠癌的发病原因的研究提供基础,并为后续临床药理学实验提供治疗靶点。因此本文选取我院收治的结直肠癌患者作为研究对象进行深入性探究,对照组采用结肠息肉患者,检查两组患者的分子生物学相关指标,结直肠癌患者的 AREG、IL-6 水平,转录因子 E2F-1 阳性表达率高于结直肠息肉组;有淋巴结转移、组织学分型为黏液腺癌、TNM 分期为Ⅲ期 + Ⅳ期的结直肠癌患者的 AREG、IL-6 水平,转录因子 E2F-1 阳性表达率较高;将单因素分析有意义的淋巴结转移情况、组织学分型和 TNM 分期作为因变量,将结直肠癌患者 AREG、IL-6 水平,转录因子 E2F-1 阳性表达作为自变量,进行回归分析,结果显示组织学分型和 TNM 分期是影响表达的因素。本研究还发现 AREG、转录因子 E2F-1、IL-6 的表达水平与结直肠癌具有一定的相关性。

本研究的创新性在于深入研究了患者体内 AREG、转录因子 E2F-1、IL-6 的表达水平在结直肠癌患者中的变化,具有非常重要的临床意义。综上所述,结直肠癌患者的 AREG、转录因子 E2F-1、IL-6 的表达水平较健康人群显著地升高,在结直肠癌的诊断中提供了很好的研究方向。

参考文献

[1] 李道娟,李倩,贺宇彤. 结直肠癌流行病学趋势[J]. 肿瘤防治研究,2015,42(3):305-310.

[2] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局. 结直肠癌诊疗规范(2015 年版)[J]. 中国实用外科杂志,2015,53(11):881-894.

[3] 郑树,张苏展,黄彦钦. 结直肠癌研究 30 年回顾和现状[J]. 实用肿瘤杂志,2016,31(1):2-5.

[4] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局. 中国结直肠癌诊疗规范(2015 版)[J]. 中华消化外科杂志,2015,14(10):783-799.

[5] 蔡建强,蔡三军,秦新裕,等. 结直肠癌肝转移诊断和综合治疗指南(2016)[J]. 中国实用外科杂志,2016,11(8):858-869.

[6] 许剑民,秦新裕,余佩武. 机器人结直肠癌手术专家共识(2015)[J]. 中华消化外科杂志,2015,14(11):1305-1310.

[7] 钟育波,邱磊,谢沛标,等. 腹腔镜下结直肠癌根治术中联合腹腔热灌注化疗的临床研究[J]. 中国普通外科杂志,2015,24(4):467-472.

[8] 王琼,李红丽. 延续护理对直肠癌术后永久性结肠造口患者自我护理能力及生活质量的影响[J]. 河北医学,2015,36(8):147-149.

[9] 李国东,董新舒,刘明. 直肠癌外科治疗进展[J]. 中华肿瘤防治杂志,2015,22(5):402-406.

[10] 顾晋. 结直肠癌规范化外科治疗的问题与对策[J]. 中华消化外科杂志,2015,14(6):441-444.

[11] PÉRON J, BYLICKI O, LAUDE C, et al. Nonoperative management of squamous-cell carcinoma of the rectum [J]. Diseases of the Colon & Rectum, 2015, 58(1): 60-64.

[12] TAKEMURA S, DOI T, KAMIGA T, et al. P1-5-10An autopsy case of AFP producing carcinoma of the rectum with multiple liver metastases treated by cetuximab + mFOLFOX6[J]. Annals of Oncology, 2015, 26(suppl 7): vii1143-vii1144.

[13] MCKINNA J A. The treatment of advanced carcinoma of the rectum: the use of chemotherapy in advanced carcinoma of the rectum[J]. J Roy Soc Med, 2015, 40(12): 382-389.

[14] VYAS N, ALKHAWAM H, SOGOMONIAN R, et al. Primary squamos cell carcinoma of the rectum[J]. J Invest Med, 2016, 64(4): 943-944.

[15] TURATI L, STECCANELLA F, PETRELLI F, et al. Signet-ring cell carcinoma of the rectum and synchronous renal cell carcinoma in a young man[J]. Int J Colorectal Dis, 2016, 31(5): 1071-1072.

(收稿日期:2018-04-12)