

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.10.009
文章编号: 1005-8982(2020)10-0045-05

脱嘌呤脱嘧啶核酸内切酶 1 在结直肠癌组织中的表达及临床意义

翁寿向, 杨佩浓

(浙江省台州医院 病理科, 浙江 临海 317000)

摘要: 目的 探讨脱嘌呤脱嘧啶核酸内切酶 1 (APE1) 在结直肠癌组织中的表达及其与临床病理特征和预后的关系。**方法** 选取 2015 年 10 月—2017 年 9 月浙江省台州医院收治的 100 例结直肠癌患者的结直肠癌组织及其癌旁组织 (距离肿瘤切缘 ≥ 5 cm) 标本, 组织标本采集后立即放入液氮中保存。免疫组织化学 (HE) 染色测定结直肠癌和癌旁组织中 APE1 蛋白表达。**结果** APE1 在结直肠癌组织中表达率高于癌旁组织 ($P < 0.05$)。APE1 在不同肿瘤大小、肿瘤分期、是否淋巴结转移及是否远处转移的表达比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。肿瘤直径 ≥ 5 cm、肿瘤分期 III 和 IV 期、有淋巴结转移及有远处转移结直肠癌组织中 APE1 阳性表达率高于肿瘤直径 < 5 cm、肿瘤分期 I 和 II 期、无淋巴结转移及无远处转移者 ($P < 0.05$)。APE1 在不同年龄、性别、肿瘤位置及分化程度表达比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。APE1 高表达组总生存率低于 APE1 低表达组 ($P < 0.05$)。Cox 比例风险模型分析显示, APE1 表达 [$\hat{HR}=1.198$ (95% CI: 1.102, 1.276), $P=0.000$]、肿瘤分期 [$\hat{HR}=1.426$ (95% CI: 1.358, 1.492), $P=0.000$]、淋巴结转移 [$\hat{HR}=1.384$ (95% CI: 1.306, 1.457), $P=0.000$]、远处转移 [$\hat{HR}=1.735$ (95% CI: 1.164, 2.237), $P=0.000$] 为结直肠癌总生存期的独立影响因素。**结论** 结直肠癌组织中 APE1 表达升高, APE1 与结直肠癌的肿瘤大小、肿瘤分期、淋巴结转移、远处转移及预后关系密切。

关键词: 结直肠肿瘤; 肿瘤分期; 肿瘤转移; 预后

中图分类号: R735.35; R735.37

文献标识码: A

Expression and clinical significance of apurin and apyrimidine endonuclease 1 in colorectal cancer

Shou-xiang Weng, Pei-nong Yang

(Department of Pathology, Taizhou Hospital of Zhejiang Province, Linhai, Zhejiang 317000, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of apurin and apyrimidine endonuclease 1 (APE1) in colorectal cancer and its relationship with clinicopathological characteristics and prognosis. **Methods** Colorectal cancer tissues and their adjacent tissues of 100 colorectal cancer patients from October 2015 to September 2017 in Taizhou Hospital of Zhejiang Province were selected. Immunohistochemical staining was used to determine the expression of APE1 protein in colorectal cancer tissues and adjacent tissues. **Results** The high expression rate of APE1 in colorectal cancer tissues was higher than that in adjacent tissues ($P < 0.05$). APE1 expression was significantly different in different tumor sizes, tumor stages, lymph node metastasis and distant metastasis ($P < 0.05$). APE1 positive expression rate of patients with tumor diameter ≥ 5 cm, tumor stage III-IV, lymph node metastasis, distant metastasis in colorectal cancer tissues were higher than patients with tumor diameter < 5 cm, tumor stage I-II, no lymph node metastasis and no distant Transferer. There were no significant difference in the expression of APE1 in different ages, genders, tumor locations and degrees of differentiation ($P > 0.05$). The overall survival rate

收稿日期: 2019-12-16

of the APE1 high expression group was lower than that of the APE1 low expression group ($P < 0.05$). The analysis of COX proportional hazard model showed: APE1 expression [$\hat{HR}=1.198$ (95% CI: 1.102, 1.276), $P = 0.000$], tumor stage [$\hat{HR}=1.426$ (95% CI: 1.358, 1.492), $P = 0.000$], lymph node metastasis [$\hat{HR}=1.384$ (95% CI: 1.306, 1.457), $P = 0.000$], distant metastasis [$\hat{HR}=1.735$ (95% CI: 1.164, 2.237), $P = 2.237$] were independent influencing factors for the overall survival of colorectal cancer. **Conclusion** APE1 expression is increased in colorectal cancer tissues. APE1 is closely related to tumor size, tumor stage, lymph node metastasis, distant metastasis and prognosis of colorectal cancer.

Keywords: colorectal neoplasms; neoplasm staging; neoplasm metastasis; prognosis

结直肠癌为最常见的消化系统恶性肿瘤之一，发病率和病死率较高，近年来发病率呈递增趋势。大部分结直肠癌患者初诊时已为中晚期，预后较差。结直肠癌的治疗虽然已取得较大进步，但是治愈率和生存率提高不明显，仍存在转移风险高、缺乏有效的治疗靶点等问题。因此，寻找结直肠癌新的基因作为治疗靶点具有重要意义。脱嘌呤脱嘧啶核酸内切酶 1 (apurinic/aprimidinic endonuclease 1, APE1) 被证实多种恶性肿瘤中表达^[1]，为脱嘌呤/嘧啶内切酶的主要活性成分，其高表达和多种恶性肿瘤的发生发展以及预后关系密切^[2-3]。本文对结直肠癌组织中 APE1 表达及其与临床病理特点和预后的关系进行研究，探讨其在结直肠癌中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2015 年 10 月—2017 年 9 月浙江省台州医院收治的 100 例结直肠癌患者的结直肠癌组织及其癌旁组织 (距离肿瘤切缘 ≥ 5 cm) 标本，组织标本采集后立即放入液氮中保存。其中，男性 56 例，女性 44 例；年龄 (62.75 ± 8.43) 岁；结肠癌 46 例，直肠癌 54 例；肿瘤直径 (4.72 ± 2.37) cm；肿瘤分期：I 期 37 例，II 期 26 例，III 期 28 例，IV 期 9 例；分化程度：低分化 35 例，中分化 38 例，高分化 27 例；淋巴结转移 25 例；远处转移 18 例。纳入标准：①临床资料完整；②病理证实为结直肠癌；③足够样本量行免疫组织化学染色；④接受随访。排除标准：①结直肠癌复发；②其他部位恶性肿瘤；③既往接受放疗等其他治疗。本研究通过医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 试剂与仪器 鼠抗人 APE1 单克隆抗体、二抗及 DAB 显色剂均购自北京中杉金桥生物技术有限公司，艾博抗购自上海贸易有限公司，广东美的公司 WK2102 电磁炉，APE1 购自英国 Abcam 公司。

1.2.2 HE 染色测定结直肠癌和癌旁组织中 APE1 蛋白表达 将结直肠癌和癌旁组织石蜡切片经脱蜡、抗原修复，采用过氧化氢去除内源性过氧化物酶，封闭液封闭 30 min，加入鼠抗人 APE1 单克隆抗体 (1 : 300) 过夜孵育；加入山羊抗小鼠二抗 (1 : 1000) 孵育 1 h，加入 DAB 显色液显色，显微镜下拍照观察。结果判断：APE1 阳性产物主要位于细胞核，根据细胞染色程度和阳性细胞染色率判断阳性细胞。染色程度：不着色计 0 分；淡棕黄色计 1 分；深棕褐色计 3 分；淡棕黄色和深棕褐色之间计 2 分。细胞染色率：染色率 $\leq 5\%$ 为 0 分，染色率 $>5\% \sim 25\%$ 为 1 分；染色率 $>25\% \sim 50\%$ 为 2 分；染色率 $>50\% \sim 75\%$ 为 3 分；染色率 $>75\%$ 为 4 分。细胞染色程度和染色率相乘得到总分：0 ~ 3 分为低表达；4 ~ 12 分为高表达^[4]。

1.3 随访

随访时间从病理确诊开始至患者死亡或随访截止时间。随访截止时间为 2019 年 9 月 30 日，随访方式为门诊随访或电话随访。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件。计数资料以率 (%) 表示，比较用 χ^2 检验，Kaplan-Meie 法绘制生存曲线，预后影响因素用 Cox 比例风险模型分析， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 APE1 在结直肠癌和癌旁组织中的表达

细胞核呈棕黄色或棕褐色为阳性细胞。APE1 在癌旁组织中低表达，在癌组织中高表达。见图 1。

APE1 在结直肠癌和癌旁组织中的表达率比较，经 χ^2 检验，差异有统计学意义 ($\chi^2=42.388$, $P=0.000$)，APE1 在结直肠癌组织中的表达率高于癌旁组织 (71.00% VS 25.00%)。

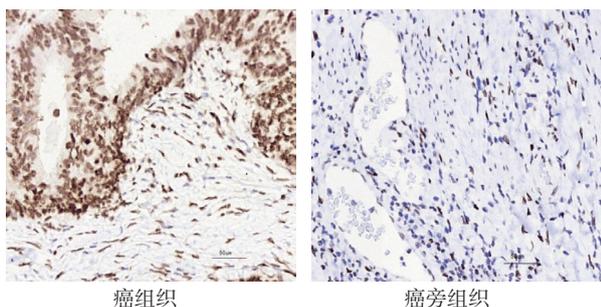


图 1 APE1 在结直肠癌和癌旁组织中的表达 (HE 染色 × 400)

2.2 APE1 表达与结直肠癌临床病理特征的关系

APE1 在不同肿瘤大小、肿瘤分期、有无淋巴结转移及是否远处转移的表达比较, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 肿瘤直径 ≥ 5 cm、肿瘤分期 III 和 IV 期、有淋巴结转移及有远处转移结直肠癌组织中 APE1 阳性表达率高于肿瘤直径 < 5 cm、肿瘤分期 I 和 II 期、无淋巴结转移及无远处转移者。APE1 在不同年龄、性别、肿瘤位置及分化程度的表达比较, 经 χ^2 检验, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.3 APE1 表达与生存率的关系

所有患者中位随访时间为 45.35 个月 (5 ~ 60 个月), 共 41 例患者死亡。APE1 高表达组与低表达组总生存率分别为 57.14% 和 82.76%, 经 Log-rank χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 6.238, P = 0.013$), APE1 高表达组低于 APE1 低表达组。见图 2。

2.4 APE1 对结直肠癌预后的影响

以总生存期为因变量, 以单因素分析中差异有统计学意义的肿瘤大小、肿瘤分期、是否淋巴结转移及是否远处转移为自变量, 进行一般多因素 Cox 比例风险分析, 结果显示 APE1 表达、肿瘤分期、淋巴结转移及远处转移为结直肠癌总生存期的独立影响因素 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 1 不同因素的结直肠癌组织中 APE1 阳性率比较 (n=100)

因素	n	阳性率 /%	χ^2 值	P 值
年龄				
<60 岁	38	26 (68.42)	0.198	0.656
≥ 60 岁	62	45 (72.58)		
性别				
男	56	39 (69.64)	0.114	0.736
女	44	32 (72.73)		
肿瘤位置				
结肠	46	33 (71.74)	0.023	0.880
直肠	54	38 (70.37)		
肿瘤大小				
<5 cm	57	34 (59.65)	8.295	0.004
≥ 5 cm	43	37 (86.05)		
肿瘤分期				
I、II 期	63	37 (58.73)	12.450	0.000
III、IV 期	37	34 (91.89)		
分化程度				
中、低分化	73	54 (73.97)	1.160	0.281
高分化	27	17 (62.96)		
淋巴结转移				
有	25	23 (92.00)	7.139	0.008
无	75	48 (64.00)		
远处转移				
有	18	17 (94.44)	5.860	0.015
无	82	54 (65.85)		

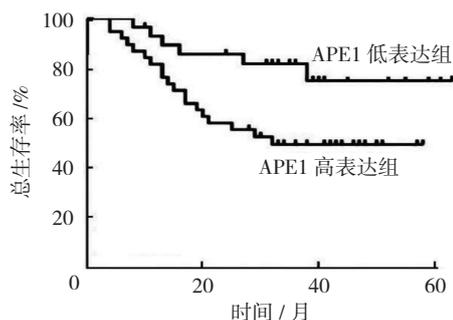


图 2 不同 APE1 表达结直肠癌患者总生存率曲线

表 3 多因素 Cox 比例风险分析结直肠癌总生存期影响因素的参数

变量	b	S _b	Wald χ^2	P 值	HR	95% CI	
						下限	上限
APE1	0.191	0.243	24.576	0.000	1.198	1.102	1.276
肿瘤分期	0.357	0.168	16.438	0.000	1.426	1.358	1.492
淋巴结转移	0.402	0.184	19.347	0.000	1.384	1.306	1.457
远处转移	0.507	0.425	21.068	0.000	1.735	1.164	2.237

3 讨论

APE1 基因定位在 14 号染色体上,分为 N 端和 C 端 2 个功能区。不同功能区执行不同功能: N 端功能区主要调控氧化还原功能; C 端功能区主要发挥核酸内切酶的功能,其可以促进 DNA 修复的进程^[5-6]。恶性肿瘤为一种多基因突变引起的疾病,当 DNA 修复相关的基因发生突变时,可引起修复相关蛋白功能障碍或者异常表达,导致 DNA 链不能马上修复, DNA 损伤积累到一定程度时即可导致恶性肿瘤的发生^[7-9]。大量 DNA 修复基因与恶性肿瘤的发病关系密切。*APE1* 为 DNA 的修复途径—碱基切除修复途径中的主要限速酶, *APE1* 表达异常必然会影 DNA 修复,从而导致恶性肿瘤等疾病的发生^[10-11]。多种恶性肿瘤中 *APE1* 表达异常,在恶性肿瘤的发生、发展中发挥重要作用。SUN 等^[12] 研究发现, *APE1* 在肝细胞癌中表达升高,可影响肝癌细胞的增殖和凋亡。YANG 等^[13] 研究发现, *APE1* 在非小细胞肺癌中可影响上皮间质转化。YUAN 等^[14] 研究发现, *APE1* 过表达与恶性肿瘤的不良预后关系密切。

APE1 基因与结直肠癌的关系也受到大家关注。WANG 等^[15] 发现,血清 *APE1*-Aabs 在大肠癌的诊断中具有一定临床价值。吉祖进等^[16] 发现, *APE1* 可影响结直肠癌细胞增殖。BALLISTA-HERNÁNDEZ 等^[17] 发现, *APE1* 在致癌物诱导的大肠癌中具有保持线粒体 DNA 完整性的作用。LAI 等^[18] 发现,台湾地区 *APE1* 多态性与大肠癌的患病风险关系密切。本文对 *APE1* 蛋白在结直肠癌组织中的表达及其与临床病理特征及预后的关系进行研究,发现结直肠癌组织中 *APE1* 阳性表达率升高,表明 *APE1* 参与结直肠癌的发病过程。*APE1* 阳性率与结直肠癌患者的肿瘤大小、临床分期、淋巴结转移及远处转移关系密切,表明 *APE1* 与结直肠癌的侵袭、转移有关。结合上述既往研究及本研究结果,分析 *APE1* 作为碱基切除修复途径的主要限速酶,其表达升高可影响结直肠癌细胞 DNA 修复,从而导致结直肠癌的发生、发展。*APE1* 可能通过影响结直肠癌细胞的增殖、凋亡及上皮间质转化等影响结直肠癌细胞的生长特性,从而影响结直肠癌的恶性程度。*APE1* 高表达组总生存率降低, *APE1* 为结直肠癌患者生存期的独立影响因素,表明 *APE1* 为结直肠癌预后评估指标,结直肠癌组织中 *APE1* 高则预后差。分析结直肠癌患者 *APE1* 阳性率与结直肠癌的肿瘤分期、淋巴结转移及远处转移等侵

袭转移恶性关系密切,其阳性率越高,结直肠癌恶性程度越高,故患者预后越差,生存率越低。关于 *APE1* 在结直肠癌发生、发展中的具体作用机制,尚需行动物实验和细胞研究进一步探讨。

综上所述,结直肠癌组织中 *APE1* 高表达, *APE1* 表达与结直肠癌的恶性程度有关, *APE1* 有望成为结直肠癌的治疗靶标和预后评估指标。

参 考 文 献:

- [1] MA X L, DANG C X, MIN W L, et al. Downregulation of *APE1* potentiates breast cancer cells to olaparib by inhibiting PARP-1 expression[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2019, DOI: 10.1007/s10549-019-05189-w.
- [2] MANOEL-CAETANO F S, ROSSI A F T, CALVET de MORAIS G, et al. Upregulation of the *APE1* and *H2AX* genes and miRNAs involved in DNA damage response and repair in gastric cancer[J]. *Genes Dis*, 2019, DOI: 10.1016/j.gendis.2019.03.007.
- [3] HUANG H I, CHEN C H, WANG S H, et al. Effects of *APE1* Asp148Glu polymorphisms on OPMD malignant transformation, and on susceptibility to and overall survival of oral cancer in Taiwan[J]. *Head Neck*, 2019, DOI: 10.1002/hed.25576.
- [4] XIAO X, YANG Y, REN Y J, et al. rs760944 polymorphism in the *APE1* region is associated with risk and prognosis of osteosarcoma in the Chinese han population[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9331.
- [5] LU H, BHAT A A, PENG D, et al. *APE1* Upregulates MMP-14 via redox-sensitive arf6-mediated recycling to promote cell invasion of esophageal adenocarcinoma[J]. *Cancer Res*, 2019, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-19-0237.
- [6] ALI R, RAKHA E A, MADHUSUDAN S, et al. DNA damage repair in breast cancer and its therapeutic implications[J]. *Pathology*, 2017, DOI: 10.1016/j.pathol.2016.11.002.
- [7] THAKUR S, DHIMAN M, MANTHA A K. *APE1* modulates cellular responses to organophosphate pesticide-induced oxidative damage in non-small cell lung carcinoma A549 cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2018, DOI: 10.1007/s11010-017-3186-7.
- [8] BHAT A A, LU H, SOUTTO M, et al. Exposure of Barrett's and esophageal adenocarcinoma cells to bile acids activates EGFR-STAT3 signaling axis via induction of *APE1*[J]. *Oncogene*, 2018, DOI: 10.1038/s41388-018-0388-8.
- [9] 杨明霞, 杨整哉, 曲群, 等. *APE1* / Ref-1 和 Trx1 在宫颈癌中的表达及相关性研究 [J]. *新疆医科大学学报*, 2016, DOI: 10.3969/j.issn.1009-5551.2016.06.016.
- [10] LI M X, YANG X, LU X F, et al. *APE1* deficiency promotes cellular senescence and premature aging features[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, DOI: 10.1093/nar/gky326.
- [11] FISHEL M L, XIA H, MCGEOWN J, et al. Antitumor activity and mechanistic characterization of *APE1*/REF-1 inhibitors in bladder cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2019, DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-18-1166.

- [12] SUN Z, ZHU Y, AMINBUHE, et al. Differential expression of APE1 in hepatocellular carcinoma and the effects on proliferation and apoptosis of cancer cells[J]. *Biosci Trends*, 2018, DOI: 10.5582/bst.2018.01239.
- [13] YANG X, PENG Y, JIANG X, et al. The regulatory role of APE1 in epithelial-to-mesenchymal transition and in determining EGFR-TKI responsiveness in non-small-cell lung cancer[J]. *Cancer Med*, 2018, DOI: 10.1002/cam4.1717.
- [14] YUAN C L, HE F, YE J Z, et al. APE1 overexpression is associated with poor survival in patients with solid tumors: a meta-analysis[J]. *Oncotarget*, 2017, DOI: 10.18632/oncotarget.19814.
- [15] WANG H J, FENG Y, ZHANG H X, et al. Clinical value of combined detection of serum APE1-Aabs and CEACAM-1 in the diagnosis of colorectal cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, DOI: 10.26355/eurrev_201803_14469.
- [16] 吉祖进, 张志云, 高燕, 等. APE1 通过 NF- κ B 通路调节结直肠癌 PD-L1 表达和细胞增殖 [J]. *华中科技大学学报 (医学版)*, 2019, DOI:10.3870/j.issn.1672-0741.2019.04.004.
- [17] BALLISTA-HERNÁNDEZ J, MARTÍNEZ-FERRER M, VÉLEZ R, et al. Mitochondrial DNA integrity is maintained by ape1 in carcinogen-induced colorectal cancer[J]. *Mol Cancer Res*, 2017, DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-16-0218.
- [18] LAI C Y, HSIEH L L, TANG R, et al. Association between polymorphisms of APE1 and OGG1 and risk of colorectal cancer in Taiwan[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, DOI: 10.3748/wjg.v22.i12.3372.

(唐勇 编辑)

本文引用格式: 翁寿向, 杨佩浓. 脱嘌呤脱嘧啶核酸内切酶 1 在结直肠癌组织中的表达及临床意义 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(10): 45-49.