

引用本文:王盼,杨秀春.趋化因子配体25、叶酸受体1在结直肠癌中的表达及与临床病理特征、预后的关系[J].安徽医药,2024,28(4):813-816.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2024.04.038.

◇临床医学◇



趋化因子配体25、叶酸受体1在结直肠癌中的表达 及与临床病理特征、预后的关系

王盼^a,杨秀春^b

作者单位:北京市平谷区中医医院,^a普外科,^b外科,北京101200

摘要 目的 探讨结直肠癌(CRC)病人趋化因子配体25(CCL25)、叶酸受体1(FOLR1)的表达与临床病理特征、病人预后的关系。**方法** 纳入2014年10月至2019年8月在北京市平谷区中医医院接收的CRC病人(70例)为研究对象(实验组),以同期到该院体检的35例健康者的血清样本作为对照组。采用免疫组化法检测癌组织和癌旁组织中CCL25、FOLR1的表达。采用酶联免疫吸附法检测并比较两组血清CCL25、FOLR1的表达;通过Kaplan-Meier法进行生存分析,CRC病人预后的影响因素通过多因素Cox回归进行评估。**结果** CRC组织中CCL25的阳性表达率(68.57%比21.43%)高于癌旁组织,CRC组织中FOLR1的阳性表达率(65.71%比25.71%)高于癌旁组织($P<0.05$);实验组病人血清CCL25和FOLR1表达水平显著高于对照组($P<0.05$);CRC病人血清CCL25、FOLR1的表达与TNM分期、淋巴结转移、浸润程度有关($P<0.05$);CRC病人血清CCL25低表达组3年生存率(78.95%)显著高于高表达组(31.25%)($P<0.05$),血清FOLR1低表达组病人3年生存率(77.50%)显著高于高表达组(30.00%)($P<0.05$);淋巴结转移、TNM分期、浸润程度、FOLR1和CCL25水平为CRC病人预后影响因素($P<0.05$)。**结论** CCL25、FOLR1在CRC病人中水平上升,并影响CRC病人预后生存率。

关键词 结直肠肿瘤; 趋化因子配体25; 叶酸受体1; 病理特征; 预后

Expressions of CCL25 and FOLR1 in colorectal cancer and their relationship with clinicopathological characteristics and prognosis

WANG Pan^a, YANG Xiuchun^b

Author Affiliation:^aGeneral Surgery Department, ^bDepartment of Surgery, Pinggu District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Beijing 101200, China

Abstract Objective To explore the relationship between the expressions of C-C motif chemokine ligand 25 (CCL25) and folate receptor 1 (FOLR1) in colorectal cancer (CRC) patients and their clinicopathological characteristics and prognosis. **Methods** Seventy CRC patients admitted to Pinggu District Hospital of Traditional Chinese Medicine from October 2014 to August 2019 were included as the study subjects (experimental group), and serum samples from 35 healthy individuals who underwent physical examinations in the same hospital during the same period were included as the control group. Immunohistochemical method was used to detect the expressions of CCL25 and FOLR1 in cancer tissues and adjacent tissues. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect and compare the expressions of serum CCL25 and FOLR1 between the two groups. Survival analysis was conducted using the Kaplan Meier method, and the influence factors for the prognosis of CRC patients were evaluated using multivariate Cox regression. **Results** The positive expression rates of CCL25 (68.57% vs. 21.43%) and FOLR1 (65.71% vs. 25.71%) in CRC tissues were higher than those in adjacent cancer tissues, respectively ($P<0.05$). The levels of serum CCL25 and FOLR1 in the experimental group were obviously higher than those in the control group ($P<0.05$). The expressions of CCL25 and FOLR1 in serum of CRC patients were related to TNM staging, lymph node metastasis and infiltration ($P<0.05$). The 3-year survival rates of CRC patients with low-expressed serum CCL25 and FOLR1 were obviously higher than those of patients with high-expressed serum CCL25 and FOLR1 (78.95% vs. 31.25%, 77.50% vs. 30.00%, respectively; $P<0.05$). Lymph node metastasis, TNM staging, degree of infiltration, FOLR1 and CCL25 levels were influence factors for the prognosis of CRC patients ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of CCL25 and FOLR1 increase in CRC patients and affect their prognosis and survival rate.

Keywords Colorectal neoplasms; C-C motif chemokine ligand 25; Folate receptor 1; Pathological features; Prognosis

结直肠癌(CRC)的发病率逐年上升^[1]。大部分病人确诊治疗时病情已发展至中晚期阶段,错过最

佳治疗时机,病人预后效果不理想,且目前临床缺乏能够准确评估病人预后的指标,因此,寻找能够

有效评估CRC病人预后的生物学指标具有重要的临床意义^[2-3]。趋化因子配体25(CCL25)可一定程度反应机体炎症程度,机体内主要参与刺激炎症分子和免疫细胞分化、增殖和凋亡等生理过程^[4]。近年来研究发现,趋化因子表达与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关^[5]。CCL25体内主要存在于小肠上皮细胞和胸腺,其表达水平与CRC、非小细胞肺癌和卵巢癌等多种肿瘤疾病发展密切相关^[6]。叶酸受体1(FOLR1)是一种膜蛋白,参与调节机体细胞增殖、分化和迁移等生理过程^[7]。研究发现FOLR1在多种肿瘤细胞增殖、分化等过程中异常表达,例如卵巢癌、肺癌、肝癌等^[8-9]。目前CCL25和FOLR1在CRC发展过程中的研究鲜有报道。本研究对CRC病人CCL25和FOLR1水平与预后的关系进行分析,为临床中CRC的预后提供新的研究方向。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入2014年10月至2019年8月北京市平谷区中医医院接收的CRC病人(70例)为研究对象(实验组),年龄范围为46~68岁;以同期到本院体检的35例健康者的血清样本作为对照组,年龄范围为48~65岁。纳入标准:(1)临床确诊为CRC;(2)术前未进行抗肿瘤治疗;(3)无其他并发症;(4)病人均知情同意;排除标准:(1)合并其他恶性肿瘤;(2)合并血液相关疾病;(3)合并肝、肾等其他器官障碍者;(4)基础临床病理资料不全者。本研究经北京市平谷区中医医院伦理委员会审核批准(批号20140825)。

1.2 方法

1.2.1 样本采集 采集CRC病人癌组织以及癌旁组织(距癌组织>3 cm)。采集CRC病人术前和对照组体检时3~5 mL空腹静脉血,离心(3 500 r/min, 10 min, 半径8 cm)后,存储于-80 ℃。

1.2.2 酶联免疫吸附法 分别采用人趋化因子配体25(CCL25)ELISA试剂盒(合肥莱尔生物科技有限公司)、叶酸受体1(FOLR1)ELISA试剂盒(上海优科唯生物科技有限公司)检测血清CCL25和FOLR1表达水平,严格按照试剂盒操作说明进行检测。

1.2.3 免疫组织化学染色法 将组织进行脱蜡、水化、冲洗(PBS缓冲液)后,将抗原进行修复,玻片冲洗(PBS缓冲液,3次)后,依次加入CCL25和FOLR1的一抗,孵育过夜(4 ℃),冲洗(PBS缓冲液,4次)后加入生物素标记的二抗,放置45 min(室温),冲洗(PBS缓冲液,3次)后进行染色、复染、定色、脱水、封片。阳性病理切片为阳性对照,PBS缓冲液为一抗做阴性对照。

1.2.4 免疫组化结果判定 评分标准分为将着色强度和着色面积两个部分:(1)着色强度评分:棕褐色(3分);棕黄色(2分);淡黄色(1分);无着色(0分)。(2)着色面积评分:占比>75%(4分);占比51%~75%(3分);占比26%~50%(2分);占比11%~25%(1分);占比<10%(0分)。将两部分评分相加,评估其阳性表达(≥ 3 分)和阴性表达(<3分)。

1.2.5 随访观察 对CRC病人进行为期3年的随访(电话及门诊复查),病人随访率为100%。

1.3 统计学方法 通过SPSS 25.0软件对数据进行分析,计数资料用例(%)描述,进行 χ^2 检验,计量资料行 $\bar{x} \pm s$ 描述,进行独立样 t 检验(组间)和配对样本 t 检验(组内),通过Kaplan-Meier法进行生存分析,CRC病人预后的影响因素通过多因素Cox回归进行评估。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料与血清CCL25、FOLR1的表达分析 相较于对照组,实验组病人血清CCL25和FOLR1水平较高,差异有统计学意义($P < 0.05$),两组年龄、性别均差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表1 CRC病人70例与健康者35例一般资料与血清CCL25、FOLR1的表达水平分析

组别	例数	年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$)	性别(男/ 女)/例(%)	CCL25/ ($\mu\text{g/L}, \bar{x} \pm s$)	FOLR1/ ($\text{ng/L}, \bar{x} \pm s$)
对照组	35	57.15 $\pm$ 6.10	18/17	10.88 $\pm$ 2.74	96.28 $\pm$ 21.76
实验组	70	58.82 $\pm$ 6.24	38/32	14.28 $\pm$ 3.16	559.62 $\pm$ 84.92
t 值		1.30	0.08	5.42	31.69
P 值		0.196	0.782	<0.001	<0.001

注:CCL25为趋化因子配体25,FOLR1为叶酸受体1。

2.2 CRC组织和癌旁组织CCL25、FOLR1表达比较 通过显微镜观察结果显示,CRC组织中CCL25的阳性表达率(68.57%比21.43%)高于癌旁组织,CRC组织中FOLR1的阳性表达率(65.71%比25.71%)高于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2,图1。

表2 CRC组织及癌旁组织中CCL25、FOLR1的表达情况/例(%)

组别	例数	CCL25		FOLR1	
		阳性	阴性	阳性	阴性
CRC组织	70	48(68.57)	22(31.43)	46(65.71)	24(34.29)
癌旁组织	70	15(21.43)	55(78.57)	18(25.71)	52(74.29)
χ^2 值		31.43		22.57	
P 值		<0.001		<0.001	

注:CRC为结直肠癌,CCL25为趋化因子配体25,FOLR1为叶酸受体1。

2.3 CRC病人血清CCL25、FOLR1表达与临床病理特征的关系分析 选择病人年龄、肿瘤长径、瘤体类型、TNM分期、分化程度、淋巴结转移、浸润程度等临床病理特征进行分类,分析其病理特征与血清CCL25、FOLR1表达的关系。结果显示: CRC病人血清CCL25、FOLR1表达水平与淋巴结转移、TNM分期、浸润程度有关($P<0.05$)。见表3。

2.4 CRC病人血清CCL25、FOLR1表达与病人3年生存率的关系分析 分析CRC病人血清CCL25、FOLR1的表达与病人预后的关系,以CRC病人血清CCL25、FOLR1的平均水平值为临界点, CCL25 $\geq 14.28\text{ }\mu\text{g/L}$ 为高表达组(32例), <14.28 $\mu\text{g/L}$ 为低表达组(38例), FOLR1 $\geq 559.62\text{ ng/L}$ 为高表达组(30例), <559.62 ng/L为低表达组(40例)。结果显示CCL25高表达组的3年生存率(31.25%, 10/32)低于低表达组(78.95%, 30/38), FOLR1高表达组3年生存率(30.00%, 9/30)低于低表达组(77.50%, 31/40), 差异有统计学意义($\chi^2=4.63$ 、4.61, 均 $P<0.001$)。

2.5 CRC病人预后影响因素的Cox回归分析 以CRC病人预后(死亡=1, 生存=0)为因变量, TNM分期(Ⅰ~Ⅱ期=0, Ⅲ~Ⅳ期=1)、浸润程度(未出肌层=0, 突出肌层=1)、淋巴结转移(无=0, 有=1)、CCL25(具体值)和FOLR1(具体值)水平为自变量进行多

因素Cox回归。结果显示, 淋巴结转移、TNM分期、浸润程度、FOLR1和CCL25水平为CRC病人预后影响因素($P<0.05$)。见表4。

3 讨论

CRC是临床发病率较高的恶性肿瘤之一, 其发生发展是一个多阶段、多基因的过程^[10]。CRC发病原因复杂, 存在多种内在和外在因素, 例如家族史、慢性炎症、饮食习惯等^[11]。CRC早期发病特征不明显, 病人确诊时多数已发展为中晚期, 临床常采用手术、化疗和靶向治疗等手段进行干预治疗, 但由于缺乏特异性预后评估指标, CRC病人预后易发生转移、复发等不良现象, 影响病人预后生活质量^[12]。因此, 寻找CRC预后评估的特异性指标对CRC病人预后生存率提高具有重要意义。

趋化因子是一类由70~100个氨基酸组成, 可以趋化特定细胞定向迁移的低分子分泌蛋白^[13]。CCL25属于趋化因子配体一员, 为CCR9的唯一配体, 多项研究表明CCL25与受体CCR9共同作用对多种肿瘤细胞的增殖和侵袭等具有促进作用^[14]。研究发现, 趋化因子诱导机体T细胞反应, 从而影响肠癌微环境相关因子的分泌, 进而导致机体肠道失衡^[15]。徐辉等^[16]研究趋化因子诱导T细胞对CRC微环境的影响, 结果表明, 与癌旁组织相比, CRC组织

表3 血清趋化因子配体25(CCL25)、叶酸受体1(FOLR1)的表达与结直肠癌70例临床病理特征的关系/ $\bar{x}\pm s$

病理特征	例数	CCL25/($\mu\text{g/L}$)	$t(F)$ 值	P 值	FOLR1/(ng/L)	$t(F)$ 值	P 值
年龄			1.04	0.302		1.11	0.269
<60岁	38	13.90 $\pm$ 3.12			549.26 $\pm$ 81.63		
≥ 60 岁	32	14.74 $\pm$ 3.64			571.92 $\pm$ 88.40		
肿瘤长径			0.74	0.465		1.89	0.063
<3 cm	34	13.94 $\pm$ 3.72			538.84 $\pm$ 85.84		
≥ 3 cm	36	14.61 $\pm$ 3.90			579.24 $\pm$ 92.42		
瘤体类型			(0.30)	0.742		(0.59)	0.556
溃疡型	23	13.88 $\pm$ 3.20			544.48 $\pm$ 86.90		
隆起型	18	14.74 $\pm$ 3.35			560.65 $\pm$ 84.69		
浸润型	29	14.31 $\pm$ 3.89			570.98 $\pm$ 89.25		
TNM分期			3.96	<0.001		3.33	0.001
Ⅰ~Ⅱ期	37	12.59 $\pm$ 3.48			525.96 $\pm$ 86.50		
Ⅲ~Ⅳ期	33	16.18 $\pm$ 4.11			597.37 $\pm$ 92.67		
分化程度			0.86	0.396		0.96	0.341
低分化	32	13.88 $\pm$ 3.14			548.95 $\pm$ 83.35		
中、高分化	38	14.62 $\pm$ 3.96			568.60 $\pm$ 86.94		
淋巴结转移			2.72	0.008		3.06	0.003
无	35	13.08 $\pm$ 3.22			529.10 $\pm$ 74.55		
有	35	15.48 $\pm$ 4.10			590.14 $\pm$ 91.74		
浸润程度			2.95	0.004		3.28	0.002
未出肌层	31	12.59 $\pm$ 3.50			521.58 $\pm$ 78.49		
突出肌层	39	15.63 $\pm$ 4.82			589.86 $\pm$ 92.42		

注: CCL25为趋化因子配体25, FOLR1为叶酸受体1。

表4 结直肠癌病人预后影响因素的Cox回归分析

自变量	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	P值	HR(95%CI)
TNM分期	0.64	0.32	4.02	0.045	1.89(1.01,3.53)
淋巴结转移	0.76	0.34	4.92	0.027	2.14(1.09,4.21)
浸润程度	0.67	0.29	5.43	0.020	1.95(1.11,3.41)
CCL25	0.80	0.30	6.92	0.009	2.22(1.23,4.04)
FOLR1	0.51	0.23	4.79	0.029	1.66(1.05,2.61)

注:CCL25为趋化因子配体25,FOLR1为叶酸受体1。

中趋化因子表达差异有统计学意义,趋化因子与CRC细胞浸润和肠道微生物群显著相关,趋化因子可刺激T细胞分泌至肿瘤组织,影响CRC病人的治疗及预后情况。本研究中,CCL25阳性表达率在CRC组织中较高,实验组病人血清CCL25表达水平显著高于对照组($P<0.05$),血清CCL25表达与TNM分期、淋巴结转移、浸润程度有关($P<0.05$),CRC病人血清CCL25低表达病人3年生存率(78.95%)显著高于高表达病人生存率(31.25%)($P<0.05$),CCL25水平为CRC病人预后影响因素($P<0.05$),提示CCL25表达水平与CRC病人病情发展密切相关,且影响病人预后生存率。

FOLR属于叶酸受体蛋白,人体叶酸代谢失调会导致机体免疫因子表达异常,引发染色体甲基化异常,与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关^[17]。目前,FOLR主要包括FOLR1、FOLR2和FOLR3三种亚型,FOLR1在体内主要存在于细胞外膜,对叶酸存在较高的亲和力,通过其表达水平变化调节多种肿瘤细胞的增殖、分化和迁移等^[18-19]。本研究中,FOLR1阳性表达率在CRC组织中较高,实验组病人血清FOLR1表达水平显著高于对照组($P<0.05$),血清FOLR1表达与TNM分期、淋巴结转移、浸润程度有关($P<0.05$),血清FOLR1低表达病人3年生存率(77.50%)显著高于高表达病人生存率(30.00%)($P<0.05$),FOLR1水平为CRC病人预后影响因素($P<0.05$),提示FOLR1表达水平与CRC病人病情发展密切相关,且影响病人预后生存率。

综上所述,CCL25、FOLR1在CRC病人中表达水平上升,并影响CRC病人预后生存率。

(本文图1见插图4-6)

参考文献

[1] 陈秀清,杨立勇,沈喜妹,等.癌胚抗原和空腹血糖与结直肠癌患者预后的相关性研究[J].中国临床药理学杂志,2020,36(12):1621-1624.

[2] ZHUANG Y, WANG H, JIANG D, et al. Multi gene mutation signatures in colorectal cancer patients: predict for the diagnosis, pathological classification, staging and prognosis[J]. BMC Cancer, 2021,21(1):38-40.

[3] 邱丽,谭翠莲,刘华.术前NLR、PLR联合血清肿瘤标志物评估结直肠癌患者预后的临床价值[J].中国普通外科杂志,2020,29(12):1533-1538.

[4] UMAR S, PALASIEWICZ K, VAN RAEMDONCK K, et al. CCL25 and CCR9 is a unique pathway that potentiates pannus formation by remodeling RA macrophages into mature osteoclasts[J]. Eur J Immunol, 2021,51(4):903-914.

[5] 韩静琦,张易青,冶俊玲,等.趋化因子CXCL4L1及其受体CXCR3在胰腺癌转移中的作用机制[J].中国老年学杂志,2020,40(11):2402-2405.

[6] XIA D, WANG S, LIU A, et al. CCL25 inhibition alleviates sepsis-induced acute lung injury and inflammation[J]. Infect Drug Resist, 2022,25(15):3309-3321.

[7] LIANG Z, DONG J, YANG N, et al. Tandem CAR-T cells targeting FOLR1 and MSLN enhance the antitumor effects in ovarian cancer[J]. Int J Biol Sci, 2021,17(15):4365-4376.

[8] 陈睿琦,刘晓云.上皮性卵巢癌患者血清HMGA2、IL-22、FOLR1水平及与临床指标的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(6):877-880,884.

[9] 李九龙,刘林,张湘,等.宫颈癌患者血清叶酸受体-1表达水平及早期诊断价值[J].国际检验医学杂志,2020,41(1):91-94,110.

[10] 邓建忠,金建华,陆文斌,等.术前外周血纤维蛋白原水平联合血小板与淋巴细胞比值的评分对结直肠癌中预后的评估价值[J].医学研究生学报,2020,33(3):274-279.

[11] LA VECCHIA S, SEBASTIÁN C. Metabolic pathways regulating colorectal cancer initiation and progression[J]. Semin Cell Dev Biol, 2020,9(8):63-70.

[12] LUO XJ, ZHAO Q, LIU J, et al. Novel genetic and epigenetic biomarkers of prognostic and predictive significance in stage II/III colorectal cancer[J]. Mol Ther, 2021,29(2):587-596.

[13] NIU Y, TANG D, FAN L, et al. CCL25 promotes the migration and invasion of non-small cell lung cancer cells by regulating VEGF and MMPs in a CCR9-dependent manner[J]. Exp Ther Med, 2020,19(6):3571-3580.

[14] LI J, MUHAMMAD J, XIE T, et al. LINC00853 restrains T cell acute lymphoblastic leukemia invasion and infiltration by regulating CCR9/CCL25[J]. Mol Immunol, 2021,14(1):267-275.

[15] 曾仰泽,马家驰,孙晓雯.趋化因子CXCL14在不同转移潜能结直肠癌细胞中的表达及其与血管生成的关系[J].中国普通外科杂志,2021,30(4):421-429.

[16] 徐辉,唐言华,刘继武,等.趋化因子诱导的T细胞对结直肠癌微环境的影响[J].中国免疫学杂志,2021,37(9):1107-1112.

[17] JIA L, LI J, LI P, et al. Site-specific glycoproteomic analysis revealing increased core-fucosylation on FOLR1 enhances folate uptake capacity of HCC cells to promote EMT[J]. Theranostics, 2021,11(14):6905-6921.

[18] FU Q, ZHANG J, HUANG G, et al. microRNA-29b inhibits cell growth and promotes sensitivity to oxaliplatin in colon cancer by targeting FOLR1[J]. Biofactors, 2020,46(1):136-145.

[19] LIU YT, LIAN T, YAO Y. A systematic review and meta-analysis of higher expression of folate receptor alpha (FOLR1) predicts poor cancer prognosis[J]. Biomarkers, 2020,25(5):367-374.

(收稿日期:2022-12-30,修回日期:2023-02-02)