

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2024.05.003

❖ 基础研究 ❖

# 髓过氧化物酶在结直肠腺瘤组织的表达及临床意义

曹丽群<sup>1</sup>, 李一然<sup>2</sup>, 张平<sup>3</sup>, 梁海清<sup>2</sup>, 李洪雷<sup>1</sup>

(山东大学齐鲁医院德州医院, 1. 病理科; 2. 老年医学科, 山东 德州 253014; 3. 德州市德城区妇幼保健院病理科, 山东 德州 253017)

**【摘要】目的:** 通过测定结直肠腺瘤组织中髓过氧化物酶(MPO)的水平, 探讨其在结直肠腺瘤发生发展及“腺瘤-癌”转变过程中的作用。**方法:** 收集 80 例结直肠腺瘤患者的组织学标本, 常规 HE 染色, 采用免疫组织化学方法检测 MPO 表达。根据 HE 染色结果分为低级别管状腺瘤(A)组、管状绒毛状腺瘤(B)组、高级别上皮内瘤变和/或粘膜内癌(C)组; 根据结肠镜检查腺瘤最大直径分为直径 < 10 mm(D)组、直径 ≥ 10mm(E)组。比较不同结直肠腺瘤癌变风险及不同结肠镜检查腺瘤大小间 MPO 的表达水平。**结果:** 腺瘤组织 MPO 阳性表达率为 81.2%。A 组呈弱阳性表达, 阳性率 66.0%; B 组弱阳性表达率 45.5%, 中等强度阳性表达率 45.5%; C 组中等阳性表达率 45.5%, 强阳性表达率 36.4%, 各组两两比较, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。E 组 MPO 阳性表达率及表达强度均高于 D 组 ( $P < 0.05$ )。**结论:** MPO 在结直肠腺瘤组织阳性表达, MPO 可作为监测疾病病程和严重程度评估的组织学指标。

**【关键词】** 结直肠腺瘤; 髓过氧化物酶; 癌变风险

**【中图分类号】** R735.34 **【文献标志码】** A

## Expression and clinical significance of myeloperoxidase in colorectal adenoma

CAO Li-qun<sup>1</sup>, LI Yi-ran<sup>2</sup>, ZHANG Ping<sup>3</sup>, LIANG Hai-qing<sup>2</sup>, LI Hong-lei<sup>1</sup>

(1. Department of Pathology; 2. Department of Geriatrics, Qilu Hospital of Shandong University Dezhou Hospital, Dezhou 253014; 3. Department of Pathology, Decheng Maternal and Child Health Hospital, Dezhou 253017, Shandong, China)

**【Abstract】Objective:** Detecting the level of myeloperoxidase (MPO) in colorectal adenoma, in order to investigate its role in the development of colorectal adenoma and the transition of “adenoma-carcinoma”. **Methods:** The histological specimens of 80 patients with colorectal adenoma were collected, stained with HE, and the expression of MPO was detected by immunohistochemistry. Histological specimens were divided into low-grade tubular adenoma (group A), tubular villous adenoma (group B), high-grade intraepithelial neoplasia and/or intramucosal carcinoma (group C) according to the results of HE staining. According to the maximum diameter of adenoma examined by colonoscopy, it was divided into diameter < 10mm (d) group and diameter ≥ 10mm (E) group. The expression level of MPO between the groups was compared. **Results:** The positive expression rate of MPO in adenoma was 81.2%. Group A showed weak positive expression, and the positive rate was 66.0%. In group B, the weak positive expression rate was 45.5%, and the medium intensity positive expression rate was 45.5%. In group C, the medium positive expression rate was 45.5%, and the strong positive expression rate was 36.4%. There was significant difference in pairwise comparison among the groups ( $P < 0.05$ ). Compared with group D, the positive expression rate and expression intensity of MPO in Group E were higher ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** MPO is positive in colorectal adenomas, and MPO can be used as a histological index to monitor the course and severity of the disease.

**【Key words】** Colorectal adenoma; Myeloperoxidase; Cancer risk

氧化应激被认为在结直肠癌的发生、发展中起重要作用<sup>[1-4]</sup>。髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)为溶酶体 I 期酶, 其主要的生理作用为促进次氯酸或其他活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成, 在出现先天性免疫应答时发挥氧化应激作用。但氧化应激与结直肠腺瘤的相关性研究极少。结直

肠腺瘤病理学分型包括绒毛状腺瘤、管状-绒毛状腺瘤、管状腺瘤, 其中管状腺瘤最为常见, 结直肠腺瘤目前仍被视为结直肠癌的前期病变, 经由“腺瘤-腺癌”经典途径转变。进展期腺瘤有明确的癌变风险, 包括: 腺瘤长径 ≥ 10 mm、绒毛或管状绒毛状腺瘤、有高级别异型增生。尽管近年来结肠镜检查已

基金项目: 山东省德州市科学技术进步奖科研项目(GY-JB2021-2-R04)

作者简介: 曹丽群(1973-), 女, 副主任医师。E-mail: 13953448337@163.com

通讯作者: 李洪雷。E-mail: lihonglei09@163.com

广泛用于结直肠癌的早期筛查,但结直肠癌仍是全球发病率和死亡率居高的癌性病变,我国 2018 年结直肠癌新发、死亡病例接近世界总发生率的 30%<sup>[5-6]</sup>。阻断“腺瘤-腺癌”的序贯进展可有效降低我国结直肠癌的发生率与死亡率,因此探讨腺瘤的发病机制具有重要的临床意义。本研究以结直肠腺瘤患者为研究对象,应用免疫组织化学方法检测腺瘤组织中 MPO 的表达,同步分析 MPO 与临床、病理的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2020 年 1 月至 2021 年 6 月在德州市人民医院收治并经结肠镜及组织病理学检查确诊的 80 例结直肠腺瘤患者为研究对象。其中男性 49 例,女性 31 例,年龄(59.0 ± 9.27)岁,按照结直肠腺瘤癌变风险评估标准进行分组。根据我国最新《胃肠道腺瘤和良性上皮性息肉的病理诊断共识》<sup>[7]</sup>,将入组患者分为三组:低级别管状腺瘤(A)组( $n = 47$ );管状绒毛状腺瘤(B)组( $n = 22$ );高级别上皮内瘤变和/或粘膜内癌(C)组( $n = 11$ )。根据结肠镜活检腺瘤大小(以最大直径计算)分为两组:直径 < 10 mm (D)组( $n = 27$ );直径 ≥ 10 mm (E)组( $n = 53$ )。排除标准:(1)免疫性及其他全身系统性疾病者;(2)恶性肿瘤或恶性肿瘤病史者;(3)严重肝肾、心肺功能不全者;(4)近期(1 个月内)使用抗氧化药物者。本研究项目通过德州市人民医院医学伦理委员会审批,所有入组患者均签署知情同意书。

### 1.2 方法

所有入组患者均接受结肠镜检查及内镜下腺瘤切除,结肠镜下估测并记录腺瘤大小,切除的腺瘤组织标本以 4% 中性甲醛固定备用。结肠镜操作由消化内镜医师完成。腺瘤组织标本均以 4% 中性甲醛

固定 24 h,常规 HE 染色。免疫组织化学采用 Envision 法,抗体均为即用型,免疫组化按说明步骤操作,DAB 显色,所用抗体为兔抗人髓过氧化物酶多克隆抗体(福州迈新生物技术开发有限公司),并用内对照,由病理科副主任医师盲态状况下进行镜检和结果判定。染色结果判定:操作过程中,采用内对照。每例随机观察 5 个视野,根据阳性细胞数量,分为弱阳性(+;阳性细胞数 5% ~ 24%);中等强度阳性(++;阳性细胞数 25% ~ 49%);强阳性(+++;阳性细胞数 ≥ 50%)。

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据处理与分析。计量资料采用( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用独立样本  $t$  检验;计数资料用[ $n(\%)$ ]表示,组间比较用独立样本  $\chi^2$  检验;等级资料采用秩和检验,调整  $\alpha$  后,进行两两比较。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 结直肠腺瘤组织中 MPO 的表达

根据 HE 染色结果,腺瘤组分为低级别管状腺瘤(A)组、管状绒毛状腺瘤(B)组、高级别上皮内瘤变和/或粘膜内癌(C)组,三组病理组织分别进行 MPO 免疫组化染色,随病变程度不同呈现不同强度阳性表达。见图 1。

### 2.2 MPO 在结直肠腺瘤不同病理特征组织中的表达

MPO 在三组结直肠腺瘤组织中阳性构成比及阳性表达程度不同,A 组呈弱阳性表达,构成比 66.0%;B 组弱阳性构成比 45.5%,中等强度阳性构成比 45.5%;C 组中等阳性构成比 45.5%,强阳性构成比 36.4%。各组阳性表达程度呈递增趋势,两两比较有统计学差异( $P < 0.05$ )。见表 1。

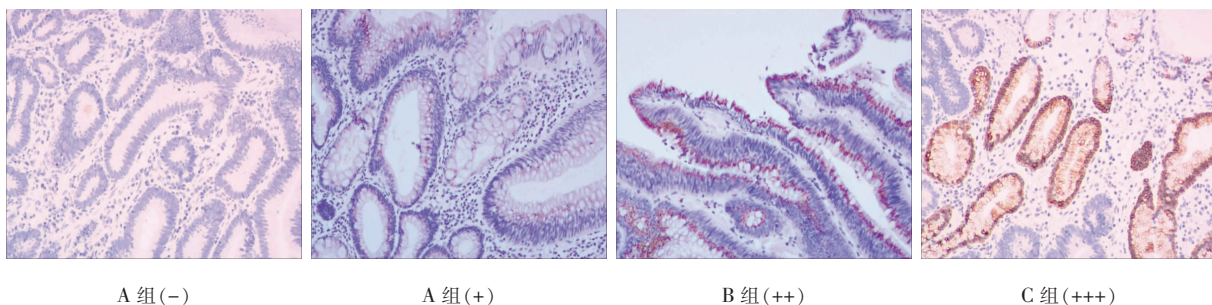


图 1 MPO 在结直肠腺瘤组织的表达(200×)

表1 MPO 在结直肠腺瘤不同病理组织中的表达[ $n(\%)$ ]

组别	-	+	++	+++
A组( $n=47$ )	13(27.7)	31(66.0)	3(6.3)	0(0.0)
B组( $n=22$ )	2(9.0)	10(45.5)	10(45.5)	0(0.0)
C组( $n=11$ )	0(0.0)	2(18.1)	5(45.5)	4(36.4)

### 2.3 MPO 在不同大小结直肠腺瘤组织中的表达

根据结肠镜检查中估测的腺瘤组织大小,以最大直径 10 mm 为界分为 D、E 两组。D 组腺瘤最大直径 < 10 mm, E 组腺瘤最大直径  $\geq$  10 mm。D 组 13 例无 MPO 表达, 14 例 MPO 呈弱表达, 构成比 51.9%。E 组弱阳性表达构成比 54.7%, 中等强度阳性表达构成比 34.0%, 强阳性表达构成比 7.5%。随腺瘤增大 MPO 表达增强, 两组差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表2 MPO 在不同大小结直肠腺瘤组织中的表达[ $n(\%)$ ]

组别	-	+	++	+++
D组( $n=27$ )	13(48.2)	14(51.9)	0(0.0)	0(0.0)
E组( $n=53$ )	2(3.8)	29(54.7)	18(34.0)	4(7.6)
Z 值		20.299		
P 值		< 0.001		

## 3 讨论

氧化应激是活性氧(ROS)的水平超过细胞抗氧化防御机制的细胞状态。过量的 ROS 会损害基因组和线粒体 DNA, 改变关键细胞大分子的结构和功能, 导致细胞生长, 突变和/或染色体不稳定性的 DNA, 从而导致肿瘤形成<sup>[8]</sup>。有研究<sup>[9]</sup>证实, 氧化应激可在诱导细胞因子合成和激发过程中造成结肠粘膜损伤和癌变。

结直肠肿瘤从肠粘膜发育不良开始, 到具有恶性潜能的息肉及息肉进一步发展, 最终形成腺癌。Crespo-Sanjuán 等<sup>[10]</sup>研究发现在结直肠息肉阶段即可检测出血液中 MPO、氧化的低密度脂蛋白水平增高, 而  $\beta$ -胡萝卜素等抗氧化剂水平降低, 且随着疾病进展氧化状态逐渐增强, 因此提出促氧化剂状态对息肉发生具有敏感性, 如果这种状态持续下去, 息肉将会进展为结直肠癌。Wu 等<sup>[11]</sup>研究显示大肠癌患者血清总氧化状态(TOS)和氧化应激指数(OSI)水平明显升高, 总抗氧化剂状态(TAS)水平明显降低, 提出结直肠癌患者机体存在总氧化/抗氧化状态失衡, 二者具有相关性。本课题组前期研究<sup>[12]</sup>显示, 结直肠腺瘤患者血清 OSI、TOS 水平高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 而对照组 TAS 血清水平高于结直肠腺

瘤患者 ( $P < 0.05$ ), 由此证实携带结直肠腺瘤人群已经处于氧化应激状态。

氧化应激反应为内外因素综合作用于人体的最终结果。MPO 是由中性粒细胞和单核细胞分泌的内源性代谢/氧化溶酶体酶, 在体内可诱导产生至突变物、活性氧(ROS), 发生局部炎性反应, 导致机体处于氧化应激状态, 由此 MPO 被定为人体氧化应激的标志性促氧化酶。MPO 通过催化 HOCL 的生成, HOCL 降低金属蛋白酶类组织抑制剂(TIMP-1)生物活性, 炎症反应在缺乏 TIMP-1 的抑制作用而加剧, 免疫相关基因继而差异性表达, 局部肠道纤维化, 进一步可发展为腺癌<sup>[13-14]</sup>。Al-Salihi 等<sup>[15]</sup>报道 Apc-Min/T 小鼠的结肠细胞内 MPO 的氧化副产物可与磷酸酶张力蛋白同系物(PTEN)结合, 在 PI3-激酶-PTEN-Akt 激酶轴的作用下, 诱使细胞的合成代谢功能增强, 促进结直肠肿瘤从良性到恶性的转化。毛晓光等<sup>[16]</sup>研究也证实了 MPO 在人体大肠癌组织的高表达, 提出 MPO 与结直肠癌的浸润、转移相关。但目前国内外 MPO 与结直肠腺瘤的相关性研究极少。Droeser 等<sup>[17]</sup>研究发现正常结直肠粘膜的 MPO 阳性细胞浸润增加与脂质代谢紊乱诱发的肠粘膜炎症反应相关, 鉴于炎症与腺瘤发生的相关性, 提出正常结直肠粘膜中 MPO 阳性细胞计数是结直肠腺瘤发生的独立危险因素。本研究为进一步证实氧化应激与结直肠腺瘤的相关性, 检测了腺瘤组织中 MPO 的表达, 结果显示 MPO 在腺瘤组织中的阳性表达占 81.2%; 为探讨 MPO 与结直肠腺瘤癌变的关系, 本研究根据腺瘤癌变风险等级进行了分层分析, 结果发现随着腺瘤癌变风险的增高 MPO 的阳性表达强度增加 ( $P < 0.05$ ), 此与 Crespo-Sanjuán 等<sup>[10]</sup>的结直肠息肉患者血液中 MPO 研究结果一致。由此认为 MPO 可能通过诱发结直肠粘膜细胞中的氧化应激反应, 导致局部肠粘膜损伤、异型增生、腺瘤的形成, 并在促进腺瘤向癌的转化过程中发挥一定作用。

综上, MPO 可以作为监测疾病病程和严重程度评估的组织学指标。鉴于氧化应激可能在结直肠肿瘤形成的早期即已发生, 针对 MPO 的检测及靶向治疗或许可以作为结直肠早癌的防治措施, 因此需要进一步探索 MPO 影响结直肠肿瘤发病的详细机制, 此将在后续的研究中深入开展。

### 参考文献

- [1] Leufkens AM, Van Duijnhoven FJB, Woudt SHS, et al. Biomarkers of oxidative stress and risk of developing colorectal cancer: a cohort-nested case-control study in the European Prospective Investi-

- gation Into Cancer and Nutrition[J]. American Journal of Epidemiology, 2012, 175(7): 653 - 663.
- [2] 张焱, 马双余, 孙晓力. 胃肠道肿瘤患者机体氧化应激状态的研究[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2013, 34(6): 793 - 796.
- [3] Li T, Xian WJ, Gao Y, et al. Higd1a protects cells from lipotoxicity under high-fat exposure[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019, 2019: 6051262.
- [4] MacLauchlan SC, Calabro NE, Huang Y, et al. HIF-1 $\alpha$  represses the expression of the angiogenesis inhibitor thrombospondin-2[J]. Matrix Biology: Journal of the International Society for Matrix Biology, 2018, 65: 45 - 58.
- [5] Zińczuk J, Maciejczyk M, Zaręba K, et al. Pro-oxidant enzymes, redox balance and oxidative damage to proteins, lipids and DNA in colorectal cancer tissue. is oxidative stress dependent on tumour budding and inflammatory infiltration? [J]. Cancers, 2020, 12(6): 1636.
- [6] 国家消化系统疾病临床医学研究中心(上海), 中华医学会消化内镜学分会, 中国抗癌协会肿瘤内镜专业委员会, 等. 中国结直肠癌癌前病变和癌前状态处理策略专家共识[J]. 中华消化内镜杂志, 2022, 39(1): 1 - 18.
- [7] 中华医学会病理学分会消化疾病学组. 胃肠道腺瘤和良性上皮性息肉的病理诊断共识[J]. 中华病理学杂志, 2020, 49(1): 3 - 11.
- [8] Klaunig JE. Oxidative stress and cancer[J]. Current Pharmaceutical Design, 2018, 24(40): 4771 - 4778.
- [9] 杨婕琳, 赵东强. 消化系统恶性肿瘤与氧化应激关系的研究进展[J]. 胃肠病学, 2015, 20(2): 113 - 115.
- [10] Crespo-Sanjuán J, Calvo-Nieves MD, Aguirre-Gervás B, et al. Early detection of high oxidative activity in patients with adenomatous intestinal polyps and colorectal adenocarcinoma: myeloperoxidase and oxidized low-density lipoprotein in serum as new markers of oxidative stress in colorectal cancer[J]. Laboratory Medicine, 2015, 46(2): 123 - 135.
- [11] Wu R, Feng J, Yang Y, et al. Significance of serum total oxidant/antioxidant status in patients with colorectal cancer[J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0170003.
- [12] 梁海清, 邹朝平, 卢美丽, 等. 结直肠息肉患者机体总氧化和抗氧化状态的评估及意义[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2021, 29(12): 847 - 850.
- [13] Conlon GA, Murray GI. Recent advances in understanding the roles of matrix metallo-proteinases in tumour invasion and metastasis [J]. The Journal of Pathology, 2019, 247(5): 629 - 640.
- [14] Breynaert C, de Bruyn M, Arijis I, et al. Genetic deletion of tissue inhibitor of metalloproteinase-1/TIMP-1 alters inflammation and attenuates fibrosis in dextran sodium sulphate-induced murine models of colitis [J]. Journal of Crohn's & Colitis, 2016, 10(11): 1336 - 1350.
- [15] Al-Salihi M, Reichert E, Fitzpatrick FA. Influence of myeloperoxidase on colon tumor occurrence in inflamed versus non-inflamed colons of Apc(Min/+) mice[J]. Redox Biology, 2015, 6: 218 - 225.
- [16] 毛晓光, 谭湘, 杨志伟, 等. PDGF-D 与 MPO 在大肠癌组织中的表达及临床意义[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2014, 23(1): 26 - 28.
- [17] Drosner RA, Hirt C, Eppenberger-Castori S, et al. High myeloperoxidase positive cell infiltration in colorectal cancer is an independent favorable prognostic factor[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e64814.
- (收稿日期: 2023 - 11 - 12 修回日期: 2023 - 12 - 30)