

结直肠癌的转化医学研究

郑树 黄彦钦 董琦 胡集祎 白瑞 胡涵光 李丹



郑树

微环境理念,不仅在研究与设计干预阻断转移浸润的分子靶向药物方面,同时在对外科肿瘤手术切缘与新辅助治疗的必要性方面将有新的认同。

【关键词】 结直肠肿瘤; 转化医学; 早期分子事件; 肿瘤微环境

Translational medicine of colorectal cancer ZHENG Shu, HUANG Yan-qin, DONG Qi, HU Ji-yi, BAI Rui, HU Hanguang, LI Dan. Cancer Institute (Key Laboratory of Cancer Prevention and Intervention, China National Ministry of Education), The Second Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310009, China

Corresponding author: ZHENG Shu, Email: zhengshu@zju.edu.cn

【Abstract】 Translational medicine is a systemic project because it is patient and clinical problems oriented, aiming at research results application, and involves multidisciplinary cooperation. Studies on molecular events in the precancerous stage, early stage and metastasis of colorectal cancer (CRC) are the CRC hot research topics currently. Investigations on the earliest molecular events can help to find out the markers which may improve the effect of CRC screening and predict CRC liver metastasis and prognosis. Based on the concept of microenvironment, molecular targeted drugs to interfere with metastasis and invasion and new concepts of surgical resection margin and neoadjuvant therapy will gain recognition from clinicians.

【Key words】 Colorectal neoplasms; Translational medicine; Early molecular events; Tumor microenvironment

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2013.01.002

作者单位: 310009 杭州, 浙江大学肿瘤研究所 浙江大学医学院附属第二医院恶性肿瘤预警与干预教育部重点实验室

通信作者: 郑树, Email: zhengshu@zju.edu.cn

转化医学研究的过程是以患者为中心、以临床问题为导向、以成果应用为目标而进行的基础研究,是多层次、多学科交叉融合的系统研究工程^[1]。结直肠癌经历长期基础研究和临床实践,在诊治方面形成了国内外渐趋一致的共识,但仍存在诸多基础和临床问题需要解决,这些问题包括如何推动结直肠癌防治前移、干预阻断早期腺瘤恶变、无症状筛查的可行性与局限性、肿瘤转移浸润尤其是肝转移高发的预测与治疗对策等。虽然近 30 年来,结直肠癌诊治已有很大进步,但其 5 年生存率的提高仍不显著^[2]。为此,在结直肠癌发生发展前期和早期阶段的研究以及转移复发尤其是肝转移的研究,已成为结直肠癌转化医学研究的重要内容。

一、发掘最早分子事件——结直肠癌的筛查

结直肠癌筛查能提高患者生存率,降低发病率与死亡率,国内外均已达成共识^[3]。我国发病率上升明显,尤其在大城市。我们历经 20 余年,在从流行病学研究明确我国结直肠癌高危因素的基础上,建立了数量化高危人群筛查方案^[4-6]。该方案通过对初筛出的高危人群行结肠镜检查来确诊肿瘤患者。初筛可将 40~74 岁人群浓集至 15%~18%,进而行结肠镜检查^[7]。结肠镜检查筛检结直肠癌的敏感性为 64.29%,特异性为 99.91%。对结直肠癌的阳性预测值为 1.32%,进展期腺瘤为 4.49%,即进展新生物为 5.81%^[8]。实践证明,该方案适合我国人口众多和发病率不平衡的国情,但也有可改进的空间。

虽然在浙江省的嘉善和海宁这两个结直肠癌早诊早治示范基地,初筛顺应性分别达 88.9% 和 89.8%,肠镜筛诊率为 78.6% 和 79.0%^[9]。但在上海、杭州及哈尔滨等大城市,初筛率仅为 45.6%,肠镜筛诊顺应性仅 34.8%^[10]。初筛率不高,可遗漏半数以上的高危人群;肠镜筛诊率低,可遗漏约 2/3 结直肠癌的阳性检出。所以,筛查顺应率尚待改进。

从现有的肠镜筛检结果看,有 19.3%~27.3% 的病变可被肠镜发现,即高危人群假阳性率近 70%~80%。这不仅使肠镜检查特异度降低,也增加过度检查的风险及浪费资源。

2007-2009 年,浙江嘉善干窑镇结肠镜筛查发现 2 例新出现的结直肠癌,即 2007 年肠镜检阴性而 2009 年新发现乙状结肠及直肠癌各 1 例,即间期癌(interval cancer)。可能前一次肠镜假阴性,也可能是快速生长的肿瘤。间期癌年发生率为 5.4/10 000,而国外为 2/10 000^[11]。

结直肠癌筛查已在全国开展并获得较好效果,但实践提出了新的要求。如能从周围血或粪便中找到前期或早期的标志物,提高初筛所获高危人群的特异性,既减少肠镜筛查阴性数、又提高肠镜筛查的阳性率,这是目前国内外的研究热点。设计从血液与粪便中研发蛋白质、DNA 或 RNA 等分子标志物是研究方向,但至今尚未发现比粪便隐血更适合的标志物。曾有各种报道,包括在粪便及血清中丙酮酸激酶 M2PK,也有血清质谱等,但均缺乏大样本验证^[12-13]。寻找可用于筛查的(外周血或粪便)分子标志物势在必行。

二、发掘肿瘤转移复发及预后判断相关的分子
肿瘤治疗失败 90%是由于浸润、转移、复发^[14]。肝转移是结直肠癌治疗失败的常见原因,在可切除的结直肠癌病例中,15%~20%已发现肝转移;50%的患者根治术后 2 年内出现肝转移^[15]。因此,寻找预测肝转移特异的标志物,对诊治和干预阻断肝转移更显得重要。

1889 年,Page 的“种子与土壤”学说为肿瘤的发生、发展及转移浸润,提出了精辟的描述^[16]。从目前分子生物学的水平理解,种子为肿瘤细胞及干细胞性的肿瘤细胞;土壤为环境与肿瘤微环境;两者之间的变化机制,类似于胚胎发育所经历的上皮间质转化(epithelial mesenchymal transitions,EMT)和间质上皮转化(mesenchymal epithelial transitions,MET)。肿瘤发生核心机制与胚胎发育相似,均为从干细胞或具干性(stemness)的肿瘤细胞经历分化、去分化、黏附、去极性、抗外源损伤以及抗凋亡促增生。胚胎发育形成三胚层个体,但肿瘤在此过程中经历遗传突变及表观遗传突变以及异常调控与蛋白质修饰,从而促使肿瘤发生发展。见图 1。

肝是结直肠癌最常见的远处转移部位,多于肺转移以及胃癌的肝转移。肝转移具有独特的生物特征。我们发现,不同分期有不同的基因表型。肝转移的基因表型呈明显的不同基因背景,同一例患者,其原发灶与肝转移灶(K-1-fA 与 K-2-A-8)两者基因表达谱几乎完全相似,提示转移是原发灶分子表

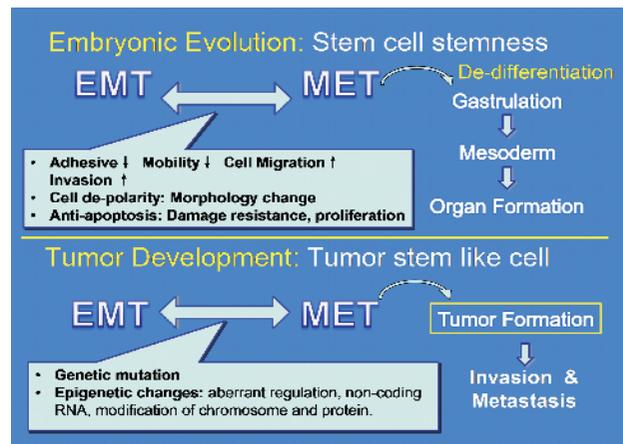


图 1 胚胎发育与肿瘤发生发展过程模拟图,二者均存在 EMT-MET 的交互,但肿瘤不同于胚胎发育,存在遗传与表观遗传的突变及异常调控,导致肿瘤形成

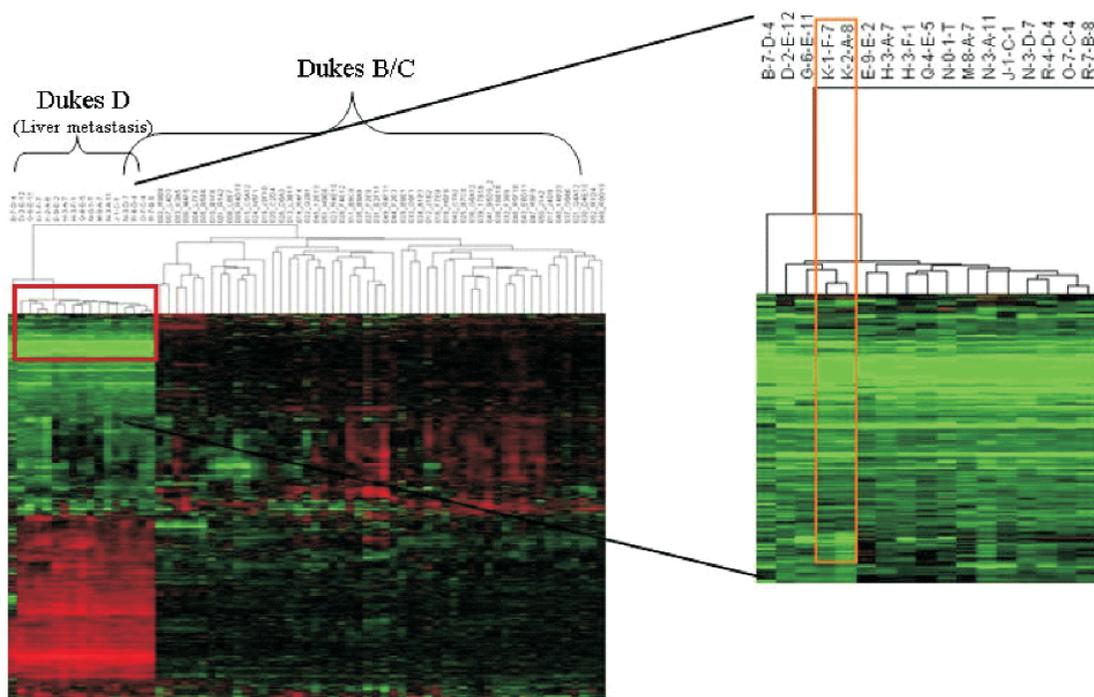
型所决定的,见图 2。为此,我们对比两组原发灶的基因表达谱,发现基因 Sparc L1 在有肝转移的原发灶明显低表达,而 Osteopontin 则明显高表达,见图 3。经对 Sparc L1 和 Osteopontin 这两个基因的研究,证实了其在结直肠癌肝转移中的作用及机制。该研究揭示了肝转移的特征机制,也为转化医学提供了靶点。

1. Osteopontin(OPN):研究证实,OPN 高表达,E-cadherin 低表达,肿瘤细胞间的连接因通讯下降(gap junctional intercellular communication, GJIC),肿瘤细胞间(同质黏附)黏附松散,肿瘤细胞易脱落,促转移,并且使肿瘤细胞易黏附于血管内皮或基质细胞。同时,OPN 高表达,细胞表面 CD44 增多,促使与肝内 CD44 受体结合而促成肝转移。此外,肝内微环境中存在的 Integrin 是 OPN 的受体^[17]。以上这些均为结直肠癌肝转移提供了特异的条件,提示了干预阻断的靶向,可作为控制转化研究的方向。

2. Sparc L1:Sparc L1 是结直肠癌原发肝转移负相关的基因。研究证实,原发灶 Sparc L1 低表达,低分化,则肝转移多;原发灶 Sparc L1 高表达,分化较好,则肝转移少。实验研究发现,该基因及其表达蛋白均可促使间质向上皮转化(EMT-MET),有促分化趋势。见图 4。通过单中心临床实验研究证实,结直肠癌 Sparc L1 高表达组总体生存率及无进展生存率均优于低表达组。经多中心对照研究得出了同样结果^[18]。显然,该基因低表达则易肝转移且预后差。

三、结直肠癌肝转移临床转化研究的方向

1. 预测肝转移及预后:已明确 Osteopontin 高表



Cluster analysis based on Dukes stage (Dukes B, n=26; Dukes C, n=26; Dukes D, n=15; Liver metastases, n=2)

图 2 结肠直肠癌分期基因表达谱(D 期肝转移组表达谱与 B、C 期明显不同。右侧图中样本 K-1-f-A 与 K-2-A-8 为同一病例原发灶与肝转移灶两者基因表达基本一致)

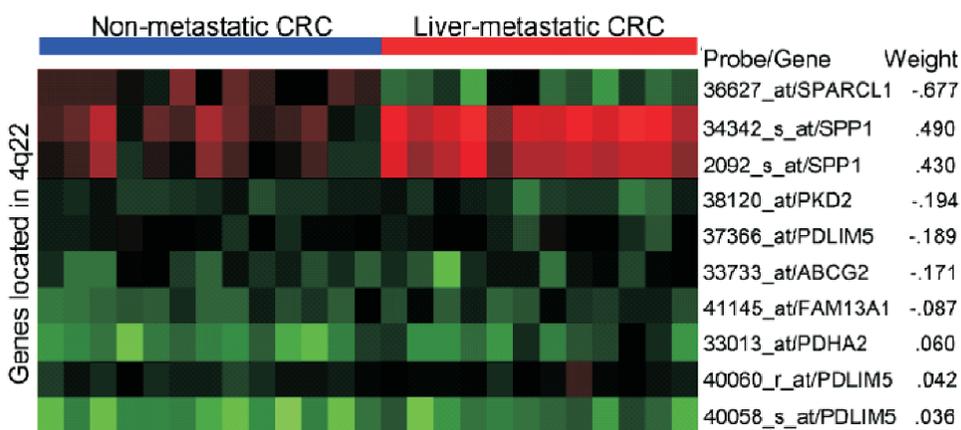


图 3 有与无肝转移两组原发灶基因表达谱比较, Sparc L1 在有肝转移者显著低表达(绿色), Osteopontin 明显高表达(红色)

达, Sparc L1 低表达易发生肝转移。为此, 对肠镜活检组织作免疫组化检测, 将有助于预测肝转移, 也有助于对肿瘤生物特性的估计。此外, Osteopontin、Sparc L1、CD44v6 及 Integrin 均为分泌蛋白, 在周围体液中均有可能检测到, 可供肝转移预测及预后判断。作为可供临床应用的方案, 必需有临床大样本, 多中心多样本的验证。

2. 基于微环境理念研究与设计干预阻断结肠癌肝转移的分子靶向药物及试剂: “种子与土壤”学说中的“土壤”是肿瘤周围的微环境, 为低氧、低

pH 值的环境; 种子为具有干性(Stemness)的肿瘤细胞, 为了在低氧环境下生存, 能够从有氧代谢转变为无氧代谢。土壤中包括散在的癌细胞、间质(stroma)及细胞外基质(ECM), 存在纤维母细胞、肌母细胞、血管内皮细胞、外皮细胞、免疫相关细胞及炎性细胞等, 产生各种因子交互作用, 为肿瘤转移浸润提供各类基础。Osteopontin, miroRNA9、CD44、Integrin 以及拮抗微环境中 MMPs、Chemokine CXCL12, 14 等均可作为候选的干预阻断和诊治靶点。

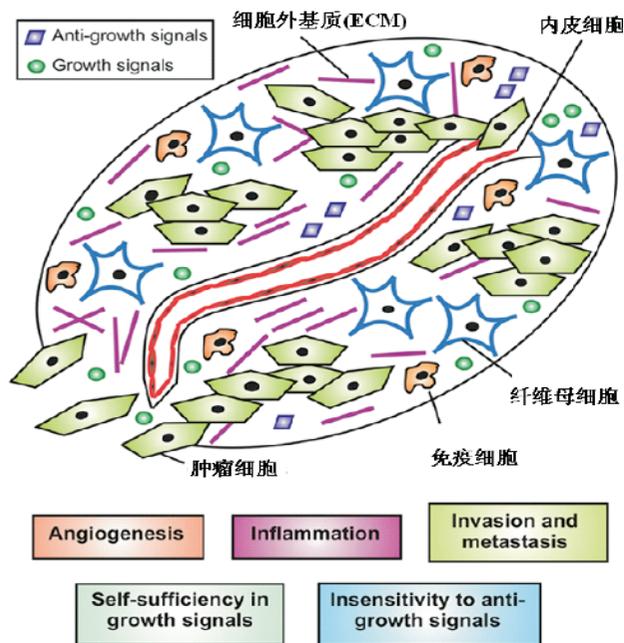


图 4 肿瘤微环境中存在肿瘤细胞、间质和细胞外基质,各种分子交互形成肿瘤独特的微环境,即土壤

肿瘤微环境是一个复杂、动态的网络,靶向药物治疗应为多种方位的药物,直接阻断肿瘤及其微环境的各个成分和细胞因子。

3. 从肿瘤手术切缘与微环境的相关性再认识新辅助治疗的作用与意义:通过对肿瘤微环境的认识,知道了清除肿瘤范围不是仅清除肿瘤细胞即可,而是需要包括相应的肿瘤微环境一并清除。但实体瘤周围微环境的边缘或直径大小在术前或术中难以确定,新辅助治疗或术前化疗与放疗可能会有所帮助。在 T₃、T₄ 期结肠癌的切除中,新辅助治疗对微环境中分子事件的不利因素应有作用,应纳入治疗靶点以提高治疗成功率。对肝转移灶的微环境中不利因素的清除,更显现了手术切缘及新辅助治疗的重要意义。

基础研究从肿瘤发生发展机制进而认识结肠癌的生物学特征;“种子与土壤”学说基础上的新发现为转化医学研究提供了思路,进一步为提高结肠癌临床诊治效果提供了基础。

参 考 文 献

[1] Kaiser J. National Institutes of Health. A government niche for translational medicine and drug development. *Science*, 2010, 330: 1462-1463.
 [2] Due SL, Watchow DA, Sweeney JL, et al. Colorectal cancer

surgery 2000-2008: evaluation of a prospective database. *ANZ J Surg*, 2012, 82:412-419.
 [3] Levin B, Lieberman DA, McFarland B, et al. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *CA Cancer J Clin*, 2008, 58:130-160.
 [4] 蔡善荣,郑树,张苏展. 我国大肠癌高危因素的研究. *实用肿瘤杂志*, 2003, 18:68-70.
 [5] 郑树,余海. 结肠癌的人群筛检模式及评价. *中华医学杂志*, 1991, 71:381-384.
 [6] 刘希永,郑树,陈坤,等. 大肠癌序贯筛检方案在人群中应用的前瞻性评估. *中华流行病学杂志*, 2000, 21:430-433.
 [7] 黄彦钦,蔡善荣,张苏展,等. 中国结直肠癌人群筛查方案的应用价值初探. *中华预防医学杂志*, 2011, 45:601-604.
 [8] Cai SR, Zhang SZ, Zhu HH, et al. Performance of a colorectal cancer screening protocol in an economically and medically underserved population. *Cancer Prev Res(Phila)*, 2011, 4:1572-1579.
 [9] 郑树,张苏展,蔡善荣,等. 大肠癌筛查方案及其实践. *中国肿瘤*, 2009, 18:700-704.
 [10] Cai SR, Zhang SZ, Zhu HH, et al. Barriers to colorectal cancer screening: a case-control study. *World J Gastroenterol*, 2009, 15:2531-2536.
 [11] Kaminski MF, Regula J, Kraszewska E, et al. Quality indicators for colonoscopy and the risk of interval cancer. *N Engl J Med*, 2010, 362:1795-1803.
 [12] Zhu HH, Zheng S. Sequential Combination of Serum Pyruvate Kinase Isoenzyme M2 and Colonoscopy-A Promising Screening Protocol for Colorectal Cancer Early Diagnosis. *J Biosens Bioelectron*, 2011, S:2.
 [13] Zhai XH, Yu JK, Yang FQ, et al. Identification of a new protein biomarker for colorectal cancer diagnosis. *Mol Med Report*, 2012, 6:444-448.
 [14] Khan NF, Mant D, Carpenter L, et al. Long-term health outcomes in a British cohort of breast, colorectal and prostate cancer survivors: a database study. *Br J Cancer*, 2011, 105 Suppl 1:S29-S37.
 [15] Ragnhammar P, Hafstrom L, Nygren P, et al. A systematic overview of chemotherapy effects in colorectal cancer. *Acta Oncol*, 2001, 40:282-308.
 [16] Evans RA. The “seed and soil” hypothesis and the decline of radical surgery: a surgeon’s opinion. *Tex Med*, 1990, 86:85-89.
 [17] Huang J, Pan C, Hu H, et al. Osteopontin-enhanced hepatic metastasis of colorectal cancer cells. *PLoS One*, 2012, 7: e47901.
 [18] Hu H, Zhang H, Ge W, et al. Secreted protein acidic and rich in cysteines-like 1 suppresses aggressiveness and predicts better survival in colorectal cancers. *Clin Cancer Res*, 2012, 18: 5438-5448.

(收稿日期:2012-12-17)