

肠 疾 病

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002639

外周血肿瘤异常蛋白在结直肠癌患者中的表达
及预后价值研究

谭婧宇, 卢梅梅, 梁静秋, 徐文敏, 罗含菱, 张海燕

(重庆大学附属肿瘤医院 肿瘤转移与个体化诊治转化研究重庆市重点实验室, 重庆 400030)

【摘要】目的:研究肿瘤异常蛋白(tumor abnormal protein, TAP)在结直肠癌患者外周血中的表达及预后意义。**方法:**收集 2014 年 6 月至 2016 年 12 月确诊的 237 例结直肠癌患者为研究对象并进行随访,检测患者治疗前外周血中 TAP 表达情况,利用卡方检验分析 TAP 表达与结直肠癌患者临床特征的关系,收集患者外周血传统肿瘤标志物 CEA 和 CA19-9 的表达数据,分析外周血 TAP 表达与 CEA 和 CA19-9 的关系。利用 Kaplan-Meier 生存曲线、单因素及多因素 Cox 回归分析 TAP 表达与结直肠癌患者预后的关系。**结果:**237 例结直肠癌患者外周血 TAP 阳性率为 59.92%。不同分化程度、不同肌层浸润深度、有无淋巴结转移以及不同 Dukes 分期的结直肠癌患者之间,外周血 TAP 的表达差异具有统计学意义($P<0.05$)。外周血 TAP 表达与 CEA 和 CA19-9 的表达无关($P>0.05$)。TAP 阳性表达组结直肠癌患者的总生存期低于阴性表达组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。多因素 Cox 回归分析校正了年龄、性别、分化程度、肌层浸润深度、淋巴结转移、Dukes 分期、CEA 表达和 CA19-9 表达等因素后,外周血 TAP 的表达与结直肠癌总生存期依然显著相关($HR=2.511, 95\%CI=1.494-4.221, P<0.05$)。此外,外周血 TAP 对结直肠癌患者生存预后预测的风险比大于传统肿瘤标志物 CEA 和 CA19-9。**结论:**结直肠癌患者外周血中 TAP 的表达与肿瘤的恶性程度相关,外周血中 TAP 的表达可以作为结直肠癌独立的预后指标,对患者的总生存期具有预测作用。

【关键词】结直肠癌;肿瘤异常蛋白;生存分析;预后**【中图分类号】**R735.3**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2019-05-23Expression and prognostic significance of tumor abnormal protein on
peripheral blood in colorectal cancer patients

Tan Jingyu, Lu Meimei, Liang Jingqiu, Xu Wenmin, Luo Hanyu, Zhang Haiyan

(Chongqing University Cancer Hospital/Chongqing Key Laboratory of Translational Research for Cancer
Metastasis and Individualized Treatment)

【Abstract】Objective: To investigate the expression and prognostic significance of tumor abnormal protein(TAP) on peripheral blood in colorectal cancer patients. **Methods:** A total of 237 colorectal cancer patients from June 2014 to December 2016 were enrolled and followed up. The pre-treatment TAP expression in peripheral blood was detected, the chi-square test was used to analyze the correlation between TAP expression and clinical features of colorectal cancer patients, the expression data of traditional tumor markers CEA and CA19-9 in peripheral blood of patients were collected, and the relationship among TAP expression, CEA and CA19-9 were analyzed. Kaplan-Meier survival curve and univariate and multivariate Cox regression were used to analyze the relationship between TAP expression and prognosis in colorectal cancer patients. **Results:** Among 237 colorectal cancer patients, 59.92% patients had positive expression of TAP in peripheral blood. Peripheral blood TAP expression was associated with tumor cell differentiation, depth of myometrial invasion, lymph node metastasis, and tumor stage(Dukes stage), with statistically significant difference($P<0.05$). After multivariate Cox regression's correction of age, gender, cell differentiation, invasion degree, lymph node metastasis, Dukes stage, CEA expression and CA19-9 expression, TAP expression in the peripheral blood was significantly associated with overall survival time of colorectal cancer($HR=2.511, 95\%CI=1.494-4.221, P<0.05$). In addition, the risk ratio of peripheral blood TAP for predicting survival outcome in colorectal cancer patients was higher than that of CEA and CA19-9. **Conclusion:** The expression of TAP in peripheral blood of

colorectal cancer patients is related to the malignant degree of cancer, and can be used as an independent prognostic indicator for colorectal cancer, with predicating function for patients' overall survival time.

【Key words】colorectal cancer; tumor abnormal protein; survival analysis; prognosis

作者介绍:谭婧宇, Email:447478300@qq.com,

研究方向:肿瘤及其筛查。

通信作者:张海燕, Email:103475119@qq.com。

基金项目:重庆市卫计委中医药科技资助项目(编号:ZY201702041)。

优先出版:https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20200916.1130.002.html

(2020-09-17)

结直肠癌(colorectal cancer,CRC)是世界上第三大常见癌症,据估计在全球范围内每年约有 140 万新发病例,并且每年约有 60.8 万人死于结直肠癌^[1-2]。在我国结直肠癌也是最常见的 5 大癌症之一^[3]。尽管近年来针对结直肠癌的治疗手段不断改善,但结直肠癌患者的总生存率没有得到明显改善^[4]。结直肠癌较差的预后与肿瘤转移、复发及治疗耐药性密切相关^[5]。因此,寻找有效的结直肠癌预后指标具有重要的临床意义。肿瘤异常蛋白(tumor abnormal protein,TAP)又称作异常糖链糖蛋白,肿瘤细胞糖蛋白代谢过程中糖链结构会发生异常改变形成 TAP。TAP 可以释放并稳定存在于外周血中,因此可以作为有效的肿瘤生物标志物^[6]。目前多数研究重点关注 TAP 在肿瘤患者早期筛查及诊断中的临床应用^[7-8],TAP 在结直肠癌患者预后中的应用价值尚不清楚。本研究将检测 TAP 在 237 例结直肠癌患者外周血中的表达情况,分析 TAP 阳性表达与结直肠癌患者临床特征及传统肿瘤标志物 CEA 和 CA19-9 的关系,进而探索 TAP 阳性表达在结直肠癌中作为预后生物标志物的临床价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集 2014 年 6 月至 2016 年 12 月主动来重庆大学附属肿瘤医院体检中心筛查并入院确诊的结直肠癌患者与本院实施的重庆市“城市癌症早诊早治项目”筛查出的结直肠癌患者。结直肠癌患者纳入标准:经过组织病理学确诊为直肠癌患者;患者的临床特征及病理资料完整;首次在本医院确诊为直肠癌患者,并且入院前未经过治疗;在治疗前抽取患者血液并完好保存血液样本;患者均进行随访,主要包括门诊、电话随访。排除标准:合并其他恶性肿瘤患者;有院外治疗史患者;拒绝参与研究的患者。

根据本研究的纳入标准和排除标准,共选取 237 例作为研究对象,在治疗前收集患者外周血样本。患者年龄 38~60 岁;平均 54.44 岁;其中男性 126 例,女性 111 例;115 例肿瘤细胞低分化,122 例中高分化;113 例肌层浸润深度为 T1 或 T2 级,124 例为 T3 或 T4 级;169 例无淋巴结转移,68 例有淋巴结转移;114 例 Dukes 分期为 A 或 B 期,123 例为 C 或 D 期。此外,本研究还收集了结直肠癌患者传统肿瘤蛋白标志物 CEA 和 CA19-9 的表达,并且将 CEA ≥ 5 ng/mL、CA19-9 $\geq$

37 U/mL 作为阳性表达的判定标准。本研究纳入所有患者均签署知情同意,研究方案于 2014 年 5 月通过医院伦理委员会批准。

1.2 TAP 检测方法及其判定

采用异常糖链糖蛋白检测试剂盒(浙江瑞生医疗科技有限公司)进行 TAP 检测,简要如下:在患者治疗前取全血样本进行涂片,随后在血涂片上滴加试剂盒中的凝聚助剂,待血涂片染色且干燥后形成血液标本,利用 TAP 检测系统用图像分析仪(浙江瑞生医疗科技有限公司)观察并记录凝聚助剂产生的凝聚物小斑点的形态和面积。根据检测到的 TAP 面积大小进行结果判定:TAP 面积 $\geq 121 \mu\text{m}^2$ 为检测阳性结果,TAP 面积 $<121 \mu\text{m}^2$ 为检测阴性结果。根据患者外周血 TAP 是否阳性表达,将结直肠癌患者分为 TAP 阳性表达组和 TAP 阴性表达组。

1.3 结直肠癌患者随访

针对本研究纳入的 237 例结直肠癌患者进行随访,采用电话随访或者门诊随访的方式进行,随访间隔时间为半年。以患者首次入院为随访起点,2019 年 3 月 1 日为随访截止日期。在随访中收集患者健康状况,以患者由于结直肠癌导致的死亡作为终点事件,并记录患者确切的死亡时间,患者的总生存期即为随访开始至结直肠癌导致死亡的时间。

1.4 统计学处理

利用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析。计数资料用率的形式表达,并采用卡方检验;绘制 Kaplan-Meier 生存曲线,并采用 log-rank 检验分析 2 组间总生存率之间的差异;应用单因素和多因素 Cox 比例风险回归模型分析 TAP 表达与患者预后的关系。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 外周血中 TAP 的表达与结直肠癌患者临床特征的关系

外周血 TAP 检测结果显示,237 例结直肠癌患者中有 142 例患者呈现 TAP 阳性表达,阳性率为 59.92%。进一步分析外周血 TAP 表达与结直肠癌患者临床特征的关系发现,外周血 TAP 的表达与结直肠癌患者的年龄($\chi^2=0.118$, $P=0.731$)、性别($\chi^2=0.443$, $P=0.506$)无关,但与分化程度($\chi^2=25.651$, $P=0.000$)、肿瘤肌层浸润深度($\chi^2=24.639$, $P=0.000$)、淋巴结转移($\chi^2=7.359$, $P=0.007$)及 Dukes 分期($\chi^2=25.225$, $P=0.000$)显著相关。TAP 在低分化、较大的肌层浸润深度、有淋巴结转移及较晚 Dukes 分期的结直肠癌患者外周血中具有较高的阳性表达率。此外,本研究还收集了结直肠癌患者外周血中肿瘤蛋白标志物 CEA 和 CA19-9 的表达,经过分析发现外周血 TAP 表达与 CEA 表达($\chi^2=1.002$, $P=0.317$)和 CA19-9 表达($\chi^2=0.022$, $P=0.883$)无关。具体见表 1。

表 1 外周血 TAP 的表达与结直肠癌患者临床特征的关系

临床特征	例数	TAP表达(n,%)		χ^2 值	P 值
		阴性	阳性		
年龄(岁)					
<55	134	55(41.04)	79(58.96)	0.118	0.731
≥55	103	40(38.83)	63(61.17)		
性别					
男	126	48(38.10)	78(61.90)	0.443	0.506
女	111	47(42.34)	64(57.66)		
分化程度					
低分化	115	27(23.48)	88(76.52)	25.651	0.000
中高分化	122	68(55.74)	54(44.26)		
肌层浸润深度					
T1+T2	113	64(56.64)	49(43.36)	24.639	0.000
T3+T4	124	31(25.00)	93(75.00)		
淋巴结转移					
无	169	77(45.56)	92(54.44)	7.359	0.007
有	68	18(26.47)	50(73.53)		
Dukes 分期					
A+B	114	65(57.02)	49(42.98)	25.225	0.000
C+D	123	30(24.39)	93(75.61)		
CEA 表达(ng/mL)					
<5	166	70(42.17)	96(57.83)	1.002	0.317
≥5	71	25(35.21)	46(64.79)		
CA19-9 表达(U/mL)					
<37	191	77(40.31)	114(59.69)	0.022	0.883
≥37	46	18(39.13)	28(60.87)		

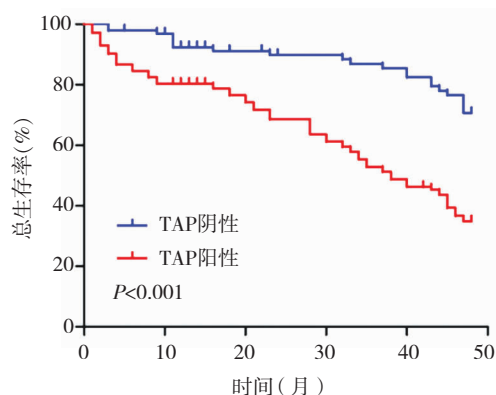


图 1 Kaplan-Meier 生存曲线分析外周血中 TAP 表达与结直肠癌患者总生存期的关系

2.2 Kaplan-Meier 生存曲线分析外周血中 TAP 的表达与结直肠癌患者总生存期的关系

通过随访,237 例结直肠癌患者的总死亡例数为 105 例,死亡率为 44.30%。利用 Kaplan-Meier 生存曲线分析外周血中 TAP 的表达与结直肠癌患者总生存期的关系,结果显示 TAP 阳性表达组的结直肠癌患者总生存期低于阴性表达组,经过 log-rank 检验发现两组总生存期差异具有统计学意义

($P<0.001$),如图 1 所示。

2.3 Cox 回归分析外周血中 TAP 的表达与结直肠癌患者总生存期的关系

利用单因素 Cox 回归分析临床特征及外周血中 TAP 表达与结直肠癌患者总生存期的关系,结果显示肿瘤分化程度、淋巴结转移、Dukes 分期、CEA 表达、CA19-9 表达和 TAP 表达均与患者总生存期显著相关。通过单因素 Cox 分析比较发现,外周血中 TAP 表达在对结直肠癌患者进行生存预测时,风险比大于传统的 CEA 和 CA19-9 肿瘤标志物。进一步利用多因素 Cox 回归分析显示在校正了年龄、性别、分化程度、肌层浸润深度、淋巴结转移、Dukes 分期、CEA 表达和 CA19-9 表达等因素后,外周血 TAP 的表达与结直肠癌患者的总生存期依然有关,且具有统计学意义($HR=2.511$,95%CI=1.494~4.221, $P=0.001$)。通过多因素 Cox 分析比较发现,经过校正后外周血 TAP 依然是结直肠癌患者预后预测中的独立指标,而传统的肿瘤标志物 CEA 和 CA19-9 中,只有 CA19-9 可以作为独立的预后指标($HR=1.911$,95%CI=1.219~2.997, $P=0.005$),且风险比小于外周血 TAP(表 2)。

3 讨论

结直肠癌具有较高的病死率,寻找有效的预后指标有助于延长患者的存活时间,降低死亡率。外周血中的分子生物标志物可以提供无创性的诊断、治疗反应性及预后信息^[9]。迄今为止,在结直肠癌中还没有真正开发出可用的预后生物标志物为患者的复发、转移或生存时间提供有效的线索,因此,寻找新的预后生物指标对于制定更好的治疗方案至关重要^[10]。

前期国内外研究者也探索了一系列结直肠癌预后相关的分子标志物,例如在基因突变层面,结直肠癌患者 BRAF 和 KRAS 基因突变均与较差预后相关^[11-12];在 miRNAs 表达层面,miR-21、miR-92a 及 miR-221 的表达均与结直肠癌患者的预后相关^[13-14]。TAP 作为肿瘤细胞糖蛋白代谢异常的产物可以反映患者体内肿瘤细胞的数量。研究表明,当人体内癌细胞数量达到 10^6 数量级以上时,即可以在部分患者外周血中检测到 TAP 阳性表达^[15]。因此外周血中 TAP 的表达可以作为多种肿瘤早期诊断的无创性指标,包括肺癌、乳腺癌、胃癌、肝癌及食管癌等^[16-17]。在结直肠癌中,TAP 也可以作为患者有效的诊断指

表 2 单因素及多因素 Cox 回归分析外周血 TAP 表达与结直肠癌患者预后的关系

变量	总例数	死亡例数 (n, %)	单因素 Cox 回归分析		多因素 Cox 回归分析	
			风险比 (95%CI)	P 值	风险比 (95%CI)	P 值
年龄 (岁)						
<55	134	63 (47.01)	1		1	
≥55	103	42 (40.78)	1.009 (0.683~1.492)	0.964	0.961 (0.633~1.460)	0.853
性别						
男	126	54 (42.86)	1		1	
女	111	51 (45.95)	1.099 (0.750~1.612)	0.628	1.263 (0.852~1.873)	0.246
分化程度						
低分化	115	66 (57.39)	1		1	
高中分化	122	39 (31.97)	0.464 (0.312~0.690)	0.000	0.757 (0.492~1.166)	0.207
肌层浸润深度						
T1+T2	113	44 (38.94)	1		1	
T3+T4	124	61 (49.19)	1.402 (0.951~2.067)	0.088	1.069 (0.702~1.626)	0.756
淋巴结转移						
无	169	57 (33.73)	1		1	
有	68	48 (70.59)	2.746 (1.866~4.041)	0.000	2.355 (1.583~3.502)	0.000
Dukes 分期						
A+B	114	32 (28.07)	1		1	
C+D	123	73 (59.35)	2.523 (1.665~3.824)	0.000	1.757 (1.139~2.710)	0.011
CEA 表达 (ng/mL)						
<5	166	67 (40.36)	1		1	
≥5	71	38 (53.52)	1.545 (1.037~2.301)	0.032	1.444 (0.953~2.188)	0.083
CA19-9 表达 (U/mL)						
<37	191	74 (38.74)	1		1	
≥37	46	31 (67.39)	2.113 (1.387~3.219)	0.000	1.911 (1.219~2.997)	0.005
TAP 表达						
阴性	59	22 (37.29)	1		1	
阳性	102	83 (81.37)	3.171 (1.979~5.081)	0.000	2.511 (1.494~4.221)	0.001

标,并且最近的研究发现外周血中 TAP 的表达量也能作为治疗反应性的指标,与患者治疗效果呈负相关^[18]。目前尚未有研究随访结直肠癌患者外周血中 TAP 的表达在预后中的临床意义。

本研究检测了 237 例结直肠癌患者治疗前外周血中 TAP 阳性表达情况,发现 TAP 的阳性表达率与患者肿瘤恶性程度存在一定关联。结直肠癌患者在确诊时所处的恶性程度越高(例如低分化、较大的肌层浸润深度、有淋巴结转移或者较晚分期),TAP 在外周血中的阳性表达率也越高。说明伴随肿瘤进展,越来越多的 TAP 释放到患者外周血中。在相关分子机制上,外周血中 TAP 是由肿瘤细胞膜表面糖蛋白异常修饰产生并释放的,肿瘤细胞量越多,释放的 TAP 量也越多。因此,外周血中 TAP 的含量

可以作为结直肠癌进展的生物标志物。此外,本研究还探索了外周血中 TAP 的表达与传统肿瘤生物标志物 CEA 和 CA19-9 表达的关系,发现外周血中 TAP 的表达与 CEA 或 CA19-9 无明显的相关性。

本研究进一步分析了结直肠癌患者治疗前外周血中 TAP 的表达与预后的关系。通过绘制 Kaplan-Meier 生存曲线可以看出,治疗前外周血中 TAP 阳性表达的结直肠癌患者总生存期明显低于 TAP 阴性表达的患者。提示外周血中 TAP 阳性表达的患者将可能具有较差的预后。通过单因素和多因素 Cox 回归分析发现,在校正了可能影响结直肠癌生存率的因素后,TAP 阳性表达可作为独立的预后生物标志物,在结直肠癌患者总生存期预测中起到重要的临床意义。除了结直肠癌患者以外,最近的研究也

提示 TAP 能作为非小细胞肺癌患者预后的生物标志物预测患者的生存状况^[9]。因此,TAP 在肿瘤患者外周血中的表达可以作为新的生物标志物对患者的预后起到临床指导作用。此外,本研究还通过单因素和多因素 Cox 回归分析比较观察了外周血中 TAP 与传统肿瘤生物标志物 CEA 和 CA19-9 在结直肠癌患者预后中的价值,发现外周血中 TAP 对结直肠癌患者预后的预测价值可能优于 CEA 和 CA19-9。

本研究也存在一定的局限性。纳入的结直肠癌患者在入院后均根据自身情况进行了相应的手术治疗、化疗或放疗,不同的治疗手段可能对患者的预后产生一定的影响。由于本研究中治疗方案的多样化,因此未纳入不同治疗方式对患者预后的影响,今后的研究在纳入更多样本量的基础上,考虑进一步校正不同治疗方案对患者预后的影响,或者采用分层分析研究不同治疗方案下 TAP 对结直肠癌患者预后的影响。

综上所述,本研究发现结直肠癌患者在治疗前外周血中 TAP 的表达与肿瘤的恶性进展程度相关,此外,外周血中 TAP 的表达还可以作为结直肠癌独立的预后指标,对患者的生存期起到预测作用。本研究为寻找新的结直肠癌相关预后生物标志物提供了科学依据。

参 考 文 献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30.
- [2] Verma M, Kumar V. Epigenetic biomarkers in colorectal cancer[J]. Mol Diagn Ther, 2017, 21(2): 153-165.
- [3] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [4] Brenner H, Chen C. The colorectal cancer epidemic: challenges and opportunities for primary, secondary and tertiary prevention[J]. Br J Cancer, 2018, 119(7): 785-792.
- [5] Kitamura H, Takemura H, Minamoto T. Tumor p16INK4 gene expression and prognosis in colorectal cancer[J]. Oncol Rep, 2019, 41(2): 1367-1376.
- [6] Liu Z, Cai J, Yu Y, et al. Tumor abnormal protein as a novel biomarker in papillary thyroid carcinoma[J]. Clin Lab, 2017, 63(3): 479-485.
- [7] 邵建华, 施南峰. 采用肿瘤异常蛋白筛查早期恶性肿瘤结果分析[J]. 疾病监测, 2007, 22(9): 645.
- [8] 吴永梅, 张雯雯, 蔡 琰. 肿瘤异常蛋白(TAP)检测在 Barrett 食管及食管腺癌临床诊断中的意义[J]. 现代消化及介入诊疗, 2015, 20(2): 83-84.
- [9] Zoratto F, Rossi L, Verrico M, et al. Focus on genetic and epigenetic events of colorectal cancer pathogenesis: implications for molecular diagnosis[J]. Tumour Biol, 2014, 35(7): 6195-6206.
- [10] Mahasneh A, Al-Shaheri F, Jamal E. Molecular biomarkers for an early diagnosis, effective treatment and prognosis of colorectal cancer: current updates[J]. Exp Mol Pathol, 2017, 102(3): 475-483.
- [11] Ahn TS, Jeong D, Son MW, et al. The BRAF mutation is associated with the prognosis in colorectal cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2014, 140(11): 1863-1871.
- [12] Renaud S, Guerrero F, Seiflinger J, et al. KRAS exon 2 codon 13 mutation is associated with a better prognosis than codon 12 mutation following lung metastasectomy in colorectal cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(2): 2514-2524.
- [13] Liu GH, Zhou ZG, Chen R, et al. Serum miR-21 and miR-92a as biomarkers in the diagnosis and prognosis of colorectal cancer[J]. Tumour Biol, 2013, 34(4): 2175-2181.
- [14] Liu L, Meng T, Yang XH, et al. Prognostic and predictive value of long non-coding RNA GAS5 and microRNA-221 in colorectal cancer and their effects on colorectal cancer cell proliferation, migration and invasion[J]. Cancer Biomark, 2018, 22(2): 283-299.
- [15] Sun C, Deng F, Meng L, et al. Correlation between TAP detection and common digestive tract precancerous lesions[J]. Oncol Lett, 2018, 15(2): 1616-1620.
- [16] 戴美珍, 陈雪娇, 章 鸯, 等. 肿瘤异常蛋白检测的临床应用分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(21): 3149-3151.
- [17] 施南峰. 肿瘤异常蛋白(TAP)筛查早期恶性肿瘤应用研究[J]. 中国公共卫生管理, 2010, 26(2): 187-189.
- [18] 王 锋, 马进取, 王少敏. 血清中肿瘤异常蛋白/异常糖链糖蛋白在直肠癌治疗前后的表达观察[J]. 结直肠肛门外科, 2016, 22(2): 150-153.
- [19] 刘善利, 刘 斌, 高晓慧, 等. 肿瘤异常蛋白结合 Ki-67 评估非小细胞肺癌患者生存状况的价值[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2018, 25(3): 292-294.

(责任编辑:唐秋姗)