

## 肿瘤出芽与结直肠癌临床病理特征及预后的相关性分析

徐溢新<sup>1</sup>, 刘佳<sup>2</sup>, 刘广珍<sup>2</sup>, 宋虎<sup>1</sup>, 许腾<sup>1</sup>, 江涛<sup>1</sup>, 宋军<sup>1\*</sup>

(1. 徐州医科大学附属医院胃肠外科, 江苏 徐州 221002; 2. 徐州医科大学附属医院病理科)

**摘要:**目的 探讨肿瘤出芽与结直肠癌临床病理特征的关系及对结直肠癌患者预后的影响, 为结直肠癌临床诊治和预后评价提供新方向。方法 选取 2015 年 1 月—12 月徐州医科大学附属医院胃肠外科收治的未经放化疗的结直肠癌患者 285 例作为研究对象, 根据肿瘤出芽水平分为低肿瘤出芽组和高肿瘤出芽组, 分析肿瘤出芽与结直肠癌临床病理特征的关系; 通过随访, 分析肿瘤出芽与肿瘤预后的相关性。结果 高肿瘤出芽组中低组织学分级、高浸润深度和复发患者比例显著高于低肿瘤出芽组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 多因素 COX 回归分析显示, 肿瘤出芽是结直肠癌患者预后的独立危险因素 ( $HR = 2.663, 95\% CI: 1.534 \sim 3.878, P < 0.001$ )。结论 肿瘤出芽与结直肠癌侵袭相关指标关系密切, 是影响结直肠癌患者预后的重要因素。

**关键词:** 肿瘤出芽; 结直肠癌; 病理特征; 预后

中图分类号: R735.34 文献标志码: A 文章编号: 2096-3882(2020)12-0864-06

DOI: 10.3969/j.issn.2096-3882.2020.12.002

## Association of tumor budding with the clinicopathological characteristics and prognosis of colorectal cancer

XU Yixin<sup>1</sup>, LIU Jia<sup>2</sup>, LIU Guangzhen<sup>2</sup>, SONG Hu<sup>1</sup>, XU Teng<sup>1</sup>, JIANG Tao<sup>1</sup>, SONG Jun<sup>1\*</sup>

(1. Department of Gastrointestinal Surgery, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221002, China; 2. Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University)

**Abstract: Objective** To explore the association of tumor budding with the clinicopathological characteristics of colorectal cancer, and its effects on the prognosis of colorectal cancer patients, so as to provide a new direction for clinical diagnosis, treatment and prognosis evaluation of colorectal cancer. **Methods** A total of 285 colorectal cancer patients who were admitted into Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University from January 2015 to December 2015 and not received radiotherapy and chemotherapy were enrolled. According to the grades of tumor budding, the patients were divided into two groups: a low budding group and high a budding group. The association of tumor budding with the clinicopathological characteristics of colorectal cancer was analyzed. Meanwhile, the relationship between tumor budding and tumor prognosis was analyzed after follow-up visits. **Results** The proportion of patients with low histological grade, invasion type, high depth of invasion and recurrence in the high tumor budding group was significantly higher than that in the low tumor budding group ( $P < 0.05$ ). Multivariate Cox regression analysis showed that tumor budding was an independent risk factor for the prognosis of colorectal cancer patients ( $HR = 2.663, 95\% CI: 1.534 \sim 3.878, P < 0.001$ ). **Conclusions** Tumor budding is associated with the invasion indicators of colorectal cancer. Tumor budding is an important risk factor for the prognosis of colorectal cancer patients.

**Key words:** tumor budding; colorectal cancer; pathological features; prognosis

结直肠癌 (colorectal Cancer, CRC) 是我国常见的恶性肿瘤之一, 随着人们生活水平的提高, CRC 的发病率也在不断上升<sup>[1]</sup>。回顾性分析显示中国

近 30 年 CRC 发病率每年上升 3% ~ 4%<sup>[2]</sup>。虽然 CRC 早期可以通过肠镜、肿瘤标志物等进行诊断, 但临床上仍缺乏评估 CRC 严重程度和患者预后质

**基金项目:** 国家自然科学基金 (82073133); 江苏省“六大人才高峰”高层次人才项目 (WSW-050); 江苏省自然科学基金面上项目 (BK20191154); 徐州市应用基础研究计划 (KC19032)

\* 通信作者, E-mail: songjunwaike@126.com

量的有效手段。肿瘤出芽是指存在于肿瘤浸润前缘或肿瘤周围散在的、呈未分化形态的单个或4个肿瘤细胞构成的癌巢,具有上皮-间质转化及肿瘤干细胞特性,因此肿瘤出芽代表了肿瘤侵袭或转移,促进肿瘤进展的动态过程<sup>[3]</sup>。然而,肿瘤出芽在CRC中报道较少,无系统研究肿瘤出芽与CRC的相关性及其对CRC患者预后的影响。因此本研究通过收集CRC患者组织标本检测肿瘤出芽情况,结合临床资料,探究肿瘤出芽与结直肠癌临床病理特征及预后的关系,为CRC的诊治和预后评估提供新思路。

## 1 资料和方法

1.1 一般资料 选取2015年1月—12月确诊且临床资料完整的285例CRC患者为研究对象,并进行回顾性分析。其中男性169例,女性116例。年龄35~75岁,平均年龄(58.35±13.38)岁。纳入标准:①符合中华医学会肿瘤学分会制定的《中国结直肠癌诊疗规范(2017版)》<sup>[4]</sup>中结直肠癌的诊断标准;②患者术前未接受放射治疗或化学治疗,术后采用FOLFOX化疗方案辅助治疗;③临床资料完整。排除标准:①存在自身免疫性疾病或长期服用免疫抑制剂者;②重要器官功能不全者;③存在炎症反应性肠病或其他感染性疾病者;④存在精神疾病、交流困难或无法配合检测工作者。

### 1.2 方法

1.2.1 患者一般资料和临床病理指标收集 收集患者年龄、性别、肿瘤部位(右半结肠、左半结肠、直肠)、肿瘤直径(≤5 cm、>5 cm)、组织学分级(高分化腺癌、中分化腺癌、低分化腺癌)、肿瘤生长类型(浸润型、非浸润型)、肿瘤浸润深度(未浸透浆膜、浸透浆膜)和淋巴转移情况(伴淋巴转移、无淋巴转移)等指标。

1.2.2 肿瘤出芽检测及评价方法 手术标本经4%多聚甲醛固定,常规石蜡包埋,5 μm连续切片后进行苏木精-伊红染色。脱水透明,树脂封片,显微镜下观察。评价方法:根据肿瘤出芽定义,在低倍镜(×100)下寻找肿瘤出芽最密集的部位,转为高倍镜(×400),在高倍镜视野(HPF)下选取10个视野进行出芽计数。肿瘤出芽的判断参照Ueno等<sup>[5]</sup>研究的标准,即在高倍视野下,肿瘤浸润部位间质中观测到10个以内小灶肿瘤细胞为低肿瘤出芽,观测到10个或大于10个小灶肿瘤细胞为高肿瘤出芽。

1.3 随访 采用电话随访的方式对患者进行随访,

随访起点为患者的手术时间,随访终点为患者死亡时间,随访5年,即截止时间为2020年1月31日。早期复发定义为术后2年内出现肿瘤复发、恶化或转移。

1.4 统计学处理 采用SPSS 17.0软件对数据进行处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 $t$ 检验;计数资料以率(%)表示,采用卡方检验;采用Spearson相关系数进行相关性分析;采用Kaplan-Meier统计法及Log-Rank法绘制生存曲线并分析组间差异,采用多因素COX回归进行预后相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 CRC患者的临床病理指标 在285例CRC患者中,低肿瘤出芽(<10个/HPF)患者194例、高肿瘤出芽(≥10个/HPF)患者91例;肿瘤部位:右半结肠73例、左半结肠98例,直肠114例;组织学分级:高分化腺癌76例、中分化腺癌174例、低分化腺癌35例;肿瘤直径:≤5 cm为147例,>5 cm为138例;肿瘤生长类型:浸润型201例,非浸润型84例;肿瘤浸润深度:未浸透浆膜169例,浸透浆膜116例;淋巴转移情况:82例伴淋巴转移,203例无淋巴转移。

2.2 CRC患者肿瘤出芽与临床病理特征的相关性

根据肿瘤出芽水平,将CRC患者分为低肿瘤出芽组(194例)和高肿瘤出芽组(91例);单因素分析显示,肿瘤出芽水平与年龄、性别和肿瘤部位之间无相关性( $P > 0.05$ );与组织学分级、肿瘤直径、肿瘤生长类型、肿瘤浸润深度、淋巴转移和早期复发有关,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

2.3 CRC肿瘤出芽与患者术后生存率的关系 随访时间为6~60个月,平均随访时间为(47.36±10.94)个月。总生存158例(55.4%)。采用Kaplan-Meier法分析患者术后生存率,通过Log-Rank法比较各组间差异,结果表明组织学分级、肿瘤直径、肿瘤生长类型、肿瘤浸润深度、淋巴转移和肿瘤出芽是影响CRC患者术后生存率的危险因素( $P < 0.05$ ),并绘制肿瘤出芽对CRC患者术后生存率影响的生存曲线。见表2、图1。

2.4 影响CRC患者预后的多因素COX回归分析

本研究通过多因素COX回归分析消除各影响因素间的交互作用。多因素COX回归分析显示,组织学分级、肿瘤生长类型、肿瘤浸润深度、淋巴转移和肿瘤出芽是影响CRC患者预后的独立危险因素( $P < 0.05$ )。见表3。

表1 CRC 肿瘤出芽与临床病理特征的关系[例(%)]

临床病理特征	例数	低肿瘤出芽组 (n = 194)	高肿瘤出芽组 (n = 91)	$\chi^2$	P
年龄				0.216	0.691
<55 岁	101	67(66.3)	34(33.7)		
≥55 岁	184	127(69.0)	57(31.0)		
性别				2.439	0.123
男	169	109(64.5)	60(35.5)		
女	116	85(73.3)	31(26.7)		
肿瘤部位				0.188	0.910
右半结肠	73	50(68.5)	23(31.5)		
左半结肠	98	68(69.4)	30(30.6)		
直肠	114	76(66.7)	38(33.3)		
组织学分级				33.371	<0.001
高分化	76	54(71.1)	22(28.9)		
中分化	174	131(75.3)	43(24.7)		
低分化	35	9(25.7)	26(74.3)		
肿瘤直径				4.202	0.043
≤5 cm	147	92(62.6)	55(37.4)		
>5 cm	138	102(73.9)	36(26.1)		
肿瘤生长类型				17.06	<0.001
浸润型	201	122(60.7)	79(39.3)		
非浸润型	84	72(85.7)	12(14.3)		
肿瘤浸润深度				38.404	<0.001
未浸透浆膜	169	139(82.2)	30(17.8)		
浸透浆膜	116	55(47.4)	61(52.6)		
淋巴结转移				90.088	<0.001
是	82	22(26.8)	60(73.2)		
否	203	172(84.7)	31(15.3)		
早期复发				61.799	<0.001
有	51	11(21.6)	40(78.4)		
无	234	183(78.2)	51(21.8)		

表2 CRC患者临床病理特征与术后生存率的关系

临床病理特征	例数	生存例数	生存率(%)	$\chi^2$	<i>P</i>
年龄				1.556	0.262
<55岁	101	61	60.4		
≥55岁	184	97	52.7		
性别				0.644	0.467
男	169	97	57.4		
女	116	61	52.6		
肿瘤部位				0.320	0.852
右半结肠	73	42	57.5		
左半结肠	98	55	56.1		
直肠	114	61	53.5		
组织学分级				33.409	<0.001
高分化	76	59	77.6		
中分化	174	92	52.9		
低分化	35	7	20.0		
肿瘤直径				5.138	0.024
≤5 cm	147	91	61.9		
>5 cm	138	67	48.6		
肿瘤生长类型				14.231	<0.001
浸润型	201	97	48.3		
非浸润型	84	61	72.6		
肿瘤浸润深度				13.791	<0.001
未浸透浆膜	169	109	64.5		
浸透浆膜	116	49	42.2		
淋巴结转移				41.463	<0.001
是	82	21	25.6		
否	203	137	67.5		
肿瘤出芽				30.064	<0.001
低出芽	194	129	66.5		
高出芽	91	29	31.9		

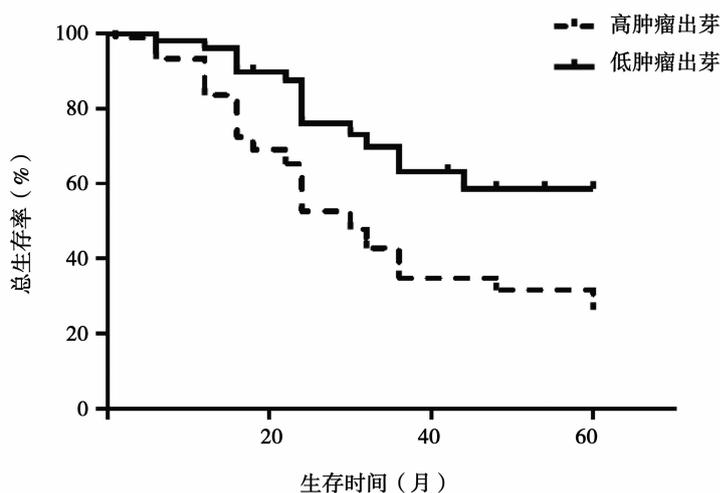


图1 低肿瘤出芽和高肿瘤出芽的CRC患者的生存曲线

表3 影响CRC患者预后危险因素COX回归分析

临床病理特征	$\beta$	SE	Wald $\chi^2$	HR	95% CI	P
组织学分级	0.357	0.583	9.045	1.864	1.151 ~ 2.527	0.006
肿瘤生长类型	0.557	0.682	8.462	1.693	1.103 ~ 2.153	0.009
肿瘤浸润深度	0.795	0.573	14.931	2.056	1.437 ~ 2.685	0.001
淋巴结转移	0.842	0.482	16.955	2.836	1.213 ~ 4.122	<0.001
肿瘤出芽	0.836	0.275	15.392	2.663	1.534 ~ 3.878	<0.001

### 3 讨论

肿瘤出芽是一种肿瘤生物学行为,是肿瘤活动的重要标志,近年来受到越来越多学者的重视<sup>[6-7]</sup>。肿瘤出芽常见于腺癌,在肿瘤浸润前缘出现与肿瘤组织分离的单个或癌巢样肿瘤细胞聚集,形态不规则可呈线状或条索状,核深染,嗜酸性,较易出现融合,具有间质趋化特征<sup>[8]</sup>。因此肿瘤出芽可能是肿瘤局部浸润或转移的始发阶段,与肿瘤的进展密切相关<sup>[9]</sup>。大量研究显示,CRC 主要以腺癌多见,所以CRC 可观察到大量的肿瘤出芽情况<sup>[10-11]</sup>。然而肿瘤出芽生物学机制复杂,多种因素可影响CRC 肿瘤出芽的发生发展。细胞凋亡抑制是CRC 肿瘤出芽的机制之一,研究发现CRC 肿瘤出芽可通过EMT等多种方式抑制肿瘤程序性的凋亡,进而促进肿瘤生长和转移<sup>[12]</sup>。Righi等<sup>[13]</sup>研究发现CRC 肿瘤出芽细胞可介导低氧诱导因子1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )表达抑制肿瘤缺氧表型,从而减轻缺氧情况增加恶性发展潜能。肿瘤出芽与肿瘤微环境密切相关,研究表明

炎症细胞浸润与CRC 肿瘤出芽具有相关性,其中CD8<sup>+</sup>T 细胞浸润与肿瘤出芽呈负相关<sup>[14]</sup>。

本实验通过研究发现肿瘤出芽水平与组织学分级、肿瘤生长类型、肿瘤浸润深度和淋巴转移密切相关,提示肿瘤出芽可能与肿瘤的转归具有相关性。章琼燕等<sup>[15]</sup>研究发现CRC 肿瘤出芽可以较准确地评估患者术后淋巴结转移风险;Almangush等<sup>[16]</sup>研究也显示肿瘤出芽与肿瘤组织样本间存在显著的相关性,肿瘤出芽检测对淋巴结转移具有重要的评估价值。此外,本研究发现CRC 肿瘤出芽与CRC 早期复发也具有相关性,也可能与肿瘤出芽的生物学特性有关。肿瘤出芽作为肿瘤细胞侵袭的初始阶段,可影响肿瘤的淋巴结转移、早期复发风险。陈军芳<sup>[17]</sup>对T2期直肠癌中肿瘤出芽情况进行研究,发现肿瘤出芽是反映T2期直肠癌侵袭生长的重要指标,也与患者早期复发相关。有研究显示,肿瘤出芽是错配修复缺陷型结直肠癌临床转归和早期复发的独立危险因素。

CRC 患者的预后评价一直是困扰临床医务工

作者的重大难题。TNM 分期系统是如今较为可靠的预后评价标准,但其敏感性仍不尽人意。因此寻找可以代表 CRC 病理特征且与预后密切相关的指标十分重要。本研究通过生存分析和 COX 回归模型分析显示组织学分级、肿瘤生长类型、肿瘤浸润深度、淋巴转移和肿瘤出芽是 CRC 预后的独立预测因素,提示肿瘤出芽具有较高的 CRC 预后评价效能,联合 TNM 分期可能评价效能更高。张兴琼等<sup>[18]</sup> 研究显示肿瘤出芽水平和血管神经淋巴结侵犯情况是 II 期 CRC 患者预后的独立危险因素,且肿瘤出芽水平与生存预后具有显著相关性。另一项对 II 期 CRC 的回顾性研究显示,高肿瘤出芽患者的生存率显著低于低肿瘤出芽的患者,提示高肿瘤出芽是预后不良重要预测因素<sup>[19]</sup>。

综上所述,本研究发现肿瘤出芽与组织学分级、肿瘤生长类型、肿瘤浸润深度、淋巴转移和早期预后密切相关,且肿瘤出芽是预测 CRC 预后的独立危险因素。由于肿瘤出芽检测简单易行,联合 TNM 分期可列入评价 CRC 预后的常规检测指标中,对提高诊治评价,改善预后具有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] 吴春晓,顾凯,龚杨明,等. 2015 年中国结直肠癌发病和死亡情况分析[J]. 中国癌症杂志,2020,30(4):241-245.
- [2] 郑树,张苏展,黄彦钦. 结直肠癌研究 30 年回顾和现状[J]. 实用肿瘤杂志,2016,31(1):2-5.
- [3] 邓爽,谭林,黄美园. 肿瘤出芽及其在结直肠癌中的研究进展[J]. 临床与病理杂志,2019,39(11):2519-2524. DOI:10.3978/j.issn.2095-6959.2019.11.029.
- [4] 中华医学会肿瘤学分会. 中国结直肠癌诊疗规范(2017 年版)[J]. 中华普通外科学文献(电子版),2018,12(3):145-159.
- [5] Ueno H, Murphy J, Jass JR, et al. Tumour 'budding' as an index to estimate the potential of aggressiveness in rectal cancer[J]. Histopathology, 2002, 40(2): 127-132. doi: 10.1046/j.1365-2559.2002.01324.x.
- [6] Lugli A, Kirsch R, Ajioka Y, et al. Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016[J]. Mod Pathol, 2017, 30(9): 1299-1311. DOI: 10.1038/modpathol.2017.46
- [7] Cho SJ, Kakar S. Tumor budding in colorectal carcinoma: translating a morphologic score into clinically meaningful results[J]. Arch Pathol Lab Med, 2018, 142(8): 952-957. DOI: 10.5858/arpa.2018-0082-RA.
- [8] 姚高妍,丁小云. 肿瘤出芽在消化系统肿瘤中的研究进展[J]. 肿瘤,2018,38(11):1082-1089.
- [9] Zlobec I, Lugli A. Epithelial mesenchymal transition and tumor budding in aggressive colorectal cancer: tumor budding as oncotarget[J]. Oncotarget, 2010, 1(7): 651-661. DOI: 10.18632/oncotarget.199.
- [10] 杨路路,苟思琪,张前,等. 结直肠腺癌中差分化细胞群和肿瘤出芽相关性及其 MUC1 的表达[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2019,39(4):539-543. DOI:10.7655/NYDX-BNS20190413.
- [11] van Wyk HC, Roseweir A, Alexander P, et al. The relationship between tumor budding, tumor microenvironment, and survival in patients with primary operable colorectal cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2019, 26(13): 4397-4404. DOI: 10.1245/s10434-019-07931-6.
- [12] Lino-Silva LS, Salcedo-Hernández RA, Gamboa-Domínguez A. Tumour budding in rectal cancer. A comprehensive review[J]. Contemp Oncol (Pozn), 2018, 22(2): 61-74. DOI: 10.5114/wo.2018.77043.
- [13] Righi A, Sarotto I, Casorzo L, et al. Tumour budding is associated with hypoxia at the advancing front of colorectal cancer[J]. Histopathology, 2015, 66(7): 982-990. DOI: 10.1111/his.12602.
- [14] Koelzer VH, Dawson H, Andersson E, et al. Active immunosurveillance in the tumor microenvironment of colorectal cancer is associated with low frequency tumor budding and improved outcome[J]. Transl Res, 2015, 166(2): 207-217. DOI: 10.1016/j.trsl.2015.02.008.
- [15] 章琼燕,赵胜男,王磊,等. 肿瘤出芽计数在预测 T1 期结直肠癌淋巴转移中的应用价值[J]. 中国癌症杂志,2015,25(11):865-870.
- [16] Almagush A, Youssef O, Pirinen M, et al. Does evaluation of tumour budding in diagnostic biopsies have a clinical relevance? A systematic review[J]. Histopathology, 2019, 74(4): 536-544. DOI: 10.1111/his.13793.
- [17] 陈军芳. 肿瘤出芽在 T2 期直肠腺癌中的临床价值[J]. 科技视界,2016(25):49.
- [18] 张兴琼,张敬麟,杨媛,等. 病理学参数对 II 期结直肠癌术后患者预后评估的价值[J]. 西南国防医药,2019,29(12):1206-1209.
- [19] Petrelli F, Pezzica E, Cabiddu M, et al. Tumor budding and survival in stage II colorectal cancer: a systematic review and pooled analysis[J]. J Gastrointest Cancer, 2015, 46(3): 212-218. DOI:10.1007/s12029-015-9716-1.

收稿日期:2020-10-11 修回日期:2020-12-11

本文编辑:王卿