

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.23.012

结直肠癌组织上皮膜蛋白 1、ETS 变异转录因子 4 与临床病理特征和预后的关系研究*

张株惠¹ 崔国策² 姚玲³ 李莹倩⁴ 袁润¹ 李华山^{1Δ}

(1 中国中医科学院广安门医院肛肠科 北京 100053; 2 首都医科大学附属北京世纪坛医院外科 北京 100038;

3 中国中医科学院西苑医院肛肠科 北京 100091; 4 北京中医药大学第三附属医院肛肠科 北京 100029)

摘要 目的:探讨结直肠癌(CRC)组织上皮膜蛋白 1(EMP1)、ETS 变异转录因子 4(ETV4)与临床病理特征和预后的关系。**方法:**收集 180 例 CRC 患者术中切除的 CRC 组织及癌旁组织,对比不同组织中 EMP1、ETV4 阳性表达率,并分析二者与 CRC 患者临床病理特征的关系。根据 CRC 患者 EMP1、ETV4 阳性表达情况将其分为 EMP1、ETV4 阳/阴性组,随访 3 年,采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 3 年总生存率;采用多因素 Cox 回归分析影响因素。**结果:**CRC 组织中 EMP1 阳性表达率为 36.11%,低于癌旁组织,ETV4 阳性表达率为 61.11%,高于癌旁组织($P<0.05$)。EMP1、ETV4 表达与淋巴结转移、分化程度、TNM 分期有关($P<0.05$)。随访 3 年,失访 3 例,CRC 患者 3 年总生存率为 71.75%(127/177)。EMP1 阳性组的 3 年总生存率高于阴性组($P<0.05$);ETV4 阳性组的 3 年总生存率低于阴性组($P<0.05$)。有淋巴结转移、TNM III 期、EMP1 阴性、低分化、ETV4 阳性为 CRC 患者预后不良的危险因素($P<0.05$)。**结论:**CRC 组织中 EMP1 阳性表达率降低,ETV4 阳性表达率升高,二者与 CRC 患者分化程度、TNM 分期、淋巴结转移及预后不良密切相关。

关键词:结直肠癌;上皮膜蛋白 1;ETS 变异转录因子 4;病理特征;预后

中图分类号:R735.3+5 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2024)23-4455-03

Study on the Relationship between Epithelial Membrane Protein 1 and ETS Variant Transcription Factor 4 in Colorectal Cancer Tissues and Clinicopathological Features and Prognosis*

ZHANG Zhu-hui¹, CUI Guo-ce², YAO Ling³, LI Ying-qian⁴, YUAN Run¹, LI Hua-shan^{1Δ}

(1 Department of Anorectal, Guang'anmen Hospital, Chinese Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing, 100053, China;

2 Department of Surgery, Beijing Shijitan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing, 100038, China;

3 Department of Anorectal, Xiyuan Hospital, Chinese Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing, 100091, China;

4 Department of Anorectal, The Third Affiliated Hospital of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing, 100029, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the relationship between epithelial membrane protein 1 (EMP1), ETS variant transcription factor 4 (ETV4) and clinicopathological features and prognosis in colorectal cancer (CRC) tissues. **Methods:** CRC tissues and adjacent tissues of 180 CRC patients were collected, the positive expression rates of EMP1 and ETV4 in different tissues were compared, and the relationship between the two and clinicopathological features of CRC patients were analyzed. CRC patients were divided into EMP1 and ETV4 positive/negative groups based on their EMP1 and ETV4 positive expression, 3 years after follow-up, the 3-year overall survival rate were analyzed by Kaplan-Meier survival curve. The influencing factors were analyzed by Multivariate Cox regression analysis. **Results:** The positive expression rate of EMP1 in CRC tissues was 36.11%, which was lower than that in adjacent tissues. The positive expression rate of ETV4 was 61.11%, which was higher than that in adjacent tissues ($P<0.05$). The expression of EMP1 and ETV4 were related to the lymph node metastasis, degree of differentiation and TNM stage ($P<0.05$). During a 3 years after follow-up, 3 cases were lost to follow-up, the 3-year overall survival rate of CRC patients was 71.75% (127/177). The 3-year overall survival rate of EMP1 positive group was higher than that of EMP1 negative group ($P<0.05$). The 3-year overall survival rate of ETV4 positive group was lower than that of ETV4 negative group ($P<0.05$). Lymph node metastasis, TNM stage III, EMP1 negative, poor differentiation and ETV4 positive were risk factors for poor prognosis in CRC patients ($P<0.05$). **Conclusion:** The rate of EMP1 positive expression decreased and ETV4 positive expression increased in CRC tissues, which are closely related to the differentiation degree of differentiation, TNM stage, lymph node metastasis and poor prognosis in CRC patients.

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81673980)

作者简介:张株惠(1993-),女,硕士,住院医师,研究方向:肛肠疾病,E-mail: zhangzh2024@yeah.net

Δ 通讯作者:李华山(1962-),男,博士,主任医师,研究方向:肛肠疾病,E-mail: lihuashan@263.com

(收稿日期:2024-07-15 接受日期:2024-08-21)

Key words: Colorectal cancer; Epithelial membrane protein 1; ETS variant transcription factor 4; Clinicopathological features; Prognosis

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

Article ID: 1673-6273(2024)23-4555-03

前言

结直肠癌(CRC)是消化系统中常见的恶性肿瘤,临床治疗CRC的主要方法是采取CRC根治性切除术,同时辅以放、化疗等综合治疗手段。相关研究显示,部分CRC患者在经历手术及其他治疗后,疗效并不理想,术后复发和发生转移的情况较为常见^[1]。上皮膜蛋白1(EMP1)参与肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移及上皮间质转化过程^[2],其在膀胱癌细胞中表达下调,可促进膀胱癌细胞的转移^[3]。ETS变异转录因子4(ETV4)参与多种肿瘤细胞的增殖、分化及迁移过程^[4]。本研究以CRC患者为研究对象,观察CRC组织中EMP1、ETV4表达与临床病理特征及预后的关系。

1 资料和方法

1.1 临床资料

选取2019年1月至2021年4月我院收治的180例CRC患者。纳入标准:(1)符合CRC诊断标准^[5];(2)均行CRC根治性切除术;(3)均属于原发性初诊者。排除标准:(1)存在靶向治疗史或新辅助化疗者;(2)重要脏器功能严重损害者;(3)合并急、慢性感染疾病或其他恶性肿瘤;(4)既往有结直肠手术史

者。本研究已获得我院医学伦理委员会审批。

1.2 资料收集

收集患者年龄、性别、淋巴结转移情况、分化程度、TNM分期、肿瘤大小、位置、EMP1、ETV4表达。根据EMP1、ETV4表达评定结果将CRC患者分为EMP1、ETV4阳/阴性组。

1.3 随访

所有CRC患者均接受电话或门诊方式随访,随访3年,随访截止时间为2024年4月,随访终点为患者死亡或随访结束,统计患者3年总生存率。

1.4 统计学方法

采用SPSS28.0软件处理数据。计数资料以“n(%)”表示,采用 χ^2 检验。计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,采用t检验。采用Kaplan-Meier法绘制3年总生存率。采用多因素Cox回归分析危险因素。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EMP1、ETV4阳性表达率

CRC组织中ETV4阳性表达率较癌旁组织更高,EMP1阳性表达率较癌旁组织更低($P<0.05$),见表1。

表1 EMP1、ETV4阳性表达率[n(%)]
Table 1 Positive expression rates of EMP1 and ETV4 [n(%)]

Groups	n	EMP1	ETV4
CRC tissues	180	65(36.11)	110(61.11)
Adjacent tissues	180	119(66.11)	67(37.22)
χ^2	-	32.416	20.550
P	-	<0.001	<0.001

2.2 分析EMP1、ETV4表达与临床病理特征的关系

EMP1、ETV4表达与分化程度、TNM分期、淋巴结转移有关($P<0.05$)。发生淋巴结转移、低分化、TNM III期的CRC患者EMP1阳性率更低,ETV4阳性率更高($P<0.05$),见表2。

2.3 分析EMP1、ETV4表达与CRC患者预后的关系

随访3年后,180例CRC患者死亡50例,失访3例,3年总生存率为71.75%(127/177)。其中EMP1阳性组的3年总生存率为84.62%(55/65),高于阴性组的64.29%(72/112)($\chi^2=8.387$; $P=0.004$)。ETV4阳性组的3年总生存率为61.82%(68/110),低于阴性组的88.06%(59/67)($\chi^2=14.146$; $P<0.001$)。

2.4 多因素Cox回归分析

以CRC患者的预后情况为因变量(赋值,预后不良=1,预后良好=0),赋值:发生淋巴结转移(发生=1,未发生=0)、TNM分期(III期=1, I-II期=0)、EMP1(阳性=1,阴性=0)、分化程度(低分化=1,中高分化=0)、ETV4(阳性=1,阴性=0),构建单因素和多因素Cox回归模型。结果显示,发生淋巴结转移[HR

(95%CI):1.624(1.155-2.320)],TNM分期III期[HR(95%CI):1.749(1.203-2.764)],EMP1阴性[HR(95%CI):0.812(0.781-0.958)],低分化[HR(95%CI):1.579(1.180-3.272)],ETV4阳性[HR(95%CI):1.296(1.089-1.624)]为预后不良的危险因素(P 均 <0.001)。

3 讨论

临床研究发现,CRC患者早期症状往往不明显且缺乏特异性,并且癌细胞易发生早期转移扩散,导致患者的预后情况较差,严重影响患者的生存周期^[6]。CRC的临床病理特征(大小、分化程度、淋巴结受累情况、远处转移状态等)具有多样性,这些特征不仅影响肿瘤的分期和治疗策略,也是评估患者预后的关键因素^[7]。

EMP1在人体组织中的表达模式和功能具有多样性,并且在多种肿瘤中具有特定的表达模式,参与肿瘤的发生和发展。相关研究发现,EMP1在人鼻咽癌细胞呈低表达,参与肿瘤细

表 2 分析 EMP1、ETV4 表达与临床病理特征的关系[n(%)]

Table 2 Analysis of the relationship between EMP1, ETV4 expression and clinicopathological features [n(%)]

Clinicopathological features	n	Positive expression rates of EMP1	χ^2	P	Positive expression rates of ETV4	χ^2	P
Gender			0.625	0.429		0.049	0.825
Male	101	39(38.61)			63(62.38)		
Female	79	26(32.91)			48(60.76)		
Age (year)			0.508	0.476		0.057	0.812
≤ 60	88	29(32.95)			53(60.23)		
>60	92	35(38.04)			57(61.96)		
Tumor size(cm)			0.043	0.836		0.167	0.683
≤ 5	96	34(35.42)			60(62.50)		
>5	84	31(36.90)			50(59.52)		
Tumor location			0.141	0.707		0.104	0.748
Colon	99	34(34.34)			61(61.62)		
Rectum	81	30(37.04)			48(59.26)		
Degree of differentiation			9.504	0.002		13.512	<0.001
High / moderate differentiation	120	52(43.33)			62(51.67)		
Poor differentiation	60	12(20.00)			48(80.00)		
TNM stage			10.062	0.002		11.329	0.001
Stage I - II	117	52(44.44)			61(52.14)		
Stage III	63	13(20.63)			49(77.78)		
Lymph node metastasis			10.823	0.001		19.342	<0.001
Yes	71	16(22.54)			56(78.87)		
No	109	51(46.79)			50(45.87)		

胞的发生和发展^[8]。EMP1 在浆液性卵巢癌组织中呈高表达,其异常表达与患者预后不良密切相关^[9]。ETV4 是一种转录因子,参与调控多种基因的表达^[9]。相关研究显示,ETV4 在胃肠道间质瘤中呈阳性表达^[10],ETV4 促进膀胱癌的淋巴管生成和淋巴转移^[11]。

本研究结果显示,相较于癌旁组织,CRC 组织中 EMP1 阳性表达率更低,ETV4 阳性表达率更高,EMP1、ETV4 表达与 CRC 患者低分化、TNM 分期Ⅲ期、发生淋巴结转移等临床病理特征关系密切。分析其原因,EMP1 在肿瘤细胞分化过程中发挥调控作用,其在 CRC 组织中呈低表达可能影响肿瘤细胞的分化状态,从而促进肿瘤细胞低分化^[12]。ETV4 在 CRC 组织中表达升高,可能通过影响肿瘤微环境中的细胞外基质重塑、血管生成及其他肿瘤促进因子的表达来影响 CRC 的发生和发展^[13]。

本研究结果显示,EMP1 阴性表达和 ETV4 阳性表达的 CRC 患者 3 年总生存率更高,发生淋巴结转移、TNM 分期Ⅲ期、EMP1 阴性、低分化、ETV4 阳性均为预后不良的危险因素。分析其原因,TNM 分期Ⅲ期、低分化、发生淋巴结转移提示

CRC 患者的病情严重,其复发和转移的风险较高,肿瘤细胞具有更强的侵袭性和扩散能力,进而导致 CRC 患者预后不良的发生风险增加。EMP1 阴性表达和 ETV4 阳性表达可通过细胞增殖、分化等途径参与 CRC 发生和发展。当 EMP1 表达缺失,ETV4 表达升高时,肿瘤细胞快速增殖、侵袭、转移,从而导致 CRC 患者预后不良。

综上所述,CRC 组织中 EMP1 表达降低,ETV4 表达升高,是 CRC 患者预后不良的危险因素,EMP1、ETV4 表达与 CRC 患者分化程度、TNM 分期、淋巴结转移等临床病理特征有关。

参考文献(References)

- [1] Baidoun F, Elshiyw K, Elkeraie Y, et al. Colorectal Cancer Epidemiology: Recent Trends and Impact on Outcomes[J]. *Curr Drug Targets*, 2021, 22(9): 998-1009.
- [2] Villarreal OE, Kopetz S. EMP1+ tumor cells drive metastatic relapse [J]. *Cell Res*, 2023, 33(5): 337-338.
- [3] Liu S, Shi J, Wang L, et al. Loss of EMP1 promotes the metastasis of human bladder cancer cells by promoting migration and conferring resistance to ferroptosis through activation of PPAR gamma signaling [J]. *Free Radic Biol Med*, 2022, 36(11): 42-57.

组外周血单个核细胞 TL1A mRNA 表达上调,且高于非糜烂型组,TL1A mRNA 表达与外周血 Th17 比例、ROR γ t mRNA 表达、Th17/Treg 比值呈正相关,与外周血 Treg 比例、FOXP3 mRNA 表达呈负相关,提示 OLP 患者外周血单个核细胞 TL1A mRNA 高表达可能通过引起 Th17/Treg 失衡参与 OLP 发生发展。推测 TL1A 能结合 DR3 激活 T 细胞信号传导通路,促进 T 细胞活化并诱导初始 CD4⁺T 细胞向 Th17 分化,抑制初始 CD4⁺T 细胞向 Treg 分化,导致 Th17/Treg 失衡^[7]。同时,TL1A 还能激活核因子- κ B 信号通路,增加 ROR γ t 转录和减少 FOXP3 转录,导致 Th17/Treg 失衡^[8]。

PD-1 是一种细胞表面受体蛋白,能通过结合程序性死亡配体(PD-L)1、PD-L2 抑制 T 细胞的活化和功能,以维持机体免疫平衡;sPD-1 由 PD-1 的外细胞域切割而成,可竞争性结合 PD-L1 和 PD-L2,抑制 PD-1/PD-L1/PD-L2 信号传导,导致 T 细胞异常活化^[9,10]。已有研究表明^[11],sPD-1 能阻断 PD-1/PD-L1 信号通路,加剧 Th17/Treg 失衡。同时研究报道^[12],血清 sPD-1 表达与 OLP 患者体液免疫功能紊乱有关,推测 sPD-1 参与 OLP 患者免疫失衡。本研究结果显示,OLP 患者外周血单个核细胞 sPD-1 mRNA 表达上调,且糜烂型患者 sPD-1 mRNA 表达更高,与外周血 Th17 比例、ROR γ t mRNA、Th17/Treg 比值呈正相关,与外周血 Treg 比例、FOXP3 mRNA 表达呈负相关,说明 OLP 患者外周血单个核细胞 sPD-1 mRNA 高表达可能通过 Th17/Treg 失衡参与 OLP 发生发展。究其原因,sPD-1 能竞争性结合 PD-L1 和 PD-L2,阻止 PD-1 与细胞表面上的 PD-L1 和 PD-L2 结合,干扰 PD-1/PD-L1/PD-L2 信号传导对 T 细胞活化和功能的抑制作用,使 T 细胞异常活化并促进初始 CD4⁺T 细胞向 Th17 分化和抑制 Treg 分化,导致 Th17/Treg 失衡^[13]。

综上所述,OLP 患者外周血单个核细胞 TL1A mRNA、sPD-1 mRNA 表达升高与 Th17/Treg 失衡有关,可能通过引起 Th17/Treg 失衡参与 OLP 发生发展。

参考文献(References)

[1] 丁旭,陆丽荣,周兰英,等.口腔扁平苔藓患者血清白介素-17、P 物质、趋化素水平与疾病活动和免疫功能的关系研究[J].现代生物

医学进展,2022,22(10):1865-1868.

- [2] 杨连杰,郑凯月,刘英.T 淋巴细胞在口腔扁平苔藓发生发展中的作用研究进展[J].山东医药,2022,62(30):90-93.
- [3] 韩佳桐,翟爱荣,漆明.TL1A 和 IDO 在口腔扁平苔藓患者外周血中的表达研究[J].口腔医学,2015,35(4):278-281.
- [4] Huyen PTM, Dung DTN, Wei PJ, et al. Circulating level of sPD-1 and PD-1 genetic variants are associated with hepatitis B infection and related liver disease progression[J]. Int J Infect Dis, 2022, 115: 229-236.
- [5] 中华口腔医学会口腔黏膜病专业委员会,中华口腔医学会中西医结合专业委员会,周红梅.口腔扁平苔藓诊疗指南(试行)[J].中华口腔医学杂志,2012,47(7):399-401.
- [6] 徐炜,舒俊华,于意,等.Th17/Treg 细胞免疫平衡的相关调控机制研究进展[J].中国现代医学杂志,2023,33(24):48-54.
- [7] Jacob N, Kumagai K, Abraham JP, et al. Direct signaling of TL1A-DR3 on fibroblasts induces intestinal fibrosis in vivo [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 18189.
- [8] Ayroldi E, Grohmann U. Exemplifying complexity of immune suppression by a "canonical" speech: A glimpse into TNFRSF-activated signaling pathways in Treg cells [J]. Eur J Immunol, 2020, 50(7): 944-948.
- [9] 杨苏彬,许凤燕.PD-1/PD-L1 及其与免疫相关疾病的研究进展[J].国际遗传学杂志,2020,43(4):224-228.
- [10] 罗亮,舒美兰,李舒眉,等.口腔扁平苔藓患者血清中可溶性程序性死亡受体 1 及其配体表达与免疫功能的相关性[J].中华口腔医学杂志,2015,50(10):585-589.
- [11] Costa NL, Gonçalves JAM, de Lima SLG, et al. Evaluation of PD-L1, PD-L2, PD-1 and cytotoxic immune response in oral lichen planus[J]. Oral Dis, 2020, 26(6): 1246-1254.
- [12] 刘亚娟,张文涛.口腔扁平苔藓患者血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平与免疫功能的相关性分析 [J]. 检验医学与临床,2022,19(10):1386-1389.
- [13] 昭日格图,张梅华,贺艳霞,等.口腔扁平苔藓外周血 T 细胞 B7-H1/PD-1 信号的表达及其作用[J].中国临床研究,2017,30(11):1476-1480.

(上接第 4457 页)

- [4] Wang B, Cai Y, Li X, et al. ETV4 mediated lncRNA C2CD4D-AS1 overexpression contributes to the malignant phenotype of lung adenocarcinoma cells via miR-3681-3p/NEK2 axis [J]. Cell Cycle, 2021, 20(24): 2607-2618.
- [5] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局,中华医学会儿科学分会.中国结直肠癌诊疗规范(2017年版)[J].中华外科杂志,2018,56(4):241-258.
- [6] Qu R, Ma Y, Zhang Z, et al. Increasing burden of colorectal cancer in China[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2022, 7(8): 700.
- [7] Bresalier RS. Colorectal Cancer Screening in a Changing World[J]. Gastroenterol Clin North Am, 2022, 51(3): 577-591.
- [8] 张虹,张春,肖志勇,等.上皮膜蛋白 1 调控人鼻咽癌细胞的增殖、迁移和侵袭[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2022,29(4):247-251.

- [9] 邓婷,吴建麓,谭琛,等.上皮膜蛋白 1 在浆液性卵巢癌中的表达及临床意义[J].中国优生与遗传杂志,2023,31(5):1009-1012.
- [10] 徐丹,邱雪杉.ETV4 在胃肠道间质瘤中的表达及其临床意义[J].中国医科大学学报,2020,49(4):321-325,330.
- [11] Zhang Q, Liu S, Wang H, et al. ETV4 Mediated Tumor-Associated Neutrophil Infiltration Facilitates Lymphangiogenesis and Lymphatic Metastasis of Bladder Cancer [J]. Adv Sci (Weinh), 2023, 10(11): e2205613.
- [12] Cañellas-Socias A, Cortina C, Hernando-Momblona X, et al. Metastatic recurrence in colorectal cancer arises from residual EMP1+ cells[J]. Nature, 2022, 611(7936): 603-613.
- [13] Su H, Shu S, Tang W, et al. ETV4 facilitates angiogenesis in hepatocellular carcinoma by upregulating MMP14 expression [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2023, 684: 149137.