

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.23.017

p38 蛋白表达与结肠癌患者临床病理特征和预后的关系研究

周 岳¹, 韩 博^{2△}

1. 西安大兴医院普通外科, 陕西西安 710000; 2. 西安国际医学中心医院消化外科, 陕西西安 710100

摘 要:目的 探讨 p38 蛋白表达与结肠癌患者临床病理特征和预后的关系。方法 收集 2015 年 6 月至 2017 年 6 月在西安大兴医院行手术治疗的 110 例结肠癌患者癌组织及癌旁组织标本。采用免疫组织化学法检测结肠癌组织中 p38 蛋白表达情况, 分析 p38 蛋白表达与临床病理特征及预后的关系。结果 结肠癌组织中 p38 蛋白阳性表达率为 80.9%(89/110), 高于癌旁组织的 7.3%(8/110), 差异有统计学意义($P<0.05$)。p38 蛋白表达与肿瘤浸润程度、TNM 分期、分化程度和淋巴结转移有关($P<0.05$)。110 例结肠癌患者 3 年总生存率为 60.0%(66/110), 3 年无复发生存率为 49.1%(54/110)。p38 蛋白阳性表达患者的总生存率和无复发生存率均低于阴性表达患者, 差异均有统计学意义(Log-rank $\chi^2=4.094, 4.428, P=0.043, 0.035$)。多因素 Cox 比例风险模型分析结果显示: 肿瘤 TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、中/低分化程度、有淋巴结转移和 p38 蛋白阳性表达是结肠癌患者死亡的独立危险因素($P<0.05$); 肿瘤最大径 >5 cm、浸润程度为侵及浆膜、TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、中/低分化程度、有淋巴结转移和 p38 蛋白阳性表达是结肠癌患者复发的独立危险因素($P<0.05$)。结论 结肠癌组织中 p38 蛋白阳性表达, 其与肿瘤浸润程度、TNM 分期、分化程度及淋巴结转移等临床病理特征及预后有关, 可将其作为评估结肠癌患者预后的标志物。

关键词: 结肠癌; p38; 临床病理特征; 预后

中图法分类号: R735.3+5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2022)23-3231-05

Study on the relationship between p38 protein expression and clinicopathological features and prognosis of patients with colon cancer

ZHOU Yue¹, HAN Bo^{2△}

1. Department of General Surgery, Xi'an Daxing Hospital, Xi'an, Shaanxi 710000, China; 2. Department of Digestive Surgery, Xi'an International Medical Center Hospital, Xi'an, Shaanxi 710100, China

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between p38 protein expression and clinicopathological features and prognosis of patients with colon cancer. **Methods** The cancer tissues and paracancerous tissues specimens of 110 patients with colon cancer who underwent surgical treatment in Xi'an Daxing Hospital from June 2015 to June 2017 were collected. The expression of p38 protein in colon cancer tissues was detected by immunohistochemistry, and the relationship between p38 protein expression and clinicopathological features and prognosis was analyzed. **Results** The positive expression rate of p38 protein in colon cancer tissues was 80.9% (89/110), which was higher than 7.3% (8/110) in paracancerous tissues, and the difference was statistical significance ($P<0.05$). The expression of p38 protein was associated with degree of tumor infiltration, TNM stage, degree of differentiation and lymph node metastasis ($P<0.05$). The 3-year overall survival rate of 110 patients with colon cancer was 60.0% (66/110), and the 3-year relapse-free survival rate was 49.1% (54/110). The overall survival rate and the relapse-free survival rate in patients with positive p38 protein expression were lower than those in patients with negative p38 protein expression (Log-rank $\chi^2=4.094$ and 4.428, $P=0.043$ and 0.035). The results of multivariate Cox proportional risk model analysis showed that TNM stage Ⅲ—Ⅳ, degree of medium/low differentiation, lymph node metastasis and positive expression of p38 protein were independent risk factors for death of colon cancer patients ($P<0.05$); the maximum diameter of tumor >5 cm, invasion and serous membrane, TNM stage Ⅲ—Ⅳ, degree of medium/low differentiation, lymph node metastasis and positive expression of p38 protein were independent risk factors for recurrence of colon cancer patients ($P<0.05$). **Conclusion** The positive expression of p38 protein in colon cancer tissues is associated with clinicopathological features and prognosis, such as the degree of tumor infiltration,

TNM stage, differentiation degree and lymph node metastasis, p38 protein can be used as a marker for evaluating the prognosis of colon cancer patients.

Key words: colon cancer; p38; clinicopathological feature; prognosis

结肠癌是一种较为常见的消化道恶性肿瘤,多发生于直肠与结肠的交界处。以 40~50 岁年龄段发病率最高,占有恶性肿瘤的 10%~15%^[1]。近年结肠癌发病率逐年上升,其早期症状不明显,多数患者确诊时常已是中晚期,预后不佳^[2]。基于分子生物学的研究为临床肿瘤发病机制探究提供了方向,也为临床提供了新的肿瘤治疗靶点。近来研究发现,p38 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)在多种肿瘤如宫颈癌、卵巢癌、肺癌细胞的发生、凋亡、转移过程中发挥重要作用^[3-5]。p38 MAPK 作为结肠癌研究的一个靶点,在早期诊治、临床分期及预后等方面至关重要。本研究通过免疫组化法检测 p38 蛋白在人结肠癌组织及癌旁组织中的表达情况,探讨 p38 蛋白的表达与临床病理特征及预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性收集 2015 年 6 月至 2017 年 6 月在西安大兴医院接受手术治疗的 110 例结肠癌患者肿瘤组织及癌旁组织(距病灶边缘 1.5~2.0 cm)石蜡标本,组织标本均经病理学检查明确诊断,患者术前均未行任何相关治疗,临床资料和随访资料完整,患者既往均无恶性肿瘤病史,未合并其他恶性肿瘤。

1.2 方法

1.2.1 资料收集及随访 收集入组患者临床病理资料包括年龄、性别、肿瘤最大径、病理 TNM 分期、浸润程度、肿瘤分化程度及淋巴结转移情况等。术后对所有患者进行随访,截至 2020 年 9 月,以死亡作为观察终点,观察患者肿瘤复发、生存情况。

1.2.2 试剂 兔抗人 p38 单克隆抗体购自美国 Abcam 公司;BCA 蛋白检测试剂盒、蛋白裂解液、PMSF 蛋白酶抑制剂购自上海碧云天生物技术有限公司;免疫组化试剂盒、DAB 显色剂购自赛默飞世尔科技公司。

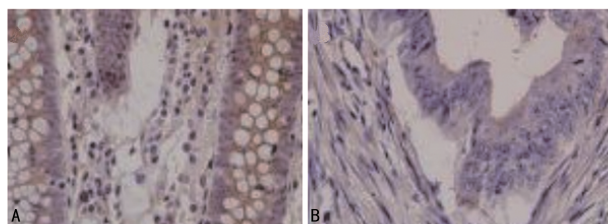
1.2.3 免疫组织化学法检测 p38 蛋白表达 将组织石蜡标本以 4 mm 厚度连续切片,烤片 20 min,二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化,3%过氧化氢阻断内源性过氧化物酶活性,将切片放入枸橼酸缓冲液高压抗原修复,自然冷却至室温,清除抗原修复液,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 3 次,5%牛血清清蛋白(BSA)室温封闭 30 min,滴加 p38 一抗(1:50),4℃冰箱孵育过夜;次日取出切片,PBS 洗涤 3 次,滴加山羊抗 IgG 二抗,室温孵育 30 min,PBS 洗涤 3 次,加入 DAB 溶液显色,苏木素复染,梯度酒精脱水,中性树脂封片,镜下观察拍照。

1.3 结果判读标准 p38 阳性染色主要定位在细胞质中。每张切片随机取 10 个视野,通过染色强度和阳性细胞百分比计算评分。着色强度无着色、黄色、棕黄色、棕褐色依次记为 0、1、2、3 分,阳性细胞百分比 $\leq 5\%$ 、 $> 5\% \sim 25\%$ 、 $> 25\% \sim 50\%$ 、 $> 50\% \sim 75\%$ 、 $> 75\%$ 依次记为 0、1、2、3、4 分。两项评分乘积为总分,总分 < 3 分为阴性, ≥ 3 分为阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件对数据进行分析。计数数据采用例数、率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 p38 蛋白表达与结肠癌预后的关系,并行 Log-rank 检验;采用 Cox 比例风险模型分析患者生存影响因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠癌组织中 p38 蛋白表达情况 免疫组织化学法检测结果显示,p38 蛋白主要定位于肿瘤细胞的胞质中,呈棕黄色或棕褐色,见图 1。110 例结肠癌组织中,p38 蛋白阳性表达率为 80.9%(89/110),对应癌旁组织中阳性表达率为 7.3%(8/110),差异有统计学意义($P < 0.05$)。



注:A 为 p38 蛋白在结肠癌组织中的表达情况;B 为 p38 蛋白在癌旁正常组织中的情况表达。

图 1 p38 蛋白在结肠癌组织与癌旁组织中的表达(SP 法, $\times 400$)

2.2 p38 蛋白表达与结肠癌患者临床病理特征的关系 根据免疫组化结果将入组患者分为 p38 蛋白阳性表达组(89 例)和阴性表达组(21 例),单因素分析结果显示,p38 蛋白表达与肿瘤浸润程度、TNM 分期、分化程度和淋巴结转移情况有关($P < 0.05$),而与患者性别、年龄、肿瘤最大径无关($P > 0.05$),见表 1。

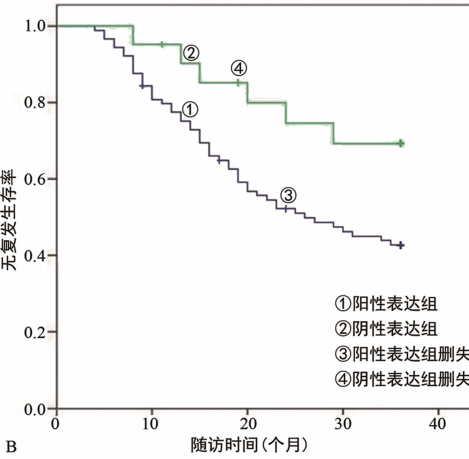
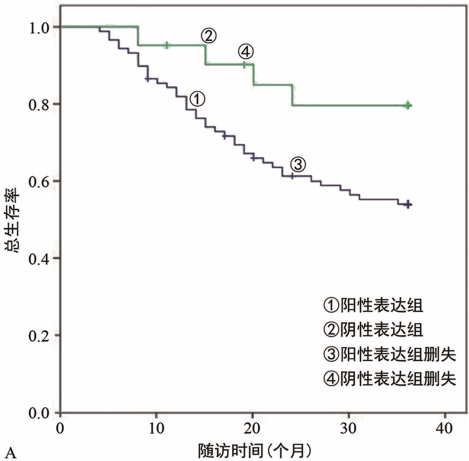
2.3 p38 蛋白表达与结肠癌患者预后的关系 随访至 2020 年 9 月,110 例结肠癌患者中失访 5 例,所有入组患者的 3 年总生存率为 60.0%(66/110),3 年无复发生存率为 49.1%(54/110)。Kaplan-Meier 生存曲线分析显示,p38 蛋白阳性表达组总生存率、无复发生存率低于阴性表达组,差异有统计学意义(Log-rank $\chi^2 = 4.094, 4.428, P = 0.043, 0.035$)。见图 2。

表 1 p38 蛋白表达与临床病理特征的关系					
项目	<i>n</i>	阴性表达组	阳性表达组	χ^2	<i>P</i>
性别				0.016	0.898
男	59	11	48		
女	51	10	41		
年龄(岁)				0.502	0.479
≤60	50	11	39		
>60	60	10	50		
肿瘤最大径(cm)				0.137	0.711
≤5	77	14	63		
>5	33	7	26		
浸润程度				4.845	0.028
侵及浆膜	78	10	68		
未及浆膜	32	11	21		
TNM 分期				5.131	0.023
I~Ⅱ期	65	17	48		
Ⅲ~Ⅳ期	45	4	41		
分化程度				9.491	0.002
中/低	89	12	77		
高	21	9	12		
淋巴结转移				8.580	0.003
有	47	3	44		
无	63	18	45		

2.4 结肠癌患者预后影响因素的单因素分析 单因素分析显示,肿瘤浸润程度侵及浆膜、TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、中/低分化程度、有淋巴结转移及 p38 蛋白表达阳性是结肠癌患者死亡的危险因素($P<0.05$);肿瘤最大径和上述因素亦是结肠癌患者复发的危险因素($P<0.05$)。见表 2。

表 2 结肠癌患者预后影响因素的单因素分析							
项目	<i>n</i>	总生存			无复发生存		
		例数 (<i>n</i>)	χ^2	<i>P</i>	例数 (<i>n</i>)	χ^2	<i>P</i>
性别			0.390	0.532		0.157	0.692
男	59	37			30		
女	51	29			24		
年龄(岁)			2.444	0.118		0.951	0.330
≤60	50	26			22		
>60	60	40			32		
肿瘤最大径(cm)			0.259	0.610		3.991	0.046
≤5	77	45			33		
>5	33	21			21		
浸润程度			11.172	0.001		26.639	<0.001
侵及浆膜	78	39			26		
未及浆膜	32	27			28		
TNM 分期			35.256	<0.001		25.787	<0.001

续表 2 结肠癌患者预后影响因素的单因素分析							
项目	<i>n</i>	总生存			无复发生存		
		例数 (<i>n</i>)	χ^2	<i>P</i>	例数 (<i>n</i>)	χ^2	<i>P</i>
I~Ⅱ期	65	54			45		
Ⅲ~Ⅳ期	45	12			9		
分化程度			7.151	0.007		7.627	0.006
中/低	89	48			38		
高	21	18			16		
淋巴结转移			8.024	0.005		21.666	<0.001
有	47	21			11		
无	63	45			43		
p38 蛋白表达			4.748	0.029		5.182	0.023
阳性	89	49			39		
阴性	21	17			15		



注:A 为结肠癌术后 3 年总生存情况;B 为结肠癌术后 3 年无复发生存情况。

图 2 不同 p38 蛋白表达情况结肠癌患者的 Kaplan-Meier 生存曲线

2.5 结肠癌患者预后影响因素的多因素 Cox 比例风险模型分析 纳入表 2 中差异有统计学意义的变量行多因素 Cox 比例风险模型分析,结果显示,肿瘤 TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、中/低分化程度、有淋巴结转移、p38 蛋白阳性表达是结肠癌患者死亡的独立危险因素

($P<0.05$),见表 3。而肿瘤最大径 >5 cm、浸润程度为侵及浆膜、TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、中/低分化程度、有淋巴结转移及 p38 蛋白阳性表达是结肠癌患者复发的独立危险因素($P<0.05$),见表 4。

表 3 结肠癌患者死亡影响因素的多因素 Cox 比例风险模型分析

因素	β	SE	Wald	HR(95%CI)	P
浸润程度(侵及浆膜)	0.604	0.302	1.024	0.987(0.855~3.516)	0.128
TNM 分期(Ⅲ~Ⅳ期)	0.954	0.252	4.054	1.125(1.086~2.739)	0.017
分化程度(中/低)	0.869	0.169	3.213	1.326(1.144~3.278)	0.029
淋巴结转移(有)	0.932	0.345	6.068	1.635(1.321~2.568)	0.003
p38 蛋白(阳性表达)	0.876	0.266	5.615	1.494(1.271~3.031)	0.007

表 4 结肠癌患者复发影响因素的多因素 Cox 比例风险模型分析

因素	β	SE	Wald	HR(95%CI)	P
肿瘤最大径(>5 cm)	0.802	0.249	5.603	1.102(1.035~1.961)	0.029
浸润程度(侵及浆膜)	0.946	0.332	6.342	1.356(1.158~2.165)	0.025
TNM 分期(Ⅲ~Ⅳ期)	0.859	0.256	4.682	1.533(1.346~3.079)	0.033
分化程度(中/低)	0.876	0.414	3.891	1.706(1.415~2.987)	0.039
淋巴结转移(有)	0.954	0.389	6.648	1.524(1.206~2.162)	0.024
p38 蛋白(阳性表达)	0.887	0.437	4.235	1.651(1.374~3.768)	0.036

3 讨 论

临床结肠癌治疗仍以外科手术为主。研究发现,早期结肠癌 5 年生存率可达 90%以上,而进展期 5 年生存率不到 5%^[6]。因此,探究与结肠癌相关的早期诊断标志物及预后影响因素,对提高患者预后具有重要意义。p38 是 MAPK 信号途径的重要组成部分,研究证实激活的 p38 MAPK 可以调节细胞中的多种生物学反应^[7-9]。且近年研究表明,结肠癌中 p38 mRNA 高表达可促进细胞增殖,抑制细胞凋亡,敲低 p38 表达后结肠癌细胞的恶性程度降低^[10]。因此,基于临床病理探究 p38 在结肠癌中的表达及与临床病理特征和预后的关系,对结肠癌的早期诊断、治疗及预后评估具有重要作用。

本研究发现,结肠癌组织中 p38 蛋白阳性高表达,提示 p38 过表达在结直肠癌中扮演重要角色。同时发现,p38 蛋白表达与肿瘤浸润程度、TNM 分期、分化程度及淋巴结转移等临床病理特征相关。淋巴结转移是肿瘤获得转移潜能,引起疾病进展的关键,也是肿瘤患者预后不良的危险因素^[11]。肿瘤分化程度越低预示着临床分期越高,肿瘤转移、浸润及术后复发风险也升高^[11]。相关研究表明,乳腺癌组织中 p38 蛋白高表达与临床分期、淋巴结转移有关^[12];p38 参与调控食管癌细胞的生物学行为进程,与肿瘤最大径、淋巴结转移、分化程度及浸润深度等病理特征关系密切,是判断食管癌发生、发展及浸润转移的有效标志物^[13]。p38 蛋白高表达预示着肿瘤浸润程度加深、临床分期更晚、分化程度更低及淋巴结转移风险增加。由此表明,p38 高表达与肿瘤恶性病理特征相关,促进了结肠癌的发生、发展、浸润及转移。本研究

进一步分析 p38 蛋白表达与结肠癌预后的关系发现,p38 阳性表达患者具有更低的 3 年总生存率与无复发生存率,且 p38 是结肠癌患者预后不良的独立危险因素,其阳性表达患者发生死亡、复发的风险是阴性患者的 1.494、1.651 倍,提示可将 p38 蛋白作为评估结肠癌恶性进展及预后不良的潜在预测指标。

综上所述,结肠癌组织中 p38 蛋白阳性高表达,与肿瘤浸润程度、TNM 分期、分化程度及淋巴结转移等临床病理特征及患者预后有关,可将其作为评估结肠癌患者预后的标志物。p38 信号转导通路在结肠癌发生发展中的作用机制还需进一步研究。

参考文献

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30.

[2] 阎伟, 刘洋, 魏云巍. 左右半结肠癌研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2018, 45(22): 1155-1159.

[3] LUO Y H, ZHANG L, WANG M Yet al. Anti-cancer effects of baicalein on cervical carcinoma cells through down-regulation of the ERK/p38/MAPK pathway[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2021, 35(3): 945-952.

[4] JIN C. Hydroxysafflor yellow a reverse chemotherapy resistance via JNK and p38 mapk signal pathway in ovarian cancer cells[J]. Farmacia, 2019, 67(2): 331-336.

[5] BAEK J H, YIM J H, JY S, et al. Knockdown of end-binding protein 1 induces apoptosis in radioresistant A549 lung cancer cells via p38 kinase-dependent COX-2 upregulation[J]. Oncol Rep, 2018, 39(4): 1565-1572.

[6] LIU J, DONG C, JIANG G, et al. Transcription factor expression as a predictor of colon cancer (下转第 3238 页)

1 周心肌恢复时间较短,微循环尚未完全恢复,所以心肌做功等参数并未有明显改善。而病例组 PCI 术后 6 个月、术后 1 年患者的 GLS 及心肌做功参数:与 PCI 术前相比,GWI、GCW、GWE 明显升高,GWW 明显降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。这说明 PCI 可明显改善 STEMI 患者冠状动脉循环情况,恢复存活心肌血供,改善左心收缩功能^[10]。

LVEF、GLS 与心肌做功参数之间有较好的相关性,其中 LVEF、GLS 是国际公认评价左心收缩功能的指标^[11],所以,其可作为无创、定量、敏感的 PSL 参数,也可作为评价左心收缩功能的指标。

本研究的局限性:由于本研究的病例数较少,对于可能影响结果的参数,如冠状动脉狭窄程度和支架数量等,并未再次分组分析,故本研究需要扩大样本量进一步研究 PSL 参数评价 STEMI 患者 PCI 术后恢复情况。

综上所述,PSL 可定量评估 STEMI 患者 PCI 术前及术后心肌做功情况,定量评价左心收缩功能,可以无创、定量、敏感地评估 STEMI 患者 PCI 术后的恢复情况,同时也可评估 STEMI 患者 PCI 术前左心收缩功能情况,对临床的诊断和判断预后有重要意义。

参考文献

[1] IBANEZ B, JAMES S, AGEWALL S, et al. 2017 ESC guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation; the task force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC)[J]. Eur Heart J, 2018, 39(2): 119-177.

[2] RUSSELL K, ERIKSEN M, AABERGE L, et al. Assessment of wasted myocardial work: a novel method to quantify energy loss due to uncoordinated left ventricular contractions[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2013, 305(7): H996-H1003.

[3] 张新超, 于学忠, 陈凤英, 等. 急性冠脉综合征急诊快速诊治指南(2019)[J]. 临床急诊杂志, 2019, 20(4): 253-262.

[4] 张瑞岩, 高炜. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南(2019)[J]. 中华心血管病杂志, 2019, 47(10): 766-767.

[5] SABATINO J, DE ROSA S, LEO I, et al. Non-invasive myocardial work is reduced during transient acute coronary occlusion[J]. PLoS One, 2020, 15(12): e0244397.

[6] 朱慧珍, 崔存英, 李亚南, 等. 压力-应变环对慢性肾病患者左室整体心肌做功的定量评价[J]. 中华超声影像学杂志, 2020, 29(7): 581-585.

[7] OIKONOMOU E K, KOKKINIDIS D G, KAMPAKTSIS P N, et al. Assessment of prognostic value of left ventricular global longitudinal strain for early prediction of chemotherapy-induced cardiotoxicity: a systematic review and meta-analysis[J]. JAMA Cardiol, 2019, 4(10): 1007-1018.

[8] 李艳红, 龚晓萍, 穆玉明, 等. 三维超声斑点追踪技术对冠状动脉多支重度狭窄的诊断价值[J]. 中华超声影像学杂志, 2018, 27(12): 1020-1024.

[9] XING Y, SHI J, YAN Y, et al. Subclinical myocardial dysfunction in coronary slow flow phenomenon: identification by speckle tracking echocardiography[J]. Microcirculation, 2019, 26(1): e12509.

[10] 段天兵. 急性心肌梗死后冠状动脉微循环障碍发生机制和诊治方法的研究进展[J]. 中国循环杂志, 2019, 34(7): 722-725.

[11] KLAEBOE L G, EDVARDBSEN T. Echocardiographic assessment of left ventricular systolic function[J]. J Echocardiog, 2019, 17(1): 10-16.

(上接第 3234 页)

prognosis: a machine learning practice[J]. BMC Med Genomics, 2020, 13(Suppl 9): S135.

[7] 龚瑶, 金智丽, 涂佩, 等. Malat1 通过激活 p38 MAPK/p53 信号通路调控缺氧/复氧 AC16 心肌细胞凋亡[J]. 武汉大学学报(医学版), 2020, 41(5): 715-719.

[8] 周岗, 宋鹏, 杨靖. p38 MAPK 信号通路在伊立替康诱导结肠癌 SW620 细胞凋亡中的作用分析[J]. 解放军医学院学报, 2019, 40(11): 1079-1082.

[9] DENG K, LIU L, TAN X, et al. WIP1 promotes cancer stem cell properties by inhibiting p38 MAPK in NSCLC[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 36.

[10] CHENG Y, ZHU Y, XU W, et al. PKC α in colon cancer cells promotes M1 macrophage polarization via MKK3/6-

P38 MAPK pathway[J]. Mol Carcinogen, 2018, 57(8): 1017-1029.

[11] GRAMAA J, PIMENTA J L, COSTA G, et al. Prognostic factors in sorafenib-treated hepatocellular carcinoma: multicentre analysis of a European population sample[J]. Ann Oncol, 2020, 31(Suppl 6): S1303.

[12] 沈恒石, 韩艳春, 张骞, 等. TMEM16A 与 p-p38 在乳腺浸润性导管癌中的表达及其意义[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2019, 28(3): 252-256.

[13] LIU Q, LI W, YANG S, et al. High expression of uPA related to p38MAPK in esophageal cancer indicates poor prognosis[J]. OncoTargets Ther, 2018, 11: 8427-8434.

(收稿日期: 2021-11-08 修回日期: 2022-09-17)

(收稿日期: 2022-03-11 修回日期: 2022-09-19)