

肠癌组织铁调素和膜转铁蛋白的表达及其与临床病理特征、贫血的关系

程旭, 陆晔, 李蓉, 严敏, 潘湘涛

苏州大学附属太仓医院血液肿瘤科, 江苏 苏州 215400

摘要: **目的** 探讨肠癌患者与铁代谢相关的铁调素、膜转铁蛋白(FPN)的表达特点及其与临床特征、贫血的相关性。**方法** 选取2009年1月至2014年1月在苏州大学附属太仓医院手术切除的62例肠癌患者的病理标本,另选择15例肠癌患者的癌旁正常肠粘膜组织作为对照组。应用SABC免疫组化方法检测62例肠癌患者癌组织中的铁调素及FPN的表达情况,并分析它们之间的相关性及其与临床病理特征、贫血的关系。**结果** (1)铁调素在正常肠黏膜组织中阳性表达率为20.0%,肠癌组织中阳性表达率为66.1%,差异有统计学意义($P < 0.01$);FPN在正常肠黏膜组织中阳性表达率为86.7%,肠癌组织中阳性表达率为64.5%,差异无统计学意义($P > 0.05$)。(2)铁调素的表达与肿瘤T分期有关($P < 0.05$),而与年龄、性别、淋巴结转移、远处转移均无关(P 均 > 0.05);FPN的表达与T分期及淋巴结转移有关($P < 0.05, P < 0.01$),而与年龄、性别、远处转移均无关(P 均 > 0.05)。(3)贫血与铁调素及FPN的表达无相关性($r = 0.08, -0.04; P$ 均 > 0.05);铁调素与FPN表达呈负相关($r = -0.39, P < 0.01$)。**结论** 肠癌组织中铁调素的表达与患者肿瘤分期有关,并与FPN表达呈负相关,FPN表达与肿瘤分期及淋巴结转移有关。联合检测铁调素及FPN可作为反映肠道肿瘤生物学行为的客观指标。肠道肿瘤患者术前贫血与肿瘤组织中铁调素及FPN的表达无关。

关键词: 铁调素; 膜转铁蛋白; 肠癌; 贫血; TNM分期; 淋巴结转移; 远处转移

中图分类号: R 735.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2015)03-0286-04

Expressions of hepcidin and ferroportin in colorectal cancer and their associations with clinico-pathological features and anemia

CHENG Xu, LU Ye, LI Rong, YAN Min, PAN Xiang-tao

Department of Hematology and Oncology, Taicang Hospital Affiliated to Suzhou University, Taicang, Jiangsu 215400, China

Corresponding author: PAN Xiang-tao, E-mail: panxiangtao@cscs.org.cn

Abstract: Objective To study the expression features of iron metabolism-related hepcidin and ferroportin (FPN) in patients with colorectal cancer and their associations with clinical features and anemia. **Methods** The pathological specimens of 62 colorectal cancer patients that were surgically removed between January 2009 and January 2014 were collected, and matched normal intestinal mucosa tissues of para-carcinoma of 15 patients with colorectal cancer were selected as control. The expressions of hepcidin and FPN were detected by immunohistochemistry, and the correlation between them, their associations with clinico-pathological features and anemia were analyzed. **Results** The expression rate of hepcidin in colorectal cancer tissues increased compared with normal intestinal mucosa tissues (66.1% vs 20.0%, $P < 0.01$). There was no significant difference in FPN expression rate between colorectal cancer tissues and normal intestinal mucosa tissues (64.5% vs 86.7%, $P > 0.05$). The expression rate of hepcidin was related to staging of tumor ($P < 0.05$), but were not related to age, gender, lymph node metastasis and distant metastasis (all $P > 0.05$). The expression of FPN was related to staging of tumor and lymph node metastasis ($P < 0.05, P < 0.01$), but was not related to age, gender and distant metastasis (all $P > 0.05$). The anemia was not correlated with the expressions of hepcidin and FPN ($r = 0.08, -0.04$, all $P > 0.05$). The hepcidin expression was negatively correlated with FPN expression ($r = -0.39, P < 0.01$). **Conclusions** The expression of hepcidin in colorectal cancer tissues is related to the staging of tumor, and negatively correlated with the FPN expression. The FPN expression is related to the staging of tumor and lymph node metastasis. The joint detection of hepcidin and FPN can serve as an objective index reflecting the biologic behavior of colorectal cancer. The preoperative anemia in gastrointes-

tinal tumor patients is not related to the expressions of hepcidin and FPN in tumor tissues.

Key words: Hepcidin; Ferroportin; Gastrointestinal tumor; Anemia; TMN staging; Lymph node metastasis; Distant metastasis

近年来研究表明,铁代谢紊乱在肠道肿瘤的发生、发展中起重要作用。而铁调素(hepcidin)来自于一个含 84 个氨基酸前多肽的 C 末端,富含半胱氨酸,其铁调素基因位于 19 号染色体上;被认为是调节铁代谢的关键因素之一。铁调素是通过影响膜转铁蛋白(ferroportin, FPN)的表达,从而来调节人体内铁的含量,达到影响肿瘤细胞增殖的作用。同样肿瘤患者存在贫血,除了和失血有关外,还可能与其铁代谢紊乱有关。本研究采用 SABC 免疫组化方法测定 62 例肠癌患者病理组织标本中的铁调素及 FPN 的表达情况,并分析两者与临床特征、术前贫血之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2009 年 1 月至 2014 年 1 月在苏州大学附属太仓医院手术切除的 62 例肠癌患者存档蜡块,均经病理学检查确诊,术前均未行化疗或放疗。其中男 39 例,女 23 例;中位年龄 66 岁。以 Hb 值男性 < 120.0 g/L 和女性 < 110.0 g/L 作为临床贫血的诊断标准,62 例中贫血 21 例,无贫血者 41 例。TNM 分期符合全国肠癌协作组病理组规定标准, T1、T2 期 16 例, T3、T4 期 46 例。有淋巴结转移 31 例,无淋巴结转移 31 例。有远处转移 7 例,无远处转移 55 例。另选年龄、性别、TNM 分期相匹配的 15 例肠癌患者的癌旁正常肠黏膜组织作为对照组。

1.2 方法 试剂盒均购自武汉博士德生物工程有限公司。采用 SABC 免疫组织化学染色法,所有石蜡标本均进行 $5\ \mu\text{m}$ 切片,连续切 4 张,置于 60°C 烤箱内烤 30 min;均分别予二甲苯脱蜡、无水酒精及其他不同浓度酒精脱蜡,自来水洗 2 min 水化。一张切片进行 HE 染色复核病理诊断、其余 3 张 SABC 染色,严格按试剂盒说明书操作。以 PBS 代替一抗做阴性对照。

1.3 结果判定 以细胞质和细胞浆被染成棕黄色或黄褐色为阳性。高倍镜下随机选取 5 个视野,按照瘤细胞着色的深度计分,染色强度浅黄色 1 分,棕黄色 2 分,棕褐色 3 分。按照阳性细胞数记分,阳性细胞数 $\sim 10\%$ 0 分, $\sim 25\%$ 1 分, $\sim 50\%$ 2 分; $\sim 75\%$ 3 分, 75% 以上 4 分。两个分值相乘,0 分为阴性,记为 (-); 1~4 分为弱阳性,记为 (+); 5~8 分为中度阳性(++); > 8 分为强阳性(+++)。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析。计数资料采用 χ^2 检验,贫血与铁调素、FPN 表达的相关性,以及铁调素与 FPN 表达的相关性采用 Spearman 等级相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

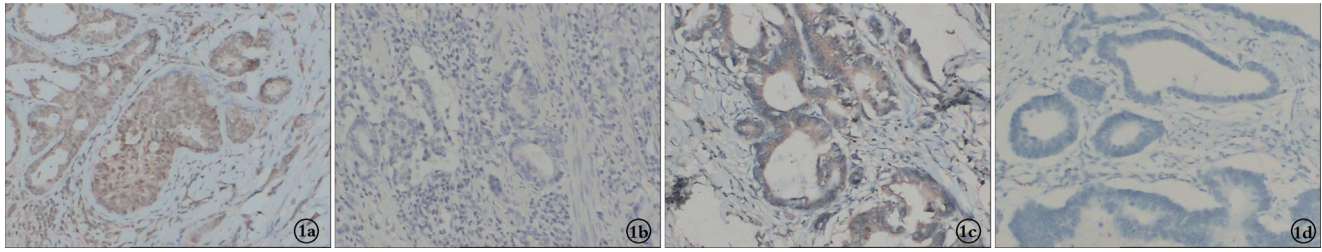
2 结果

2.1 肠癌组织中铁调素表达情况 铁调素在正常肠黏膜组织中阳性表达率为 20.0% (3/15),肠癌组织中阳性表达率为 66.1% (41/62),差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。T1、T2 期和 T3、T4 期阳性表达率分别为 43.8% 和 73.9%,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。有淋巴结转移和无淋巴结转移阳性表达率分别为 74.2% 和 58.1%,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。有远处转移和无远处转移阳性表达率分别为 85.7% 和 63.6%,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 1、表 1。

2.2 肠癌组织中 FPN 表达情况 FPN 在正常肠黏膜组织中阳性表达率为 86.7% (13/15),肠癌组织中阳性表达率为 64.5% (40/62),差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。T1、T2 期和 T3、T4 期阳性表达率分别为 87.5% 和 56.5%,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。有淋巴结转移和无淋巴结转移阳性表达率分别为 48.4% 和 80.6%,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。有远处转移和无远处转移阳性表达率分别为 57.1% 和 65.5%,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 1、表 1。

2.3 贫血与铁调素、FPN 表达的相关性分析 铁调素阳性表达 41 例中,贫血 15 例,无贫血 26 例;铁调素表达阴性 21 例中,贫血 6 例,无贫血 15 例。经 Spearman 等级相关检验,贫血与铁调素表达无相关性 ($r = 0.08, P > 0.05$)。FPN 阳性表达 40 例,贫血 13 例,无贫血 27 例;FPN 表达阴性 22 例中,贫血 8 例,无贫血 14 例。经 Spearman 等级相关检验,贫血与 FPN 表达无相关性 ($r = -0.04, P > 0.05$)。

2.4 铁调素与 FPN 表达的相关性 铁调素阳性表达 41 例中,FPN 阳性表达 21 例,阴性 20 例;铁调素表达阴性 21 例中,FPN 阳性表达 19 例,阴性 2 例。经 Spearman 等级相关检验,铁调素与 FPN 表达呈负相关 ($r = -0.39, P < 0.01$)。



注:1a:铁调素阳性;1b:铁调素阴性;1c:FPN 阳性;1d:FPN 阴性。

图 1 铁调素与 FPN 表达情况(SABC 免疫组化染色, ×100)

表 1 肠癌组织中铁调素和 FPN 表达与临床特征、贫血的关系 (n = 62, 例)

项目	铁调素				FPN			
	阴性	阳性	χ^2 值	P 值	阴性	阳性	χ^2 值	P 值
年龄(岁)								
≤60	5	14	0.70	>0.05	9	10	1.69	>0.05
>60	16	27			13	30		
性别								
男	15	24	0.99	>0.05	13	26	0.21	>0.05
女	6	17			9	14		
T 分期								
T1、T2	9	7	4.82	<0.05	2	14	4.98	<0.05
T3、T4	12	34			20	26		
淋巴结转移								
有	8	23	1.80	>0.05	16	15	7.05	<0.01
无	13	18			6	25		
远处转移								
有	1	6	1.52	>0.05	3	4	0.19	>0.05
无	20	35			19	36		

3 讨论

铁是一切生命体不可缺少的元素,也是人体中最丰富的过渡金属,它广泛参与重要的生命代谢过程,在 DNA 的合成、电子传递、氧运送等过程中起着重要的作用;此外,参加三羧酸循环的酶和辅酶约半数均含有铁或需要铁的存在。在肿瘤的增殖和分化中铁可能作为一个协同因子起促进作用,因此很多肿瘤表现出对铁的需要增加。而调节铁代谢的各种蛋白的异常表达可明显影响肿瘤的增殖、转移^[1-3]。

Bookes 等^[4]研究表明,肠癌患者的 FPN 表达下调,肠癌患者的肿瘤组织中细胞内铁增多并与肿瘤的增殖有关,同时细胞内铁的增多可导致钙粘蛋白的表达下调,从而增加肿瘤的侵袭性和转移性。也有研究表明,细胞内铁的增多可能通过刺激 Wnt 信号途径促进肿瘤的发生、发展^[5-6]。Ward 等^[7]研究表明,肠癌患者的铁调素表达与 T 分期有关。本文结果显示,高的 T 分期(T3、T4)肠癌患者存在铁调素高表达及 FPN 低表达;铁调素及 FPN 的表达与肿瘤的局部侵袭性存在相关性,而 FPN 的低表达还与局部淋巴结转移有关;但铁调素及 FPN 表达水平与远处转移无关,但由于本组远处转移患者例数较少,尚需要进一步证实。

本文结果显示,铁调素与 FPN 表达呈负相关,说明在肠道肿瘤中 FPN 可能是铁调素的下游靶点之一,铁调素通过促使 FPN 表达降低及诱导 FPN 的降解来调节铁代谢^[8-9]。

贫血是肠道肿瘤患者常见症状,可显著降低患者的生存质量,因此成为肿瘤临床治疗的一个重要方面。引起肿瘤患者贫血的原因很多,除失血和放化疗影响外,以铁代谢紊乱为基础的慢性病贫血也被认为是重要原因之一,而铁调素被认为在慢性病贫血中起关键作用^[10-11]。铁调素表达水平升高促使 FPN 表达降低及诱导 FPN 降解,使细胞内铁贮留,减少铁的输出,最终导致铁失利用及贫血^[12-14]。笔者既往的研究也表明在术后放化疗患者及晚期肿瘤贫血患者血清中铁调素起重要作用^[15]。但对于未经放化疗的术前肠道肿瘤患者,其贫血是否跟肿瘤组织标本中的铁调素及其相关因素的表达水平有关,还有待进一步的研究。与 Ward 等^[7]的研究一致,本研究结果表明肠道肿瘤组织中的铁调素及 FPN 表达在有贫血及无贫血肠癌患者中无区别。原因考虑为引起术前患者的贫血的重要原因之一可能是慢性失血或由此导致的铁的缺乏;另外,肿瘤组织中局部的铁调素水平,并不能代表患者全身的铁调素水平。因此肠道肿瘤患者术前贫血与肿瘤组织中铁调素及 FPN 的表达

无关。

综上所述,肠癌组织中铁调素表达增高与患者肿瘤分期有关,并与 FPN 呈负相关。联合检测铁调素及 FPN 的表达情况可作为反映肠道肿瘤的生物行为的客观指标。肠癌患者术前贫血与肿瘤组织中铁调素及 FPN 的表达无关。

参考文献

[1] Alkhateeb AA, Connor JR. The significance of ferritin in cancer: anti-oxidation, inflammation and tumorigenesis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1836(2): 245-254.

[2] VanderWall K, Daniels-Wells TR, Penichet M, et al. Iron in multiple myeloma [J]. *Crit Rev Oncog*, 2013, 18(5): 449-461.

[3] Tirmitz-Parker JE, Glanfield A, Olynyk JK, et al. Iron and hepatic carcinogenesis [J]. *Crit Rev Oncog*, 2013, 18(5): 391-407.

[4] Bookes MJ, Boulton J, Roberts K, et al. A role for iron in Wnt signalling [J]. *Oncogene*, 2008, 27(7): 966-975.

[5] Bienz M, Clevers H. Linking colorectal cancer to Wnt signaling [J]. *Cell*, 2000, 103(2): 311-320.

[6] Torti SV, Torti FM. Iron and cancer: more ore to be mined [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(5): 342-355.

[7] Ward DG, Roberts K, Brookes MJ, et al. Increased hepcidin expression in colorectal carcinogenesis [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14

(9): 1339-1345.

[8] Dürrenberger F, Abbate V, Ma Y, et al. Functional characterization of fluorescent hepcidin [J]. *Bioconjug Chem*, 2013, 24(9): 1527-1532.

[9] Atanasiu V, Manolescu B, Stoian I. Hepcidin--central regulator of iron metabolism [J]. *Eur J Haematol*, 2007, 78(1): 1-10.

[10] Gangat N, Wolanskyj AP. Anemia of chronic disease [J]. *Semin Hematol*, 2013, 50(3): 232-238.

[11] Means RT. Hepcidin and cytokines in anaemia [J]. *Hematology*, 2004, 9(5-6): 357-362.

[12] Beguin Y, Aapro M, Ludwig H, et al. Epidemiological and nonclinical studies investigating effects of iron in carcinogenesis--a critical review [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2014, 89(1): 1-15.

[13] Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization [J]. *Science*, 2004, 306(5704): 2090-2093.

[14] Fleming RE, Sly WS. Hepcidin: a putative iron-regulatory hormone relevant to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(15): 8160-8162.

[15] 潘湘涛, 陆晔, 程旭, 等. 癌性贫血患者血清 Hepcidin 及炎症介质因子 LPS 和 IL-6 表达及其意义 [J]. *中国实验诊断学*, 2012, 16(1): 55-57.

收稿日期: 2014-11-10 修回日期: 2014-12-10 编辑: 王国品

(上接第 285 页)

[3] Bhattacharya P, Sengupta S. Lack of evidence that proline homozygosity at codon 72 of p53 and rare arginine allele at codon 31 of p21, jointly mediate cervical cancer susceptibility among Indian women [J]. *Gynecol Oncol*, 2005, 99(1): 176-182.

[4] Lee SA, Kim JW, Roh JW, et al. Genetic polymorphisms of GSTM1, p21, p53 and HPV infection with cervical cancer in Korean women [J]. *Gynecol Oncol*, 2004, 93(1): 14-18.

[5] 卢实, 王泽华. 宫颈癌中 p21WAF1 和 CyclinD1 的表达与预后 [J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2004, 33(1): 68-70.

[6] Li D, Cai J, Kuang Y, et al. Surgical-pathologic risk factors of pelvic lymph node metastasis in stage Ib1-IIb cervical cancer [J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2012, 91(7): 802-809.

[7] Hosaka M, Watarai H, Mitamura T, et al. Survival and prognosticators of node-positive cervical cancer patients treated with radical hysterectomy and systematic lymphadenectomy [J]. *Int J Clin Oncol*, 2011, 16(1): 33-38.

[8] Sun JR, Zhang YN, Sun XM, et al. Prediction model of pelvic lymph node metastasis in early stage cervical cancer and its clinical value [J]. *Minerva Chir*, 2011, 66(6): 537-545.

[9] Gong L, Lou JY, Wang P, et al. Clinical evaluation of neoadjuvant

chemotherapy followed by radical surgery in the management of stage IB2-IIb cervical cancer [J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2012, 117(1): 23-26.

[10] Natsugoe S, Arigami T, Uenosono Y, et al. Lymph node micrometastasis in gastrointestinal tract cancer--a clinical aspect [J]. *Int J Clin Oncol*, 2013, 18(5): 752-761.

[11] van de Lande J, von Mensdorff-Pouilly S, Lettinga RG, et al. Open versus laparoscopic pelvic lymph node dissection in early stage cervical cancer: no difference in surgical disease outcome [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2012, 22(1): 107-114.

[12] 张明, 孟和宝力高, 郭兰英, 等. p21 基因与肿瘤的研究进展 [J]. *中国煤炭工业医学杂志*, 2011, 14(9): 1410-1411.

[13] Mitrea DM, Yoon MK, Ou L, et al. Disorder-function relationships for the cell cycle regulatory proteins p21 and p27 [J]. *Biol Chem*, 2012, 393(4): 259-274.

[14] He H, Baldwin GS. p21-activated kinases and gastrointestinal cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833(1): 33-39.

[15] 姜兰兰, 方五旺, 林丙来. 转染 p21 基因对人宫颈癌 Hela 细胞的影响 [J]. *安徽医药*, 2009, 13(10): 1223-1225.

收稿日期: 2014-12-02 修回日期: 2014-12-28 编辑: 王国品