

几个因素常相互作用影响老年患者行 ERCP 后的临床结局。

综上所述,老年患者行 ERCP 治疗预后较好,术后并发症主要为胰腺炎、胆管感染、消化道大出血及穿孔,而乳头括约肌切开术、导丝进入胰管是其独立危险因素。但是可能影响老年患者 ERCP 预后的因素较多,下一步可以选取更多指标进行全面分析,以进一步阐明影响老年患者 ERCP 预后的因素,同时可以选取更多年龄更大的患者进行研究,为临床选择治疗方案提供参考。

参考文献

- 1 Kochar B, Akshintala VS, Afghani E, *et al.* Incidence, severity, and mortality of post - ERCP pancreatitis: a systematic review by using randomized, controlled trials [J]. *Gastrointest Endoscopy*, 2015, 81(1): 143 - 149
- 2 Shinsuke K, Go K, Yutaka N, *et al.* ERCP [J]. *Nihon Rinsho Japanese J Clin Med*, 2015, 3: 67 - 73
- 3 Talukdar R. Complications of ERCP [J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2016, 30(5): 793 - 805
- 4 李媛媛, 李国华, 陈幼祥, 等. 高龄患者经内镜逆行胰胆管造影术的风险评价 [J]. *中华消化内镜杂志*, 2017, 34(4): 274 - 276
- 5 Rustagi T, Jamidar PA. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography - related adverse events: general overview [J]. *Gastrointest Endosc Clin N Am*, 2015, 25(1): 97 - 106
- 6 Sinha A, Cader R, Akshintala VS, *et al.* Systemic inflammatory re-

sponse syndrome between 24 and 48 h after ERCP predicts prolonged length of stay in patients with post - ERCP pancreatitis: A retrospective study [J]. *Pancreatol*, 2015, 15(2): 105 - 110

- 7 张铜, 丁辉, 李芸. 经内镜逆行胰胆管造影术治疗高龄胆总管结石疗效观察及安全性评估 [J]. *中国内镜杂志*, 2015, 21(3): 255 - 258
- 8 王继恒, 杜永强, 李舒, 等. 80 岁及以上高龄患者经多次内镜逆行胰胆管造影术的影响因素分析 [J]. *中国内镜杂志*, 2015, 21(12): 1233 - 1236
- 9 Montañó LA, García CJ, González OA, *et al.* Prevention of hyperamylasemia and pancreatitis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography with rectal administration of indomethacin [J]. *Rev Gastroenterol Mexico*, 2016, 71(71): 262 - 268
- 10 董金良, 梁金荣, 张玉惠. 内镜下乳头切开加气囊扩张术后胆道感染危险因素与预防措施 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2015, 9: 2083 - 2085
- 11 孔艳杰. 胆总管结石 ERCP 取石术后结石复发的危险因素分析 [J]. *中国普通外科杂志*, 2015, 24(6): 899 - 902
- 12 Konjeti VR, Rustagi T. Sal186 Transpancreatic sphincterotomy and the risk of post - ERCP complications - A systematic review and Meta - analysis [J]. *Gastrointest Endoscopy*, 2016, 83(5): AB247
- 13 Nakai Y, Isayama H, Sasahira N, *et al.* Risk factors for post - ERCP pancreatitis in wire - guided cannulation for therapeutic biliary ERCP [J]. *Gastrointest Endoscopy*, 2015, 81(1): 119 - 126

(收稿日期: 2017 - 08 - 12)

(修回日期: 2017 - 10 - 21)

Coronin 3 基因在食管鳞癌组织中的表达及临床意义

郑 飞 刘萍萍 陈俊强 何 诚 周智峰 林 宇 陈元美 李建成 朱坤寿

摘 要 **目的** 分析 Coronin3 基因在食管鳞癌组织中的表达,探讨其对食管癌生存情况的影响。**方法** 采用免疫组化方法对胸中段食管鳞癌三野根治术后 80 例患者的癌组织进行 Coronin3 基因检测其表达情况,并与临床因素进行相关分析。**结果** 全组食管癌组织中的 Coronin3 基因表达阳性率为 38.8%,其表达与食管癌患者的性别、年龄、分化程度、食管病变长度及 T 分期无关 ($P > 0.05$),但与食管癌的淋巴结转移个数及 TNM 分期呈正相关 ($P < 0.05$),Coronin3 表达阳性者 5 年的总生存率和无病生存率低于 Coronin3 表达阴性者,分别为 29.2% vs 68.0% ($P = 0.010$) 和 45.6% vs 78.5% ($P = 0.003$)。Coronin3 表达阳性者的复发转移率高于阴性者分别为 51.4% 和 28.9% ($P < 0.05$)。**结论** Coronin3 基因表达阳性率与食管癌的淋巴结转移个数、TNM 分期、总生存率和无病生存率以及复发转移率呈正相关,可能为食管癌预后提供新的分子标志物。

关键词 Coronin3 基因 食管鳞癌 转移 生存率

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.11.015

Expression of Coronin3 Gene in Esophagus Carcinoma and Its Clinical Significance. Zheng Fei, Liu Pingping, Chen Junqiang, *et al.*

基金项目:福建省自然科学基金资助项目(2015J01377);福建省科技厅重点项目(2011Y0014);福建省临床重点专科建设基金资助项目(2012 年)

作者单位:350014 福州,福建省肿瘤医院放疗科、福建医科大学附属肿瘤医院

通讯作者:陈俊强,主任医师,教授,硕士生导师,电子信箱:junqiang@163.com

Fujian Cancer Hospital & Fujian Medical University Cancer Hospital, Fujian 350014, China

Abstract Objective To analyze the expression of Coronin3 gene in esophageal squamous cell carcinoma and its effect on the survival of esophageal carcinoma. **Methods** The expression of Coronin3 gene in 80 patients with middle thoracic esophageal squamous cell carcinoma after three - field radical resection was detected by immunohistochemical method, and the correlation between the expression of Coronin3 gene and clinical factors was analyzed. **Results** The whole group of Coronin3 gene in esophageal cancer tissue expression positive rate was 38.8%, and its expression in esophageal cancer patients has nothing to do with gender, age, degree of differentiation, length and T staging of esophageal lesions ($P > 0.05$), but it was positively related to number of lymph node metastasis and TNM stage in esophageal carcinoma ($P < 0.05$). The 5 - year overall survival rate and disease - free survival rate of the patients with positive Coronin3 expression were lower than those with negative Coronin3 expression, 29.2% to 68.0% ($P = 0.010$) and 45.6% to 78.5% ($P = 0.003$). **Conclusion** The positive rate of Coronin3 gene expression was positively correlated with the number of lymph node metastasis, TNM stage, the overall survival rate, the disease - free survival rate and the recurrence and metastasis rate of esophageal carcinoma. It may provide a new molecular marker for the prognosis of esophageal cancer.

Key words Coronin3 gene; Esophageal squamous cell carcinoma; Metastasis; Survival rate

我国是食管癌高发区,手术切除是治疗食管癌主要方法,局部复发和远处转移是术后失败的主要原因^[1,2]。近年来研究发现 Coronin 3 的蛋白质功能在肿瘤细胞的分泌、基质降解、突起形成、细胞迁移和侵袭过程中起重要作用,Coronin 3 缺失或是其 N/C 端或 WD 结构域缺乏都会抑制成纤维细胞的迁移,干扰 NIH3T3 成纤维细胞中的 Coronin 3 后细胞的愈合速度明显减慢^[3,4]。Coronin 3 基因的表达水平与肝癌、胃癌、恶性黑色素瘤的侵袭行为呈正相关^[5-10]。有关 Coronin 3 基因在食管癌中的表达国内外文献少有报道,本研究通过免疫组化检测,探讨食管鳞癌组织中 Coronin 3 基因的表达水平与侵袭转移和预后关系。

对象与方法

1. 研究对象:收集福建省肿瘤医院 2007 年 4 月~2008 年 11 月胸中段食管鳞癌三野根治术后标本 80 例患者,患者年龄 33~79 岁,其中:<60 岁者 53 例,≥60 岁者 27 例;男性 69 例,女性 11 例;组织病理分化程度:高分化者 8 例,中分化者 62 例,低分化者 10 例;分期根据第 8 版美国癌症联合委员会(AJCC)食管癌 TNM 分期标准^[11]:Ⅱ期 52 例,Ⅲ期 19 例,Ⅳa 期 9 例;肿瘤浸润深度:T₂ 期 20 例,T₃ 期 60 例;无淋巴结转移者 52 例,有淋巴结转移者 28 例。

2. 试剂:抗体采用 Rabbit Polyclonal Coronin3 antibody/Human cadherin - 11 antibody (RD - Novus, RD)即用型免疫组化 ELiVision plus 试剂盒(鼠/兔)(福州迈新生物技术开发有限公司);其他试剂包括二甲苯、不同浓度的乙醇、PBS 液、3%过氧化氢、柠檬酸钠、柠檬酸三钠、DAB 显色试剂盒(YZB/USA 2885-2014)、苏木素、盐酸乙醇、蒸馏水。

3. 主要实验仪器和设备:石蜡切片机(RM2235、德国莱卡公司)、烤片机(EG 1150、德国莱卡公司)、摊片机(YD - A、南昌高腾科技有限公司)、水浴缸(HI1210、上海徠卡仪器有限公司)、恒温箱(GHP 9080、上海一恒科学仪器有限公司)、电冰箱(容声 230、海信科龙电器股份有限公司)、冷柜(SC - 316、青岛海尔股份有限公司)、制冰机(美国万利多有限公司)、枪头(爱思进生物技术有限公司)、移液枪(赛默飞世尔科技有限公司)、冷冻离心机(赛默飞世尔科技有限公司)、无菌无酶离心管(爱思进生物技术有限公司)、电子天平(BSA124S、德国赛多利斯科学仪器有限公司)、防脱载玻片(赛默飞世尔科技有限公司)、生物显微镜(CX31、日本奥林巴斯公司)、湿盒、树胶、96 孔板、盖玻片等。

4. 食管癌组织石蜡切片免疫组化步骤:①石蜡切片放在 60℃ 恒温箱中烘烤 2h;②脱蜡和水化:二甲苯(两缸 5min、5min)、梯度乙醇(无水、95%、85%、75%)每缸 5min,PBS 冲洗 3 次,每次 3min;③抗原修复:将组织切片置于微波修复盒中于微波炉内进行抗原修复,高火 3min,中火 5min,低火 5min,冷却至室温,用 PBS 冲洗 3 次,每次 3min;④阻断内源性过氧化物酶:加 3% 过氧化氢孵育 10min(室温 30℃),然后用 PBS 冲洗 3 次,每次 3min;⑤滴加一抗:每张组织切片加 1 滴第一抗体,室温下孵育 60min,PBS 冲洗 3 次,每次 3min;⑥除去 PBS,每张组织切片滴加 1 滴(试剂 A)聚合物增加剂,室温孵育 20min,PBS 冲洗 3 次,每次 3min;⑦除去 PBS,每张组织切片滴加 1 滴(试剂 B)酶标抗鼠/兔 IgG 聚合物,室温孵育 30min,PBS 冲洗 3 次,每次 3min;⑧除去 PBS,每张组织切片滴加 1 滴新鲜配制的 DAB,镜下观察;⑨自来水冲

洗,苏木素复染 3min,盐酸乙醇分化,自来水充分冲洗;⑩梯度乙醇脱水,二甲苯透明后,中性树脂封片,37℃ 干燥 48h,显微镜观察并照相。

5. 免疫组化结果判定:Coronin3 主要为膜阳性,按切片中细胞显色是否 >1%,分为阳性和阴性。

6. 随访方法:所有患者通过门诊或住院复诊及电话随访,以手术当日为随访起始时间,随访至 2017 年 12 月 30 日,中位随访时间为 35 个月(10~128 个月),随访率为 96.2%。总生存时间为患者手术日至死亡或未次随访的时间;无病生存时间为患者手术日至肿瘤局部复发或远处转移的时间。

7. 统计学方法:应用 SPSS 15.0 统计学软件对数据进行统计分析,临床资料组间差异用 χ^2 检验;总生存率和无病生存率用 Kaplan - Meier 法计算,用 Logrank 进行显著性检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. Coronin3 在食管癌组织中的表达:利用免疫组织化学检测到 Coronin3 在食管癌组织中的阳性率为 38.8% (31/80)。Coronin3 主要表达在癌细胞的细胞膜上,为均匀的棕黄色颗粒(图 1)。Coronin3 的表达与食管癌患者的性别、年龄、分化程度、食管病变长度及 T 分期无关($P > 0.05$),但与食管癌的淋巴结转移个数及 TNM 分期呈正相关($P < 0.05$),淋巴结转移个数越多,TNM 分期越高,其在食管癌组织中的表达越强,详见表 1。

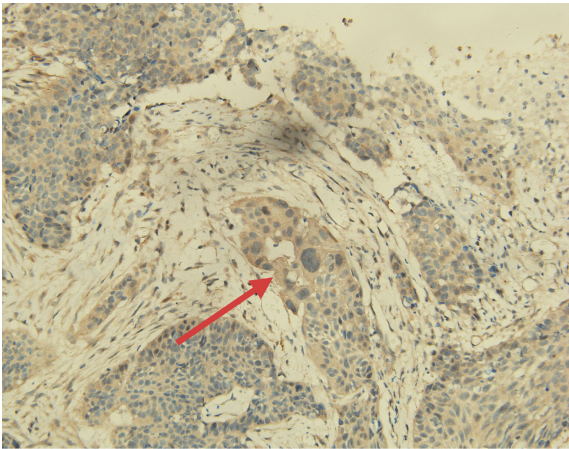


图 1 Coronin3 在食管鳞癌组织中的表达(SP, ×400)

2. Coronin3 表达与生存率关系:全组 3、5 年的总生存率和无病生存率分别为 62.0%、51.5% 和 65.4%、56.0%,其中 Coronin3 表达阳性者 5 年的总

表 1 Coronin3 基因的表达情况与临床因素之间的关系[n(%)]

项目	Coronin3 阴性	Coronin3 阳性	χ^2	P
性别			0.708	0.400
男性	41(59.4)	28(40.6)		
女性	8(72.7)	3(27.3)		
年龄(岁)			0.500	0.822
<60	32(60.4)	21(39.6)		
≥60	17(63.0)	10(37.0)		
分化程度			1.239	0.538
低分化	5(50.0)	5(50.0)		
中分化	40(64.5)	22(35.5)		
高分化	4(50.0)	4(50.0)		
病变长度(cm)			0.751	0.386
≤5	27(65.9)	14(34.1)		
>5	22(56.4)	17(43.6)		
T 分期			0.439	0.508
T ₂	11(55.0)	9(45.0)		
T ₃	38(63.3)	22(36.7)		
N 分期			12.852	0.002
N ₀	39(75.0)	13(25.0)		
N ₁	8(42.1)	11(57.9)		
N ₂	2(22.2)	7(77.8)		
UICC 分期			11.835	0.001
II	39(75.0)	13(25.0)		
III/IV a	10(37.5)	18(64.3)		

生存率明显差于 Coronin3 表达阴性者,分别为 29.2% 和 68.0%, 差异有统计学意义($\chi^2 = 6.581$, $P = 0.010$),见图 2。Coronin3 表达阳性者 5 年的无病生存率明显差于 Coronin3 表达阴性者,分别为 45.6% 和 78.5%, 差异有统计学意义($\chi^2 = 8.760$, $P = 0.003$),见图 3。

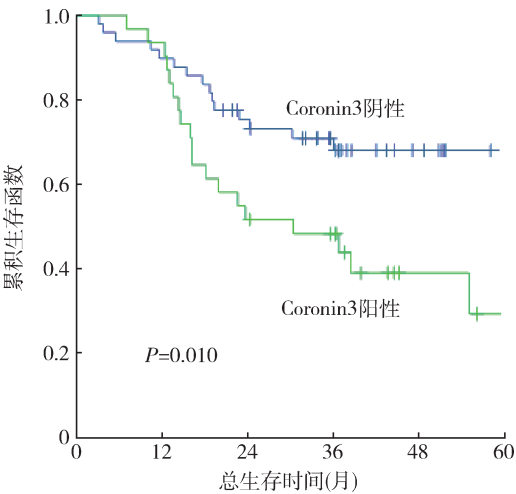


图 2 Coronin3 基因的表达水平与食管癌患者总生存率的关系

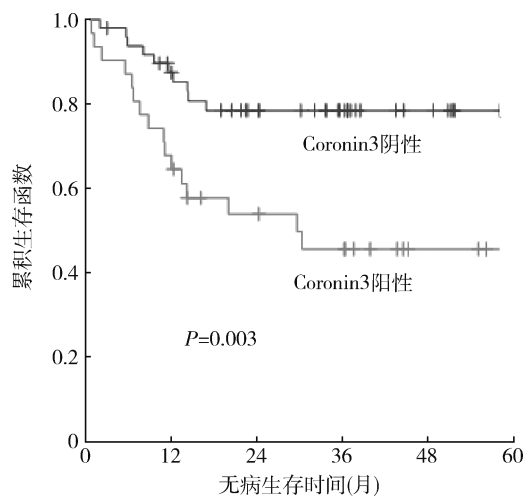


图3 Coronin3 基因的表达水平与食管癌患者无病生存率的关系

3. Coronin3 表达与复发转移关系:全组有 35 例术后出现局部淋巴结转移和(或)远处血行转移,复发转移率为 43.75%。其中 Coronin3 表达阳性者明显高于表达阴性者,其复发转移率分别为 51.4% 和 28.9%,差异有统计学意义($\chi^2 = 4.214, P = 0.040$)。

讨 论

由于大部分食管癌中晚期患者病灶为多灶性,手术切除了肉眼可见肿瘤,肉眼看不见微小癌灶未能切除,这些残留癌细胞逐渐增生或由于肿瘤侵犯浆膜自体种植等原因而导致根治术后肿瘤复发转移。尽管化疗、放疗和中药治疗等多种治疗手段被广泛应用于临床,但对患者生存改善十分有限。食管癌的发生、发展是一个涉及原癌基因激活、抑癌基因失活等多基因、多阶段、多步骤渐进演化复杂过程,侵袭与转移是影响食管癌预后的重要因素^[12]。寻找可靠的预后相关分子标志物是目前研究热点,对于判断预后和提高食管癌个体化治疗的疗效具有重要的临床指导意义。

Coronin3 又名 Coronin-1c, CORO1C, 定位于人染色体 12q24.11, 由 474 个氨基酸组成, Coronin3 位于细胞的伪足和亚细胞膜结构,与肿瘤的关系十分密切,其在多种类型的侵袭性肿瘤中均有所上调^[5-10]。Thal 等^[13]证实,恶性程度高的脑胶质瘤细胞中 Coronin3 的表达水平更高,在将其沉默降低表达水平后,肿瘤细胞的增殖和侵袭力明显降低,提示 Coronin3 对肿瘤细胞的运动和伪足的形成发挥着重要作用。Wu 等^[14]通过免疫组化研究发现人肝癌标本 Coronin3 表达升高的患者其肿瘤的体积较大且多处于疾病进展期, Wang 等^[8]发现 Coronin3 通过 Arp2/3 复合物和

Rac-1 相关的通路,促进肌动蛋白的运动,从而增强肝细胞肝癌的转移,提示 Coronin3 的水平能预测肝癌的进展。Shen 等^[9]研究发现, Coronin3 在转移的胃癌组织中高表达,并通过 Cathepsin K 及 MMP9 上调和下调 TIMP2 来影响胃癌细胞的浸润和迁移,从而促进肿瘤的转移。本组研究发现胸中段食管鳞癌组织中 Coronin3 基因表达高达 38.8%,而且阳性表达率与食管癌 N 分期及 TNM 分期呈正相关,即与淋巴结转移个数有关,而与肿瘤分化程度无关,提示 Coronin3 基因分子水平表达比病理形态学更能精确反映食管癌的侵袭和转移。本组进一步分析发现 Coronin3 基因阳性表达率也与 5 年的总生存率和无病生存率以及复发转移率呈正相关,提示 Coronin3 基因表达水平可能精确反映预后。

综上所述,通过免疫组化检测食管鳞癌组织中 Coronin3 基因的表达阳性率与食管癌的淋巴结转移个数、TNM 分期、总生存率和无病生存率以及复发转移率呈正相关,可能为食管癌预后提供新的分子标志物。但由于为单中心回顾性研究,且样本数少,有待于进一步开展多中心、大样本及前瞻性临床研究验证。

参考文献

- 1 Nakagawa S, Kanda T, Kosugi S, *et al.* Recurrence pattern of squamous cell carcinoma of the thoracic esophagus after extended radical esophagectomy with three-field lymphadenectomy [J]. *J Am Coll Surg*, 2004, 198: 205-211
- 2 Chen J, Pan J, Liu J, *et al.* Postoperative radiation therapy with or without concurrent chemotherapy for node-positive thoracic esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2013, 86(4): 671-677
- 3 Cai L, Holowickj N, Schaller MD, *et al.* Phosphorylation of coronin 1B by protein kinase C regulates interaction with Arp2/3 and cell motility [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(36): 31913-31923
- 4 Henning KA, Li L, Iyer N, *et al.* The Cockayne syndrome group A gene encodes a WD repeat protein that interacts with CSB protein and a subunit of RNA polymerase II TFIIH [J]. *Cell*, 1995, 82(4): 555-564
- 5 De Cecco L, Bossi P, Locati L, *et al.* Comprehensive gene expression meta-analysis of head and neck squamous cell carcinoma microarray data defines a robust survival predictor [J]. *Ann Oncol*, 2014, 25(8): 1628-1635
- 6 Forster JC, Douglass MJ, Harriss-Phillips WM, *et al.* Simulation of head and neck cancer oxygenation and doubling time in a 4D cellular model with angiogenesis [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 11037
- 7 Sirhindi G, Sharma P, Arya P, *et al.* Genome-wide characterization and expression profiling of TIFY gene family in pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) under copper stress [J]. *Plant Biochem Biotechnol*, 2016, 25: 301

(下转第 74 页)