

结直肠癌组织 Tcf-4 表达与 MMP7 和 survivin 表达的关系及临床意义^{*}

欧玉荣¹, 景桂英¹, 吴 琼¹, 高 杉², 承泽农¹, 董修芹¹

1. 蚌埠医学院第一附属医院 病理科 (蚌埠 233003); 2. 安徽医科大学 药理学教研室 (合肥 230032)

【摘要】 目的 检测 T 细胞因子 4(T cell factor 4, Tcf-4)、基质金属蛋白酶 7(matrix metalloproteinases-7, MMP7)和 survivin 在结直肠癌中的表达及其相关性,探讨其在结直肠癌发生、发展、侵袭和转移等过程中的作用及其临床意义。**方法** 应用逆转录-多聚酶链反应(RT-PCR)检测 50 例结直肠癌及其对应的癌旁正常黏膜组织中 Tcf-4、MMP7 和 survivin mRNA 表达水平,采用免疫组织化学染色技术(Elivision)检测 100 例结直肠癌和 60 例正常黏膜组织中 Tcf-4、MMP7 和 survivin 蛋白的表达,并分析三者间及与临床病理特征之间的关系。**结果** 50 例结直肠癌组织及其正常黏膜组织中 Tcf-4、MMP7、survivin mRNA 均表达,结直肠癌组织的表达均高于正常黏膜组织,差异均有统计学意义(P 均 <0.01); 100 例结直肠癌组织中 Tcf-4 蛋白阳性表达率为 69.00%(69/100),MMP7 蛋白阳性表达率为 77.00%(77/100),survivin 蛋白阳性表达率为 65.00%(65/100),阳性表达率均高于正常黏膜组织[分别为 16.67%(10/60),13.33%(8/60)和 15.00%(9/60)],组间差异均有统计学意义(P 均 <0.01)。Tcf-4、MMP7、survivin 三者 在结直肠癌中的表达水平均与患者的淋巴结转移、Dukes 分期有关($P<0.05$),MMP7 蛋白表达还与患者癌组织浸润深度有关($P<0.05$),survivin 蛋白表达还与患者癌组织分化程度有关($P<0.05$)。经 Spearman 秩相关分析显示,在结直肠癌组织中,Tcf-4 蛋白阳性表达与 MMP7($r=0.302, P<0.01$)、survivin 蛋白($r=0.279, P<0.01$)阳性表达呈正相关;MMP7 与 survivin 蛋白阳性表达无相关性($r=0.097, P>0.05$)。**结论** Tcf-4、MMP7 和 survivin 在结直肠癌组织中高表达,并与结直肠癌患者的淋巴结转移、Dukes 分期有关,提示它们可能参与了结直肠癌的发生和发展。

【关键词】 结直肠癌 免疫组织化学 RT-PCR Tcf-4 MMP7 Survivin

Expression of Tcf-4, MMP7 and Survivin in Colorectal Cancer and Its Clinical Significance OU Yu-rong¹, JING Gui-ying¹, WU Qiong¹, GAO Shan², CHENG Ze-nong¹, DONG Xiu-qin¹. 1. Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Medical College, Bengbu 233003, China; 2. Department of Pharmacology, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

【Abstract】 Objective To explore the clinical and pathological significance and correlations among the expressions of Tcf-4, MMP7 and survivin in colorectal cancer. **Methods** The expressions of Tcf-4, MMP7 and survivin mRNA in tumor tissues and adjacent normal mucosa from 50 colorectal cancer patients were detected by reverse transcription PCR (RT-PCR). The expressed proteins of Tcf-4, MMP7 and survivin were measured using immunohistochemistry staining technique (Elivision) in 100 colorectal cancer samples and 60 normal mucosa tissue samples. We analyzed the correlations between those measurements and their associations with clinical and pathological characteristics. **Results** Positive expressions of Tcf-4, MMP7 and survivin mRNA were found in both cancer and adjacent mucosa tissues, despite a higher level of expression in the cancer tissues ($P<0.01$). Expressed proteins were detected in cancer tissues of 69.00% (69/100) of those with a positive Tcf-4 expression, 77.00% (77/100) of those with a positive MMP7 expression, and 65.00% (65/100) of those with a positive survivin expression. Compared with cancer tissues, lower levels of protein expression were found in normal mucosa tissues [16.67% (10/60) for Tcf-4, 13.33% (8/60) for MMP7 and 15.00% (9/60) for survivin, $P<0.01$]. The expressions of Tcf-4, MMP7 and survivin were all associated with lymphatic metastasis and Dukes staging ($P<0.05$). MMP7 expression was associated with depth of tumor invasion ($P<0.05$). Survivin expression was associated with tumor differentiation. The Spearman rank correlation analyses showed that protein expressions in colorectal cancer tissues in those with a positive Tcf-4 were correlated with those with a positive MMP7 ($r=0.302$) and those with a positive survivin ($r=0.279$) ($P<0.01$), but not in those with a positive MMP7 and those with a

^{*} 国家自然科学基金(No. 81073088)、安徽省教育厅自然科学研究项目(No. 2010KJ116B)和蚌埠市科技局科研项目(No. 200903020)资助

positive survivin ($r=0.097, P>0.05$). **Conclusion** The expression levels of Tcf-4, MMP7 and survivin are high in colorectal cancer, all being linked to lymph node metastasis and Dukes stages of patients. This suggests that they may be involved in the occurrence, development, malignant growth and clinical progression of colorectal cancer.

【Key words】 Colorectal cancer Immunohistochemistry RT-PCR Tcf-4 MMP7 Survivin

结直肠癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一,在世界范围内,其发病率位居肿瘤发病率的第三位^[1]。结直肠癌发生的机理复杂,与遗传因素、环境因素和社会因素等有关。细胞信号转导通路是当今生物学领域最前沿、最活跃的主题之一^[2]。Wnt 信号转导通路在胚胎发育与肿瘤发生、发展以及侵袭转移等关键过程中起着重要作用^[3]。近年来,Wnt 信号通路在结直肠癌发病机理中的作用成为了研究的热点之一,该通路上多个组分的改变与结直肠癌发病密切相关。T 细胞因子(Tcf)最初被确定为 T 和 B 淋巴细胞特异性转录因子,近年来研究证实其在肿瘤的发生、发展中发挥重要的作用。Tcf-4 是 Tcf 家族的重要成员,也是 Wnt 信号通路重要的调控分子,对结直肠癌的发生发展起着重要调节作用^[4]。Tcf-4 主要参与形成 APC/ β -连环蛋白(β -catenin)/Tcf-4 复合体,调控下游靶基因如原癌基因 *c-myc*、基质金属蛋白酶 7(MMP7)、CD44、细胞周期蛋白 D1(CyclinD1)和 survivin 等的激活转录,是结直肠癌细胞恶性转化的一个标志^[5]。Tcf-4 作为 Wnt 信号通路中的分子开关^[6,7],在调控细胞癌变过程中发挥双重效应,它既可促进细胞增殖分化,又能通过抑制细胞过度生长、防止肿瘤发生,对肿瘤的发生进行调控。

MMP7 参与多种恶性肿瘤的浸润和转移过程^[8]。Survivin 是 Ambrosini 等^[9]筛选分离的凋亡抑制蛋白(IAP)家族新成员,Kawasaki 等^[10]对结直肠从增生到癌变不同时期研究发现,survivin 阳性率逐渐升高,凋亡指数(AI)依次降低,提示 survivin 异常高表达是大肠癌发生早期的必然事件,而且是肿瘤预后的重要因素之一。

目前国内外有关 Tcf-4 与结直肠癌关系的研究较少,而同时研究 Tcf-4、MMP7 和 survivin 在结直肠癌中的表达尚未见报道。本实验应用 RT-PCR 及免疫组织化学染色方法从基因及蛋白水平对 Tcf-4、MMP7 和 survivin 在结直肠癌组织和正常黏膜组织中的表达进行检测,分析三者与结直肠癌患者临床病理特征之间的相关性及相互关系,探讨三者在结直肠癌发生、发展和浸润转移过程中的作用机制,为临床的早期诊断、靶向治疗及预后判断提供

分子学依据。

1 材料和方法

1.1 标本来源和临床资料

收集蚌埠医学院第一附属医院 2013 年 4~8 月间经手术切除新鲜的、经组织病理检测证实的结直肠癌及相对应的癌旁正常结直肠组织(距肿瘤边缘 5 cm 以上)标本各 50 例。样本取材后置入经 0.1% DEPC 水处理过并含 RNA 保护液的 EP 管中,置入 -80 °C 冰箱保存备后续实验使用。同时收集蚌埠医学院第一附属医院病理科 2012 年 9 月至 2013 年 4 月存档石蜡包埋结直肠癌标本 100 例和正常结直肠黏膜标本 60 例,所有病例均有完整的病理及临床资料,术前均未接受放疗或化疗。其中男性 60 例,女性 40 例;年龄 27~78 岁,中位年龄 60 岁; ≤ 60 岁 46 例, > 60 岁 54 例;结肠癌 65 例,直肠癌 35 例;肿瘤大小以 5 cm 作为分界值: ≤ 5 cm 57 例, > 5 cm 43 例;浸润深度以浆膜层为界:未及浆膜层 21 例,侵及浆膜层 79 例;组织分化程度:高分化腺癌 16 例,中分化腺癌 58 例,低分化腺癌 26 例;无淋巴结转移 58 例,有淋巴结转移 42 例;无远处转移 80 例,有远处转移 20 例;按全国结直肠癌病理研究规范分类 Dukes 分期:A+B 期 45 例,C+D 期 55 例。

1.2 主要试剂

逆转录 PCR 试剂盒购自 Thermo Scientific 公司(合肥安启生物有限公司代理);兔抗人 Tcf-4 单克隆抗体(浓缩型,克隆号:EP2033Y)购自 Abcam 公司;鼠抗人 MMP7 单克隆抗体(工作液,克隆号:ID2)及兔抗人 survivin 单克隆抗体(工作液,克隆号:EP119)均购自北京中杉金桥生物技术有限公司;DAB 显色试剂盒(产品编号 DAB-0031)及 KIT9901 Elivision™ plus Poly HRP (Mouse/Rabbit)IHC Kit 购自福州迈新生物技术开发公司。

1.3 方法

1.3.1 RT-PCR 检测组织 Tcf-4、MMP7、survivin mRNA 的表达 Tcf-4、MMP7 和 survivin 基因引物用 primer 5.0 引物软件自行设计,基因引物及 GAPDH 内参引物均由上海生工生物工程有限公司设计并合成。引物序列见表 1。

表 1 <i>Tcf-4</i> 、 <i>MMP7</i> 、 <i>survivin</i> 、 <i>GAPDH</i> 基因引物序列		
Table 1 Gene sequences of <i>Tcf-4</i> , <i>MMP7</i> , <i>survivin</i> and <i>GAPDH</i>		
Gene	Primer sequence	Primer length (bp)
<i>Tcf-4</i>	F:5'-GTCAGCCTTAACCTTTTGCACC-3'	232
	R:5'-TGTAACAACAGATGTTTTTT-3'	
<i>MMP7</i>	F:5'-CATTGTTGCAGCAATCAGAATT-3'	163
	R:5'-TCATCTATACTTGCAGTGGGT-3'	
<i>Survivin</i>	F:5'-CTGTTAATAAAGCCGTAGGCC-3'	119
	R:5'-GTGGAGTCTGGGAAGGGTGTG-3'	
<i>GAPDH</i>	F:5'-AGGTCGGAGTCAACGATTTG-3'	532
	R:5'-GTGATGGCATGGACTGTGGT-3'	

按照试剂盒操作说明书进行。采用 Trizol 法提取组织总 RNA,紫外分光光度计检测吸光度比值 A_{260}/A_{280} (1.8~2.0),并计算 RNA 总浓度,10 g/L 琼脂糖凝胶电泳,溴酚蓝染色检测 18S、28S 条带的完整性;PCR 扩增条件为:94 ℃ 预变性 3 min,94 ℃ 变性 30 s,退火 (*Tcf-4*, 60.3 ℃; *MMP7*, 52.2 ℃; *survivin*, 57.3 ℃; *GAPDH*, 57 ℃) 30 s,72 ℃ 延伸 1 min,35 个循环结束后 72 ℃ 延伸 10 min。扩增产物电泳、成像,结果用 Bio-Rad 凝胶成像系统进行采集。以目的基因条带与 *GAPDH* 灰度值比值为目的基因的相对表达量。

1.3.2 免疫组织化学法检测组织 *Tcf-4*、*MMP7*、*survivin* 蛋白的表达 免疫组织化学采用常规 Elivision 两步法,抗原修复采用高压锅煮沸。*Tcf-4* 最佳稀释浓度为 1:100; *MMP7* 和 *survivin* 均为工作液。阳性对照采用已知相应阳性的标本,阴性对照采用 PBS 缓冲液作为一抗。*Tcf-4* 及 *survivin* 阳性物质均定位于细胞核, *MMP7* 阳性物质主要定位于细胞质,呈黄色或棕黄色颗粒为阳性反应。免疫组化染色结果判断标准:按阳性细胞数占肿瘤细胞总数的百分率和肿瘤细胞着色强度综合判定,两者相乘,积 0~1 分为阴性(-); ≥2 分为阳性(+)。为了减少人为因素造成的判断误差,以上均由 2 名高年资病理医师逐一观察同一切片,2 人观察结果核对后作为最终评定结果。

1.4 统计学方法

Tcf-4、*MMP7* 和 *survivin* mRNA 表达水平采用配对资料 *t* 检验分析;分析 *Tcf-4*、*MMP7* 和 *survivin* 蛋白在各组间表达率的比较及临床病理预后因素的关系采用 χ^2 检验;等级资料两变量相关关系采用 Spearman 秩相关分析。 $\alpha_{\text{双侧}}=0.05$ 。

2 结果

2.1 *Tcf-4*、*MMP7* 及 *survivin* mRNA 在结直肠癌

及正常黏膜中的表达

提取组织的总 RNA 其吸光度比值在 1.4~2.1 之间,经分析 28S 条带亮度约为 18S 条带亮度的 2 倍,证实获得了高纯度的完整的总 RNA。50 例结直肠癌组织及其正常黏膜组织中 *Tcf-4*、*MMP7*、*survivin* mRNA 均有阳性表达(图 1),在结直肠癌组织中相对表达量分别为 0.653 ± 0.189 、 0.824 ± 0.218 和 0.544 ± 0.195 ,在正常黏膜组织其相对表达量为 0.217 ± 0.045 、 0.168 ± 0.038 和 0.184 ± 0.064 ,结直肠癌组织的表达均高于正常黏膜组织,差异均有统计学意义($t=7.389$, $t=10.368$, $t=7.046$, P 均 <0.01)。

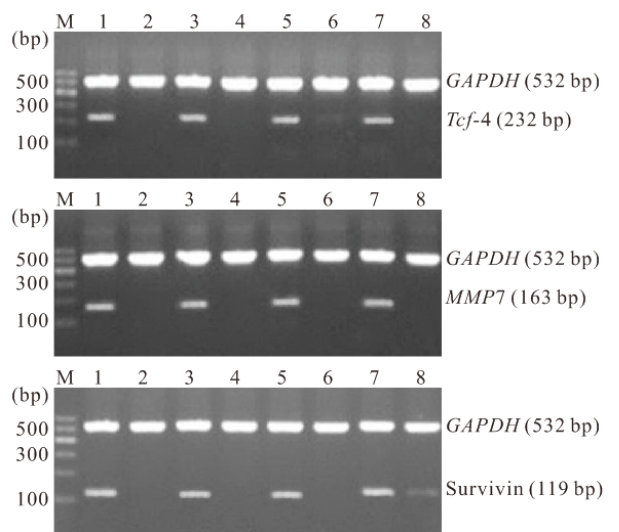


图 1 结直肠癌组织和正常黏膜中 *Tcf-4*、*MMP7* 及 *survivin* mRNA 的表达

Fig 1 Expression of *Tcf-4*, *MMP7* and *survivin* mRNA in colorectal cancer and normal colorectal mucosa

1, 3, 5, 7: Colorectal cancer tissues; 2, 4, 6, 8: Normal mucosa located adjacent to the identified carcinoma

2.2 *Tcf-4*、*MMP7* 及 *survivin* 蛋白在结直肠癌和正常黏膜组织中的表达

Tcf-4 在正常肠黏膜隐窝顶端的细胞核有表达(图 2A),在结直肠癌组织(图 2B)和正常黏膜组织中阳性表达率分别为 69.00%(69/100)和 16.67%(10/60),两组间差异有统计学意义($P<0.01$)。结直肠癌组织中 *MMP7* 蛋白主要定位于细胞质(图 3A),少数定位于细胞核(图 3B),正常组织中罕见表达,在结直肠癌组织和正常黏膜组织中阳性率分别为 77.00%(77/100)和 13.33%(8/60),两组间差异有统计学意义($P<0.01$)。*survivin* 蛋白(图 4)主要定位于细胞核,在结直肠癌组织和正常黏膜组织中阳性率分别为 65.00%(65/100)和 15.00%

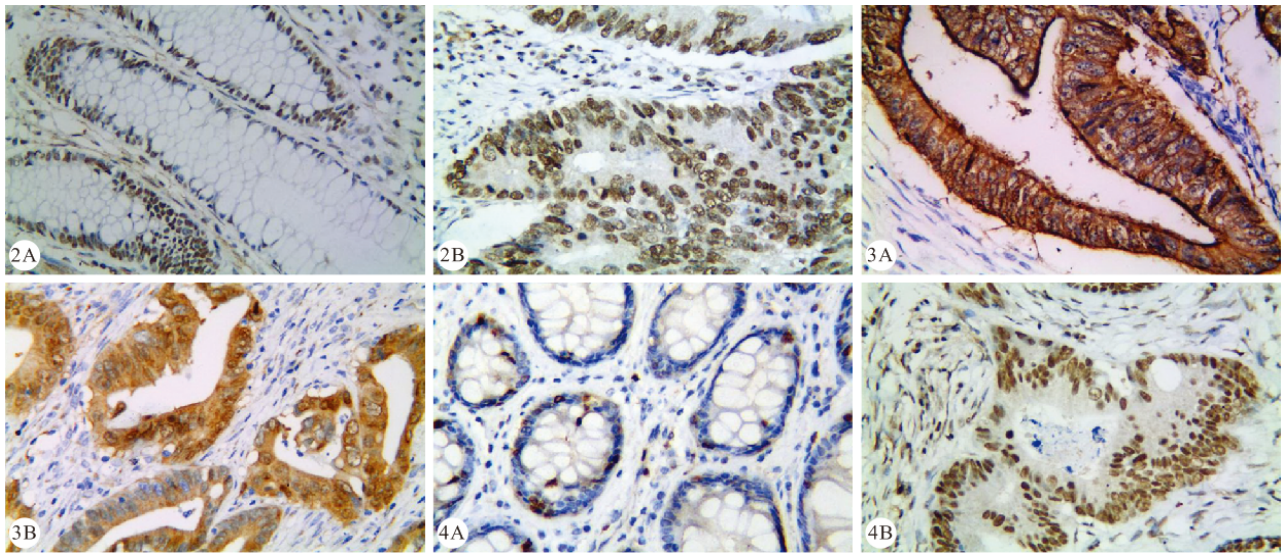


图 2 结直肠正常黏膜(A)及癌组织(B)中 Tcf-4 阳性表达。Elivision ×400

图 3 结直肠癌组织 MMP7 阳性表达。癌组织细胞质表达(A),癌组织细胞质、核表达(B)。Elivision ×400

图 4 结直肠正常黏膜(A)及癌组织(B)中 survivin 阳性表达。Elivision ×400

Fig 2 Positive expression of Tcf-4 in normal mucosa (A) and colorectal cancer (B). Elivision ×400

Fig 3 Positive expression of MMP7 in colorectal cancer. Cytoplasmic expression (A), cytoplasmic and nuclear expression (B). Elivision ×400

Fig 4 Positive expression of survivin in normal mucosa (A) and colorectal cancer (B). Elivision ×400

(9/60),两组间差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.3 Tcf-4、MMP7 及 survivin 蛋白在结直肠癌组织中表达的相互关系

69 例 Tcf-4 阳性表达的结直肠癌组织中,有 59 例 MMP7 蛋白和 51 例 survivin 蛋白阳性表达, Spearman 秩相关分析显示, Tcf-4 与 MMP7 ($r=0.302, P<0.01$) 和 survivin 蛋白 ($r=0.279, P<0.01$) 之间均呈正相关关系,而 MMP7 与 survivin 蛋

白阳性表达无相关性($r=0.097, P>0.05$)。

2.4 Tcf-4、MMP7 和 survivin 蛋白表达与结直肠癌临床病理特征的关系

见表 2。Tcf-4、MMP7 和 survivin 蛋白在结直肠癌中的表达均与患者有无淋巴结转移和 Dukes 分期有关($P<0.05$),MMP7 蛋白表达还与患者癌组织浸润深度有关($P<0.05$),survivin 蛋白表达还与患者癌组织分化程度有关($P<0.05$)。

表 2 Tcf-4、MMP7 和 survivin 蛋白表达与结直肠癌临床病理特征的关系

Table 2 Positive expressions of Tcf-4, MMP7 and survivin and their associations with clinical and pathological characteristics							
Parameters	n	Tcf-4		MMP7		Survivin	
		Case (%)	P	Case (%)	P	Case (%)	P
Depth of invasion			0.429		0.003		0.738
Under serous membrane	21	13 (61.90)		11 (52.38)		13 (61.90)	
To serous membrane	79	56 (70.89)		66 (83.54)		52 (65.82)	
Differentiation			0.559		0.144		0.010
Well	16	10 (62.50)		10 (62.50)		8 (50.00)	
Moderated	58	39 (67.24)		44 (75.86)		37 (63.79)	
Poor	26	20 (76.92)		23 (88.46)		20 (76.92)	
Lymph node metastasis			0.008		0.001		0.015
No	58	34 (58.62)		38 (65.52)		32 (55.17)	
Yes	42	35 (83.33)		39 (92.86)		33 (78.57)	
Distal metastasis			0.517		0.342		0.295
No	80	54 (67.50)		60 (75.00)		50 (62.50)	
Yes	20	15 (75.00)		17 (85.00)		15 (75.00)	
Dukes stage			0.002		0.007		0.001
A+B	45	24 (53.33)		29 (64.44)		21 (46.67)	
C+D	55	45 (81.82)		48 (82.27)		44 (80.00)	

3 讨论

目前,结直肠癌仍是国内外严重危害人类健康和生命的常见恶性肿瘤之一。近年来,随着我国居民的饮食中高脂肪、高蛋白和高糖比例显著增加,结直肠癌的发病率和死亡率迅速增长,预计到 2020 年其发病率将增加 55%^[11]。近年来,Wnt 信号通路即经典的 Wnt/ β -catenin/Tcf 信号通路在细胞分化、形态发生、结构形成和肿瘤演进等方面起着重要作用^[12], β -catenin 是该通路中的重要信号传递子和枢纽因子。激活后的 Wnt 途径可以防止 β -catenin 被降解,稳定的 β -catenin 能够转移到细胞核内,在核内与转录抑制因子竞争性地与 Tcf/淋巴增强因子(LEF)靶基因结合,诱导多种相关基因的转录,进而对人体正常细胞增殖起到调整促进作用^[13]。 β -catenin 含量的增加是 Wnt 通路激活的具体体现, β -catenin 与核内转录因子 Tcf 的结合是 Wnt 通路激活的关键,核内转录因子 Tcf 下游靶基因的活化是 Wnt 通路激活的最终结果^[14]。因此,Wnt/ β -catenin/Tcf-4 信号通路在肿瘤的发生、发展、侵袭、转移中起着非常重要的作用^[15]。

Tcf 家族包括 Tcf-1、LEF-1、Tcf-3 及 Tcf-4。研究认为 Tcf-4 在结肠癌中呈高表达^[16],Korinek 等^[4]研究认为,在 43 株结直肠癌细胞系中 Tcf-4 mRNA 是 Tcf 家族唯一共同表达成员,而且是表达量最高的成员,说明 Tcf-4 基因在结直肠癌的发生发展中起着重要的作用。研究表明^[17] Tcf-4 是具有双向调节功能的转录因子,当 Wnt 信号通路激活时,游离的 β -catenin 在细胞质内稳定、积累及进入细胞核,与 Tcf-4 形成复合体激活下游靶癌基因;而在无 Wnt 信号时,Tcf-4 通过与多种核内抑制蛋白相互作用,特异性结合 Wnt 信号通路下游靶基因,保持靶基因关闭,发挥阻碍作用。因此, β -catenin/Tcf-4 蛋白复合体及下游靶基因的激活转录是结直肠癌细胞恶性转化的重要标志,也是 Wnt 信号传递的重要步骤^[5, 16]。本研究发现,在正常大肠黏膜上皮细胞中,Tcf-4 蛋白在肠隐窝顶端上皮细胞核中有表达,在结直肠癌细胞中呈现高表达。Tcf-4 mRNA 在结直肠癌中的表达高于其癌旁正常黏膜组织,Tcf-4 蛋白与基因表达具有一致性。本研究还发现,Tcf-4 蛋白表达与肿瘤淋巴结转移及 Dukes 分期相关,与 Wang 等^[18]研究具有一致性,提示 Tcf-4 表达参与了结直肠癌的发生、发展过程,是结直肠癌高侵袭性、高增殖活性及转移潜能的因素之

一。

肿瘤浸润转移是恶性肿瘤最重要的生物学行为特征之一,也是恶性肿瘤难以根治的主要原因和常见死因。MMPs 是一类含 Zn^{2+} 、活性依赖 Ca^{2+} 的结构高度同源的內肽酶总称。此类酶多以酶原形式存在,活化后才能发挥降解细胞外基质的作用。MMP7 是 MMPs 家族中目前发现的相对分子质量最小的一种分泌型蛋白^[19],MMP7 具有强大的细胞外基质水解及降解活性,并具有强大的底物特异性,可水解和降解包括 I 型明胶、IV 型胶原、可溶性弹性蛋白、层粘蛋白、蛋白多糖、纤维结合素等多种特异性底物。多项研究表明^[20-22],MMP7 在多种人类癌组织中呈过度表达,与人类多种癌症的侵袭、转移有关,特别是与结直肠癌的关系更为密切^[23]。survivin 是目前发现的最强的凋亡抑制因子,survivin 通过抑制 Caspase-3 和 Caspase-7 的活性,并可调节 G₂/M 期,参与细胞周期有丝分裂的调控,最终抑制细胞凋亡。Brabletz 等^[24]研究认为 MMP7 的表达受 β -catenin/Tcf 的调节,并且这种调节是通过 Tcf-4 激活 MMP7 启动子而实现的,同时 Pierre 等^[25]采用 DNA 芯片技术,在基因水平对多种转移性肿瘤细胞中的 MMP7 进行 Meta 分析后证实,MMP7 可作为肿瘤发生转移的重要影响因素之一。MMP7 还可能抑制肿瘤细胞的凋亡,黄勇等^[26]认为 MMP7 抑制了 Fas/FasL 介导的凋亡信号转导机制,MMP7 诱导肿瘤细胞发生凋亡耐受,使其逃避免疫监视而抑制其凋亡。本研究显示,在结直肠癌组织中 MMP7 和 survivin 的 mRNA 及蛋白表达均高于癌旁正常黏膜组织($P < 0.01$)。MMP7 和 survivin 蛋白在结直肠癌组织中的表达均与患者的淋巴结转移和 Duke's 分期有关($P < 0.05$),MMP7 蛋白表达还与患者癌组织的浸润深度有关($P < 0.05$),这与多数作者的研究结果相一致^[27, 28]。Spearman 秩相关分析发现,Tcf-4 蛋白表达与 MMP7 及 survivin 蛋白表达均呈正相关($P < 0.01$)。而 MMP7 和 survivin 表达之间无相关性,可能两者均是结直肠癌发生发展的独立危险因素。结果提示 Wnt 信号通路激活,导致核内“分子开关”Tcf-4 活化,促使下游靶基因 MMP7 分泌增加、活性增强,同时凋亡抑制基因 survivin 使细胞凋亡减少,细胞增殖失控,导致结直肠癌的发生、发展、侵袭和转移。因此,Tcf-4、MMP7 及 survivin 可能在肿瘤的发生发展及浸润转移中发挥协同作用。

目前关于 Wnt 信号通路与肿瘤关系的研究处

于不断深入的阶段, 深入研究 Tcf-4、MMP7、survivin 三者之间作用调控机制及其相互之间的关系, 对揭示结直肠癌的发病机制及其进展有重要意义; 联合检测 Tcf-4、MMP7 和 survivin 不但有望成为结直肠癌判断预后的重要指标, 而且为结直肠癌临床上的靶点治疗提供新的依据和思路。

参 考 文 献

- 1 Jemal A, Siegel R, Ward E, *et al.* Cancer statirtics, 2007. CA Cancer J Clin, 2007; 57(1): 43-66.
- 2 Heasley LE, Han SY. JNK regulation of oncogenesis. Mol Cells, 2006; 21(2): 167-173.
- 3 Bryja V, Cajanek L, Grahn A, *et al.* Inhibition of endocytosis blocks Wnt signaling to beta-catenin by promoting disheveled degradation. Acta Physiol (Oxf), 2007; 190(1): 55-61.
- 4 Korinek V, Barker N, Morin PJ, *et al.* Constitutive transcriptional activation by a beta-catenin-Tcf complex in APC $-/-$ colon carcinoma. Science, 1997; 275(5307): 1784-1787.
- 5 Fasolini M, Wu X, Flocco M, *et al.* Hot spots in Tcf4 for the interaction with beta-catenin. J Biol Chem, 2003; 278(23): 21092-21098.
- 6 Roose J, Clevers H. TCF transcription factors: molecular switches in carcinogenesis. Biochim Biophys Acta, 1999; 1424(2-3): M23-M27.
- 7 Ma B, Zhong L, van Blitterswijk CA, *et al.* T cell factor 4 is a pro-catabolic and apoptotic factor in human articular chondrocytes by potentiating nuclear factor κ B signaling. J Biol Chem, 2013; 288(24): 17552-17558.
- 8 Varro A, Kenny S, Hemers E, *et al.* Increased gastric expression of MMP7 in hypergastrin emia and significance for epithelial-mesenchymal signaling. Am J Phisiol Gastrointest Liver Physio, 2007; 292(4): 1133-1140.
- 9 Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apopt ois gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. Nat Med, 1997; 3(8): 917-921.
- 10 Kawaski H, Toyoda M, Shinohara H, *et al.* Expression of survivin correlates with apoptosis, proliferation, and angiogenesis during human colorectal tumorigenesis. Cancer, 2001; 91(11): 2026-2032.
- 11 王 益, 沈敏鹤, 阮善明等. 中医解毒法协同化疗治疗大肠癌的研究现状. 中华中医药学刊, 2013; 31(10): 2130-2131.
- 12 顾 娟, 王学东, 潘兆麟等. Wnt 信号通路与肿瘤的研究进展. 国际肿瘤学杂志, 2012; 39(11): 827-829.
- 13 Amit S, Hatzubai A, Birman Y, *et al.* Axin-mediated CKI phosphorylation of beta- catenin at Ser 45: a molecular switch for the Wnt pathway. Genes, 2002; 16(9): 1066-1076.
- 14 杨 升, 卢辉山. Wnt 信号通路 with 消化道肿瘤关系的研究进展. 世界华人消化杂志, 2007; 15(27): 2880-2884.
- 15 Gofuku J, Shiozaki H, Tsujinaka T, *et al.* Expression of E-

- cadherin and alpha-cateninin patients with colorectal carcinoma. Correlation with cancer invasion and metastasis. Am J Clin Pathol, 1999; 111(1): 29-37.
- 16 Poy F, Lepourcelet M, Shivdasani RA, *et al.* Structure of a human Tcf4-beta-catenin complex. Nat Struct Biol, 2001; 8(12): 1053-1057.
- 17 Hurlstone A, Clevers H. T-cell factors: turn-ons and turn-offs. EMBO J, 2002; 21(10): 2303-2311.
- 18 Wang JF, Zhou ZG, Wu DC. Association of T cell factor-4 mRNA expression with clinicopathological characteristics of colorectal cancer. Chinese-German Journal of Clinical Oncology, 2008; 7(10): 584-586
- 19 Knox JD, Boreham DR, Walker JA, *et al.* Mapping of the metalloproteinase gene matrilysin (MMP7) to human chromosome 11q21 $\rightarrow$ q22. Cytogenet Cell Genet, 1996; 72(2-3): 179-182.
- 20 Bucan V, Mandel K, Bertram C, *et al.* LEF-1 regulates proliferation and MMP-7 transcription in breast cancer cells. Genes Cells, 2012; 17(7): 559-567.
- 21 Cheng S, Eliaz I, Lin J, *et al.* Triterpenes from Poria cocos suppress growth and invasiveness of pancreatic cancer cells through the downregulation of MMP-7. Int J Oncol, 2013; 42(6): 1869-1874.
- 22 Lu H, Yang Z, Zhang H, *et al.* The expression and clinical significance of matrix metalloproteinase 7 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases 2 in clear cell renal cell carcinoma. Exp Ther Med, 2013; 5(3): 890-896.
- 23 Jeffery N, McLean MH, EI-Omar EM, *et al.* The matrix metalloproteinase/tissue inhibitor of matrix metalloproteinase profile in colorectal polyp cancers. Histopathology, 2009; 54(7): 820-828.
- 24 Brabletz T, Jung A, Dag S, *et al.* beta-catenin regulates the expression of the matrix metalloproteinase-7 in human colorectal cancer. Am J Pathol, 1999; 155(4): 1033-1038.
- 25 Pierre M, Dehertogh B, Gaigneaux A, *et al.* Meta-analysis of archived DNA microarrays identifies genes regulated by hypoxia and involved in a metastatic phenotype in cancer cells. BMC Cancer, 2010; 10(1): 176. doi: 10. 1186/1471-2407-10-176.
- 26 黄 勇, 郑 树. 基质金属蛋白酶 7 在肿瘤中的作用研究进展. 上海交通大学学报(医学版), 2010; 30(11): 1428-1431.
- 27 Pryczynicz A, Gryko M, Niewiarowska K, *et al.* Immunohistochemical expression of MMP-7 protein and its serum level in colorectal cancer. Folia Histochem Cytobiol, 2013; 51(3): 206-212.
- 28 李志娟, 蒋卫国, 王劲欧等. CD151 和 MMP-7 在结直肠癌中的表达及其临床意义. 中国肿瘤临床, 2012; 39(7): 392-395.

(2014-12-17 收稿, 2015-04-09 修回)

编辑 沈 进