

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.10.008

SFRP1 和 β -catenin 在食管癌中的作用及相关机制*马军伟,王 佳,宋 炜[△]

延安大学附属医院肿瘤科,陕西延安 716000

摘要:目的 探讨分泌型卷曲相关蛋白 1(SFRP1)和 β -连环蛋白(β -catenin)在食管癌中的作用及相关机制。方法 选取该院肿瘤科 2014 年 1 月至 2018 年 1 月收治的食管癌患者 121 例作为研究对象,采集所有受试者癌组织及癌旁组织标本。采用甲基化特异性 PCR(MSP)检测癌组织及癌旁组织 SFRP1 水平,采用免疫组织化学法检测癌组织及癌旁组织 β -catenin 水平。结果 食管癌患者癌组织 SFRP1 表达水平较癌旁组织均明显降低, β -catenin 表达水平较癌旁组织明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);是否淋巴结转移食管癌患者 SFRP1 表达阳性率差异有统计学意义($P<0.05$), β -catenin 表达阳性率差异无统计学意义($P>0.05$);不同病理类型、分化程度、TNM 分期食管癌患者 SFRP1、 β -catenin 表达阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 食管癌患者的癌组织中 SFRP1 表达下调, β -catenin 表达上调,SFRP1、 β -catenin 表达水平与食管癌患者病情严重程度有关,可作为食管癌的早期标志物。

关键词:分泌型卷曲相关蛋白 1; β -连环蛋白; 食管癌; 上消化道肿瘤; 黏附连接

中图法分类号:R734.2

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)10-1326-04

Role of SFRP1 and β -catenin in esophageal carcinoma and its related mechanism*MA Junwei, WANG Jia, SONG Wei[△]

Department of Oncology, Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an, Shaanxi 716000, China

Abstract: **Objective** To investigate role of secreted frizzled-related protein 1 (SFRP1) and β -catenin in esophageal carcinoma its related mechanism. **Methods** A total of 121 patients with esophageal cancer admitted to the Department of Oncology of this Hospital from January 2014 to January 2018 were selected as the study subjects, and cancer tissue and adjacent tissue samples of all subjects were collected. Methylation specific PCR (MSP) was used to detect the level of SFRP1 in cancer tissues and adjacent tissues, and immunohistochemistry (IHC) was used to detect the level of β -catenin in cancer tissues and adjacent tissues. **Results** The expression level of SFRP1 in esophageal cancer tissues was significantly lower than that in adjacent tissues, and the expression level of β -catenin was significantly higher than that in adjacent tissues, with statistical significance ($P<0.05$). There was statistically significant difference in the positive rate of SFRP1 expression in esophageal cancer patients with lymph node metastasis ($P<0.05$), but no significant difference in β -catenin expression ($P>0.05$). There was significant difference in the positive rate of SFRP1 in esophageal cancer patients with different pathological types, degree of differentiation and TNM stage ($P<0.05$). **Conclusion** The expression levels of SFRP1 and β -catenin are down-regulated and up-regulated in esophageal cancer tissues. The expression levels of SFRP1 and β -catenin are related to the severity of esophageal cancer, which could be used as early markers of esophageal cancer.

Key words: secreted frizzled-related protein 1; β -catenin; esophageal carcinoma; upper gastrointestinal tumor; adhesive junction

食管癌是常见的上消化道肿瘤之一。目前,上消化道肿瘤是我国城市人口恶性肿瘤的重要死亡原因,同时也是世界范围内相对常见、多发的恶性肿瘤之

一,其病因与吸烟、职业、环境、电离辐射等有关^[1-2]。近年来,虽然人类对食管癌的研究加深,但截至目前其发病机制尚未完全弄清。分泌型卷曲相关蛋白 1

* 基金项目:陕西省教育厅自然科学研究项目(16JK2031)。

作者简介:马军伟,男,主治医师,主要从事消化道肿瘤方向研究。 [△] 通信作者, E-mail:531063113@qq.com。

(SFRP1)和β-连环蛋白(β-catenin)是机体中的相对常见的2种生物学因子,在各种疾病的发生、发展和转归过程中均发挥了重要作用^[3]。SFRP1作为一种新发现的候选抑癌基因,在人类的多种肿瘤包括上消化道肿瘤中均存在表达下调或缺失的现象^[4],而其失活的原因则可能与上消化道肿瘤的甲基化被启动有关。β-catenin 是 CTNNB1 基因编码的蛋白,可与钙黏蛋白、α-catenin 共同组成黏附连接复合体。既往研究显示,β-catenin 可作为信号分子介导细胞黏附和信号传导^[5]。一项 Meta 分析显示,β-catenin 在肝癌、肠癌、胃癌等疾病中起重要作用,与食管癌的不良预后、疾病进展及肿瘤侵袭性均密切相关^[6]。本研究选取本院肿瘤科收治的 121 例食管癌患者作为研究对象,探讨 SFRP1、β-catenin 在该病中的作用及其相关机制,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院肿瘤科 2014 年 1 月至 2018 年 1 月收治的 121 例食管癌患者作为研究对象进行前瞻性研究。纳入标准:(1)符合中国抗癌协会食管癌专业委员会《食管癌规范化诊疗指南(2013 版)》^[7]中食管癌诊断标准;(2)活检标本满足诊断要求;(3)知情同意并签署知情同意书;(4)临床资料完整。排除标准:(1)食管癌合并其他恶性病变;(2)病理学检查时有放化疗、生物免疫治疗史;(3)治疗期间死亡、转院、失访。121 例食管癌患者中男 78 例,女 43 例;鳞癌 51 例,腺癌 70 例;肿瘤分化程度:高分化 31 例,中分化 62 例,低分化 28 例;癌转移 53 例,未转移 68 例。根据国际抗癌联盟(UICC)和美国癌症联合会(AJCC)联合制定的标准^[8],将 121 例食管癌患者分成Ⅰ期 28 例,Ⅱ期 41 例,Ⅲ期 37 例及Ⅳ期 15 例。本研究经本院医学伦理委员会批准后执行。

1.2 仪器与试剂 仪器:细胞质分析仪[亚德诺半导体技术(上海)有限公司];全自动免疫组化检测仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]等。试剂:鼠抗人 SFRP1(ELISA)试剂盒(上海江莱生物科技有限公司,规格:96T/49T);鼠抗人 β-catenin 单克隆抗体(北京中山生物技术有限公司,型号:CAT-5H10)等。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 操作者均为本院经验丰富的检验科医生,对本课题不知情,也不了解 A、B 组受试者的基线资料,采用单盲法判断。采集所有受试者癌组织及癌旁组织标本,均于标本离体后 0.5 h 内取材,并分成 2 份:一份放置于-80℃低温冰箱保存,用于 DNA 提取;一份石蜡包埋,采用常规苏木精-伊红(HE)染色法染色,用于免疫组织化学法(IHC) β-catenin 检测。

1.3.2 检测步骤 分别采用甲基化特异性 PCR(MSP)和免疫组织化学法(IHC)检测癌组织及癌旁组织 SFRP1、β-catenin 水平。SFRP1 检测:提取癌组织及癌旁组织标本,提取 DNA,采用细胞质分析仪检测。β-catenin 检测:(1)癌组织及癌旁组织标本均采用中性福尔马林脱水固定;(2)常规石蜡包埋和水化,接着用枸橼酸钠缓冲液(陕西兴邦药业有限公司,国药准字 H61022282)煮沸后孵育 10 min,加一抗 4℃孵育过夜;(3)加生物素标记的二抗处理后再次孵育 10 min,用苏木素复染,乙醇脱水,切片,然后用二甲苯透明中性树胶(南京森贝伽生物科技有限公司,编号:SBJ0126)封片;(4)采用全自动免疫组化检测仪进行检测。

1.3.3 SFRP1、β-catenin 结果判定 SFRP1 结果判定每张切片随机选取 10 个高倍镜(×40)视野,计算阳性细胞百分数。阴性:肿瘤阳性细胞数<10%;阳性:阳性表达定位于细胞质,细胞质有棕黄色颗粒,肿瘤阳性细胞数≥10%。

1.3.4 β-catenin 结果判定 阳性细胞百分数与 SFRP1 的判定结果相同。阴性:染色结果无着色或单纯细胞质着色;阳性:呈棕黄色颗粒状,主要位于细胞膜。

1.4 统计学处理 采用 Excel 2010 建立数据库,采用 SPSS21.0 统计软件进行数据分析。计数资料以例数或率表示,采用χ²检验或 Fisher 确切概率法;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组比较采用 *t* 检验;相关性采用 Cox 模型分析。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 癌组织及癌旁组织 SFRP1、β-catenin 表达水平比较 食管癌癌组织 SFRP1 表达水平较癌旁组织明显降低,β-catenin 表达水平较癌旁组织明显升高,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1。

表 1 癌组织及癌旁组织 SFRP1、β-catenin 表达水平比较($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/mL}$)

组织	<i>n</i>	SFRP1	β-catenin
癌组织	121	0.847±0.288	0.879±0.164
癌旁组织	121	2.015±0.442	0.520±0.178
<i>t</i>		20.58	4.51
<i>P</i>		<0.01	<0.05

2.2 不同临床病理特征食管癌患者 SFRP1、β-catenin 表达阳性率比较 是否淋巴结转移食管癌患者 SFRP1 表达阳性率差异有统计学意义(*P*<0.05),β-catenin 表达阳性率差异无统计学意义(*P*>0.05);不同病理类型、分化程度、TNM 分期食管癌患者 SFRP1、β-catenin 表达阳性率比较,差异均有统计学

意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 SFRP1、 β -catenin 表达与食管癌的临床病理特征的关系(n)

项目	类型	n	SFRP1				β -catenin			
			阳性	阴性	χ^2	P	阳性	阴性	χ^2	P
病理类型	鳞癌	51	47	4	24.01	<0.01	24	27	11.66	<0.01
	腺癌	70	35	35			54	16		
分化程度	高分化	31	24	7	20.22	<0.01	10	21	15.31	<0.01
	中分化	68	51	17			50	18		
	低分化	22	5	17			16	6		
淋巴结转移	是	48	21	27	21.01	<0.01	31	17	0.01	>0.05
	否	73	61	12			47	26		
TNM 分期	I 期	28	17	11	8.08	<0.05	18	10	7.79	<0.05
	II 期	41	31	10			30	11		
	III 期	37	28	9			25	12		
	IV 期	15	6	9			5	10		

3 讨 论

既往研究证实,SFRP1 在胚胎发育阶段主要参与脑、血管等重要系统的细胞分化^[9],但当其成体后,存在于机体的诸多组织中。作为一种重要的抑制因子,SFRP1 的作用多集中在 Wnt 信号(配体蛋白质 Wnt 和膜蛋白受体结合激发)上游,有研究证实,虽然其在正常状态下对抵抗食管癌发生和发展、促进细胞凋亡等^[10]生物过程均极有帮助,但若超过其临界值时,则会损伤机体组织。

本研究结果发现,食管癌患者癌组织中 SFRP1 的表达水平低于癌旁组织($P<0.05$),而不同病理类型、分化程度、TNM 分期、是否淋巴结转移食管癌患者 SFRP1 蛋白表达差异有统计学意义($P<0.05$)。结合文献^[10-12]及本研究结果,SFRP1 在食管癌中的作用机制可能与以下几点有关:(1)SFRP1 参与 Wnt 信号转导而对食管癌发生有影响。通常情况下,Wnt 信号转导在成体组织细胞中的作用主要是协助细胞增殖,但若机体受损时,这条信号通路中的关键蛋白突变,导致 Wnt 信号活化出现异常,继而参与肿瘤发生。(2)SFRP1 基因的第 1 个外显子周围有高密度的 CpG 岛,其是发生甲基化的重要区域。有研究显示,当机体中的 SFRP1 基因甲基化后 Wnt 信号通路则会被激活,继而导致本途径中的 β -catenin 在细胞质内累积、转移或与该途径中的某些转录因子结合^[12]。而在这种情况下,靶基因的转录和表达也会随着被刺激,继而参与食管癌的发生、发展。(3)SFRP1 可与 Fra 相互竞争而使 Wnt 信号通路被抑制。有研究发现,SFRP1 利用部分类似氨基端序列结构与 Wnt 蛋白结合,进而抑制 Wnt 信号通路^[13]。本研究中食

管癌癌组织 SFRP1 阳性表达率明显低于癌旁组织,提示 SFRP1 表达降低会抑制 Wnt 信号转导,促进肿瘤细胞增殖。

作为一种细胞质蛋白, β -catenin 主要分布于胞膜,可与 E-钙黏蛋白(E-cadherin)相结合而形成的一种 E-cadherin- β -catenin 复合物。这种复合物在许多细胞反应中发挥重要作用,有研究证实 β -catenin 变异均会引起许多人类肿瘤,如结肠癌、肺癌^[14-15]。正常情况下,肿瘤抑制(APC)基因对机体细胞中的 β -catenin 有较好的调节,促使 β -catenin 基因出现特殊片段磷酸化。然而,当 β -catenin 或 APC 基因突变时,细胞内的 β -catenin 水平随之递增,而其部分则会从胞膜上转移至胞核内聚集。本研究结果显示, β -catenin 在食管癌癌组织中的表达较癌旁组织明显升高($P<0.05$)。这表明 β -catenin 在食管癌病变组织呈高表达^[16],而癌旁组织阳性率较低,严重影响食管癌患者的预后生存率。通常情况下, β -catenin 主要分为两类,一类是游离型 β -catenin,二类是结合型 β -catenin。有研究证实,前者主要表达于食管癌细胞的细胞核中,是重要的靶基因,Wnt 信号通路则是它与转录因子 Tcf/Lef 结合后形成的;后者的主要功能是调节细胞黏附功能,但无法进入细胞核,而这种调节功能还必须与其他细胞因子结合才可实现^[17]。食管癌的发生则主要与游离型 β -catenin 相关,而导致这种现象的原因在于 β -catenin 降低了转录因子的转录活性,而使 Wnt 信号通路被激活,使信号转导途径异常而过度调节食管癌细胞的增殖^[18]。因此,推测 SFRP1 与 β -catenin 之间还存在某种联系,但具体机制有待进一步研究。

综上所述,SFRP1 低表达、 β -catenin 高表达可能是食管癌高发的主要诱因之一,二者主要通过相同的媒介物质 Wnt 信号通路导致食管癌的发生。SFRP1、 β -catenin 均在食管癌的发生、发展、转归及预后中发挥重要作用,可将其作为食管癌发生的早期肿瘤标志物。

参考文献

[1] 魏茜,余树林,黄宜峰. 胃癌组织中 P53、IL-1 β 、NF- κ B 的表达及与幽门螺杆菌感染的相关性分析[J]. 中国中西医结合消化杂志,2019,27(3):228-231.

[2] 张小三,张一鸣,杨树军,等. 微小 RNA-150 对食管癌细胞增殖、凋亡和 PI3K/Akt 通路的影响[J]. 临床肿瘤学杂志,2018,23(11):967-972.

[3] NUSSE R, CLEVERS H. Wnt/ β -Catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities[J]. Cell, 2017, 169(6):985-999.

[4] 朱鹏. β -catenin 异常表达对于肝细胞癌患者预后及其临床病理特征意义的 Meta 分析与肝细胞癌 CTNNB1 基因突变检测研究[D]. 泸州:西南医科大学,2017.

[5] 龙灵芝. Casticin 对小细胞肺癌 NCI-H446 细胞系 LCS-LCs 自我更新及 β -catenin 表达的影响[D]. 长沙:湖南师范大学,2013.

[6] MALCOMSON F C, WILLIS N D, MCCALLUM I, et al. Effects of supplementation with nondigestible carbohydrates on fecal calprotectin and on epigenetic regulation of SFRP1 expression in the large-bowel mucosa of healthy individuals [J]. Am J Clin Nutr, 2017, 105(2):400-410.

[7] 中国抗癌协会食管癌专业委员会. 食管癌规范化诊治指南[M]. 北京:中国协和医科大学出版社,2011:17-19.

[8] 袁勇,陈龙奇. AJCC 第八版食管癌分期系统更新解读[J]. 中华外科杂志,2017,55(2):109-113.

[9] 张卉,杨德生,马许辉,等. 食管鳞癌中骨桥蛋白、表皮生长因子受体与蛋白激酶 B 蛋白的表达及临床意义[J]. 中国老年学杂志,2017,37(6):1432-1434.

[10] 张迪,王恩华. δ -catenin 与 Cdc42 在非小细胞肺癌中表达的相关性[J]. 中国癌症杂志,2016,26(3):221-229.

[11] YANG S, LIU Y, LI M Y, et al. FOXP3 promotes tumor growth and metastasis by activating Wnt/ β -catenin signaling pathway and EMT in non-small cell lung cancer[J]. Mol Cancer, 2017, 16(1):124.

[12] 付立芳,孙杰. miR-134-3p 通过靶向调节 ADAM9/EGFR/AKT 抑制结肠癌细胞的活性和迁移[J]. 西安交通大学学报(医学版),2018,39(5):653-659.

[13] PENG Y, CAO J, YAO X Y, et al. TUSC3 induces autophagy in human non-small cell lung cancer cells through Wnt/ β -catenin signaling [J]. Oncotarget, 2017, 8 (32): 52960-52974.

[14] 朱娜,彭建美,袁军. CEA、AFP、CA-199 和 CA72-4 联合检测在食管癌诊断中的价值[J]. 陕西医学杂志,2018,47(1):120-122.

[15] WU F, LI J, GUO N, et al. MiRNA-27a promotes the proliferation and invasion of human gastric cancer MGC803 cells by targeting SFRP1 via Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Am J Cancer Res, 2017, 7(3):405-416.

[16] 张欣,吴立平,康保洁. 葡萄糖转运蛋白 1、血管内皮生长因子及增殖细胞核抗原在非小细胞肺癌中的表达及其相关性[J]. 中国医药导报,2016,13(4):73-76.

[17] ZHANG Z, YANG Y, ZHANG X. MiR-770 inhibits tumorigenesis and EMT by targeting JMJD6 and regulating WNT/ β -catenin pathway in non-small cell lung cancer [J]. Life Sci, 2017, 188(88):163-171.

[18] ZHANG B, LI N, ZHANG H. Knockdown of homeobox B5 (HOXB5) inhibits cell proliferation, migration, and invasion in Non-Small cell lung cancer cells through inactivation of the Wnt/ β -Catenin pathway[J]. Oncol Res, 2018, 26(1):37-44.

(收稿日期:2021-07-21 修回日期:2022-02-16)

(上接第 1325 页)

[5] 沈晓明,王卫平. 儿科学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社,2008:259-281.

[6] 陈萍,黄艳庆. 反复呼吸道感染儿童血清 1-25 羟基维生素 D 水平及免疫相关因素的研究[J]. 国际医药卫生导报,2016,22(6):776-778.

[7] 张琪,邓芳,毕良学,等. 血清 25-羟维生素 D 水平与儿童免疫功能和反复呼吸道感染的关联性分析[J]. 中国全科医学,2020,23(9):1112-1116.

[8] 王薇,李彦青. 血清免疫球蛋白、T 细胞亚群水平及维生素 D 与婴幼儿反复呼吸道感染的相关性分析[J]. 中国医师杂志,2018,20(8):1205-1207.

[9] 叶青. 3~6 岁儿童血清 25 羟维生素 D 水平与上呼吸道感染发生的相关性分析[J]. 中国妇幼保健,2018,33(12):2725-2727.

[10] 彭昊,张翼,邓敏. 过敏性腹泻患儿免疫功能与其血清 25-羟维生素 D 水平的关系研究[J]. 中国妇幼保健,2019,34(12):2740-2743.

[11] ADEGOKE S A, OYELAMI O A, ADEKILE A, et al. Influence of serum 25-hydroxyvitamin D on the rate of pain episodes in Nigerian children with sickle cell anaemia[J]. Paediatr Int Child Health, 2017, 37(3):217-221.

[12] MA K, XU W, WANG C, et al. Vitamin D deficiency is associated with a poor prognosis in advanced non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based first-line chemotherapy [J]. Cancer Biomark, 2017, 18(3):297-303.

(收稿日期:2021-08-08 修回日期:2022-02-23)