doi:10.11659/jjssx.10E023038

·胃肠肝胆专栏·

结肠癌组织TLR4、CHI3L1表达与根治术后预后的关系

宋春光[1],牛志新[1],何 峰[1],许曦鸣[2],岳春花[3] (1.秦皇岛市第一医院肛肠外科,河北 秦皇岛 066000;2.秦皇岛市第一医院麻醉科,河北 秦皇岛 066000;3.秦皇岛市第一医院质量管理处,河北 秦皇岛 066000)

[摘 要] **目的** 探讨结肠癌组织中Toll样受体4(TLR4)、壳多糖酶3样蛋白1(CHI3L1)的表达及其与患者根治术后预后的关系。**方法** 选取2017年1月至2018年5月于我院行结肠癌根治术的152例患者为研究对象,根据患者术后5年生存情况分为预后良好组(n=97)和预后不良组(n=47)。采用免疫组织化学染色法检测结肠癌组织及癌旁组织中TLR4、CHI3L1的表达水平;分析结肠癌组织中TLR4和CHI3L1表达与患者预后的关系,并分析结肠癌患者预后的影响因素。**结果** 结肠癌组织中TLR4和CHI3L1阳性表达率显著高于癌旁组织(P<0.05)。结肠癌组织中TLR4表达与患者肿瘤分化程度、临床分期和淋巴结转移有关(P<0.05),CHI3L1表达与结肠癌患者肿瘤直径、肿瘤分化程度、临床分期和淋巴结转移有关(P<0.05)。与预后良好组比较,预后不良组患者肿瘤低分化、临床分期Ⅲ期、淋巴结转移、TLR4阳性表达和CHI3L1阳性表达的占比较高(P<0.05)。TLR4阳性表达患者5年生存率为60.38%,低于TLR4阴性表达患者的86.84%(χ^2=9.104,P<0.05);CHI3L1阳性表达患者5年生存率为58.06%,低于CHI3L1阴性表达患者的84.31%(χ^2=10.935,P<0.05)。TLR4阳性、CHI3L1阳性、肿瘤低分化、临床分期Ⅲ期、淋巴结转移是结肠癌患者预后的独立危险因素(P<0.05)。**结论** TLR4和CHI3L1与结肠癌的发生和临床病理特征有关,且结肠癌组织中TLR4和CHI3L1阳性表达不利于患者预后,二者有望成为临床治疗靶点。

[关键词] 结肠癌;根治术;预后;Toll样受体4;壳多糖酶3样蛋白1
[中图分类号] R735.3 [文献标志码] A [收稿日期] 2023-10-10

Correlation between the expression of TLR4 and CHI3L1 in colon cancer tissue and the prognosis after radical surgery

SONG Chun-guang[1], NIU Zhi-xin[1], HE Feng[1], XU Xi-ming[2], YUE Chun-hua[3] (1. Department of Anorectal Surgery, the First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao Hebei 066000, China; 2. Department of Anesthesiology, the First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao Hebei 066000, China; 3. Department of Quality Management, the First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao Hebei 066000, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between the expression of Toll-like receptor 4 (TLR4) and chitosanase 3-like protein 1 (CHI3L1) in colon cancer tissue and the prognosis of patients after radical surgery. **Methods** A total of 152 patients who underwent radical colon cancer surgery in our hospital from January 2017 to May 2018 were collected and divided into the good prognosis group (n=97) and the poor prognosis group (n=47) according to the 5-year survival status after surgery. Immunohistochemical staining was applied to detect the expression levels of TLR4 and CHI3L1 in colon cancer tissues and adjacent tissues; the correlation between the expression of TLR4 and CHI3L1 in colon cancer tissue and the prognosis of patients was analyzed, and the influencing factors for prognosis of colon cancer patients were analyzed. **Results** The positive expression rates of TLR4 and CHI3L1 in colon cancer tissues were obviously higher than those in adjacent tissues (P<0.05). The expression of TLR4 in colon cancer tissue was related to the degree of tumor differentiation, clinical staging, and lymph node metastasis of colon cancer patients (P<0.05), the expression of CHI3L1 was related to the tumor diameter, degree of tumor differentiation, clinical staging, and lymph node metastasis of colon cancer patients (P<0.05). Compared with the good prognosis group, the poor prognosis group had higher proportions of patients with poorly differentiated tumor, clinical stage Ⅲ, lymph node metastasis, and positive expression of TLR4 and CHI3L1 (P<0.05). The 5-year survival rate of patient with TLR4 positive expression was 60.38%, which was lower than that of 86.84% of patients with TLR4 negative expression (χ^2=9.104, P<0.05); the 5-year survival rate of patients with CHI3L1 positive expression was 58.06%, which was lower than that of 84.31% of patients with CHI3L1 negative expression (χ^2=10.935, P<0.05). The positive expression of TLR4 and CHI3L1, poorly differentiated tumor, clinical stage Ⅲ, and lymph node metastasis were the independent risk factors for the prognosis of colon cancer patients (P<0.05). **Conclusion** TLR4 and CHI3L1 are related to the occurrence and clinicopathological features of colon cancer, and the positive expression of TLR4 and CHI3L1 in colon cancer tissues is not conducive to the prognosis of patients, so both of them are expected to become clinical treatment targets.

Keywords: colon cancer; radical surgery; prognosis; Toll-like receptor 4; chitinase 3-like protein 1

[基金项目] 秦皇岛市科学技术研究与发展计划(202101A123)
[通信作者] 许曦鸣,E-mail:15903351430@163.com

结肠癌是一种高发病率、高病死率的消化道恶性肿瘤，严重威胁人类健康[1]。结肠癌的发生与基因突变、不良饮食习惯、消化道基础疾病、接触致癌物质等多种因素有关，发病早期症状不明显，进展后表现出腹痛腹胀、消化不良、乏力、便血、贫血等症状[2-3]。手术治疗能够有效延长结肠癌患者的生存期，但中晚期患者预后仍不理想[4-5]。已有研究表明，Toll样受体4（toll-like receptor，TLR4）和壳多糖酶3样蛋白1（chitinase 3-like protein 1，CHI3L1）在结肠癌组织中呈过表达，且TLR4和CHI3L1均能够通过调节核因子κB（nuclear factor κB，NF-κB）影响肿瘤的发生发展[6-8]，但TLR4和CHI3L1与结肠癌患者预后的关系有待深入研究。因此，本研究通过检测结肠癌组织中TLR4和CHI3L1的表达，分析TLR4和CHI3L1与结肠癌患者临床病理特征及预后的关系，为结肠癌的临床治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2017年1月至2018年5月于我院行结肠癌根治术的152例结肠癌患者为研究对象，收集手术过程中切除的结肠癌组织及癌旁组织（距癌组织2 cm）。纳入标准：①符合结肠癌的诊断标准，并经病理学证实[9]；②术前未接受过放化疗；③随访时间不短于12个月；④临床资料完整。排除标准：①依从性差；②复发性结肠癌；③合并其他恶性肿瘤；④重要器官功能障碍；⑤伴有血液系统疾病；⑥术前合并急慢性感染。本研究经我院医学伦理委员会审核通过（伦理批号：16120516），患者对本研究知情同意。

1.2 方法

术前统计患者年龄、性别、肿瘤直径、肿瘤位置、肿瘤分化程度、临床分期、淋巴结转移情况等。采用免疫组织化学染色法检测术中切除的结肠癌组织及癌旁组织中TLR4、CHI3L1表达，组织标本经10%中性福尔马林固定后石蜡包埋、切片，切片厚度4 μm。二甲苯溶液脱蜡，抗原修复，滴加TLR4和CHI3L1一抗，阴性对照以PBS代替一抗，滴加二抗，DAB显色、苏木素复染、中性树胶封片，光学显微镜下观察。染色强度计分：无色为0分；浅黄色为1分；棕黄色为2分；棕褐色为3分。阳性细胞百分比计分：<5%为0分；5%~24%为1分；25%~50%为2分；>50%为3分。两项指标得分之和<2分为阴性，2~6分为阳性。

患者出院后，采用电话、短信、门诊复查的形式进行为期5年的随访，术后3年内每3个月随访1次，之后每6个月随访1次。随访期间失访8例，144例完成5年随访，将随访期间生存的患者纳入预后良好组（n=97），死亡患者纳入预后不良组（n=47）。

1.3 统计学分析

采用SPSS 25.0软件分析数据，计数资料以率（%）描述，行χ^2检验；采用*Kaplan-Meier*法分析结肠癌组织中TLR4和CHI3L1表达与患者预后的关系；采用*Cox*回归分析影响预后的因素。P<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠癌组织及癌旁组织中TLR4、CHI3L1的表达

结肠癌组织TLR4、CHI3L1阳性表达率均显著高于癌旁组织（P<0.05），见表1。

表1 结肠癌组织及癌旁组织中TLR4、CHI3L1表达情况比较 [n=152，例（%）]

组织	TLR4阳性表达	CHI3L1阳性表达
结肠癌组织	112（73.68）	98（64.47）
癌旁组织	68（44.74）	57（37.50）
χ^2	26.368	22.127
P	0.000	0.000

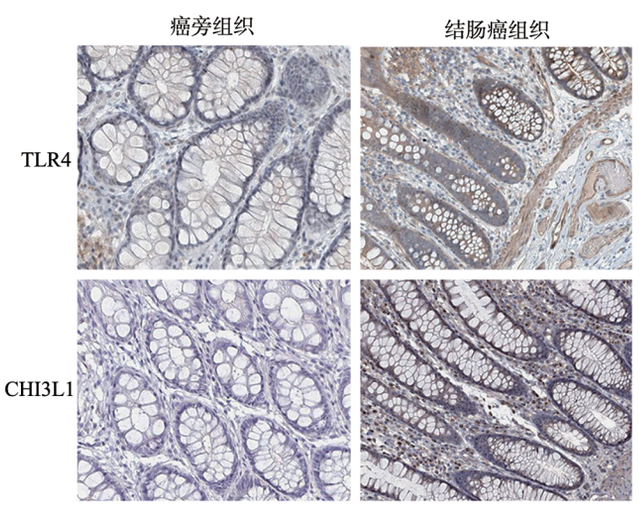


图1 TLR4和CHI3L1的免疫组织化学染色图（×400）

2.2 结肠癌组织中TLR4、CHI3L1表达与患者临床病理特征的关系

结肠癌组织中TLR4表达与患者肿瘤分化程度、临床分期和淋巴结转移有关（P<0.05），CHI3L1表达与结肠癌患者肿瘤直径、肿瘤分化程度、临床分期和淋巴结转移有关（P<0.05），见表2。

2.3 预后良好组和预后不良组临床资料比较

与预后良好组比较，预后不良组患者肿瘤低分化、临床分期Ⅲ期、淋巴结转移、TLR4阳性表达和CHI3L1阳性表达的占比较高（P<0.05），见表3。

表2 结肠癌组织中TLR4、CHI3L1表达与患者临床病理特征的关系[例(%)]

指标		TLR4阳性（n=112）	TLR4阴性（n=40）	χ^2	P	CHI3L1阳性（n=98）	CHI3L1阴性（n=54）	χ^2	P
年龄	≤60岁	63(56.25)	24(60.00)	0.169	0.681	60(61.22)	27(50.00)	1.792	0.181
	>60岁	49(43.75)	16(40.00)			38(38.78)	27(50.00)		
性别	男	58(51.79)	23(57.50)	0.387	0.534	56(57.14)	25(46.30)	1.646	0.200
	女	54(48.21)	17(42.50)			42(42.86)	29(53.70)		
肿瘤直径	≤3 cm	50(44.64)	25(62.50)	3.760	0.052	41(41.84)	34(62.96)	6.217	0.013
	>3 cm	62(55.36)	15(37.50)			57(58.16)	20(37.04)		
肿瘤位置	左半结肠	61(54.46)	25(62.50)	0.775	0.379	51(52.04)	35(64.81)	2.312	0.128
	右半结肠	51(45.54)	15(37.50)			47(47.96)	19(35.19)		
肿瘤分化程度	低分化	45(40.18)	8(20.00)	5.284	0.022	43(43.88)	10(18.52)	9.859	0.002
	中高分化	67(59.82)	32(80.00)			55(56.12)	44(81.48)		
临床分期	Ⅰ~Ⅱ期	67(59.82)	33(82.50)	6.735	0.009	54(55.10)	46(85.19)	13.999	0.000
	Ⅲ期	45(40.18)	7(17.50)			44(44.90)	8(14.81)		
淋巴结转移	是	43(38.39)	7(17.50)	5.828	0.016	39(39.80)	11(20.37)	5.952	0.015
	否	69(61.61)	33(82.50)			59(60.20)	43(79.63)		

表3 预后良好组和预后不良组患者临床资料比较[例(%)]

指标		预后良好组（n=97）	预后不良组（n=47）	χ^2	P
年龄	≤60岁	59(60.82)	23(48.94)	1.825	0.177
	>60岁	38(39.18)	24(51.06)		
性别	男	52(53.61)	26(55.32)	0.037	0.847
	女	45(46.39)	21(44.68)		
肿瘤直径	≤3 cm	49(50.52)	22(46.81)	0.174	0.677
	>3 cm	48(49.48)	25(53.19)		
肿瘤位置	左半结肠	56(57.73)	28(59.57)	0.044	0.833
	右半结肠	41(42.27)	19(40.43)		
肿瘤分化	低分化	24(24.74)	25(53.19)	11.414	0.001
程度	中高分化	73(75.26)	22(46.81)		
临床分期	Ⅰ~Ⅱ期	41(42.27)	7(14.89)	10.676	0.001
	Ⅲ期	56(57.73)	40(85.11)		
淋巴结转移	是	20(20.62)	27(57.45)	19.531	0.000
	否	77(79.38)	20(42.55)		
TLR4表达	阳性	64(65.98)	42(89.36)	8.911	0.003
	阴性	33(34.02)	5(10.64)		
CHI3L1表达	阳性	54(55.67)	39(82.98)	10.322	0.001
	阴性	43(44.33)	8(17.02)		

2.4 结肠癌组织中TLR4、CHI3L1的表达与患者预后的关系

112例TLR4阳性表达患者中6例失访，64例生存，42例死亡；40例TLR4阴性表达患者中2例失访，33例生存，5例死亡。98例CHI3L1阳性表达患者中5例失访，54例生存，39例死亡；54例CHI3L1阴性表达患者中3例失访，43例生存，8例死亡。TLR4阳性表达患者5年生存率为60.38%，低于TLR4阴性表达患者的86.84%（χ^2=9.104，P<0.05）；CHI3L1阳性表达患者5年生存率为58.06%，低于CHI3L1阴性表达患者的84.31%（χ^2=10.935，P<0.05），见图2、3。

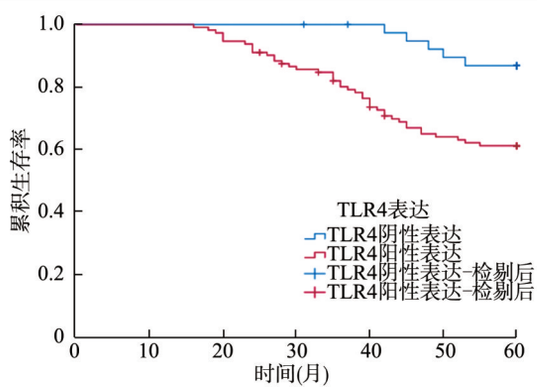


图2 结肠癌组织中TLR4表达与患者预后的关系

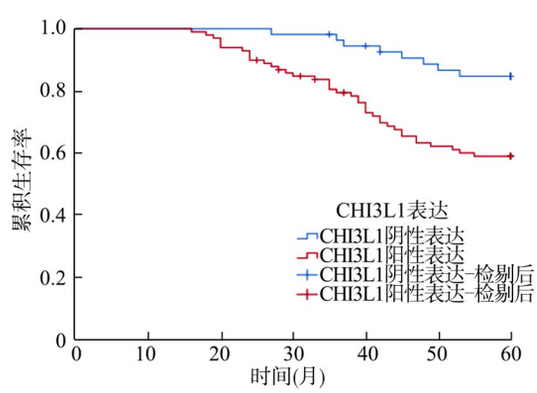


图3 结肠癌组织中CHI3L1表达与患者预后的关系

2.5 结肠癌患者预后的多因素Cox回归分析

TLR4阳性、CHI3L1阳性、肿瘤低分化、临床分期Ⅲ期、淋巴结转移是影响结肠癌患者预后的独立危险因素（P<0.05），见表4。

表4 结肠癌患者预后的多因素*Cox*回归分析

变量	β	SE	$Wald\ \chi^2$	P	HR	95%CI
TLR4阳性	0.675	0.286	5.570	0.018	1.964	1.121~3.440
CHI3L1阳性	1.241	0.405	9.389	0.002	3.459	1.564~7.651
肿瘤低分化	0.931	0.324	8.263	0.004	2.537	1.345~4.789
临床分期Ⅲ期	1.038	0.281	13.649	0.000	2.824	1.628~4.898
淋巴结转移	0.623	0.193	10.429	0.001	1.865	1.278~2.722

3 讨论

结肠癌在我国的发病率近年来呈上升趋势,以腺癌居多,好发于40岁以上人群,由于早期症状不明显,多数患者确诊时已处于中晚期,预后欠佳[10-11]。探寻与结肠癌患者预后相关的因素对于改善患者预后具有重要意义。

作为TLR家族重要成员,TLR4不仅是参与天然免疫的重要分子,也是炎症反应的重要调节因子,其编码基因位于人类9号染色体上,可影响胃癌、肝癌、乳腺癌等的发生发展[12-13]。本研究结果显示,与癌旁组织比较,结肠癌组织中TLR4阳性表达率较高,与以往研究[14]结果一致,提示TLR4与结肠癌的发生有关。本研究通过分析结肠癌组织TLR4表达与患者临床病理特征的关系发现,TLR4表达与肿瘤分化程度、临床分期和淋巴结转移有关,提示TLR4能够在一定程度上影响结肠癌进展。Jin等[15]证实,迷迭香酸通过调控TLR4/NF-κB/STAT3信号通路抑制结肠炎相关结肠癌的发生发展,TLR4有望成为结肠癌的治疗靶点。本研究结果显示,TLR4阳性表达患者5年生存率低于TLR4阴性表达患者。李博文等[16]进行多因素*Cox*分析显示,TLR4表达是影响结直肠癌患者预后的因素之一,本研究结果与之一致。基于以上结果,我们推测,TLR4可能通过调控NF-κB相关信号通路影响结肠癌的发生发展和预后。

CHI3L1是一种约40 kDa的分泌型糖蛋白,含383个氨基酸,编码基因位于人的1号染色体,在炎症小体激活、巨噬细胞浸润、组织重塑和血管生成等过程中发挥重要调节作用[17-18]。目前,已有许多研究报道CHI3L1在多种肿瘤中发挥作用。Hao等[19]报道,上调CHI3L1表达后,可促进前列腺癌的增殖和迁移;Zhao等[20]研究发现,CHI3L1通过激活胶质瘤细胞内NF-κB信号通路促进胶质瘤进展。在本研究中,结肠癌组织中CHI3L1阳性表达率高于癌旁组织,推测CHI3L1与结肠癌的发生有关;进一步分析发现,CHI3L1与肿瘤直径、肿瘤分化程度、临床分期和淋巴结转移均有一定关系,推测CHI3L1在结肠癌发展过程中发挥重要作用;多因素分析表明CHI3L1阳性是影响结肠癌患者预后的独立危险因素;生存分析结果显示,CHI3L1阳性表达患者5年生存率明显低于CHI3L1阴性表达患者,提示结肠癌组织中CHI3L1的表达可影响患者预后。彭洪等[21]发现,CHI3L1通过调节其靶基因表达促进结直肠癌细胞增殖和迁移,有望成为结直肠癌的潜在治疗靶点。基于上述结果,我们推测,CHI3L1同TLR4相似,通过诱导激活相关信号通路,促进结肠癌的发展,影响患者预后。

综上所述,TLR4和CHI3L1与结肠癌的发生和发展有关,且TLR4和CHI3L1阳性表达不利于患者预后。本研究的不足之处:样本量不足;未探讨TLR4和CHI3L1影响结肠癌预后的具体作用机制,有待后续进一步研究。

[参考文献]

[1] Kim SH, Song SE, Baik H, et al. 15-Prostaglandin dehydrogenase inhibition enhances colon cancer metastasis by up-regulation of epithelial-to-mesenchymal transition genes[J]. Anticancer Res, 2022, 42(11):5385-5396. doi:10.21873/anticanres.16043.

[2] Kato I, Sun J. Microbiome and diet in colon cancer development and treatment[J]. Cancer J, 2023, 29(2):89-97. doi:10.1097/PPO.0000000000000649.

[3] 曹强坚,黎小爱,吴宝安. 结肠癌中USP22表达水平与基质金属蛋白酶及预后的相关性[J]. 临床和实验医学杂志,2022,21(10):1045-1048. doi:10.3969/j.issn.1671-4695.2022.10.010.

[4] Verkuijl SJ, Jonker JE, Trzpis M, et al. Functional outcomes of surgery for colon cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Eur J Surg Oncol, 2021, 47(5): 960-969. doi: 10.1016/j.ejso.2020.11.136.

[5] 孙跃明. 结直肠癌外科治疗进展[J]. 中华消化外科杂志,2024,23(6): 789-794. doi: 10.3760/cma.j.cn115610-20240508-24243.

[6] Kong C, Yan X, Zhu Y, et al. Fusobacterium nucleatum promotes the development of colorectal cancer by activating a cytochrome P450/Epoxyoctadecenoic acid axis via TLR4/Keap1/NRF2 signaling[J]. Cancer Res, 2021, 81(17): 4485-4498. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-21-0453.

[7] Zhao T, Su Z, Li Y, et al. Chitinase-3 like-protein-1 function and its role in diseases[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 201-220. doi: 10.1038/s41392-020-00303-7.

[8] Gao Y, Han T, Han C, et al. Propofol regulates the TLR4/NF-κB pathway through miRNA-155 to protect colorectal cancer intestinal barrier[J]. Inflammation, 2021, 44(5): 2078-2090. doi: 10.1007/s10753-021-01485-0.

[9] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局,中华医学会肿瘤学分会. 中国结直肠癌诊疗规范(2017年版)[J]. 中华外科杂志,2018,56(4):241-258. doi:10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2018.04.001.

[10] 杨学丽,姜琳娜,安 欣,等. miR-383和PRDX3在结肠癌组织中的表达水平及意义[J]. 国际检验医学杂志,2022,43(17):2125-2130. doi: 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.17.016.

[11] Arredondo J, Pastor E, Simó V, et al. Neoadjuvant chemotherapy in locally advanced colon cancer: a systematic review[J]. Tech Coloproctol, 2020, 24(10): 1001-1015. doi: 10.1007/s10151-020-02289-4.

[12] Sangwan V, Al-Marzouki L, Pal S, et al. Inhibition of LPS-mediated TLR4 activation abrogates gastric adenocarcinoma-associated peritoneal metastasis[J]. Clin Exp Metastasis, 2022, 39(2): 323-333. doi: 10.1007/s10585-021-10133-8.