

本文引用: 万品文, 王倩, 万春. 白细胞介素-4 和骨膜蛋白在结肠腺癌组织中的表达及临床意义[J]. 新乡医学院学报, 2019, 36(1): 38-44. DOI: 10. 7683/xyxyxb. 2019. 01. 008.

【临床研究】

# 白细胞介素-4 和骨膜蛋白在结肠腺癌组织中的表达及临床意义

万品文<sup>1</sup>, 王倩<sup>2</sup>, 万春<sup>1</sup>

(1. 南阳市中心医院肝脏普外科, 河南 南阳 473000; 2. 南阳市中心医院皮肤科, 河南 南阳 473000)

**摘要:** **目的** 探讨白细胞介素-4(IL-4)、骨膜蛋白(POSTN)在结肠腺癌组织中的表达及其临床意义。**方法** 选取2014年1月至2017年5月南阳市中心医院经手术切除的结肠腺癌组织标本85例、结肠腺瘤组织标本43例及癌旁正常结肠组织45例, 苏木精-伊红(HE)染色观察不同结肠组织的病理学变化; 免疫组织化学染色和 Western blot 法检测不同结肠组织中 POSTN、IL-4 蛋白表达, 并分析 IL-4、POSTN 的表达与结肠腺癌患者临床病理特征的关系。**结果** HE 染色结果显示, 癌旁正常结肠组织细胞结构完整, 腺体细胞排列整齐、紧密; 结肠腺瘤组织腺体细胞明显增大, 排列疏松; 结肠腺癌组织细胞结构明显异常, 腺体细胞排列紊乱, 间隙扩大。IL-4 蛋白在正常结肠组织、结肠腺瘤组织、结肠腺癌组织中的高表达率分别为 13.33% (6/45)、41.86% (18/43)、68.24% (58/85), IL-4 蛋白在结肠腺瘤组织、结肠腺癌组织及癌旁正常结肠组织中的高表达率比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 36.275, P = 0.000$ ); 其中, 结肠腺癌组织中 IL-4 蛋白高表达率显著高于结肠腺瘤组织和癌旁正常结肠组织( $\chi^2 = 8.235, P = 0.004; \chi^2 = 35.484, P = 0.000$ ), 结肠腺瘤组织中 IL-4 蛋白高表达率显著高于癌旁正常结肠组织( $\chi^2 = 9.022, P = 0.003$ )。POSTN 在正常结肠组织、结肠腺瘤组织、结肠腺癌组织中的高表达率分别为 17.78% (8/45)、55.81% (24/43)、72.94% (62/85); POSTN 在正常结肠组织、结肠腺瘤组织、结肠腺癌组织中的高表达率比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 36.135, P = 0.000$ ); 其中, 结肠腺癌组织中 POSTN 高表达率高于结肠腺瘤组织, 但差异无统计学意义( $\chi^2 = 3.799, P = 0.051$ ), 结肠腺瘤组织和结肠腺癌组织中 POSTN 高表达率显著高于癌旁正常结肠组织( $\chi^2 = 36.027, 13.747, P = 0.000$ )。结肠腺癌组织中 POSTN、IL-4 蛋白表达与患者的 Duke's 分期、分化程度、淋巴结转移情况有关( $P = 0.001, 0.011, 0.009$ ), 与性别、肿瘤大小、大体类型无关( $P = 0.262, 0.534, 0.447$ )。Western blot 检测结果显示, 结肠腺癌组织中 POSTN、IL-4 蛋白表达水平平均高于癌旁正常结肠组织和肠腺瘤组织( $P < 0.05$ ); 结肠腺瘤组织中 POSTN、IL-4 蛋白表达水平平均高于癌旁正常结肠组织( $P < 0.05$ )。结肠腺癌组织中 POSTN 与 IL-4 蛋白表达水平呈显著正相关( $r = 0.496, P = 0.002$ )。**结论** IL-4、POSTN 高表达与结肠腺癌的发生、发展有关, 可能成为结肠腺癌临床诊断及治疗的新靶点。

**关键词:** 结肠腺瘤; 结肠腺癌; 白细胞介素-4; 骨膜蛋白

中图分类号: R735.2 文献标志码: A 文章编号: 1004-7239(2019)01-0038-07

## Expressions and clinical significances of interleukin-4 and periostin in colon adenocarcinoma tissue

WAN Pin-wen<sup>1</sup>, WANG Qian<sup>2</sup>, WAN Chun<sup>1</sup>

(1. Department of General Liver Surgery, Central Hospital of Nanyang City, Nanyang 473000, Henan Province, China; 2. Department of Dermatology, Central Hospital of Nanyang City, Nanyang 473000, Henan Province, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the expressions and clinical significances of interleukin-4 (IL-4) and periostin (POSTN) in colon adenocarcinoma tissue. **Methods** From January 2014 to May 2017, 85 specimens of colon adenocarcinoma tissues, 43 specimens of colon adenoma tissues, and 45 specimens of adjacent normal colon tissues resected surgically in Central Hospital of Nanyang City were selected. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes of different colon tissues; immunohistochemical staining and Western blot were used to detect the expressions of POSTN and IL-4 protein in different colon tissues; the relationships between the expressions of POSTN and IL-4 protein and the clinicopathological characteristics of patients with colon adenocarcinoma were analyzed. **Results** HE staining showed that the adjacent normal colon tissues had complete cell structure, and the glandular cells arranged neatly and tightly; adenoid cells in colon adenoma tissues increased significantly and arranged loosely; the cellular structure in colonic adenocarcinoma tissues was obviously abnormal, and the glandular cells arranged disorderly and the space was enlarged. The high expression rate of IL-4

protein in normal colon tissues,colon adenoma tissues,and colon adenocarcinoma tissues was 13.33% (6/45),41.86% (18/43),and 68.24% (58/85),respectively. The high expression rate of IL-4 protein in colon adenocarcinoma tissues,colon adenoma tissues,and adjacent normal colon tissues was significantly different ( $\chi^2 = 36.275,P = 0.000$ );the high expression rate in colon adenocarcinoma tissues was significantly higher than that in colon adenoma tissues and adjacent normal colon tissues ( $\chi^2 = 8.235,P = 0.004$ ; $\chi^2 = 35.484,P = 0.000$ );the high expression rate in colon adenoma was significantly higher than that in adjacent normal colon tissues ( $\chi^2 = 9.022,P = 0.003$ ). The high expression rate of POSTN in normal colon tissues,colon adenoma tissues and colon adenocarcinoma tissues was 17.78% (8/45),55.81% (24/43),and 72.94% (62/85),respectively. The high expression rate of POSTN in colon adenocarcinoma tissues,colon adenoma tissues,and adjacent normal colon tissues was significantly different ( $\chi^2 = 36.135,P = 0.000$ );the high expression rate of POSTN in colon adenocarcinoma tissues was higher than that in colon adenoma tissues and adjacent normal colon tissues,but there was no significant difference ( $\chi^2 = 3.799,P = 0.051$ );the high expression rate in colon adenocarcinoma tissues and colonic adenoma tissues was significantly higher than that in adjacent normal colon tissues ( $\chi^2 = 36.027,13.747;P = 0.000$ ). The expressions of POSTN and IL-4 protein in colon adenocarcinoma were related to Duke's stage,differentiation degree,and lymph node metastasis ( $P = 0.001,0.011,0.009$ ),but they were not related to sex,tumor size,and gross type ( $P = 0.262,0.534,0.447$ ). Western blot results showed that the expressions of IL-4 and POSTN in colon adenocarcinoma tissues were higher than those in adjacent normal colon tissues and colon adenoma tissues ( $P < 0.05$ );the expression levels of POSTN and IL-4 protein in colon adenoma tissues were higher than those in adjacent normal colon tissues ( $P < 0.05$ ). There was a significant positive correlation between the expressions of POSTN and IL-4 protein in colon adenocarcinoma ( $r = 0.496,P = 0.002$ ). **Conclusion**

The high expressions of IL-4 and POSTN are related to the occurrence and development of colon adenocarcinoma,which may become a new target for clinical diagnosis and treatment of colon adenocarcinoma.

**Key words:** colonic adenoma;colonic adenocarcinoma;interleukin-4;periostin

结肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一,位居胃肠道肿瘤的第3位,好发于40~50岁的中年人<sup>[1]</sup>。结肠癌在北美、欧洲等地区的发病率较高,近年来其在中国的发病率呈不断上升的趋势。结肠癌发病部位隐匿,早期无明显症状,病情进展缓慢,大部分患者因脓血便、腹痛、贫血、消瘦等症状就诊,75%的患者在确诊时已发生转移,预后不良<sup>[2]</sup>。因此,及时诊断与治疗对提高结肠癌患者生存质量、延长生存期至关重要。白细胞介素4(interleukin-4,IL-4)是重要的辅助性T细胞2(helper T cell 2,Th2)类细胞因子之一,在免疫应答过程中参与调控Th2和B细胞。IL-4也参与调控细胞增殖、分化及凋亡,在肿瘤疾病的发生、发展中发挥重要作用<sup>[3-4]</sup>。骨膜蛋白(periostin,POSTN)是一种骨黏附因子,主要由成骨细胞及其前体细胞合成,参与细胞募集和黏附过程。研究发现,POSTN在鼻咽癌、甲状腺癌、结肠癌等多种恶性肿瘤中呈高表达,与恶性肿瘤的侵袭、转移过程密切相关<sup>[5-6]</sup>。故本研究通过检测结肠腺癌组织中IL-4、POSTN的表达水平,探讨其对结肠腺癌发生、发展的影响,旨在为结肠癌的诊治提供依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取2014年1月至2017年5月南阳市中心医院手术切除的结肠腺癌标本85例(术前未进行放射、化学治疗或免疫治疗)为研究对象。85例结肠腺癌患者中,男47例,女38例;年龄35~78( $47.76 \pm 8.53$ )岁;根据Duke's分期标准<sup>[7]</sup>分为:A期15例,B期30例,C期29例,D期11例;组织分化程度:高分化29例,中分化36例,低分化20例;有淋巴结转移者49例,无淋巴结转移者36例。选取同期43例结肠腺癌组织标本作为良性对照,其中男24例,女19例;年龄33~75( $47.34 \pm 7.89$ )岁;另取结肠腺癌旁正常组织45例作为对照,其中男27例,女18例;年龄36~77( $46.25 \pm 8.64$ )岁;癌旁组织所选部位与肿瘤组织间的距离大于5cm,且经病理诊断证实为正常结肠黏膜组织。所有受试者签署知情同意书,本研究经医院伦理委员会审核批准。

**1.2 主要试剂与仪器** 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin staining,HE)染色液(北京索莱宝科技有限公司),Envision试剂盒、浓缩型二氨基联苯胺(diaminobenzidine,DAB)显色剂(丹麦Dako公司),

兔抗人 IL-4 多克隆抗体(美国 CST 公司),兔抗人 POSTN 多克隆抗体(英国 Abcam 公司),山羊抗兔二抗(上海碧云天生物技术有限公司),磷酸盐缓冲液(phosphatic buffer solution, PBS)(北京中杉金桥生物技术有限公司);石蜡切片机(德国 Leica 公司),光学显微镜(日本奥林巴斯公司),电泳仪(美国 Bio-Rad 公司)。

**1.3 组织标本处理** 结肠组织标本一部分立即冻存于液氮中,以备进行 Western blot 实验;一部分经体积分数 10% 甲醛固定后常规石蜡包埋,组织切片机连续切成 3  $\mu\text{m}$  厚度的切片,每例制作 3 ~ 5 张,置于 60  $^{\circ}\text{C}$  烘箱中烤片 2 h,以防止脱片。

**1.4 HE 染色观察结肠组织的病理学形态** 烘烤后的结肠组织切片依次用二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化;苏木精染细胞核 5 ~ 10 s;双蒸水洗涤后,体积分数 1% 盐酸乙醇分化处理 5 ~ 10 s;双蒸水洗涤后,伊红溶液染细胞质 1 ~ 2 min;常规脱水透明;中性树胶封片后,在光学显微镜下进行常规组织病理学检测。

**1.5 免疫组织化学染色 Envision 法检测结肠组织中 POSTN、IL-4 蛋白表达** 烘烤后的结肠组织切片依次用二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化、PBS 漂洗;于 100  $^{\circ}\text{C}$  柠檬酸缓冲液(pH = 6.0)中高压修复抗原 3 min,室温下冷却,PBS 洗涤;滴加体积分数 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,室温孵育 10 min 使内源过氧化物酶失活,PBS 冲洗;滴加 IL-4(稀释比 1 : 50)或 POSTN(稀释比 1 : 100)的一抗稀释液,室温孵育 2 h;滴加 Envision 二抗溶液,27  $^{\circ}\text{C}$  孵育 30 min,PBS 冲洗;滴加新配制的 DAB 溶液,显色 3 ~ 10 min,显色充分后双蒸水终止显色;苏木精染核 3 min 后,依次用体积分数 1% 盐酸乙醇分化、双蒸水洗涤、饱和碳酸锂蓝化、梯度乙醇脱水、二甲苯透明;中性树胶封片后,在光学显微镜下观察并拍照。同时,以 PBS 代替一抗稀释液作为阴性对照。

**1.6 免疫组织化学结果评判标准** 由本院 2 位资深的病理科医师采用双盲法阅读切片。每张切片通过高倍镜( $\times 400$ )随机选择 5 个视野,统计每个视野中阳性细胞所占比例,每个视野计数至少 200 个细胞。根据每张切片中阳性细胞所占百分比进行计分,0 分:阳性细胞为 0;1 分:0% < 阳性细胞

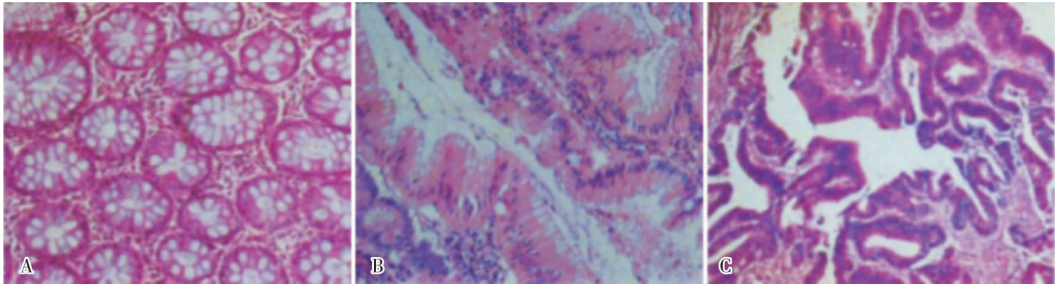
所占百分比 < 25%;2 分:25%  $\leq$  阳性细胞所占百分比 < 50%;3 分:50%  $\leq$  阳性细胞所占百分比 < 80%;4 分:阳性细胞所占百分比  $\geq$  80%;根据阳性细胞染色强度计分:淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。最终根据二者计分的乘积确定结果,阴性:0 ~ 3 分,弱阳性:4 ~ 6 分,中等阳性:7 ~ 9 分,强阳性:10 ~ 12 分。阴性和弱阳性定义为低表达,中等阳性和强阳性定义为高表达。

**1.7 Western blot 检测结肠组织中 POSTN、IL-4 蛋白表达** 取 50 mg 液氮冻存的结肠组织,充分研磨,采用常规方法提取结肠组织蛋白。取适量蛋白质样品,采用二喹啉甲酸法定量以调节浓度。将 50  $\mu\text{g}$  蛋白样品和适量十二烷基硫酸钠缓冲液充分混合,煮沸 10 min 使蛋白变性;聚丙烯酰胺凝胶电泳使蛋白质分离;将蛋白质转印到硝酸纤维素膜上;TBST 缓冲液清洗膜后,将膜置于 50  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  牛血清蛋白溶液,室温封闭 1 h;TBST 缓冲液清洗膜后,将膜置于 IL-4(稀释比 1 : 1 000)或 POSTN(稀释比 1 : 1 000)的一抗稀释液中,4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜;TBST 缓冲液洗膜后置于相应的二抗稀释液(稀释比 1 : 4 000)中,室温孵育 2 h;TBST 缓冲液洗膜后置于新配制的电化学发光显色液中显色,条带清晰出现后终止;用 ImageScanner 扫描蛋白胶片,用美国 Bio-Rad 公司生产的凝胶电泳图分析软件(Quantity One)分析蛋白条带灰度值。选取甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)为内参蛋白。

**1.8 统计学处理** 应用 SPSS 20.0 统计软件进行数据处理。计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用  $t$  检验;计数资料以百分率表示,采用  $\chi^2$  检验;采用 Pearson 进行相关性分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同结肠组织病理组织学变化** 结果见图 1。HE 染色结果显示,癌旁正常结肠组织结构完整,腺体细胞排列整齐、紧密;结肠腺瘤组织腺体细胞明显增大,排列疏松;结肠腺癌组织结构明显异常,腺体细胞排列紊乱,间隙扩大。



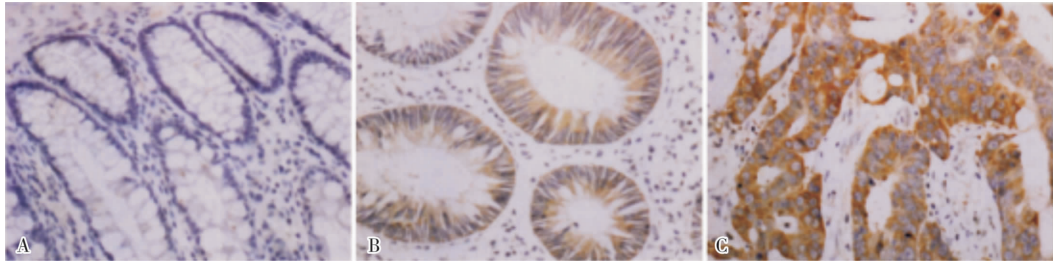
A:癌旁正常结肠组织;B:结肠腺瘤组织;C:结肠腺癌组织。

图 1 不同结肠组织 HE 染色结果( ×200)

Fig.1 HE staining results of different colon tissues ( × 200)

**2.2 不同结肠组织中 IL-4 蛋白的表达** 结果见图 2。IL-4 蛋白主要在细胞膜及细胞质表达,呈黄色或棕黄色弥漫分布。IL-4 蛋白在癌旁正常结肠组织、结肠腺瘤组织、结肠腺癌组织中的低表达率分别为 86.67% (39/45)、58.14% (25/43)、31.76% (27/85),高表达率分别为 13.33% (6/45)、41.86% (18/43)、68.24% (58/85)。IL-4 蛋白在结肠腺癌组织、

结肠腺瘤组织及癌旁正常结肠组织中的高表达率比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 36.275, P = 0.000$ );其中,结肠腺癌组织中 IL-4 蛋白高表达率显著高于结肠腺瘤组织和癌旁正常结肠组织( $\chi^2 = 8.235, P = 0.004; \chi^2 = 35.484, P = 0.000$ ),结肠腺瘤组织中 IL-4 蛋白高表达率显著高于癌旁正常结肠组织( $\chi^2 = 9.022, P = 0.003$ )。



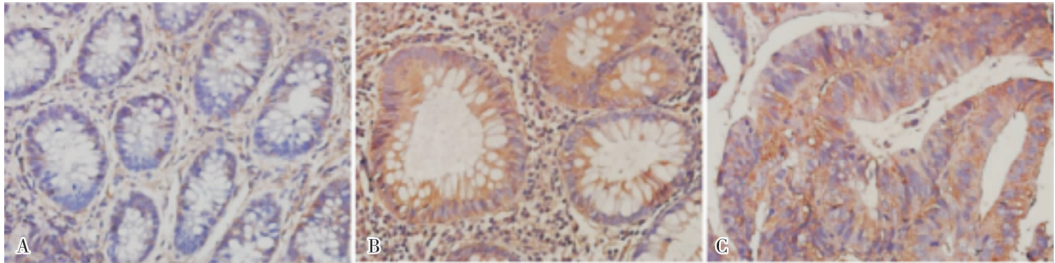
A:癌旁正常结肠组织;B:结肠腺瘤组织;C:结肠腺癌组织。

图 2 IL-4 蛋白在不同结肠组织中的表达( Envision 染色, ×400)

Fig.2 Expression of IL-4 protein in different colon tissues( Envision dyeing, ×400)

**2.3 不同结肠组织中 POSTN 的表达** 结果见图 3。POSTN 弥漫分布于细胞膜及细胞质,呈黄色或棕黄色。POSTN 在癌旁正常结肠组织、结肠腺瘤组织、结肠腺癌组织中的低表达率分别为 82.22% (37/45)、44.19% (19/43)、27.06% (23/85),高表达率分别为 17.78% (8/45)、55.81% (24/43)、72.94% (62/85)。POSTN 在癌旁正常结肠组织、结

肠腺瘤组织、结肠腺癌组织中的高表达率比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 36.135, P = 0.000$ );其中,结肠腺癌组织中 POSTN 高表达率高于结肠腺瘤组织,但差异无统计学意义( $\chi^2 = 3.799, P = 0.051$ ),结肠腺癌组织和结肠腺瘤组织中 POSTN 高表达率显著高于癌旁正常结肠组织,差异有统计学意义( $\chi^2 = 36.027、13.747, P = 0.000$ )。



A:癌旁正常结肠组织;B:结肠腺瘤组织;C:结肠腺癌组织。

图 3 POSTN 在不同结肠组织中的表达( Envision 染色, ×400)

Fig.3 Expression of POSTN in different colon tissues( Envision dyeing, ×400)

**2.4 POSTN 和 IL-4 蛋白表达与结肠腺癌患者临床病理特征的关系** 结果见表 1。结肠腺癌组织中 POSTN、IL-4 蛋白表达与患者的 Duke's 分期、分化

程度、淋巴结转移情况有关 ( $P = 0.001$ 、 $0.011$ 、 $0.009$ ), 与性别、肿瘤大小、大体类型无关 ( $P = 0.262$ 、 $0.534$ 、 $0.447$ )。

表 1 POSTN、IL-4 蛋白表达与结肠腺癌患者临床病理特征的关系

Tab.1 Relationship between the expression of POSTN and IL-4 protein and the clinicopathological features of patients with colon adenocarcinoma 例(%)

临床病理特征	<i>n</i>	IL-4 蛋白		$\chi^2$	<i>P</i>	POSTN		$\chi^2$	<i>P</i>
		高表达	低表达			高表达	低表达		
性别									
男	47	30(63.83)	17(36.17)	0.941	0.332	32(68.08)	15(31.92)	1.256	0.262
女	38	28(73.68)	10(26.32)			30(78.95)	8(21.05)		
肿瘤大小									
<5 cm	36	22(61.11)	14(38.89)	1.462	0.227	25(69.44)	11(30.56)	0.387	0.534
≥5 cm	49	36(73.47)	13(26.53)			37(75.51)	12(24.49)		
大体类型									
隆起型	39	28(71.79)	11(28.21)	0.421	0.516	30(76.92)	9(23.08)	0.579	0.447
溃疡型	46	30(65.22)	16(34.78)			32(69.57)	14(30.43)		
Duke's 分期									
A、B 期	45	24(53.33)	21(46.67)	9.797	0.002	26(57.78)	19(42.22)	11.140	0.001
C、D 期	40	34(85.00)	6(15.00)			36(90.00)	4(10.00)		
分化程度									
高、中分化	65	40(61.54)	25(38.46)	5.716	0.017	43(66.15)	22(33.85)	6.448	0.011
低分化	20	18(90.00)	2(10.00)			19(95.00)	1(5.00)		
淋巴结转移									
有	49	40(81.63)	9(18.37)	9.581	0.002	41(83.67)	8(16.33)	6.752	0.009
无	36	18(50.00)	18(50.00)			21(58.33)	15(41.67)		

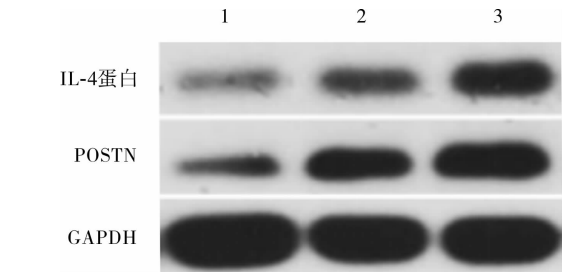
**2.5 不同结肠组织中 POSTN、IL-4 蛋白相对表达量比较** 结果见表 2 和图 4。结肠腺癌组织和结肠腺瘤组织中 POSTN、IL-4 蛋白表达水平均高于癌旁正常结肠组织 ( $P < 0.05$ ); 结肠腺癌组织中 POSTN、IL-4 蛋白表达水平均高于结肠腺瘤组织 ( $P < 0.05$ )。

表 2 不同结肠组织中 POSTN、IL-4 蛋白相对表达量比较

Tab.2 Comparison of the relative expression POSTN and IL-4 protein in different colon tissues ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	IL-4 蛋白	POSTN
癌旁正常结肠组织	45	0.183 ± 0.035	0.254 ± 0.042
结肠腺瘤组织	43	0.296 ± 0.027 <sup>a</sup>	0.582 ± 0.122 <sup>a</sup>
结肠腺癌组织	85	0.735 ± 0.128 <sup>ab</sup>	0.804 ± 0.154 <sup>ab</sup>
<i>F</i>		637.245	281.751
<i>P</i>		0.000	0.000

注:与癌旁正常结肠组织比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与结肠腺瘤组织比较<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。



1:癌旁正常结肠组织;2:结肠腺瘤组织;3:结肠腺癌组织。

图 4 不同结肠组织中 POSTN 和 IL-4 蛋白的表达 (Western blot)

Fig.4 Expression of POSTN and IL-4 protein in different colon tissues (Western blot)

**2.6 结肠腺癌组织中 POSTN 与 IL-4 表达的相关性** 结肠腺癌组织中 POSTN 与 IL-4 蛋白表达水平呈显著正相关 ( $r = 0.496$ ,  $P = 0.002$ )。

### 3 讨论

随着经济水平的提高和饮食结构的变化,结肠

腺癌在中国的发病率逐年上升。目前,有研究者认为,80% 以上的结直肠癌是由腺瘤恶化后形成,结肠腺瘤是腺上皮异型增生而产生的良性肿瘤,临床上常认为结肠腺瘤性息肉为结肠腺癌的癌前病变<sup>[8]</sup>。有研究显示,结肠腺瘤和结肠腺癌的发病特征类似<sup>[9]</sup>。经统计分析发现,单个结肠腺瘤患者罹患结肠腺癌的风险是无腺瘤者的 6 倍,多个结肠腺瘤患者罹患结肠腺癌的风险是单个腺瘤者的 2 倍<sup>[10]</sup>。结肠腺癌的发生过程常伴随着致癌基因激活、抑癌基因失活等多类基因的突变,结肠腺瘤和腺癌间的基因改变情况基本一致,结肠腺瘤的 5 号和 18 号染色体的等位基因分别缺失 20% 和 47%,结肠腺癌分别缺失 36% 和 73%,由结肠腺瘤转变为结肠腺癌大概需 10 ~ 15 a<sup>[11]</sup>,通常腺瘤体积越大,数目越多,绒毛量越多,患者年龄越大,癌变的可能性就越大。因此,及早诊断并在内镜下摘除结肠腺瘤对防止结肠腺癌的发生具有重要意义。

细胞因子表达失衡存在于不同类型的肿瘤中,与恶性肿瘤的复发、转移密切相关。有研究表明,大部分乳腺癌、前列腺癌或结肠癌患者血清中 IL-4、IL-6 和 IL-8 蛋白表达水平较健康者升高<sup>[12]</sup>。IL-4 主要由 CD4<sup>+</sup>T 细胞、肥大细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞等合成分泌,是人体重要的 Th2 类抑炎性细胞因子,能够调节 Th1 与 Th2 之间的免疫炎症过程。正常生理条件下,促炎性和抑炎性细胞因子处于相对平衡状态,以保证机体正常的免疫功能。当外源性或内源性刺激引起促炎性和抑炎性细胞因子平衡失调时,会导致免疫异常,肠道一直处于免疫炎症状态时,导致消化系统异常、炎性增生甚至发生恶性肿瘤等<sup>[13-14]</sup>。IL-4 在结肠腺癌及其他恶性肿瘤中表达上调,具有抵抗肿瘤细胞凋亡的作用,IL-4 通过促进抗凋亡因子 survivin 转录表达来调控抗凋亡过程<sup>[15-16]</sup>。目前,IL-4 在结肠腺瘤和结肠腺癌组织中的表达情况还未见报道。本研究免疫组织化学检测结果发现,IL-4 蛋白在结肠腺癌组织中的高表达率显著高于结肠腺瘤组织和癌旁正常结肠组织,IL-4 蛋白在结肠腺瘤组织中的高表达率显著高于癌旁正常结肠组织,说明 IL-4 可能参与了结肠腺瘤及腺癌的发生、发展过程,提示检测结肠腺瘤组织中 IL-4 水平可能成为预测腺瘤癌变风险的指标。结肠腺癌组织中 IL-4 表达与患者的 Duke's 分期、分化程度、

淋巴结转移情况有关,说明 IL-4 表达与结肠腺癌的严重程度密切相关,检测结肠腺癌组织中 IL-4 水平可在一定程度上反映结肠腺癌患者的病情发展进程。本研究中 Western blot 结果也证实,结肠腺癌组织中 IL-4 蛋白水平显著高于结肠腺瘤组织,结肠腺瘤组织中 IL-4 蛋白表达水平显著高于癌旁正常结肠组织,进一步说明 IL-4 可能参与了结肠腺瘤及腺癌的发生、发展。

POSTN 基因位于人 13 号染色体上,大小约为 36 kb,编码 2 种亚型,一种为骨肉瘤亚型,编码蛋白含有 836 个氨基酸;一种为胎盘亚型,编码蛋白含有 779 个氨基酸。POSTN 作为一种骨黏附因子,不仅参与成骨细胞的增殖、分化、黏附以及伸展过程,还可促进骨膜成骨前体细胞的聚集、黏附,同时也参与了间质平滑肌细胞的迁移过程,在人体多种组织中普遍表达<sup>[3]</sup>。多项研究表明,POSTN 在非小细胞肺癌、乳腺癌、肝细胞癌、结肠腺癌等多种癌症中呈高表达<sup>[6,17-20]</sup>。POSTN 能够促进血管生成以保证肿瘤细胞的存活,在恶性肿瘤的侵袭、迁移中发挥着重要作用。有研究发现,IL-4 和 IL-13 可促进肺成纤维细胞分泌 POSTN,在支气管哮喘患者的上皮纤维化过程中 POSTN 处于 IL-4 和 IL-13 信号的下游<sup>[21]</sup>。另有研究发现,IL-4 和 POSTN 在慢性鼻窦患者的鼻息肉中均呈高表达,且二者的表达水平呈显著正相关。本研究免疫组织化学检测结果发现,POSTN 在结肠腺癌组织中的高表达率高于结肠腺瘤组织和癌旁正常结肠组织,POSTN 蛋白在结肠腺瘤组织中的高表达率显著高于癌旁正常结肠组织,说明 POSTN 与 IL-4 一样,也参与了结肠腺瘤的发生、发展过程,提示检测结肠腺瘤组织中 POSTN 水平可在一定程度上预测结肠腺瘤癌变的风险。结肠腺瘤组织中 POSTN 表达与患者的 Duke's 分期、分化程度、淋巴结转移情况有关,表明检测结肠腺瘤组织中 POSTN 水平能够反映结肠腺癌患者的病情严重程度。本研究中 Western blot 检测结果亦发现,结肠腺癌组织中 POSTN 表达水平显著高于结肠腺瘤组织,结肠腺瘤组织中 POSTN 表达水平显著高于正常结肠组织,且结肠腺瘤组织中 POSTN 与 IL-4 蛋白表达水平呈显著正相关,进一步表明 POSTN 的高表达与结肠腺瘤及腺癌的发生、发展均有关。

综上所述,IL-4、POSTN 在结肠腺癌中的表达显



著高于结肠腺瘤,在结肠腺瘤中的表达显著高于癌旁正常组织,说明 IL-4、POSTN 的高表达与结肠腺瘤及腺癌的发生、发展均有关,检测 IL-4、POSTN 水平可预测腺瘤癌变的风险。然而,结肠腺癌发生、发展的机制复杂,IL-4、POSTN 能否作为结肠腺癌诊断及治疗的独立因子还需深入研究。

参考文献:

[1] 康清杰,向征. 结肠癌筛查和诊疗的研究进展[J]. 重庆医学, 2015,44(28):4001-4003.

[2] BOLEIJ A,HECHENBLEIKNER E M,GOODWIN A C,*et al.* The bacteroides fragilis toxin gene is prevalent in the colon mucosa of colorectal cancer patients[J]. *Clin Infect Dis*,2015,60(2):208-215.

[3] 邢应如,陈蓓,张荣波. 白细胞介素 4 的研究进展[J]. 医学综述,2015,21(19):3457-3461.

[4] 徐法东,刘庆来,王金申. IL-4 和 IL-6 在胃癌组织中的表达水平及临床意义[J]. 中国现代普通外科进展,2016,19(6):451-454.

[5] 赵佐芳,刘英,王大庆. 骨膜蛋白在肿瘤中的作用研究进展[J]. 重庆医学,2016,45(32):4581-4584.

[6] OH H J,BAE J M,WEN X Y,*et al.* Overexpression of POSTN in tumor stroma is a poor prognostic indicator of colorectal cancer[J]. *J Pathol Transl Med*,2017,51(3):306-313.

[7] 曾涛,李伟学,钟敏. 结肠癌分期对实施完整结肠系膜切除的应用价值和远期疗效[J]. 实用癌症杂志,2016,31(4):628-631.

[8] 陈现亮,吴义娟,吕卓,等. 结肠腺瘤癌变过程中 MTA1、RECK 的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志,2017,33(4):432-435.

[9] 冯妮,李晓琳. 血清癌胚抗原、糖类抗原 199 和肿瘤 M2 型丙酮酸激酶联合检测在结肠癌诊断中的价值[J]. 新乡医学院学报,2018,35(3):182-184.

[10] 崔凯,王焕,宰守峰,等. 结肠腺瘤样息肉病基因在结肠癌患者中的突变热点研究[J]. 新乡医学院学报,2015,32(9):826-828.

[11] 李秀博,杜洪,王小拍,等. 537 例结肠腺癌患者 KRAS 基因检测结果分析[J]. 广州医药,2018,49(4):7-9.

[12] BAL S M,BERNINK J H,NAGASAWA M,*et al.* IL-1 $\beta$ ,IL-4 and IL-12 control the fate of group 2 innate lymphoid cells in human airway inflammation in the lungs [J]. *Nat Immunol*,2016,17(6):636-645.

[13] BOSURGI L,CAO Y G,CABEZACABRERIZO M,*et al.* Macrophage function in tissue repair and remodeling requires IL-4 or IL-13 with apoptotic cells [J]. *Science*,2017,356(6342):1072-1076.

[14] LIU H,ANTONY S,ROY K,*et al.* Interleukin-4 and interleukin-13 increase NADPH oxidase 1-related proliferation of human colon cancer cells[J]. *Oncotarget*,2017,8(24):38113-38135.

[15] GHARIB A F,SHALABY S M,RAAFAT N,*et al.* Assessment of neutralizing interleukin-4 effect on CD133 gene expression in colon cancer cell line[J]. *Cytokine*,2017,97(17):66-72.

[16] NITSCHKE U,STANGEL D,ZHENG P,*et al.* Periostin and tumor-stroma interactions in non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Lett*,2016,12(5):3804-3810.

[17] RATAJCZAK-WIELGOMAS K,GRZEGRZOLKA J,PIOTROWSKA A,*et al.* Expression of periostin in breast cancer cells[J]. *Int J Oncol*,2017,51(4):1300-1310.

[18] LEE J I. Role of periostin in hepatocellular carcinoma; the importance of tumor microenvironment [J]. *Gut Liver*,2016,10(6):871-872.

[19] HU Q,TONG S,ZHAO X,*et al.* Periostin mediates TGF- $\beta$  induced epithelial mesenchymal transition in prostate cancer cells [J]. *Cell Physiol Biochem*,2015,36(2):799-809.

[20] AGRAWAL S,TOWNLEY R G. Role of periostin,FENO,IL-13,lebrikzumab, other IL-13 antagonist and dual IL-4/IL-13 antagonist in asthma[J]. *Expert Opin Biol Ther*,2014,14(2):165-166.

[21] MILONSKI J,ZIELINSKABLIZNIEWSKA H,MAJSTEREK I,*et al.* Expression of POSTN,IL-4,and IL-13 in chronic rhinosinusitis with nasal polyps[J]. *DNA Cell Biol*,2015,34(5):342-349.

( 本文编辑:杨 博 英文编辑:杨 博 )