

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.20.021

Fascin 在结肠癌中表达的临床病理学研究

王海波¹ 何朝霞¹ 张欣欣¹ 郭慧² 刘志红²

(1 冷水江市人民医院病理科 湖南 冷水江 417500;

2 湖南省肿瘤医院暨中南大学湘雅医学院附属肿瘤医院病理科 湖南 长沙 410013)

摘要 目的: Fascin 是一种肌动蛋白结合蛋白,在多种上皮性肿瘤中高表达并与肿瘤侵袭有关。在本研究中观察 fascin 在结肠癌中表达及探讨其临床病理意义,为其在结肠癌早期诊断和预后预测方面的应用提供依据。**方法:**应用免疫组织化学技术检测 Fascin 在结肠肿瘤中的表达,并分析其表达的结肠癌临床病理意义。**结果:**Fascin 在癌旁肠粘膜、腺瘤、腺癌中表达有显著性差异,其中癌旁肠粘膜组和腺瘤组阳性表达率无显著性差异($X^2=0.344, P>0.05$),腺癌组阳性表达率显著高于癌旁肠粘膜组($X^2=8.492, P<0.01$),腺癌组阳性表达率显著高于腺瘤组($X^2=7.450, P<0.01$)。Fascin 表达与结肠癌患者的年龄、性别、肿瘤浸润肠壁深度、淋巴结转移、分化程度无显著相关性,而在中-晚期病例(III/IV 期)中的表达率显著高于早期病例($P<0.05$)。Fascin 表达阳性病例的生存期显著高于 Fascin 表达阴性病例($P<0.022$)。**结论:**Fascin 表达与结肠癌发生和预后密切相关,可能作为结肠癌早期诊断和预后的标志物。

关键词: Fascin; 结肠癌; 免疫组织化学; 预后

中图分类号: R735.3+5, R730.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)20-3880-04

Clinicopathological Study of Fascin Expression in Colon Carcinoma

WANG Hai-bo¹, HE Chao-xia¹, ZHANG Xin-xin¹, GUO Hu², LIU zhi-hong²

(1 Department of Pathology, Leng shui-jiang Ren min Hospital, Leng shui-jiang, Hunan, 417500, China; 2 Department of Pathology, Hunan Tumor Hospital & Tumor Hospital of Xiangya school of Medicine, central south university, Changsha, Hunan, 410013, China)

ABSTRACT Objective: Fascin is an actin binding protein, was highly expressed in a variety of epithelial tumors and was associated with tumor invasion. We will observe expression of Fascin and explore its clinicopathological significance in colon cancer in this study to provide a basis for its application in colon cancer early diagnosis and prognosis prediction. **Methods:** Expression of Fascin detected by immunohistochemical method in colon cancer, and to analyze its expression in colon cancer clinicopathological significance. **Results:** Fascin in paracancer mucosa, adenoma, adenocarcinoma had significant difference among the expression, paracancer mucosa and adenoma group expression had no significant difference ($X^2=0.344, P>0.05$), adenocarcinoma positive expression rate was significantly higher than that in paracancerous mucosa group ($X^2=8.492, P<0.01$), adenocarcinoma positive group the expression rate was significantly higher than that of adenoma group ($X^2=7.450, P<0.01$). The expression of Fascin in patients with colon cancer age, gender, tumor invasion depth of bowel wall, lymph node metastasis, and degree of differentiation has no significant correlation, cases in middle-late stage (stage III/IV) in the expression rate was significantly higher than the early cases ($P<0.05$). The expression of Fascin positive cases, survival was significantly higher than that in Fascin negative expression patients ($P<0.022$). **Conclusion:** Fascin expression is closely associated with the occurrence and prognosis of colon cancer, and may be biomarker for the early stage diagnosis and prognosis.

Key words: Fascin; Colon carcinoma; Immunohistochemical; Prognosis

Chinese Library Classification(CLC): R735.3+5, R730.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)20-3880-04

前言

结肠癌(Colorectal carcinoma, CRC)是常见的消化道恶性肿瘤,但其治疗效果并不理想,常因复发和转移而预后不良。肿瘤的侵袭和转移是复杂过程,涉及多个细胞内和细胞外因素,其中关于对癌细胞的细胞骨架成分肌动蛋白结合蛋白可能是其中一个重要因素,由于其功能与细胞粘附和运动有关。Fascin

是一种肌动蛋白结合蛋白,它在成熟的树突状细胞和骨髓间充质干细胞中表达,有报道 Fascin 高表达与多种肿瘤中预后差相关^[1-6],它在正常上皮不表达或弱表达而在多种上皮性肿瘤中表达^[3-17]。目前关于该蛋白在结肠癌中的研究报道较少,对其表达的临床病理意义缺乏较为系统的研究,为此本研究中将探讨 Fascin 蛋白在结肠癌中表达与患者临床病理特征间的相关性,为 Fascin 作为结肠癌诊断标志物提供进一步的依据。

1 材料与方法

1.1 病例情况

本研究的结肠组织标本为 2005 年 1 月到 2011 年 12 月间

作者简介:王海波,男,大学,副主任技师,主要研究方向:新技术在病理诊断中的应用,电话:13707387269,

E-mail:13707387269@163.com

(收稿日期:2013-10-23 接受日期:2013-11-20)

冷水江市人民医院和湖南省肿瘤医院病理档案组织, 包括 40 例腺瘤、腺癌 40 例及癌旁正常组织 40 例。腺瘤标本均为结肠镜检取标本。结肠癌患者均进行结肠癌根治术, 术前未做放疗或化疗。结肠癌患者年龄从 35-78 岁, 中位年龄 55 岁, 男性 30 例, 女性 10 例, I/II 期患者 8 例, III/IV 期患者 32 例。术后病理诊断结果显示高分化腺瘤 8 例, 中分化腺瘤 24 例, 低分化腺瘤 8 例; 有淋巴结转移的 30 例, 无淋巴结转移的 10 例。癌旁组织为距离原发灶外缘至少 5 cm 外的肠组织。

1.2 主要试剂和仪器

使用 Fascin 单克隆抗体, clone 55K2 (MAB3582, Millipore)。柠檬酸盐抗原修复液 (粉剂) (0.01M, pH 6.0, MVS-0066), 0.01MPBS (pH7.2-7.4)。DAB 显色试剂盒 (Polymer, Kit-0015) 和 ElivisionTM plus Polymer HRP (鼠 / 兔) Kit-9902 免疫组化试剂盒均为福建迈新生物技术公司产品。家用微波炉 (格兰仕) 用于抗原微波修复。

1.3 实验方法

1.3.1 常规 HE 切片和免疫组织化学技术 切片厚度为 4 μ m, 60 $^{\circ}$ C 烤片 4 hrs、二甲苯脱蜡、梯度酒精脱水, 3% 过氧化氢处理抑制内源性过氧化酶活性室温孵育 20 min, 柠檬酸抗原修复液中进行微波修复, 非免疫血清室温孵育 20 min, 滴加 Fascin 单克隆抗体 (滴度 1:100) 4 $^{\circ}$ C 过夜。PBS 洗三次, 使用 ElivisionTM plus Polymer HRP (鼠 / 兔) Kit-9902 (福州迈新产品), 具

体操作按试剂盒说明书进行。DAB 显色, 苏木素复染, 脱水及烤干切片, 中性树脂封片, 显微镜下观察和判断结果。结果判定根据胞浆出现的棕黄色颗粒样染色的细胞数和染色强度。具体计分方式如下: 染色细胞计分: 按照至少 5 个 400 倍视野下染色的细胞所占百分比分为 5 级, < 5%、5%~< 25%、25%~< 50%、50%~< 75%、 $\geq$ 75% 分别计为 0、1、2、3、4 分; 染色强度计分: 弱染色、中度染色、强染色分别计为 1、2、3 分。每张切片总分 = 染色细胞计分 $\times$ 染色强度计分, 总分 < 2 分为阴性, $\geq$ 2 分为阳性。

1.3.2 统计学方法 使用 SPSS11.0 软件进行分析实验数据。Fascin 表达情况分析应用卡方检验。总体生存率是指从手术日到癌症死亡的时间段, Kaplan-Meier 法确定的生存率和数据的对数秩检验 log-rank 分析。P 值 < 0.05 认为是有显著性。

2 结果

2.1 Fascin 在结肠癌中的表达

免疫组织化学结果显示 Fascin 阳性信号定位于细胞浆, 见图 1。Fascin 在癌旁肠粘膜、腺瘤、腺癌中均有表达, 但表达有显著性差异, 见表 1, 其中癌旁肠粘膜组和腺瘤组阳性表达率无显著性差异 ($X^2=0.344$, $P>0.05$), 腺癌组阳性表达率显著高于癌旁肠粘膜组 ($X^2=8.492$, $P<0.01$), 腺癌组阳性表达率显著高于腺瘤组 ($X^2=7.450$, $P<0.01$)。

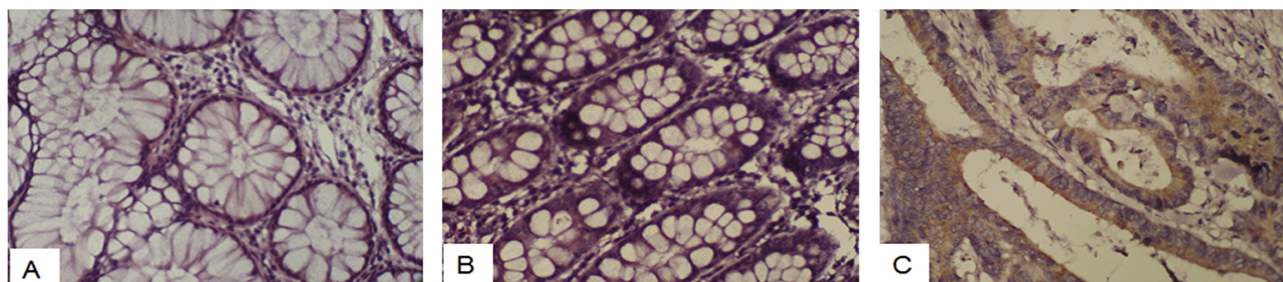


图 1 Fascin 在结肠腺瘤、腺癌和癌旁组织中的表达 (200 $\times$)

Fig. 1 expression of Fascin in colon adenoma, carcinoma and tumor-adjacent tissues (200 $\times$)

A Fascin 在癌旁肠粘膜中的表达 The expression of Fascin in tumor-adjacent mucosa

B Fascin 在腺瘤中的表达 The expression of Fascin in adenoma

C Fascin 在腺癌中的表达 The expression of Fascin in adenocarcinoma

表 1 Fascin 在结肠腺瘤、腺癌和癌旁正常组织中的表达

Table 1 Fascin expression in colon adenoma, adenocarcinoma and tumor-adjacent tissues

	例数 Number	Fascin 表达 (Fascin expression)	
		阳性例数 Positive cases	阳性率 % Positive rate
癌旁组织 Tumor-adjacent tissues	40	10	25
腺瘤 Adenoma	40	12	30
腺癌 Adenocarcinoma	40	36	90
X^2		59.74	
P		<0.01	

2.2 Fascin 表达与结肠癌临床病理指标的相关性分析

进一步分析 Fascin 表达与临床病理指标的相关性,结果显示 Fascin 表达与结肠癌患者的年龄、性别、肿瘤浸润肠壁深度、淋巴结转移无显著相关性,而在肿瘤临床分期有显著关系,在

中 - 晚期病例 (III/IV 期) 中的表达率显著高于早期病例 ($P < 0.05$),见表 2,这一结果提示 Fascin 表达主要在结肠癌预后中具有重要意义。

表 2 结肠癌中 fascin 表达的临床病理意义

Table 2 Clinicopathological significance of Fascin expression in colon carcinoma

临床病理指标		例数 Cases	Fascin		P
Clinical pathological			阳性 Positive	阴性 Negative	
年龄(Age)	<55	16	14	2	0.342
	≥ 55	24	22	2	
性别(Gender)	男(Male)	30	29	1	0.671
	女(Famale)	10	7	3	
浸润深度 Depth of invasion					0.198
限于粘膜及粘膜下层 Mucosa and submucosa		8	5	3	
侵犯肌层 Muscular invasion		32	31	1	0.533
分化程度 Degree of differentiation					
高分化腺癌 Well-differentiated adenocarcinoma		8	6	2	
中分化腺癌 Moderately-differentiated adenocarcinoma		24	23	1	
低分化腺癌 Poorly differentiated adenocarcinoma		8	7	1	
临床分期 Clinical stage	I/II	8	4	4	0.039
	III/IV	32	32	0	
淋巴结转移 Lymphatic metastasis	No	10	7	3	0.062
	Yes	30	29	1	

2.3 Fascin 表达与结肠癌预后的相关性分析

分析结肠癌中 Fascin 表达与患者生存状态的关系,结果显示 Fascin 表达阴性病例的生存期显著高于 Fascin 表达阳性病例 ($P < 0.022$),见图 2。

3 讨论

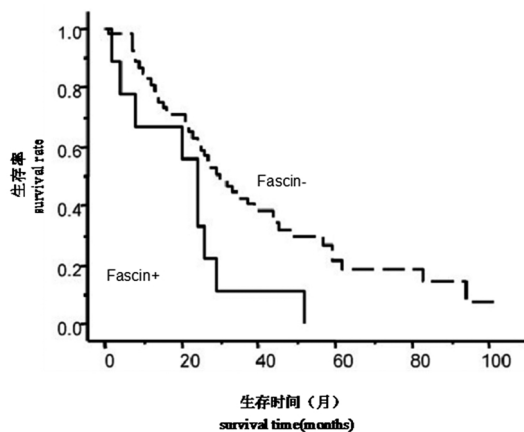


图 2 Fascin 表达与结肠癌患者生存期的相关性分析

Fig. 2 Correlation of survival of patients with colon cancer and Fascin expression

Fascin 是一种肌动蛋白结合蛋白,在间充质细胞和神经元的运动和细胞突起形成中起作用。该蛋白在肿瘤中表达上调与肿瘤侵袭性增加有关,如在膀胱癌的研究中发现阻断 Fascin 表达可显著降低癌细胞运动和侵袭并增加粘附力^[14],在口腔癌中 Fascin 过表达也可促进细胞侵袭、运动和 MMP2 活性增加^[21]。本研究需要关注的重点是 Fascin 的肿瘤生物学特征在患者临床病理中具有什么意义。

本研究结果发现 Fascin 在癌旁肠粘膜、腺瘤、腺癌中表达有显著性差异,其中癌旁肠粘膜组和腺瘤组阳性表达率无显著性差异,腺癌组阳性表达率显著高于癌旁肠粘膜组,腺癌组阳性表达率显著高于腺瘤组,这一结果提示 Fascin 与结肠癌发生间存在关系。

我们也发现 Fascin 表达与结肠癌患者的年龄、性别、肿瘤浸润肠壁深度、淋巴结转移无显著相关性,而在中 - 晚期病例 (III/IV 期) 中的表达率显著高于早期病例而 Fascin 表达阴性病例的生存期显著高于 Fascin 表达阳性病例。这一结果提示 Fascin 对结肠癌进展的影响并不一定是直接的局部侵袭和转移引起,有可能是通过影响其它转移相关信号通路实现的。关于 Fascin 表达临床病理意义的研究报道有一定差别,在咽部鳞癌的研究中发现 fascin-1 高表达与肿瘤分化差、颈部淋巴结转

移和临床分期呈正相关^[7]。在子宫内膜癌研究的研究中发现 fascin 的表达率为 72.34%, 并且与肿瘤分级、神经浸润显著相关^[8]。在大肠癌中发现 fascin 表达与肿瘤浸润深度、生存期短有关^[9]。Oh SY 等报道 Fascin-1 在 126 例大肠癌中的表达率为 58.7%, fascin 阳性的晚期大肠癌患者五年生存率更低、远处复发率更高, 但与淋巴结转移、肿瘤大小、病理分期和细胞增殖没有显著相关^[10]。从这些结果可以发现 Fascin 与阳性表达率、肿瘤分级、分期、浸润深度等方面存在一定不一致, 但在恶性肿瘤预后方面基本一致, 即 Fascin 阳性表达病例预后差。这些差异可能涉及不同民族或种族的人群、肿瘤部位、病理诊断可靠性、研究病例数的差异等诸多因素。但有两点是当前对 Fascin 研究较为肯定的结论, 一是该蛋白在肠癌中的表达显著强于正常肠组织, 二是它高表达与预后差呈正相关。这两个方面可能使 Fascin 成为肠癌早期诊断和预后预测的重要指标。此外, 关于 Fascin 在恶性肿瘤中作用机制仅有少量研究报道^[18-20], 而关于肠癌中 Fascin 的作用机制尚无直接报道, 在后续研究中将通过体外实验在细胞分子生物学水平对 Fascin 在结肠癌发生和演进中的意义进行研究, 此外也将继续扩大临床研究病例对该蛋白在预后预测作用进一步验证, 使其最终成为临床诊断标志物。

参考文献(References)

- [1] Jawhari AU, Buda A, Jenkins M, et al. Fascin, an actin-bundling protein, modulates colonic epithelial cell invasiveness and differentiation in vitro[J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(1): 69-80
- [2] Buda A, Pignatelli M. Cytoskeletal network in colon cancer: from genes to clinical application[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36(5): 759-65
- [3] Ozerhan IH, Ersoz N, Onguru O, et al. Fascin expression in colorectal carcinomas[J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2010, 65(2): 157-164
- [4] Hashimoto Y, Skacel M, Adams JC. Association of loss of epithelial syndecan-1 with stage and local metastasis of colorectal adenocarcinomas: an immunohistochemical study of clinically annotated tumors[J]. *BMC Cancer*, 2008, 8: 185
- [5] Sato J, Fujiwara M, Kawakami T, et al. Fascin expression in dendritic cells and tumor epithelium in thymoma and thymic carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2011, 2(6): 1025-1032
- [6] Qualtrough D, Smallwood K, Littlejohns D, et al. The actin-bundling protein fascin is overexpressed in inflammatory bowel disease and may be important in tissue repair[J]. *BMC Gastroenterol*, 2011, 11:14
- [7] Gao W, Zhang C, Feng Y, et al. Fascin-1, ezrin and paxillin contribute to the malignant progression and are predictors of clinical prognosis in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e50710
- [8] Gun BD, Bahadır B, Bektas S, et al. Clinicopathological significance of fascin and CD44v6 expression in endometrioid carcinoma [J]. *Diagn Pathol*, 2012, 7: 80
- [9] Jung EJ, Lee JH, Min BW, et al. Clinicopathologic significance of fascin, extracellular matrix metalloproteinase inducer, and ezrin expressions in colorectal adenocarcinoma[J]. *Indian J Pathol Microbiol*, 2011, 54(1): 32-36
- [10] Oh SY, Kim YB, Suh KW, et al. Prognostic impact of fascin-1 expression is more significant in advanced colorectal cancer[J]. *J Surg Res*, 2012, 172(1): 102-108
- [11] Chan C, Jankova L, Fung CL, et al. Fascin expression predicts survival after potentially curative resection of node-positive colon cancer[J]. *Am J Surg Pathol*, 2010, 34(5): 656-66
- [12] Hashimoto Y, Skacel M, Lavery IC, et al. Prognostic significance of fascin expression in advanced colorectal cancer: an immunohistochemical study of colorectal adenomas and adenocarcinomas [J]. *BMC Cancer*, 2006, 6: 241
- [13] Tan VY, Lewis SJ, Adams JC, et al. Association of fascin-1 with mortality, disease progression and metastasis in carcinomas: a systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Med*, 2013, 11(1): 52
- [14] Bi JB, Zhu Y, Chen XL, et al. The Role of Fascin in Migration and Invasion of Urothelial Carcinoma of the Bladder[J]. *Urol Int*, 2013.
- [15] Sato J, Fujiwara M, Kawakami T, et al. Fascin expression in dendritic cells and tumor epithelium in thymoma and thymic carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2011, 2(6): 1025-1032
- [16] Huang X, Ji J, Xue H, et al. Fascin and cortactin expression is correlated with a poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2012, 24(6): 633-639
- [17] Liu R, Liao J, Yang M, et al. The cluster of miR-143 and miR-145 affects the risk for esophageal squamous cell carcinoma through co-regulating fascin homolog 1[J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33987
- [18] Liang H, Gu M, Yang C, et al. Sevoflurane inhibits invasion and migration of lung cancer cells by inactivating the p38 MAPK signaling pathway[J]. *J Anesth*, 2012, 26(3): 381-92
- [19] Jayo A, Parsons M, Adams JC. A novel Rho-dependent pathway that drives interaction of fascin-1 with p-Lin-11/Isl-1/Mec-3 kinase (LIMK) 1/2 to promote fascin-1/actin binding and filopodia stability [J]. *BMC Biol*, 2012, 10: 72
- [20] Zanet J, Jayo A, Plaza S, et al. Fascin promotes filopodia formation independent of its role in actin bundling[J]. *J Cell Biol*, 2012, 197(4): 477-86
- [21] Gadarán P. Fascin overexpression promotes neoplastic progression in oral squamous cell carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 32