

本文引用:周阳,侯玉龙,冯晨露,等. 核心蛋白聚糖在结直肠癌组织中的表达及其与患者临床病理特征的关系 [J]. 新乡医学院学报, 2018, 35(9): 796-798, 803. DOI: 10.7683/xyxyxb. 2018. 09. 011.

【临床研究】

核心蛋白聚糖在结直肠癌组织中的表达及其与患者临床病理特征的关系

周 阳¹, 侯玉龙¹, 冯晨露², 姬颖华¹, 王 瑾¹, 张 敏¹, 路 平¹

(1. 新乡医学院第一附属医院肿瘤科, 河南 卫辉 453100; 2. 南阳市第一人民医院肿瘤科, 河南 南阳 473000)

摘要: **目的** 探讨结直肠癌组织中核心蛋白聚糖(DCN)的表达及其与结直肠癌患者临床病理特征的关系。**方法** 选择2012年12月至2013年7月新乡医学院第一附属医院收治的结直肠癌患者手术切除标本34例及其对应的癌旁正常组织标本34例为研究对象,采用免疫组织化学法检测结直肠癌组织及癌旁组织中DCN的表达,使用Image-pro-plus软件对结直肠癌及癌旁组织中DCN的表达进行半定量分析,探讨结直肠癌及对应癌旁组织中DCN的相对表达量与患者临床病理特征的关系。**结果** 男、女性患者结直肠癌组织中DCN的相对表达量比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。年龄 < 60 岁与 ≥ 60 岁患者结直肠癌组织中DCN的相对表达量比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。有淋巴结转移患者的结直肠癌组织中DCN的相对表达量显著低于无淋巴结转移者($P < 0.01$)。临床分期Ⅲ、Ⅳ期患者结直肠癌组织中DCN的相对表达量显著低于Ⅱ期患者($P < 0.05$),Ⅳ期患者结直肠癌组织中DCN的相对表达量显著低于Ⅲ期患者($P < 0.05$)。低分化结直肠癌组织中DCN的相对表达量显著低于高、中分化结直肠癌组织($P < 0.05$),高、中分化结直肠癌组织中DCN的相对表达量比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** DCN异常下调可能在结直肠癌的发生、发展中发挥作用。

关键词: 核心蛋白聚糖;结直肠癌;癌旁组织;免疫组织化学

中图分类号: R979.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2018)09-0796-04

Expression of decorin in colorectal cancer tissues and its relationship with clinicopathological characteristics of patients

ZHOU Yang¹, HOU Yu-long¹, FENG Chen-lu², JI Ying-hua¹, WANG Jin¹, ZHANG Min¹, LU Ping¹

(1. Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, Henan Province, China; 2. Department of Oncology, the First People's Hospital of Nanyang City, Nanyang 473000, Henan Province, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of decorin (DCN) in colorectal cancer tissues and its relationship with clinicopathological characteristics of patients. **Methods** Thirty-four specimens of colorectal cancer tissues and thirty-four specimens of paracancerous normal tissues were collected in the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University from December 2012 to July 2013. The expression of DCN in colorectal cancer tissues and paracancerous normal tissues was detected by immunohistochemistry. Semiquantitative analysis of DCN expression in colorectal cancer and paracancerous normal tissues was performed with Image-Pro Plus software, and the relationship between the relative expression of DCN and biological behaviour of colorectal cancer. **Results** There was no significant difference in the relative expression of DCN in colorectal cancer tissues between male and female patients ($P > 0.05$). There was no significant difference in the relative expression of DCN in colorectal cancer tissues between the patients under 60 years old and the patients than 60 years old ($P > 0.05$). The relative expression of DCN in colorectal cancer tissues of patients with lymphatic metastasis was significantly lower than that of patients without lymphatic metastasis ($P < 0.01$). The relative expression of DCN in colorectal cancer patients of stage III and IV was significantly lower than that in colorectal cancer patients of stage II ($P < 0.05$). The relative expression of DCN in colorectal cancer patients of stage IV was significantly lower than that in colorectal cancer patients of stage III ($P < 0.05$). The relative expression of DCN in poorly differentiated colorectal cancer tissues was significantly lower than that in well-differentiated and moderately differentiated colorectal cancer tissues ($P < 0.05$). There was no significant difference in the relative expression of DCN between well-differentiated and moderately differentiated colorectal cancer tissues ($P > 0.05$). **Conclusion** The down regulation of DCN may play a role in the development and progression of colorectal cancer.

Key words: decorin; colorectal cancer; paracancerous tissue; immunohistochemistry

DOI: 10.7683/xyxyxb. 2018. 09. 011

收稿日期: 2018-02-05

基金项目: 新乡医学院科研基金培育项目(编号: 2013QN110)。

作者简介: 周 阳(1991-), 女, 河南南阳人, 硕士研究生在读, 研究方向: 恶性肿瘤的综合治疗。

通信作者: 路 平(1969-), 女, 河南新乡人, 博士, 主任医师, 研究方向: 恶性肿瘤的综合治疗; E-mail: lupingdoctor@126.com。张 敏(1982-), 女, 河南新乡人, 博士, 主治医师, 研究方向: 恶性肿瘤侵袭转移及复发; E-mail: 38089649@qq.com。

结直肠癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一^[1],也是全球癌症相关性死亡的主要原因之一^[2]。在中国结直肠癌也是目前引起肿瘤相关性死亡的第5大病因^[3],根据流行病学趋势研究显示,CRC的发病率和致死率大体上呈逐年升高的趋势^[4]。核心蛋白聚糖(decorin, DCN)作为一种核心糖蛋白,是重要的细胞外基质成分之一,可以抑制多种肿瘤如肝癌^[5]、肾癌^[6]和乳腺癌^[7]细胞的体外增殖及迁移。本课题组前期研究证明,在常氧和低氧环境下,DCN均可以抑制人结直肠腺癌HCT116细胞的体外侵袭能力,且呈浓度依赖性^[8]。DCN在人结直肠腺癌中的表达及其与临床病理特征的关系尚未见相关报道。本研究旨在探讨人结直肠癌组织中DCN表达及其与患者临床病理特征的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2012年12月至2013年7月新乡医学院第一附属医院普外二科收治的结直肠癌患者手术切除标本34例及其对应癌旁正常组织标本34例,所有标本均经病理证实,且术前未给予任何放射治疗和化学治疗。其中男19例,女15例,男女比例为1.27:1;年龄26~75(50.23±11.01)岁,其中<60岁者22例,≥60岁者12例;根据美国癌症联合委员会肠癌TNM分期标准分为Ⅱ期13例,Ⅲ期11例,Ⅳ期10例;有淋巴结转移者18例,无淋巴结转移者16例;按肿瘤组织分化程度分为高分化19例,中分化10例,低分化5例。本研究经患者及家属知情同意,并获新乡医学院第一附属医院伦理委员会批准。

1.2 主要试剂与仪器 小鼠抗人DCN单克隆购自美国SantaCRUZ公司(SC-73896稀释度比例为1:100),GTVisionIII抗鼠/兔通用型免疫组织化学检测试剂盒、二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色试剂盒购自基因科技上海有限公司,枸橼酸钠缓冲液、磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)均购自北京索莱宝科技有限公司,Nikon ECLIPSE 55i型BX51荧光显微镜购自日本尼康株式会社。

1.3 免疫组织化学法检测结直肠癌及相应癌旁组织中DCN的表达 将结直肠癌组织及相应癌旁组织标本制作石蜡切片,厚度为3.0 μm,石蜡切片经二甲苯、梯度乙醇脱蜡至水,枸橼酸钠缓冲液微波炉修复;体积分数3% H₂O₂处理10 min,每次5 min, PBS洗3次,每次5 min;非免疫动物血清封闭10 min;甩去封闭血清,加稀释好的一抗,4℃过夜;PBS洗3次,每次5 min,加生物素标记的二抗,37℃孵育30 min;PBS洗3次,每次5 min, DAB显色,苏木

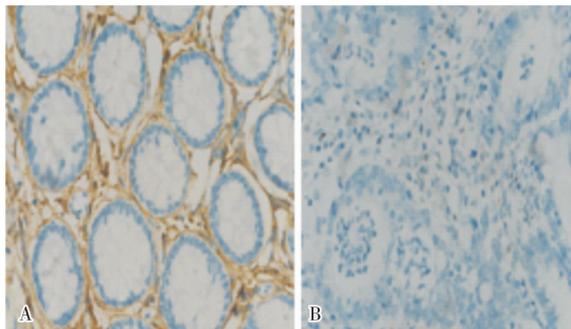
精复染;切片经梯度乙醇、二甲苯脱水,中性树脂胶封片。以PBS代替一抗作为阴性对照。显微镜下观察免疫组织化学染色图片,每张切片挑选表达最密集处取3个视野,使用Image-pro-plus软件对DCN的相对表达量进行半定量分析。

1.4 统计学处理 应用SPSS 19.0软件进行统计学分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用两独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结直肠癌和相应癌旁组织中DCN的表达

DCN在癌旁组织中主要位于细胞外基质及纤维组织中,呈棕黄色粗大颗粒状,均匀分布(图1A);DCN在结直肠癌组织中主要位于癌巢周围的纤维组织里,并将癌巢包裹,呈黄色颗粒(图1B)。DCN在结直肠癌组织及其相对应的癌旁组织中的相对表达量分别为 0.0669 ± 0.0406 和 0.2105 ± 0.0137 ,DCN在结直肠癌组织中相对表达量显著低于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。



A:癌旁组织;B:结直肠癌组织。

图1 DCN在结直肠癌组织及癌旁组织中的表达(免疫组织化学法,×400)

Fig. 1 Expression of DCN in colorectal cancer tissues and paracancerous tissues (immunohistochemical method, ×400)

2.2 结直肠癌组织中DCN表达与患者临床病理特征的关系 男、女性患者结直肠癌组织中DCN相对表达量分别为 0.0744 ± 0.0481 、 0.0628 ± 0.0373 ,男、女性患者结直肠癌组织中DCN相对表达量比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。年龄<60岁和≥60岁患者结直肠癌组织中DCN相对表达量分别为 0.0726 ± 0.0410 、 0.0578 ± 0.0387 ,年龄<60岁与≥60岁患者结直肠癌组织中DCN相对表达量比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。有淋巴结转移和无淋巴结转移患者结直肠癌组织中DCN相对表达量分别为 0.0464 ± 0.0224 、 0.0826 ± 0.0439 ,有淋巴结转移患者结直肠癌组织中DCN

相对表达量显著低于无淋巴结转移者,差异有统计学意义($P < 0.01$)。临床分期Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ期患者结直肠癌组织中 DCN 相对表达量分别为 0.1082 ± 0.0225 、 0.0620 ± 0.0058 、 0.0192 ± 0.0025 ,Ⅲ、Ⅳ期患者结直肠癌组织中 DCN 相对表达量显著低于Ⅱ期患者,Ⅳ期患者结直肠癌组织中 DCN 相对表达量显著低于Ⅲ期患者,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。高、中、低分化结直肠癌组织中 DCN 相对表达量分别为 0.0759 ± 0.0380 、 0.0605 ± 0.0384 、 0.0183 ± 0.0018 ,低分化结直肠癌组织中 DCN 相对表达量显著低于高分化、中分化结直肠癌组($P < 0.05$),高分化与中分化结直肠癌组织中 DCN 相对表达量比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

肿瘤的发生不仅与遗传相关,也与细胞外基质以及构成肿瘤微环境的成分变化有密切关系^[9-10]。肿瘤微环境是指肿瘤在其发生过程中所处的内环境,由间质细胞和细胞外基质组成。DCN 是细胞外基质的重要组成部分,属于细胞外富含亮氨酸的小分子蛋白多糖家族^[11],具有 4 个不同的功能区域,通过细胞外基质中的其他分子相互作用,影响细胞间黏附及迁移,可能是肿瘤的发生、发展及转移的重要抑制因子^[12-13]。外源 DCN 可通过激活表皮生长因子受体调节细胞周期蛋白 p21 通路,从而抑制细胞生长^[14]。DCN 可以和转化生长因子- β 等多种生长因子结合,负性调节肿瘤细胞生长^[15-16]。DCN 也能通过调节巨噬细胞的功能和细胞因子的分泌来影响炎症反应^[15-18],并且多种肿瘤模型实验表明,DCN 能够抑制肿瘤的生长、血管生成,阻止癌症转移^[19-20]。本课题组前期研究结果显示,DCN 可以抑制 HCT116 细胞的体外增殖能力,并具有剂量依赖性,而且在低氧条件下 DCN 可能通过下调 Hif-1 α /CD133/TIMP-2 来抑制 HCT116 细胞的体外侵袭^[7]。

有研究显示,DCN 在食管鳞状细胞癌的阳性表达与食管鳞状细胞癌的组织学分级、淋巴结转移、肿瘤分期和临床预后有关,DCN 表达越高,食管癌患者预后越好^[21]。另一项研究表明,间质中 DCN 的表达与乳腺癌患者的无病生存期呈正相关^[22]。但目前关于 DCN 与结直肠癌患者的临床分期、分化程度及预后的相关性研究较少。本研究采用免疫组织化学方法检测结直肠癌组织中 DCN 的表达并分析其与患者临床病理特征的关系,结果发现,结直肠癌组织中 DCN 的相对表达量与患者的年龄、性别无关,而与有无淋巴结转移及临床分期有关,与分化程

度可能相关;其中有淋巴结转移患者的结直肠癌组织中 DCN 相对表达量显著低于无淋巴结转移者;临床分期Ⅲ、Ⅳ期患者结直肠癌组织中 DCN 相对表达量显著低于Ⅱ期患者,Ⅳ期患者结直肠癌组织中 DCN 相对表达量显著低于Ⅲ期患者,即随着结直肠癌临床分期的增加,DCN 相对表达量逐渐降低;在不同分化程度的结直肠癌组织中,低分化患者结直肠癌组织中 DCN 相对表达量显著低于高分化、中分化患者的结直肠癌组织,高分化与中分化患者结直肠癌组织中 DCN 相对表达量比较差异无统计学意义,与既往研究结果不一致^[23],可能是因为试验所用的病例数较少,低分化癌组织多集中在Ⅳ期,因此,DCN 相对表达量较低,在后续研究中需扩大病例数,进一步探讨 DCN 与结直肠癌分化程度的关系。另外,本研究显示,结直肠癌癌旁组织中 DCN 相对表达量显著高于结直肠癌组织。以上结果提示,DCN 的异常下调可能在结直肠癌的发生、发展中发挥作用。

参考文献:

- [1] 郜培琼,贺国洋,冯思佳,等. 磷脂酸磷酸酶 2 域 1A 在不同结直肠癌细胞中的表达[J]. 新乡医学院学报,2018,35(3):163-166.
- [2] WATSON A J, COLLINS P D. Colon cancer: a civilization disorder [J]. *Dig Dis*, 2011, 29(2): 222-228.
- [3] 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.
- [4] CHEN W, ZHENG R, BAUDE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-121.
- [5] LIANG S, XU J F, CAO W J, et al. Human decorin regulates proliferation and migration of human lung cancer A549 cells [J]. *Chin Med J*, 2013, 126(24): 4736-4741.
- [6] XU Y, XIA Q, RAO Q, et al. DCN deficiency promotes renal cell carcinoma growth and metastasis through downregulation of P21 and E-cadherin [J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(4): 51711-5183.
- [7] BI X, POHL N M, QIAN Z, et al. Decorin-mediated inhibition of colorectal cancer growth and migration is associated with E-cadherin *in vitro* and in mice [J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(2): 326-330.
- [8] 冯晨露,张敏,王继霞,等. 核心蛋白聚糖抑制结直肠腺癌细胞系 HCT116 的体外侵袭[J]. 基础医学与临床,2017,37(6): 849-854.
- [9] HANAHAN D, COUSSENS L M. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment [J]. *Cancer Cell*, 2012, 21(3): 309-315.
- [10] 陈晓燕,罗金键. CXCL8 在结直肠癌组织中的表达及其临床意义[J]. 新乡医学院学报,2018,35(6):505-508.
- [11] ROSENBERG S A. Progress in human tumour immunology and immunotherapy [J]. *Nature*, 2001, 411(6835): 380-384.

- knee and hip arthroplasty in Korea; a nationwide population-based study[J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0178214.
- [4] AASVANG E K, JØRGENSEN C C, LAURSEN M B, et al. Safety aspects of postanesthesia care unit discharge without motor function assessment after spinal anesthesia: a randomized, multicenter, semiblinded, noninferiority, controlled trial [J]. *Anesthesiology*, 2017, 126(6): 1043-1052.
- [5] 秦树国, 赵明, 周颖. 全身麻醉和腰硬联合麻醉对老年全膝关节置换术后麻醉恢复期的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(6): 1395-1397.
- [6] 王靖瑞, 张伟, 郑婕, 等. 不同麻醉状态下 Wistar 大鼠图形视觉诱发电位稳定性研究[J]. *眼科新进展*, 2017, 37(1): 15-18.
- [7] JINNAH A H, SMITH B P, PERRICELLI B C. Comparison of two multimodal pain regimens used for postoperative pain control in total joint arthroplasty patients [J]. *J Surg Orthop Adv*, 2016, 25(4): 209-214.
- [8] 雷学恒, 吴涯雯, 张双全, 等. 不同麻醉方式对骨科手术患者术后认知功能影响的荟萃分析[J]. *中国医药导报*, 2015, 12(16): 24-28.
- [9] 邓略初, 罗绍金, 朱怀郡. 老年膝关节置换过程中硬膜外麻醉与腰-硬联合麻醉: 血液动力学差异[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(13): 1984-1989.
- [10] 鲁义, 屠伟峰, 卿朝晖, 等. 静脉与硬膜外自控镇痛对老年膝关节置换术患者术后镇静、舒适度及并发症影响的比较[J]. *临床麻醉学杂志*, 2015, 31(2): 109-112.
- [11] 刘沁爽, 戚小航, 孙东辉. 不同麻醉方式下全膝关节置换术后老年患者血清 C 反应蛋白水平及术后早期认知功能的变化[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(2): 509-510.
- [12] 冯超群, 郭小亮, 李学伦. 超声引导下胸椎椎旁神经阻滞复合全身麻醉在肝部分切除术中的应用[J]. *新乡医学院学报*, 2016, 33(4): 308-311.
- [13] 高书军. 不同麻醉方式对老年膝关节置换术后患者认知功能的影响[J]. *贵阳医学院学报*, 2015, 40(1): 100-103.
- [14] 徐俊峰, 林梅, 谢颖祥. 两种不同的麻醉方式用于老年全膝关节置换术患者术后麻醉恢复期效果对比[J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(19): 5461-5463.

(本文编辑:徐自超 英文编辑:徐自超)

(上接第 798 页)

- [12] MANN D M, YAMAGUCHI Y, BOURDON M A, et al. Analysis of glycosaminoglycan substitution in decorin by site-directed mutagenesis[J]. *J Biol Chem*, 1990, 265(9): 5317-5323.
- [13] IOZZO R V. The family of the small leucine-rich proteoglycans: key regulators of matrix assembly and cellular growth[J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 1997, 32(2): 141-174.
- [14] AMEYE L, YOUNG M F. Mice deficient in small leucine-rich proteoglycans: novel *in vivo* models for osteoporosis, osteoarthritis, Ehlers-Danlos syndrome, muscular dystrophy, and corneal diseases[J]. *Glycobiology*, 2002, 12(9): 107R-116R.
- [15] MERLINE R, MORETH K, BECKMANN J, et al. Signaling by the matrix proteoglycan decorin controls inflammation and cancer through PDCD4 and MicroRNA-21 [J]. *Sci Signal*, 2011, 4(199): 75-81.
- [16] XAUS J, COMALADA M, CARDÓ M, et al. Decorin inhibits macrophage colony-stimulating factor proliferation of macrophages and enhances cell survival through induction of p27 (Kip1) and p21 (Waf1) [J]. *Blood*, 2001, 98(7): 2124-2133.
- [17] NASTASE M V, JANICOVA A, ROEDIG H, et al. Small leucine-rich proteoglycans in renal inflammation: two sides of the coin [J]. *J Histochem Cytochem*, 2018, 66(4): 261-272.
- [18] KÖNINGER J, GIESE N A, BARTEL M, et al. The ECM proteoglycan decorin links desmoplasia and inflammation in chronic pancreatitis[J]. *J Clin Pathol*, 2006, 59(1): 21-27.
- [19] 樊东东. 核心蛋白聚糖在微环境中对结肠癌细胞 EMT 转化作用机制研究[D]. 沈阳: 辽宁大学, 2016.
- [20] NEILL T, SCHAEFER L, IOZZO R V. Decorin as a multivalent therapeutic agent against cancer[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 97: 174-185.
- [21] JI C, HUI L, MING X, et al. Deregulation of decorin and FHL1 are associated with esophageal squamous cell carcinoma progression and poor prognosis[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(11): 20965-20970.
- [22] LI S J, CHEN D L, ZHANG W B, et al. Prognostic value of stromal decorin expression in patients with breast cancer: a meta-analysis[J]. *J Thorac Dis*, 2015, 7(11): 1939-1950.
- [23] THEOCHARIS A D. Human colon adenocarcinoma is associated with specific post-translational modifications of versican and decorin[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1588(2): 165-172.

(本文编辑:李胜利 英文编辑:徐自超)