

血清 MCP-1 在结直肠癌肝脏转移诊断及预后判断中的作用

胡书生, 孙立新, 孙力超, 韩璐璐, 杨治华, 冉宇靓, 齐 军
(北京协和医学院中国医学科学院肿瘤医院/肿瘤研究所, 北京 100021)

摘 要: [目的] 检测单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)在结直肠癌患者血清中的含量,分析其在结直肠癌患者肝脏转移诊断和预后判断中的应用潜力和价值。[方法] 采用 ELISA 方法定量检测 60 例健康人员及 155 例有随访资料的结直肠癌患者血清 MCP-1 水平,采用 SPSS17.0 软件进行数据检测分析。[结果] 结直肠癌患者血清 MCP-1 平均水平为 $260.7 \pm 111.4 \text{ pg/ml}$,明显高于正常人血清中的 $188.4 \pm 80.4 \text{ pg/ml}$ ($P < 0.001$)。在结直肠癌组中发生肝脏转移的患者血清 MCP-1 平均水平为 $347.7 \pm 118.7 \text{ pg/ml}$,显著高于无肝脏转移患者平均水平 $228.4 \pm 89.6 \text{ pg/ml}$ ($P < 0.001$)。Kaplan-Meier 生存分析显示,血清 MCP-1 低表达患者 ($< 251.9 \text{ pg/ml}$) 的中位生存期为 53 个月,而血清 MCP-1 高表达患者 ($> 251.9 \text{ pg/ml}$) 的中位生存期仅为 46 个月;前者的 3 年总生存率为 87.9%,而后者仅为 54.7% ($P < 0.001$)。Cox 比例风险回归模型分析显示,血清 MCP-1 水平可作为判断结直肠癌患者预后的独立因素 ($\text{HR} = 1.528, 95\% \text{ CI}: 1.093 \sim 2.135; P = 0.013$)。[结论] 结直肠癌患者血清 MCP-1 水平明显高于正常人。发生肝脏转移的结直肠癌患者血清 MCP-1 水平明显高于无肝脏转移患者。血清 MCP-1 在结直肠癌及其肝脏转移诊断中具有作为辅助诊断指标的应用潜力。同时血清 MCP-1 可作为结直肠癌患者预后判断的独立因素,具有重要的临床应用价值。

关键词: 肠癌; 肝脏转移; 单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)

中图分类号: R735.3⁵; R735.3⁷ **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2013)04-0312-05

Role of Serum MCP-1 on Diagnosis and Prognosis in Colorectal Liver Metastases

HU Shu-sheng, SUN Li-xin, SUN Li-chao, et al.

(Cancer Institute & Hospital, Peking Union Medical College and Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China)

Abstract: [Purpose] To detect serum monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1) level and analyze whether it is an independent diagnosis and prognostic factor in colorectal cancer with liver metastases. [Methods] A total of 155 patients diagnosed with colorectal cancer (CRC) and 60 healthy controls comprised our cohort. Preoperatively obtained serum samples were analyzed for levels of MCP-1 by ELISA. [Results] ELISA revealed significant higher serum concentrations of MCP-1 in CRC patients ($260.7 \pm 111.4 \text{ pg/ml}$) compared to those in healthy individuals ($188.4 \pm 80.4 \text{ pg/ml}$) ($P < 0.001$). Meanwhile, CRC patients with liver metastases had significant higher serum MCP-1 levels ($347.7 \pm 118.7 \text{ pg/ml}$) than those without liver metastases ($228.4 \pm 89.6 \text{ pg/ml}$) ($P < 0.001$). Elevated serum MCP-1 level significantly correlated with a poorer progress free survival ($P < 0.001$). The median PFS of patients with elevated serum MCP-1 level was 46 months ($95\% \text{ CI}: 25.4 \sim 51.6$ months), whereas that of patients with normal serum MCP-1 level was 53 months ($95\% \text{ CI}: 52.6 \sim 53.5$ months). In multivariate regression analysis, serum MCP-1 level was an independent predictor for OS in patients with colorectal cancer ($\text{hazard ratio} = 1.528, 95\% \text{ CI}: 1.093 \sim 2.135; P = 0.013$). [Conclusions] Serum MCP-1 level in patients with colorectal cancer is much higher than that in healthy person. It is also higher in patients with liver metastases than that without liver metastases. MCP-1 seems to be a promising factor to diagnose colorectal cancer and predict the outcome of these patients.

Key words: colorectal cancer; liver metastases; monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1)

结直肠癌是常见的恶性肿瘤之一。据报道,我国 2008 年结直肠癌发病率居恶性肿瘤第 3 位,死亡

率居第 5 位^[1]。近年来由于生活水平的提高和饮食习惯的改变,结直肠癌发病率逐年升高,已严重威胁人们的生命健康。结直肠癌患者死亡的首要原因是肝脏转移,约有 10%~25% 的患者在确诊时已合并肝脏转移,约 20%~25% 的患者在术后发生肝脏转移^[2]。未发生肝脏转移的结直肠癌患者的 5 年生存率超过

收稿日期:2012-11-16;修回日期:2013-01-10

基金项目:北京协和医学院协和青年基金;中国医学科学院肿瘤医院
基本科研业务费项目(2011JKB24)

通讯作者:冉宇靓,E-mail:Ran_yuliang@126.com;

齐军,E-mail:Qijun5610@126.com

70%,而发生肝脏转移患者的5年生存率不足40%^[3]。近年来由于肝转移灶切除技术的改进和创新以及新辅助化疗等治疗方式的应用,肝转移患者的5年生存率达35%~58%^[4]。结直肠癌肝转移的早期发现、早期治疗对于提高患者的生存率有重要意义。

单核细胞趋化蛋白1(MCP-1)为小分子分泌型蛋白,是一种CC类趋化因子。MCP-1可促进CC类趋化因子受体2(CC chemokine receptor 2,CCR2)阳性表达细胞增殖并诱导其转移^[5];通过刺激炎性细胞分泌TNF- β 、VEGF等,调节肿瘤细胞和内皮细胞的相互作用,促进肿瘤血管生成^[6];还具有降解细胞外基质从而促进肿瘤细胞的转移和侵袭的重要功能^[7]。有研究报道显示,结直肠癌组织中MCP-1的高表达与肝转移密切相关,癌组织中的MCP-1表达水平可作为患者预后判断的指标^[8]。

本研究采用ELISA方法检测结直肠癌患者血清MCP-1水平,并对被检患者进行跟踪随访,分析血清MCP-1与结直肠癌患者临床病理特征和预后的关系,评价其作为结直肠癌肝转移诊断及预后判断的血清分子标志物的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2006年12月至2008年4月在我院手术治疗并经病理确诊的155例结直肠癌患者的临床病历资料。其中未发生肝脏转移114例(无转移49例,单发淋巴结转移65例),发生肝脏转移41例。其中男性96例,女性59例,年龄30~89岁,中位年龄59岁。63例肿瘤发生于结肠,92例肿瘤发生于直肠。按世界卫生组织(WHO)病理分型标准:高分化25例,中分化106例,低分化24例。根据2010年国际抗癌联盟(UICC)结直肠癌分期标准:I期11例,II期38例,III期65例,IV期41例。同时将2006年5月至2007年9月健康体检人员设为对照组,其中男性36例,女性24例,年龄27~81岁,中位年龄56岁。

1.2 样本采集及检测

所有结直肠癌患者均于术前空腹静脉采血5ml,混匀,采集标本2h内4℃、3 000r/min离心15min,收集血清于-80℃冻存待检。健康人员也按上述方法采血。血清MCP-1含量检测采用美国R&D公司ELISA试剂盒(货号:DCP00),检测操作方法严

格按照试剂盒说明书进行。

1.3 随访

随访资料通过查询住院病历、电话随访获得。随访时间2~56个月,随访率100%。总生存期(overall survival,OS)定义为肿瘤患者手术日至患者死亡的日期,若随访截止日患者仍存活,OS则记录为手术日至最后1次随访的日期。结直肠癌患者的肝脏转移由B超、CT等影像学诊断确定。

1.4 统计学处理

采用SPSS17.0软件进行数据分析,血清MCP-1含量检测结果以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示;两组样本均数比较采用 t 检验;计数资料用 χ^2 检验。生存分析应用Kaplan-Meier方法并采用Log-Rank检验;Cox比例风险模型分析各预后相关因素。统计检验均为双侧检测, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清MCP-1检测水平

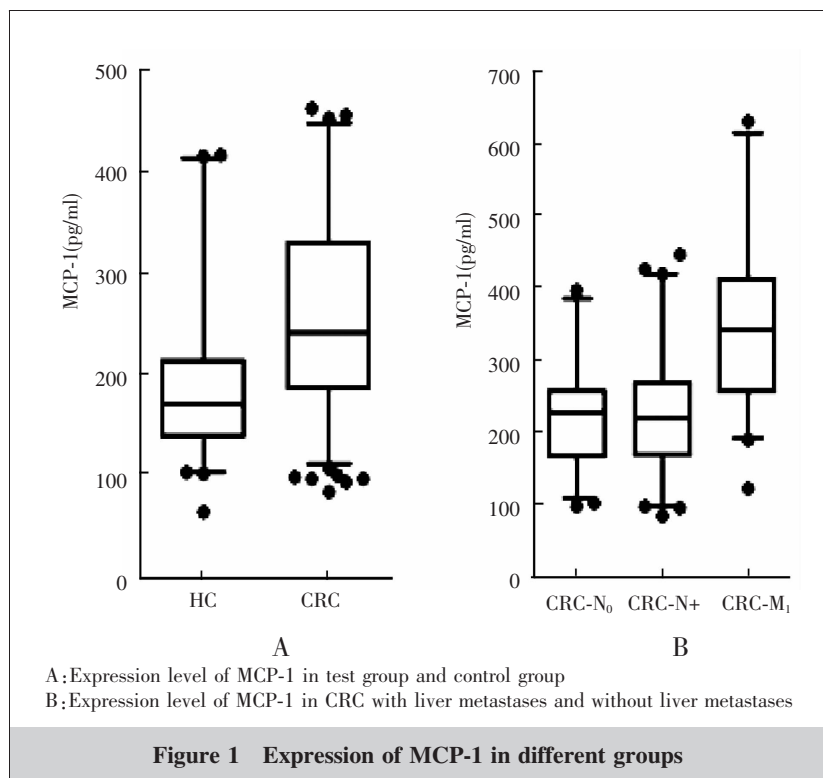
60例健康人员血清MCP-1水平为 188.4 ± 80.4 pg/ml,155例结直肠癌患者血清MCP-1水平为 260.7 ± 111.4 pg/ml,两者具有统计学差异($P<0.001$)。在结直肠癌患者中,无转移组患者血清MCP-1水平为 229.1 ± 88.9 pg/ml,单发淋巴结转移患者为 227.9 ± 90.7 pg/ml,两组无统计学差异($P=0.942$)。肝脏转移患者血清MCP-1水平为 347.7 ± 118.7 pg/ml,显著高于无转移和单发淋巴结转移患者($P<0.001$)(Figure 1)。

2.2 血清MCP-1水平与临床病理特征的关系

105例III~IV期结直肠癌患者血清MCP-1水平为 266.3 ± 115.8 pg/ml,明显高于I~II期患者(236.3 ± 87.6 pg/ml),差异具有统计学意义($P=0.008$)。无肝脏转移患者血清MCP-1水平为 228.4 ± 89.6 pg/ml,低于肝脏转移患者(347.7 ± 118.7 pg/ml),两组具有统计学差异($P<0.001$)。血清MCP-1水平在不同性别、年龄、肿瘤部位、分化程度、浸润深度、淋巴结转移组间均无统计学差异(Table 1)。

采用ROC曲线分析血清MCP-1诊断结直肠癌无肝脏转移及肝转移患者的潜能,曲线下面积(area under curve,AUC)为0.81(95%CI:0.735~0.884)。血清MCP-1水平为251.9pg/ml时具有最佳诊断效率,此时敏感度、特异性分别为78.6%和71.7%。

以血清MCP-1水平251.9pg/ml为界点,将结直



肠癌患者分为血清 MCP-1 低水平组 ($<251.9\text{pg/ml}$) 和高水平组 ($\geq 251.9\text{pg/ml}$), 血清 MCP-1 水平与两组患者临床分期、肝脏转移均密切相关 (P 均 <0.01) (Figure 2)。

2.3 血清 MCP-1 水平与生存期

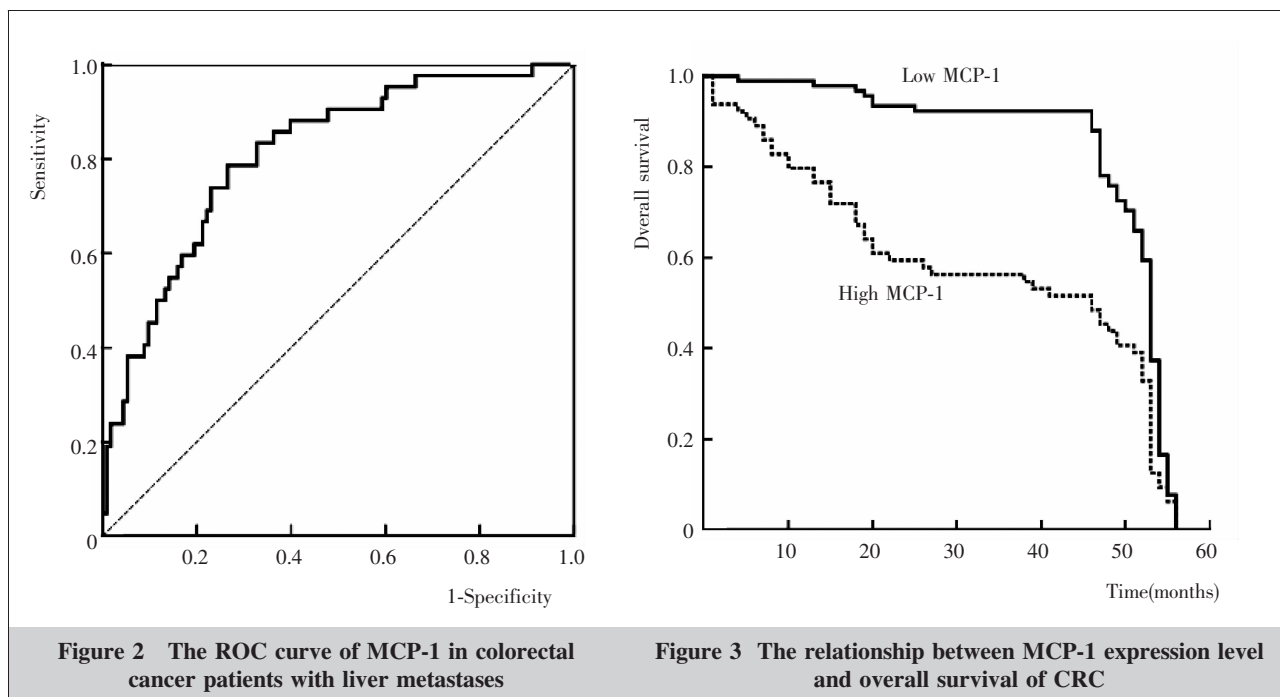
MCP-1 低水平组患者的中位生存期为 53 个月 (95%CI: 52.6~53.5 个月), 而高水平组患者的中位生存期仅为 46 个月 (95%CI: 25.4~51.6 个月), 比低水平组患者显著缩短。低水平组患者 3 年总生存率为 87.9%, 而高水平组仅为 54.7%, 两者差异具有统计学意义 ($P<0.001$)。

2.4 结直肠癌患者预后分析

以性别、年龄、肿瘤部位、分化程度、浸润深度、临床分期、肝转移情况及血清 MCP-1 水平 (≥ 251.9

Table 1 Expression level of MCP-1 in different groups and relationship between MCP-1 and clinicopathological features

Clinicopathologic features	N	MCP-1 (pg/ml)	<i>t</i>	<i>P</i> value	MCP-1		χ^2	<i>P</i> value
					Low(n=91)	High(n=64)		
Gender								
Male	96	261.2±116.7	0.064	0.949	55	41	0.209	0.737
Female	59	260.0±103.3			36	23		
Age(year)								
< 65	100	246.6±102.7	-2.048	0.053	61	39	2.051	0.177
≥65	55	286.4±122.6			27	28		
Tumor location								
Rectum	63	279.9±122.8	1.725	0.087	33	30	1.754	0.245
Colon	92	247.6±101.5			58	34		
Differentiation								
Well and moderate	131	255.4±101.1	-1.048	0.304	79	52	0.889	0.374
Poor	24	289.0±156.0			12	12		
TNM classification								
T ₁ ~T ₂	29	236.3±87.6	-1.557	0.125	18	11	0.166	0.835
T ₃ ~T ₄	126	266.3±115.8			73	53		
Lymph node metastasis								
N ₀	62	254.8±109.4	-0.544	0.587	41	21	2.346	0.137
N ₁	93	264.7±113.1			50	43		
TNM Stage								
I ~ II	49	229.1±88.9	-2.704	0.008*	37	12	8.343	0.005*
III ~ IV	106	275.3±118.0			54	52		
Liver invasion								
M ₀	113	228.4±89.6	-5.915	< 0.001*	82	31	33.03	< 0.001*
M ₁	42	347.7±118.7			9	33		



pg/ml)等因素行 Cox 比例风险回归模型分析,结果显示,血清 MCP-1 水平判断结直肠癌患者预后的危险比为 1.528(95%CI:1.093~2.135)。除临床分期和肝脏转移,血清 MCP-1 水平为影响结直肠癌患者的

独立预后因素(Table 2、3)。

3 讨论

Table 2 Univariate analysis of factors affecting the prognosis of CRC by Cox model

Clinicopathologic features	B	SE	Wald	HR	95%CI	P
Gender	0.127	0.182	0.483	1.135	0.794~1.622	0.487
Age	0.298	0.183	2.641	1.347	0.940~1.930	0.104
Tumor location	-0.393	0.178	4.877	0.675	0.477~0.957	0.276
Differentiation	0.383	0.230	2.781	1.466	0.935~2.300	0.095
TNM classification(T)	-0.227	0.215	1.120	0.797	0.523~1.214	0.290
Lymph node metastasis	0.157	0.374	0.176	1.170	0.562~2.434	0.675
TNM Stage	1.138	0.437	6.794	3.121	1.326~7.344	0.009*
Liver invasion	1.514	0.279	29.368	4.546	2.629~7.861	<0.001*
MCP-1 level	0.147	0.190	6.604	1.159	1.099~1.681	0.005*

Table 3 Multivariate analysis of factors affecting the prognosis of CRC by Cox model

Clinicopathologic features	B	SE	Wald	HR	95%CI	P
Gender	-0.053	0.166	0.101	1.015	0.709~1.453	0.935
Age	0.151	0.168	0.810	1.287	0.904~1.835	0.162
Tumor location	-0.31	0.164	3.577	0.646	0.457~0.912	0.611
Differentiation	0.243	0.222	1.199	1.458	0.929~2.287	0.101
TNM classification(T)	-0.116	0.208	0.311	0.872	0.575~1.322	0.518
Lymph node metastasis	1.181	0.191	38.079	0.375	0.202~0.696	0.153
TNM Stage	1.629	0.211	59.771	3.256	1.591~4.113	0.002*
Liver invasion	2.055	0.203	102.793	3.636	2.698~4.861	<0.001*
MCP-1 level	0.534	0.165	10.516	1.528	1.093~2.135	0.013*

MCP-1 是一种由内皮细胞、成纤维细胞、肿瘤细胞等多种细胞表达分泌的小分子趋化蛋白。MCP-1 通过 PI3K/AKT 通路促进肿瘤细胞增殖,同时通过上调生存素基因的表达,阻滞肿瘤细胞的自噬性凋亡^[9]。MCP-1 分子还与肿瘤血管生成密切相关,多项研究证明 MCP-1 可以促进多种促血管生成因子,例如血管内皮生成因子(VEGF)、Angiopoietin-2 及 IL-8 等分泌,刺激肿瘤血管生长,从而促进肿瘤组织的侵袭^[10,11]。另外,MCP-1 可以募集肿瘤相关巨噬细胞,并诱导其浸润肿瘤组织,刺激分泌多种细胞因子改变肿瘤微环境,从而促进肿瘤细胞的

增殖和侵袭^[12]。因此,MCP-1可促进肿瘤细胞的增殖和侵袭,在肿瘤发生、发展过程中具有重要的作用。

多项研究表明 MCP-1 在人结直肠癌组织中的表达与结直肠癌的发生与原位侵袭密切相关。Baier 等^[13]研究显示结直肠癌组织中 MCP-1 分子表达升高,同时 MCP-1 分子可诱导炎症细胞浸润并刺激金属基质蛋白酶 9 分泌,促进结直肠癌细胞的侵袭。Cheadle 等^[14]研究证明 MCP-1 分子在结直肠癌组织中表达升高,并且 MCP-1 分子与嗜酸细胞趋化因子 2(Eotaxin-2)表达相关,而后者是具有促进肿瘤细胞侵袭功能的细胞因子。Tanaka 等^[15]检测结直肠癌组织标本后发现,MCP-1 分子在癌旁组织中不表达,而在肿瘤组织中高表达,诱导炎症细胞分泌 VEGF 及环氧合酶 2(COX-2),从而促进肿瘤细胞的侵袭。

我们的研究进一步证明结直肠癌组织中 MCP-1 的表达与肝脏转移相关,Hu 等^[16]报道了 MCP-1 在发生肝脏转移的结直肠癌组织中高表达,而在未发生肝脏转移的结直肠癌组织中低表达或不表达,提示 MCP-1 在结直肠癌组织中的表达可能与肝脏转移相关。Yoshidome 等^[8]研究也证明 MCP-1 在结直肠癌中的表达与肝脏转移相关。MCP-1 作为小分子分泌型蛋白,具备成为血清肿瘤标志物的潜力,并且其促进肿瘤细胞侵袭和营造转移“巢穴”的功能提示该分子可能在结直肠癌形成转移灶的中后期发挥重要作用。

本研究中,我们发现结直肠癌患者血清 MCP-1 水平显著高于健康人,并且血清 MCP-1 水平与患者的临床分期密切相关,这之前研究中组织表达水平的检测结果一致,均提示了结直肠癌细胞 MCP-1 的表达与结直肠癌发生、发展密切相关。值得一提的是,我们的研究还发现发生肝脏转移的结直肠癌患者血清 MCP-1 水平比无肝脏转移的患者显著性升高,MCP-1 有望作为一种判断患者是否发生肝转移的检测指标。血清 MCP-1 水平与结直肠癌患者的预后相关,高表达组患者生存期明显缩短,同时 Cox 回归模型多因素分析证明 MCP-1 可作为判断结直肠癌患者预后的独立因素。本研究的结果提示检测患者血清 MCP-1 水平在结直肠癌肝转移辅助诊断及预后判断中具有重要作用,并且基于血清标志物具有检测方便、可重复性检测等优势,检测患者血清 MCP-1 水平特别是对于动态监测结直肠癌患者的预

后将有重要意义。血清 MCP-1 水平在结直肠癌诊断中有重要的临床应用潜力和价值,进一步研究确定其与结直肠癌患者肝转移,甚至分别与同时性肝转移和异时性肝转移之间的关系,将可能成为预测结直肠癌患者肝转移血清肿瘤标志物。

参考文献:

- [1] Zheng RS,Zhang SW,Wu LY,et al.Report of incidence and mortality from China cancer registries in 2008[J].China Cancer,2012,1(21):1-12.
- [2] Brooks AJ,Wang F,Alfredson M,et al. Synchronous liver resection and cryotherapy for colorectal metastases: survival analysis[J].Surgeon,2005,3(4):265-268.
- [3] McMillan DC,McArdle CS.Epidemiology of colorectal liver metastases[J].Surg Oncol,2007,16(1):3-5.
- [4] Kato T,Yasui K,Hirai T,et al. Therapeutic results for hepatic metastasis of colorectal cancer with special reference to effectiveness of hepatectomy: analysis of prognostic factors for 763 cases recorded at 18 institutions[J]. Dis Colon Rectum,2003,46(10):s22-s31.
- [5] Izhak L,Wildbaum G,Jung S,et al.Dissecting the autocrine and paracrine roles of the CCR2-CCL2 axis in tumor survival and angiogenesis[J].PLoS One,2012,7(1):1-10.
- [6] Wang S,Xu M,Li F,et al.Ethanol promotes mammary tumor growth and angiogenesis:the involvement of chemoattractant factor MCP-1[J].Breast Cancer Res Treat,2012,133(3):1037-1048.
- [7] Yang X,Lu P,Ishida Y,et al. Attenuated liver tumor formation in the absence of CCR2 with a concomitant reduction in the accumulation of hepatic stellate cells, macrophages and neovascularization[J]. Int J Cancer,2006,118(2):335-345.
- [8] Yoshidome H,Kohno H,Shida T,et al. Significance of monocyte chemoattractant protein-1 in angiogenesis and survival in colorectal liver metastases[J].Int J Oncol,2009,34(4):923-930.
- [9] Roca H,Varsos ZS,Mizutani K,et al. CCL2,survivin and autophagy: new links with implications in human cancer [J].Autophagy,2008,4(7):969-971.
- [10] Ueno T,Toi M,Saji H,et al. Significance of macrophage chemoattractant protein-1 in macrophage recruitment, angiogenesis, and survival in human breast cancer [J].Clin Cancer Res,2000,6(8):3282-3289.
- [11] Mitsuhashi N,Shimizu H,Ohtsuka M,et al. Angiopoietins and Tie-2 expression in angiogenesis and proliferation of human hepatocellular carcinoma [J]. Hepatology,2003,37(5):1105-1113.
- [12] Hembuff SL,Jokar I,Yang L,et al. Loss of transforming growth factor-beta signaling in mammary fibroblasts enhances CCL2 secretion to promote mammary tumor progression through macrophage-dependent and independent mechanisms[J]. Neoplasia,2010,12(5):425-433.
- [13] Baier PK,Eggstein S,Wolff-Vorbeck G,et al. Chemokines in human colorectal carcinoma[J].Anticancer Res,2005,25(5):3581-3584.
- [14] Cheadle EJ,Riyad K,Subar D,et al. Eotaxin-2 and colorectal cancer: a potential target for immune therapy[J].Clin Cancer Res,2007,13(19):5719-5728.
- [15] Tanaka S,Tatsuguchi A,Futagami S,et al.Monocyte chemoattractant protein 1 and macrophage cyclooxygenase 2 expression in colonic adenoma[J]. Gut,2006,55(1):54-61.
- [16] Hu H,Sun L,Guo C,et al. Tumor cell-microenvironment interaction models coupled with clinical validation reveal CCL2 and SLC6 as two predictors of colorectal cancer hepatic metastasis[J].Clin Cancer Res,2009,15(17):5485-5493.