TRIM1、occludin、ZO-1 在结肠癌组织中的表达及临床意义

纪伟平　卢明东　黄颖鹏　王娟　杨向群

【摘要】 **目的**　探讨三结构域蛋白(TRIM)1、occludin、ZO-1 在结肠癌组织中的表达及临床意义。**方法**　采用免疫组化法检测 120 例结肠癌患者手术切除的癌组织及其癌旁正常组织中 TRIM1、occludin、ZO-1 表达,分析 TRIM1 与 occludin、ZO-1 表达的相关性,以及 TRIM1、occludin、ZO-1 表达与结肠癌患者临床特征及预后的关系。**结果**　与癌旁正常组织比较,结肠癌组织 TRIM1 表达升高,occludin、ZO-1 表达降低,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。结肠癌组织中 TRIM1 表达与 occludin、ZO-1 表达均呈负相关(r_s=-0.420、-0.343,均 $P<0.05$)。结肠癌组织中 TRIM1、occludin、ZO-1 表达与肿瘤临床分期、分化程度、T 分期、是否淋巴结转移等有关(均 $P<0.05$),与患者性别、年龄、肿瘤部位等均无关(均 $P>0.05$)。经生存分析,TRIM1 高表达者 5 年累积生存率明显低于 TRIM1 低表达者($P<0.05$),occludin 高表达者 5 年累积生存率明显高于 occludin 低表达者($P<0.05$),ZO-1 高表达者 5 年累积生存率明显高于 ZO-1 低表达者 ($P<0.05$)。TRIM1 高表达是影响结肠癌患者术后 5 年总生存的独立危险因素(HR=2.374,95%CI:1.04~5.44,$P<0.05$)。**结论**　结肠癌组织中 TRIM1 表达升高, 且与 occludin、ZO-1 表达呈负相关;3 项指标均与结肠癌的临床分期、分化程度、T 分期、是否淋巴结转移等有关,其中 TRIM1 高表达是影响患者术后 5 年总生存的独立危险因素。

【关键词】 TRIM1　细胞极性蛋白　结肠癌

Expression and clinical significance of TRIM1, occludin and ZO-1 in colon cancer

JI Weiping, LU Mingdong, HUANG Yingpeng, et al. Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325027, China

【Abstract】 **Objective**　To investigate the expression and clinical significance of TRIM1, occludin and ZO-1 in colon cancer. **Methods**　The expression of TRIM1, occludin and ZO-1 protein in cancer and paracancerous tissues of 120 patients undergoing colon cancer resection was detected by immunohistochemistry. The correlation of TRIM1 with occludin and ZO-1 protein expression, and the relationship between TRIM1, occludin, ZO-1 protein expression and clinicopathological parameters and prognosis of patients were analyzed. **Results**　Compared with normal adjacent tissues, TRIM1 expression in colon cancer increased, occludin and ZO-1 expression decreased($P<0.05$). TRIM1 expression was negatively correlated with occludin and ZO-1 expression in colon cancer tissues (r=-0.420, -0.343, $P<0.05$). In colon cancer tissues, the expression of TRIM1, occludin, ZO-1 expression was correlated with clinical stage, differentiation degree, T stage, lymph node metastasis($P<0.05$), not correlated with gender, age and tumor site ($P>0.05$). The 5-year cumulative survival rate was significantly lower in patients with high expression of TRIM1 than that in those with low expression of TRIM1($P<0.05$), while the 5-year cumulative survival rate in patients with high ZO-1 and occludin expression was significantly higher than that in those with low ZO-1 and occludin expression ($P<0.05$). High TRIM1 expression was an independent risk factor for 5 years postoperative overall survival in patients with colon cancer (HR=2.374, 95%CI:1.04-5.44, $P<0.05$). **Conclusion**　In colon cancer, the expression of TRIM1 is up-regulated, while the expression of occludin and ZO-1 is down-regulated. High TRIM1 expression would independently affect 5-year overall survival of colon cancer patients after operation.

【Key words】 TRIM1　Cell polarity protein　Colon cancer

doi:10.12056/j.issn.1006-2785.2018.40.18.2018-1125

作者单位:325027　温州医科大学附属第二医院胃肠外科(纪伟平、卢明东、黄颖鹏);第四军医大学附属西京医院胃肠外科(王娟);第二军医大学基础医学院解剖教研室(杨向群)

通信作者:纪伟平,E-mail:18817350420@126.com

结肠癌是消化系统常见的恶性肿瘤[1]。细胞极性紊乱或丧失是结肠癌发生、发展过程中的重要病理改变[2]。在细胞极性丧失的肿瘤细胞恶变过程中,往往伴有细胞极性蛋白如 occludin、ZO-1 等表达下调[3]。三结构域蛋白(TRIM)含有 3 个特征性结构域,即 1 个锌指结构域、1

《浙江医学》网址:www.zjyzzs.com

或 2 个锌离子结构域和 1 个卷曲螺旋结构域，一般发挥 E3 泛素连接酶功能[4-6]，在天然免疫应答、细胞分化、转录调节、细胞骨架重塑、发育、细胞周期和凋亡、DNA 损伤修复等生理过程中起着重要作用[7]。TRIM 异常通过调节基因表达、细胞增殖、DNA 损伤修复和凋亡等信号通路在癌症中发挥作用[8]，还通过调控 NF-κB 信号通路在炎症向癌症发展过程中发挥作用[9-10]。TRIM1 是 TRIM 家族的重要一员，目前尚无关于 TRIM1 在结肠癌中表达及与 occludin、ZO-1 表达关系的相关报道。因此，本研究检测 TRIM1、occludin、ZO-1 在结肠癌组织中的表达，同时分析 3 者间的相关性以及与结肠癌患者临床特征和预后的关系，现将结果报道如下。

1 对象和方法

1.1 对象 选取 2011 年 1 月至 2013 年 1 月温州医科大学附属第二医院收治的 120 例结肠癌患者手术切除的癌组织及其癌旁正常组织标本为研究对象。其中男 65 例，女 55 例；年龄 14~80[61(54,67)]岁；参照 WHO 组织学分类标准，确定病理类型均为腺癌非特殊型；分化程度：高分化 16 例，中分化 71 例，低分化 33 例；参照国际抗癌联盟(UICC)提出的临床分期标准：Ⅰ期 30 例，Ⅱ期 32 例，Ⅲ期 58 例；肿瘤浸润深度：T_1 期 24 例，T_2 期 37 例，T_3 期 50 例，T_4 期 9 例；淋巴结转移 93 例，无淋巴结转移 27 例；均无远处转移；术前均未接受过新辅助化疗。本研究经医学伦理委员会审查通过，所有患者签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化染色 遵循无菌原则取材，所取组织用 10%甲醛固定，常规石蜡包埋，4μm 厚连续切片，免疫组化染色采用 S-P 法检测。标本切片依次经过脱蜡、水化、抗原修复(采用酸修复)、3%过氧化氢去除内源性过氧化物酶等处理；采用免疫组化 S-P 法通用型染色试剂盒进行染色；阳性部位呈棕褐色。所加一抗(兔抗人 TRIM1 和鼠抗人 occludin、鼠抗人 ZO-1 单克隆抗体)均购自 R&D 公司，DAB 显色剂购自武汉博士德公司。

1.2.2 染色结果的判断 由 2 位病理科医师在显微镜下观察，根据阳性染色范围及程度进行评分。采取阳性染色面积与染色强度的评分相乘方式，每个切片重复观察 5 个高倍视野。阳性染色面积赋值：<1%为 0 分，1%~30%为 1 分，>30%~50%为 2 分，>50%为 3 分；染色强度赋值：弱阳性为 1 分，阳性为 2 分，强阳性为 3 分。将 5 个高倍视野的染色面积评分均值与染色强度评分均值相乘，即表达评分。表达评分>4 分为高表达，≤4 分为低表达。

1.3 评估指标 比较结肠癌组织及癌旁正常组织中 TRIM1、occludin、ZO-1 表达水平，并分析结肠癌组织中 TRIM1 表达与 occludin、ZO-1 表达的相关性。收集结肠癌患者性别、年龄、肿瘤部位、临床分期、分化程度、T 分期、淋巴结转移与 TRIM1、occludin、ZO-1 表达的关系；同时分析 TRIM1、occludin、ZO-1 表达与结肠癌患者预后的关系。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 17.0 统计软件。计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示，组间比较采用配对样本 t 检验；计数资料用率表示，组间比较采用 χ^2 检验。结肠癌组织中 TRIM1、occludin、ZO-1 表达的相关性分析采用 Spearman 秩相关。采用 Kaplan-Meier 法绘制结肠癌组织中 TRIM1、occludin、ZO-1 表达高、低者的生存曲线，并进行 log-rank 检验。采用 Cox 比例风险回归模型分析结直肠癌患者术后 5 年总生存的影响因素。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠癌组织及其癌旁正常组织中 TRIM1、occludin、ZO-1 表达评分比较 结肠癌组织中 TRIM1 表达评分为(4.37±1.83)分，明显高于癌旁正常组织的(3.72±1.98)分，差异有统计学意义(t=2.64，$P<0.05$)；结肠癌组织中 occludin 表达评分为(3.09±1.71)分，明显低于癌旁正常组织的(3.53±1.65)分，差异有统计学意义(t=2.03，$P<0.05$)；结肠癌组织中 ZO-1 表达评分为(3.22±2.07)分，明显低于癌旁正常组织的(3.75±1.23)分，差异有统计学意义(t=2.41，$P<0.05$)，见图 1。

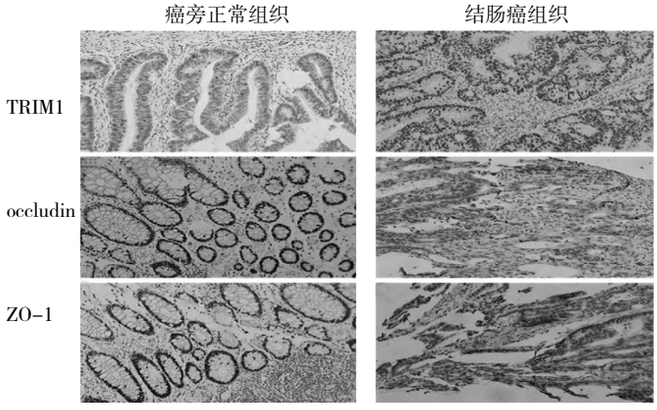

图 1 TRIM1、occludin、ZO-1 在结肠癌组织及其癌旁正常组织中的表达(免疫组化染色，×200)

2.2 结肠癌组织中 TRIM1、occludin、ZO-1 表达的相关性 结肠癌组织中 TRIM1 表达与 occludin、ZO-1 表达均呈负相关(r_s=-0.420、-0.343，均 $P<0.05$)，见表 1。

《浙江医学》网址：www.zjwsyx.com

表 1 结肠癌组织中 TRIM1、occludin、ZO-1 高低表达的交叉表(例)

TRIM1	n	occludin		ZO-1	
		高表达	低表达	高表达	低表达
高表达	71	12	59	11	60
低表达	49	28	21	23	26

2.3 结肠癌组织中 TRIM1、occludin、ZO-1 表达与临床特征的关系 结肠癌组织中 TRIM1、occludin、ZO-1 表达与肿瘤临床分期、分化程度、T 分期、是否淋巴结转移等有关(均 $P<0.05$),与患者性别、年龄、肿瘤部位等均无关(均 $P>0.05$),见表 2。

表 2 结肠癌组织中 TRIM1、occludin、ZO-1 表达与临床特征的关系[例(%)]

临床资料	n	TRIM1 高表达	TRIM1 低表达	χ^2 值	P 值	occludin 高表达	occludin 低表达	χ^2 值	P 值	ZO-1 高表达	ZO-1 低表达	χ^2 值	P 值
性别													
男	65	37(56.9)	28(43.1)	0.30	>0.05	21(32.3)	44(67.7)	0.07	>0.05	18(27.7)	47(72.3)	0.03	>0.05
女	55	34(61.8)	21(38.2)			19(34.5)	36(65.5)			16(29.1)	39(70.9)		
年龄													
≤60 岁	68	38(55.9)	30(44.1)	0.70	>0.05	25(36.8)	43(63.2)	0.83	>0.05	19(28.0)	49(72.0)	0.01	>0.05
>60 岁	52	33(63.5)	19(36.5)			15(28.8)	37(71.2)			15(28.8)	37(71.2)		
肿瘤部位													
左半结肠	54	34(63.0)	20(37.0)	0.59	>0.05	17(31.5)	37(68.5)	0.15	>0.05	12(22.2)	42(77.8)	1.81	>0.05
右半结肠	66	37(56.1)	29(43.9)			23(34.8)	43(65.2)			22(33.3)	44(66.7)		
临床分期													
Ⅰ期	30	4(13.3)	26(86.7)			25(83.3)	5(16.7)			25(83.3)	5(26.7)		
Ⅱ期	32	18(56.3)	14(43.7)	41.58	<0.05	11(34.4)	21(65.6)	52.01	<0.05	6(18.8)	26(81.2)	61.46	<0.05
Ⅲ期	58	49(84.5)	9(15.5)			4(6.9)	54(93.1)			3(5.2)	55(94.8)		
分化程度													
高分化	16	3(18.8)	13(81.2)			14(87.5)	2(12.5)			14(87.5)	2(12.5)		
中分化	71	43(60.6)	28(39.4)	14.64	<0.05	20(28.2)	51(71.8)	25.39	<0.05	16(22.5)	55(77.5)	33.03	<0.05
低分化	33	25(75.8)	8(24.2)			6(18.2)	27(81.8)			4(12.1)	29(87.9)		
T 分期													
T_1~T_2	61	22(36.1)	39(63.9)	27.41	<0.05	36(59.0)	25(41.0)	36.83	<0.05	30(49.2)	31(50.8)	26.55	<0.05
T_3~T_4	59	49(83.1)	10(16.9)			4(6.8)	55(93.2)			4(6.8)	55(93.2)		
淋巴结转移													
无	27	3(11.1)	24(88.9)	33.30	<0.05	21(77.8)	6(22.2)	30.97	<0.05	23(85.2)	4(14.8)	55.45	<0.05
有	93	68(73.1)	25(26.9)			19(20.4)	74(79.6)			11(11.8)	82(88.2)		

2.4 结肠癌组织中 TRIM1、occludin、ZO-1 表达与患者预后的关系 120 例结肠癌患者均获得术后 5 年完整的随访信息。经生存分析,TRIM1 高、低表达者平均生存时间分别为(45.06±50.55)、(56.24±59.47)个月;TRIM1 高表达者 5 年累积生存率为 35.2%,明显低于 TRIM1 低表达者的 85.7%(χ^2=29.31,$P<0.05$),见图 2a(插页)。occludin 高、低表达者平均生存时间分别为(54.54±59.16)、(46.90±51.98)个月;occludin 高表达者 5 年累积生存率为 82.5%,明显高于 occludin 低表达者的 42.5%(χ^2=15.66,$P<0.05$),见图 2b(插页)。ZO-1 高、低表达者平均生存时间分别为(54.13±59.69)、(47.55±52.32)个月;ZO-1 高表达者 5 年累积生存率为 82.4%,明显高于 ZO-1 低表达者的 45.3%(χ^2=12.38,$P<0.05$),见图 2c(插页)。经 Cox 比例风险回归模型分析,TRIM1 高表达是影响结肠癌患者术后 5 年总生存的独立危险因素(HR=2.374,95%CI:1.04~5.44,$P<0.05$)。

3 讨论

随着对肿瘤认识的不断加深,学者对肿瘤相关因子的研究逐渐从单一分子向家族分子或序贯式关联分子群转变。在肿瘤发生、发展过程中,并非由单一分子发挥作用,大部分是由众多分子相互作用进而传递分子信号,从而产生相应的细胞或生物行为。本研究结果发现结肠癌组织中 TRIM1 表达明显升高,occludin、ZO-1 表达明显降低;TRIM1 表达与 occludin、ZO-1 表达呈负相关。此外,本研究发现 TRIM1、occludin、ZO-1 蛋白表达与肿瘤临床分期、分化程度、T 分期、是否淋巴结转移等有关;TRIM1 高表达是影响结肠癌患者术后 5 年总生存的独

《浙江医学》网址:www.zjyxzz.com

立危险因素。

细胞极性是正常细胞功能建立与维持的关键，它是细胞形态、细胞中某些胞质成分、细胞表面信号分子、细胞器及细胞骨架等生理组织结构按一定空间顺序不均等分布以及细胞行使功能的不对称性[11-16]。紧密连接作为一个封闭的屏障，具有保持细胞极性及稳态、调节上皮细胞通透性的作用，是上皮细胞极性建立与维持的重要细胞结构[17]。一般认为，上皮细胞紧密连接的形成意味着细胞极性的建立[18-19]。此外，紧密连接不仅调控上皮细胞层内外营养物质、小分子和离子的平衡，还调控细胞周期、细胞增殖及分化，抑制肿瘤细胞向恶性转化，它是细胞内外众多极性调控信号进行整合的重要平台。上皮细胞极性的丧失是上皮细胞起源癌症的一个重要特征[2]。细胞极性蛋白调控网络的异常及蛋白功能的紊乱，或者由此形成的细胞极性微环境改变等，在癌症发生、发展过程中发挥着重要作用。occludin、ZO-1 是极性建立过程中发挥主要作用的极性蛋白，在多种恶性肿瘤组织中呈低表达，并与其恶性进展密切相关[3]。

TRIM1 是 TRIM 家族的重要分子蛋白，在天然免疫应答、细胞分化、转录调节、细胞骨架重塑、发育、细胞周期和凋亡、DNA 损伤修复等过程中发挥着重要作用。目前关于该家族分子在恶性肿瘤尤其是结肠癌中的生物学作用缺乏系统的研究。本文就 TRIM1、occludin、ZO-1 在结肠癌组织中的表达及临床意义进行探讨，结果发现结肠癌组织中 TRIM1 表达升高，occludin、ZO-1 表达降低；TRIM1 表达与 occludin、ZO-1 表达呈负相关。TRIM1、occludin、ZO-1 表达与结肠癌患者临床分期、分化程度、T 分期、是否淋巴结转移等有关，TRIM1 高表达是影响结肠癌患者术后 5 年总生存的独立危险因素。关于 TRIM1 在结肠癌发生、发展过程中发挥的调控作用及其分子机制有待进一步研究。

4 参考文献

[1] Jemal A, Bray F, Center MM,et al. Global cancer statistics[J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2011, 61:69-90. doi:10.3322/caac.20107.

[2] Dow LE, Humbert PO. Polarity regulators and the control of epithelial architecture, cell migration, and tumorigenesis[J]. Int Rev Cytol, 2007, 262:253-302. doi: 10.1016/S0074-7696(07)62006-3.

[3] Ohtani S, Terashima M, Satoh J, et al. Expression of tight-junction-associated proteins in human gastric cancer: downregulation of claudin-4 correlates with tumor aggressiveness and survival[J]. Gastric Cancer, 2009, 12(1):43-51. doi: 10.1007/s10120-008-0497-0.

[4] Reymond A, Meroni G, Fantozzi A, et al. The tripartite motif family identifies cell compartments[J]. EMBO J, 2001, 20(9):2140-2151. doi: 10.1093/emboj/20.9.2140.

[5] Meroni G, Diez-Roux G. TRIM/RBCC, a novel class of single protein RING finger E3 ubiquitin ligases[J]. Bioessays, 2005, 27(11): 1147-1157. doi: 10.1002/bies.20304.

[6] Li Y, Wu H, Wu W, et al. Structural insights into the TRIM family of ubiquitin E3 ligases[J]. Cell Res, 2014, 24(6):762-765. doi: 10.1038/cr.2014.46.

[7] Mcnab FW, Rajsbaum R, Stoye JP, et al. Tripartite-motif proteins and innate immune regulation[J]. Curr Opin Immunol, 2011, 23(1): 46-56. doi: 10.1016/j.coi.2010.10.021.

[8] Hatakeyama S. TRIM proteins and cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2011(11):792-804. doi: 10.1038/nrc3139.

[9] Tomar D, Singh R. TRIM family proteins: emerging class of RING E3 ligases as regulator of NF-B pathway[J]. Biol Cell, 2015, 107: 22-40. doi: 10.1111/boc.201400046.

[10] Kawai T, Akira S. Regulation of innate immune signaling pathways by the tripartite motif (TRIM) family proteins[J]. EMBO Mol Med, 2011, 3(9):513-527. doi: 10.1002/emmm.201100160.

[11] Lecuit T, Goff L. Orchestrating size and shape during morphogenesis[J]. Nature, 2007, 450:189-192. doi: 10.1038/nature06304.

[12] Bryant DM, Mostov KE. From cells to organs: Building polarized tissue[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2008, 9:887-901. doi: 10.1038/nrm2523.

[13] Knust E. Control of epithelial cell shape and polarity[J]. Curr Opin Genet Dev, 2000, 10:471-475. doi: 10.1016/S0959-437X(00)00115-5.

[14] Clevers H. Stem cells asymmetric division and cancer[J]. Nat Genet, 2005, 37 (10):1027-1028. doi: 10.1038/ng1005-1027.

[15] Nelson WJ. Adaptation of core mechanisms to generate cell polarity[J]. Nature, 2003, 422:766-774. doi: 10.1038/nature01602.

[16] Wodarz A. Establishing cell polarity in development[J]. Nat Cell Biol, 2002, 4:E39-44. doi: 10.1038/ncb0202-e39.

[17] Shin K, Fogg VC, Margolis B. Tight junctions and cell polarity[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2006, 22:207-235. doi: 10.1146/annurev.cellbio.22.010305.104219.

[18] Knust E, Bossinger O. Composition and formation of intercellular junctions in epithelial cells[J]. Science, 2002, 298:1955-1959. doi: 10.1126/science.1072161.

[19] Niessen CM. Tight junctions/adherens junctions: basic structure and function[J]. J Invest Dermatol, 2007, 127:2525-2532. doi: 10.1038/sj.jid.5700865.

（收稿日期：2018-04-30）

（本文编辑：陈丹）

《浙江医学》网址：www.zjyxzzs.com