

Úloha imunologických markerů v diagnostice kolorektálního karcinomu

The role of immunological markers in the diagnosis of colorectal cancer

Erbenová A.¹, Horák P.¹, Slavíková Červinková M.¹, Čížková J.², Šuhaj P.³

¹ Chirurgická klinika 1. LF UK a FN Bulovka a IPVZ, Praha

² Katedra radiobiologie, Vojenská LF, Univerzita obrany, Hradec Králové

³ Ústav patologie a molekulární medicíny, 3. LF UK a Fakultní Thomayerova nemocnice, Praha

Souhrn

Úvod: Kolorektální karcinom (CRC) stále patří mezi nejčastěji se vyskytující solidní nádory v západní populaci. I přes pokroky ve screeningu, diagnostice a léčbě dosud neexistují specifické testy pro časnou diagnózu a sledované hodnoty, které by byly jednoznačně specifické pro rizikové pacienty, případně by sloužily k monitoraci průběhu choroby lépe než dosud známé nádorové markery. Patogeneze onemocnění je úzce spojena s chronickým zánětem, oxidativním stresem a remodelací nádorového mikroprostředí. Předmětem našeho studia je několik markerů, které jsme vybrali na základě dostupné literatury a které úzce souvisí s výše uvedeným. LOX-1 (lectin-like oxidized LDL receptor-1), RAGE (receptor for advanced glycation end products), HMGB1 (high mobility group box-1) a matrixová metaloproteináza MMP-19 se podílejí na regulaci zánětlivých signálních drah, angiogenezi a degradaci extracelulární matrix. Cílem naší práce je potvrdit hypotézu, že exprese daných markerů je signifikantně zvýšena u pacientů s CRC oproti zdravým kontrolám. **Metodika:** Do studie byly zařazeny vzorky střevní tkáně od 34 pacientů s CRC a vzorky 21 pacientů ze skupiny kontrol, kteří podstoupili na našem pracovišti střevní resekci pro nenádorové nezánětlivé onemocnění. U onkologických pacientů jsme analyzovali tři typy tkáně – makroskopicky zdravou tkáň, přechodovou zónu a nádorovou tkáň. Vzorky byly zpracovány za užití imunohistochemických metod a hodnotili jsme pozitivitu markerů v několika typech buněčných populací. **Výsledky:** Zjistili jsme statisticky významné rozdíly v expresi některých markerů mezi kontrolní skupinou a pacienty s CRC. LOX-1 vykazoval zvýšenou expresi v epitelu a vaskulárních strukturách nádoru. RAGE byl zvýšen v cévních strukturách a přechodové zóně tumoru, což naznačuje jeho roli v zánětlivém mikroprostředí nádoru. Exprese MMP-19 byla nejvýraznější v oblasti přechodu nádoru do zdravé tkáně, což odpovídá její funkci při remodelaci extracelulární matrix a invazi tumoru. **Závěr:** Studie prokazuje význam uvedených markerů v patogenezi CRC. Jejich exprese může mít význam nejen pro lepší pochopení biologické aktivity CRC, ale i jako možné prognostické markery nebo potenciální terapeutické cíle.

Klíčová slova

kolorektální karcinom – LOX-1 – RAGE – MMP-19 – HMGB1 – nádorové mikroprostředí – biomarkery

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Aneta Erbenová
Chirurgická klinika
1. LF UK a FN Bulovka
Budínova 67/2
180 80 Praha 8
aneta.erbenova@bulovka.cz

Obdrženo/Submitted: 31. 5. 2026
Přijato/Accepted: 9. 6. 2026

doi: 10.48095/ccko202625126

Summary

Introduction: Colorectal cancer (CRC) remains one of the most common solid malignancies in the Western population. Despite advances in screening, diagnostics, and treatment, there are still no highly specific tests for early diagnosis or biomarkers that can reliably identify high-risk patients or monitor disease progression more effectively than currently established tumor markers. The pathogenesis of CRC is closely associated with chronic inflammation, oxidative stress, and remodeling of the tumor microenvironment. The present study focuses on several biomarkers selected based on available literature data and their close association with these processes. LOX-1 (lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1), RAGE (receptor for advanced glycation end products), HMGB1 (high mobility group box 1), and matrix metalloproteinase-19 (MMP-19) are involved in the regulation of inflammatory signaling pathways, angiogenesis, and extracellular matrix degradation. The aim of this study was to test the hypothesis that the expression of these markers is significantly increased in patients with CRC compared with healthy controls.

Methods: The study included intestinal tissue samples obtained from 34 patients with CRC and 21 control subjects who underwent intestinal resection at our institution for non-neoplastic and non-inflammatory conditions. In CRC patients, three tissue compartments were analyzed – macroscopically normal tissue, the tumor transition zone, and tumor tissue. Samples were processed using immunohistochemical methods, and marker positivity was assessed across several cellular populations. **Results:** Statistically significant differences in the expression of selected markers were identified between the control group and patients with CRC. LOX-1 demonstrated increased expression in the epithelial and vascular structures of tumor tissue. RAGE expression was elevated in vascular structures and within the tumor transition zone, suggesting its involvement in the inflammatory tumor microenvironment. MMP-19 expression was most pronounced at the tumor-normal tissue interface, consistent with its role in extracellular matrix remodeling and tumor invasion. **Conclusions:** Our findings support the involvement of the investigated markers in the pathogenesis of CRC. Their expression may contribute not only to a better understanding of CRC biology but also to the identification of potential prognostic biomarkers and therapeutic targets.

Key words

colorectal cancer – LOX-1 – RAGE – MMP-19 – HMGB1 – tumor microenvironment – biomarkers

Úvod

Kolorektální karcinom (colorectal cancer – CRC) patří mezi nejčastější malignity a významné příčiny úmrtí na nádorová onemocnění celosvětově [1]. Přestože screeningové programy vedly ke zlepšení časného zachytu onemocnění, stále chybí dostatečně senzitivní a specifické biomarkery umožňující přesnější diagnostiku, prognostickou stratifikaci a monitoraci biologického chování nádoru [2,3]. Patogeneze CRC je úzce spojena s chronickým zánětem, oxidačním stresem a remodelací nádorového mikroprostředí.

Mezi molekuly podílející se na těchto procesech patří receptor pro produkty pokročilé glykace (receptor for advanced glycation end products – RAGE), protein HMGB1 (high mobility group box 1), receptor pro oxidované LDL (lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 – LOX-1) a matrixová metaloproteináza MMP-19. RAGE aktivuje řadu signálních drah podporujících přežívání nádorových buněk a progresi nádoru [3,4]. LOX-1 představuje významné spojení mezi metabolismem lipidů, oxidačním stresem a kancerogenezi [5–7]. MMP-19 se podílí na remodelaci extracelulární matrix, angiogenezi a buněčné migraci [8–11]. V našem předchozím výzkumu jsme prokázali zvýšenou expresi

MMP-19 v epitelu a sníženou expresi v makrofázích u pacientů s CRC [12,13].

Cílem této studie bylo zhodnotit expresi LOX-1, RAGE, HMGB1 a MMP-19 v různých tkáňových kompartmentech pacientů s CRC a porovnat ji s kontrolní skupinou.

Metodika

Do studie bylo zařazeno 34 pacientů s histologicky potvrzeným CRC a 21 kontrolních pacientů operovaných pro nenádorová a nezánetlivá onemocnění střeva. U pacientů s CRC byly analyzovány vzorky z centra nádoru, přechodové zóny mezi nádorem a makroskopicky zdravou tkání a z makroskopicky zdravé tkáně resekčního okraje. U kontrol byl analyzován vzorek z resekčního okraje.

Vzorky byly zpracovány standardní metodikou formalinem fixovaných a do parafínu zalitých tkání a následně imunohistochemicky vyšetřeny na přítomnost markerů LOX-1, RAGE, HMGB1 a MMP-19 (obr. 1). Hodnocení provedl zkušený patolog zaslepený vůči klinickým údajům. Celkem bylo analyzováno 516 imunohistochemicky barvených preparátů. Ke statistickému hodnocení byl použit Mannův-Whitneyův test s hladinou významnosti $p < 0,05$. Práce byla schválena etickou komisí.

Výsledky

Statisticky významně vyšší expresi vykazoval LOX-1 u pacientů s CRC oproti kontrolní skupině v epitelu makroskopicky zdravé tkáně ($p = 0,000019$), přechodové zóny ($p = 0,000084$) i centra nádoru ($p = 0,017$) (graf 1). Zvýšená exprese byla dále prokázána v cévních strukturách přechodové zóny ($p = 0,013$) a v neuroendokrinních buňkách makroskopicky zdravé tkáně ($p = 0,009$) i přechodové zóny ($p = 0,029$).

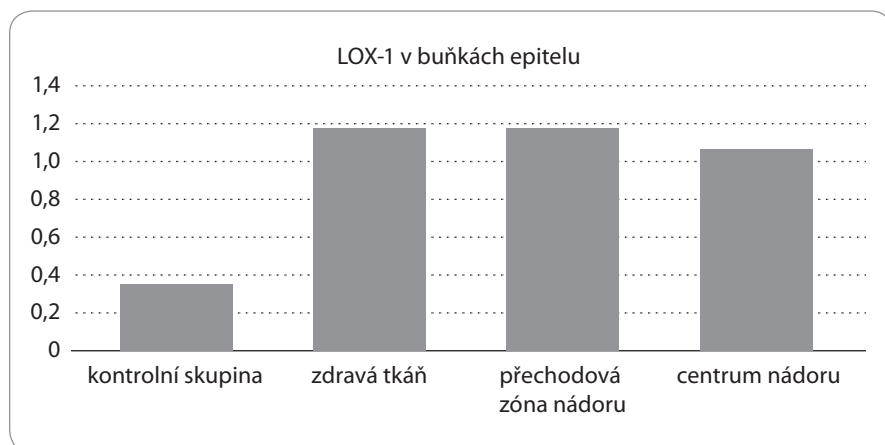
Zvýšenou expresi vykazoval RAGE zejména v epitelu a cévních strukturách. V epitelu byl signifikantní rozdíl mezi kontrolní skupinou a makroskopicky zdravou tkání pacientů s CRC ($p = 0,0003$). V cévních strukturách byly významné rozdíly prokázány mezi kontrolní skupinou a makroskopicky zdravou tkání ($p = 0,0065$), přechodovou zónou ($p = 0,0002$) i centrem nádoru ($p = 0,011$) (tab. 1).

U HMGB1 byla v epitelu prokázána vyšší exprese v makroskopicky zdravé tkání ($p = 0,032$) a v přechodové zóně nádoru ($p = 0,018$) ve srovnání s kontrolní skupinou. V centru nádoru nebyl rozdíl statisticky významný.

Zvýšenou expresi vykazovala MMP-19 v epitelu přechodové zóny nádoru ve srovnání s kontrolní skupinou ($p = 0,019$). Současně byla ve skupině CRC pozorována vyšší exprese MMP-19



Obr. 1. Histologické preparáty připravené pro imunohistochemickou analýzu.



Graf 1. Pozitivita LOX-1 v buňkách epitelu.

Tab. 1. Pozitivita RAGE v buňkách epitelu a cévních strukturách.

RAGE	Fyziologický epitel	Cévy
kontrola X tumor okraj	0,000331	0,006539
kontrola X tumor přechodová zóna	0,097672	0,000227
kontrola X tumor centrum	0,251206	0,011089

v epitelu a nižší exprese v makrofázích ve srovnání s kontrolní skupinou.

Diskuze

Naše výsledky potvrzují význam sledovaných markerů v biologii CRC a nazna-

čují jejich vzájemné propojení v procesech vedoucích k nádorové progresi. Nejvýraznější změny byly opakovaně pozorovány v přechodové zóně mezi nádorem a okolní tkání, která představuje oblast nejvyšší biologické aktivity ná-

doru charakterizovanou intenzivní angiogenezi, remodelací extracelulární matrix a nádorovou invazí.

Nejsilnější a nejkonzistentnější výsledky byly zjištěny u markeru LOX-1. Zvýšená exprese byla přítomna nejen v nádorové tkáni, ale také v makroskopicky zdravé tkáni pacientů s CRC. LOX-1 je považován za marker oxidativního stresu a jeho aktivace vede ke stimulaci proonkogenních drah podporujících proliferaci, přežívání a invazivitu nádorových buněk [5,6]. Zvýšená pozitivita v cévních strukturách přechodové zóny pravděpodobně odráží intenzivní angiogenezi v oblasti invazivní fronty nádoru. Přítomnost zvýšené exprese v neuroendokrinních buňkách může souviset s jejich vysokou metabolickou aktivitou a odpovědí na zánětlivé a stresové podněty v nádorovém mikroprostředí.

Podobný vzorec exprese byl pozorován u RAGE. Aktivace osy RAGE je spojována s chronickým zánětem a aktivací drah NF- κ B, MAPK a PI3K/Akt [4]. Nejvýraznější rozdíly byly zaznamenány v cévních strukturách přechodové zóny, což podporuje předpoklad, že RAGE se podílí na regulaci angiogeneze a zánětlivého mikroprostředí nádoru. Skutečnost, že zvýšená exprese byla přítomna i v makroskopicky zdravé tkáni pacientů s CRC, naznačuje, že změny související s kancerogenezi nejsou omezeny pouze na vlastní nádor.

Velmi zajímavým nálezem byla exprese HMGB1. Zvýšená pozitivita byla prokázána v epitelu makroskopicky zdravé tkáně a přechodové zóny nádoru, nikoliv však v centru nádoru. Tento nález podporuje koncept field cancerization, podle kterého molekulární změny spojené s nádorovou transformací přesahují hranice vlastního nádoru a zasahují i histologicky nepostiženou okolní tkáň. HMGB1 je známý svou úlohou v regulaci odpovědi na buněčný stres, poškození DNA a zánět [14]. Jeho zvýšená exprese tak může odrážet časné změny probíhající ve tkáni predisponované k maligní transformaci spíše než vlastnosti již plně vyvinuté nádorové masy. Absence významného rozdílu v centru nádoru může souviset s hypoxií, nekrózou nebo translokací HMGB1 do extracelulárního prostoru.

Výsledky MMP-19 odpovídají její známé úloze při remodelaci extracelulární matrix a nádorové invazi [9,10]. Zvýšená exprese byla pozorována především v přechodové zóně nádoru, tedy v oblasti označované jako invasive front. V této lokalizaci dochází k nejintenzivnější remodelaci extracelulární matrix a interakci mezi nádorem a okolní tkání. Naopak v centru nádoru, kde často převažují hypoxické a nekrotické změny, nebyla exprese MMP-19 významně zvýšena. Ve spojení s našimi předchozími výsledky [12,13] se domníváme, že poměr exprese MMP-19 v epitelu a makrofázích by mohl představovat pomocný diagnostický nebo prognostický marker.

Naše výsledky naznačují, že oxidační stres, zánětlivá signalizace a remodelace extracelulární matrix nepředstavují izolované procesy, ale vzájemně propojené mechanismy podílející se na progresi CRC. Zvláště zajímavým zjištěním je přítomnost významných změn exprese některých markerů již v makroskopicky zdravé tkáni pacientů s CRC. Tento nálezn podporuje představu, že biologicky aktivní změny spojené s nádorovou transformací vznikají ještě před rozvojem zjevné morfologické nádorové léze a mohou se podílet na vytváření mikroprostředí příznivého pro další progresi onemocnění.

Závěr

Studie prokázala významné rozdíly v expresi markerů LOX-1, RAGE, HMGB1 a MMP-19 mezi pacienty s CRC a kontrolní skupinou. Nejzajímavější nálezy byly zjištěny v přechodové zóně nádoru a v makroskopicky zdravé tkáni pacientů s CRC, což naznačuje, že molekulární změny spojené s kancerogenezi přesahují hranice vlastního nádoru. Identifikace těchto změn by v budoucnu mohla přispět k přesnější diagnostice biologicky aktivních lézí a k lepší stratifikaci pacientů podle rizika progresi onemocnění. Další výzkum by měl ověřit prognostický význam sledovaných markerů a posoudit možnost jejich využití v klinické praxi.

Dedikace

Práce byla podpořena interním grantem FNB č. 22-IGS04-12t.

Literatura

1. Bray F, Laversanne M, Sung H et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA A Cancer J Clinicians* 2024; 74(3): 229–263. doi: 10.3322/caac.21834.
2. Pellino G, Gallo G, Pallante P et al. Noninvasive biomarkers of colorectal cancer: role in diagnosis and personalised treatment perspectives. *Gastroenterol Res Pract* 2018; 2018: 2397863. doi: 10.1155/2018/2397863.
3. Patel JN, Fong MK, Jagosky M. Colorectal cancer biomarkers in the era of personalized medicine. *J Pers Med* 2019; 9(1): 3. doi: 10.3390/jpm9010003.
4. Azizian-Farsani F, Abedpoor N, Hasan Sheikhha M et al. Receptor for advanced glycation end products acts as

- a fuel to colorectal cancer development. *Front Oncol* 2020; 10: 552283. doi: 10.3389/fonc.2020.552283.
5. Murdocca M, Mango R, Pucci S et al. The lectin-like oxidized LDL receptor-1: a new potential molecular target in colorectal cancer. *Oncotarget* 2016; 7(12): 14765–14780. doi: 10.18632/oncotarget.7430.
 6. Nakashima-Nakasuga C, Hazama S, Suzuki N et al. Serum LOX-1 is a novel prognostic biomarker of colorectal cancer. *Int J Clin Oncol* 2020; 25(7): 1308–1317. doi: 10.1007/s10147-020-01673-2.
 7. Katayama C, Yokobori T, Ozawa N et al. Low level of stromal lectin-like oxidized LDL receptor 1 and CD8+ cytotoxic T-lymphocytes indicate poor prognosis of colorectal cancer. *Cancer Rep* 2021; 4(4): e1364. doi: 10.1002/cnr.2.1364.
 8. Atkinson SJ, Ward RV, Reynolds JJ et al. Cell-mediated degradation of type IV collagen and gelatin films is dependent on the activation of matrix metalloproteinases. *Biochem J* 1992; 288(Pt 2): 605–611. doi: 10.1042/bj2880605.
 9. Jost M, Folgueras AR, Frérart F et al. Earlier onset of tumoral angiogenesis in matrix metalloproteinase-19-deficient mice. *Cancer Res* 2006; 66(10): 5234–5241. doi: 10.1158/0008-5472.
 10. Chan KC, Ko JMY, Lung HL et al. Catalytic activity of Matrix metalloproteinase-19 is essential for tumor suppressor and anti-angiogenic activities in nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer* 2011; 129(8): 1826–1837. doi: 10.1002/ijc.25855.
 11. Brauer R, Beck IM, Roderfeld M et al. Matrix metalloproteinase-19 inhibits growth of endothelial cells by generating angiostatin-like fragments from plasminogen. *BMC Biochem* 2011; 12: 38. doi: 10.1186/1471-2091-12-38.
 12. Horak P, Suhaj P, Matej R et al. Potential novel markers in IBD and CRC diagnostics. Are MMP-19 and RAGE promising candidates? *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2022; 166(4): 380–385. doi: 10.5507/bp.
 13. Cervinková M, Horák P, Kanchev I et al. Differential expression and processing of matrix metalloproteinase 19 marks progression of gastrointestinal diseases. *Folia Biol (Praha)* 2014; 60(3): 113–122. doi: 10.14712/fb2014060030113.
 14. Süren D, Yıldırım M, Demirpençe Ö et al. The role of high mobility group box 1 (HMGB1) in colorectal cancer. *Med Sci Monit* 2014; 20: 530–537. doi: 10.12659/MSM.890531.