

DEK、Wnt-1、GSK-3 β 在宫颈鳞状细胞癌中的表达和意义

曹江¹, 杨麦青², 葛莉², 乔海燕³, 高利利¹, 张庆军¹

(1.潍坊市市中医院妇产科, 山东 潍坊 261041;

2.潍坊市人民医院病理科, 山东 潍坊 261041;

3.潍坊市市中医院脑病科, 山东 潍坊 261041)

摘要:目的 观察宫颈鳞状细胞癌组织中 DEK、Wnt-1、GSK-3 β 的表达变化, 探讨 DEK、Wnt-1、GSK-3 β 在宫颈鳞状细胞癌中的临床病理意义。方法 选取 2016 年 1 月-2021 年 12 月于潍坊市市中医院确诊宫颈鳞状细胞癌的患者 100 例, 并选取癌旁周围的鳞状上皮组织当作对照。采用免疫组织化学方法观察组织中 DEK、Wnt-1、GSK-3 β 蛋白的表达, 并探讨 DEK、Wnt-1、GSK-3 β 与临床病理参数的关系, 以及 DEK 与 Wnt-1、GSK-3 β 的相关性。结果 与正常宫颈鳞状上皮组织比较, DEK、Wnt-1 在宫颈鳞状细胞癌组织中高表达, GSK-3 β 低表达; DEK、Wnt-1 高表达及 GSK-3 β 低表达与肿瘤的低分化、淋巴结转移、高 TNM 分期有关 ($P<0.05$)。Pearson 相关性分析显示, 宫颈鳞状细胞癌组织中 DEK 与 Wnt-1 呈正相关 ($r=0.304, P=0.001$), 与 GSK-3 β 呈负相关 ($r=-0.289, P=0.002$)。结论 宫颈鳞状细胞癌组织中 DEK、Wnt-1 表达升高, 而 GSK-3 β 表达降低, 且 DEK 与 Wnt-1、GSK-3 β 密切相关, 其表达异常参与了宫颈鳞状细胞癌的发生、发展。

关键词: 宫颈鳞状细胞癌; DEK; Wnt-1; GSK-3 β

中图分类号: R737.33

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2024.03.022

文章编号: 1006-1959(2024)03-0114-04

Expression and Significance of DEK, Wnt-1, GSK-3 β in Cervical Squamous Cell Carcinoma

CAO Jiang¹, YANG Mai-qing², GE Li², QIAO Hai-yan³, GAO Li-li¹, ZHANG Qing-jun¹

(1.Department of Obstetrics and Gynecology, Weifang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Weifang 261041, Shandong, China;

2.Department of Pathology, Weifang People's Hospital, Weifang 261041, Shandong, China;

3.Department of Encephalopathy, Weifang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Weifang 261041, Shandong, China)

Abstract: **Objective** To observe the expression changes of DEK, Wnt-1 and GSK-3 β in cervical squamous cell carcinoma, and to explore the clinicopathological significance of DEK, Wnt-1 and GSK-3 β in cervical squamous cell carcinoma. **Methods** A total of 100 patients with cervical squamous cell carcinoma diagnosed in Weifang Hospital of Traditional Chinese Medicine from January 2016 to December 2021 were selected, and the squamous epithelial tissue around the cancer was selected as the control group. Immunohistochemical method was used to observe the expression of DEK, Wnt-1 and GSK-3 β protein in tissues, and the relationship between DEK, Wnt-1, GSK-3 β and clinicopathological parameters was explored, the correlation between DEK and Wnt-1, GSK-3 β were analyzed. **Results** Compared with normal cervical squamous epithelial tissues, DEK and Wnt1 were highly expressed in cervical squamous cell carcinoma tissues, and GSK-3 β was lowly expressed. The high expression of DEK, Wnt-1 and the low expression of GSK-3 β were related to the poor differentiation, lymph node metastasis and high TNM stage of the tumor ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that DEK was positively correlated with Wnt-1 ($r=0.304, P=0.001$) and negatively correlated with GSK-3 β ($r=-0.289, P=0.002$) in cervical squamous cell carcinoma. **Conclusion** The expression of DEK and Wnt-1 in cervical squamous cell carcinoma is increased, while the expression of GSK-3 β is decreased. DEK is closely related to Wnt-1 and GSK-3 β , and its abnormal expression is involved in the occurrence and development of cervical squamous cell carcinoma.

Key words: cervical squamous cell carcinoma; DEK; Wnt-1; GSK-3 β

宫颈鳞状细胞癌 (cervical squamous cell carcinoma) 是全球妇女常见的癌症之一, 发病率仅次于乳腺癌^[1]。近几年随着生活习惯的改变, 宫颈鳞状细胞癌的发病率日趋上升, 并且逐步年轻化^[2,3]。虽然

大多数早期的宫颈鳞状细胞癌患者预后较好, 但复发、转移是宫颈鳞状细胞癌治疗的难点, 对于晚期患者, 预后较差。因此, 寻求有助于早期诊断和评估预后的特异性标记物对于宫颈鳞状细胞癌的治疗和临床指导预后意义重大。DEK 位于人染色体 6p22.3, 蛋白的分子量是 43 kD, 最早于 1992 年在急性髓性白血病的一个亚型中以 DEK-CAN 的形式发现^[4,5]。DEK 是一种 RNA 结合蛋白, 与炎症、自身免疫性疾病、肿瘤等的发生发展密切相关^[6,7]。研究表明^[8], DEK 在肿瘤组织中明显高表达, 并且大多与肿瘤的低分

基金项目: 潍坊市卫生健康委科研项目 (编号: WFWSJK-2022-091)

作者简介: 曹江 (1980.7-), 男, 山东潍坊人, 本科, 副主任医师, 主要从事研究宫颈癌的发病机制研究

通讯作者: 杨麦青 (1979.11-), 女, 山东潍坊人, 博士, 主治医师, 主要从事肿瘤临床及基础相关疾病的研究

化、淋巴结转移、预后不良等恶性行为相关。Wnt 信号转导通路参与胚胎发育、细胞增殖及分化等过程,该信号通路异常活化与人类肿瘤的发生密切相关。GSK-3 β 参与糖原合成酶磷酸化的五种酶之一,参与调节多种细胞过程,包括细胞分裂、增殖、分化和粘附。GSK-3 β 的异常表达与糖尿病、癌症、神经退行性疾病等不同慢性病的发生和发展有关。在各种疾病中,异常的 GSK-3 β 活性与不同蛋白质的失调有关,即微管相关蛋白 τ 、Wnt 信号通路成分、 β -连环蛋白和热休克蛋白等。本研究通过观察宫颈鳞状细胞癌组织中 DEK、Wnt-1、GSK-3 β 的表达变化,探讨 DEK、Wnt-1、GSK-3 β 在宫颈鳞状细胞癌中的临床病理意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月–2021 年 12 月于潍坊市中医院妇产科就诊并经过病理诊断且手术治疗的宫颈鳞状细胞癌患者 100 例,50 例癌旁的正常宫颈鳞状上皮组织(距离肿瘤 ≥ 5 cm),术前均未经放、化疗,临床和病理资料保存相对完整。患者年龄 31~74 岁,中位年龄 48 岁;年龄 ≥ 50 岁者 46 例,<50 岁者 54 例;根据 WHO 分类,高分化者 31 例,中、低分化者 69 例;根据国际抗癌联盟第八版 TNM 分期,I 期 64 例,II~III 期 36 例;伴有淋巴结转移 41 例,无淋巴结转移 59 例;按肿瘤大小分组,>4 cm 22 例, ≤ 4 cm 78 例。研究对象均知情并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 手术切除标本,经 10%中性福尔马林固定 12 h,取材后经梯度酒精、二甲苯脱水、透明,石蜡包埋、常规切片,HE 染色,光镜观察。经 2 名病理医师做出诊断。

1.2.2 免疫组织化学染色 DEK、Wnt-1、GSK-3 β 兔抗人单克隆抗体(工作液浓度 1:100),购买自武汉三鹰生物科技有限公司。3~4 μ m 切片,免疫组织化学

方法使用 SP 法,具体操作步骤包括:80 $^{\circ}$ 烤箱烤片,然后经二甲苯脱蜡、梯度酒精脱水;高压锅柠檬酸修复,常温羊血清孵育;常温滴加一抗(DEK、Wnt-1、GSK-3 β);滴加生物素标记的二抗抗体;加链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶;经 DAB 显色液显色。所有切片均采用相同的实验方法和步骤。

1.3 结果判读 根据美国临床肿瘤学会 ASCO 分级分别对 DEK、Wnt-1、GSK-3 β 的染色结果进行判读。染色阳性的细胞所占百分比<5%、5%~25%、26%~50%、51%~75%、>75%,分别计分 0、1、2、3、4 分。细胞着色的强度标记-、+、++、+++、分别计分 0、1、2、3 分。将染色阳性的细胞百分比分数和细胞着色强度的分数相乘,<6 分作为低表达组, ≥ 6 分作为高表达组。

1.4 观察指标 分析宫颈鳞状细胞癌组织中 DEK、Wnt-1、GSK-3 β 表达与常用临床病理参数的关系,并进一步分析 DEK 与 Wnt-1、GSK-3 β 的关系。

1.5 统计学方法 采用统计分析软件 SPSS 20.0 对数据进行处理。计量资料以中位数表述,计数资料以(n)表示,采用 χ^2 检验;使用 Pearson 相关性分析 DEK 与 Wnt-1、GSK-3 β 的关系,以 $P<0.05$ 说明差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DEK、Wnt-1、GSK-3 β 在宫颈鳞状细胞癌组织中的表达及与临床病理参数的关系 与正常宫颈鳞状上皮组织比较,DEK、Wnt1 在宫颈鳞状细胞癌组织中高表达,GSK-3 β 低表达;DEK、Wnt-1 高表达及 GSK-3 β 低表达与肿瘤的低分化、淋巴结转移、高 TNM 分期有关($P<0.05$),而与患者年龄、肿瘤大小无关($P>0.05$),见表 1。

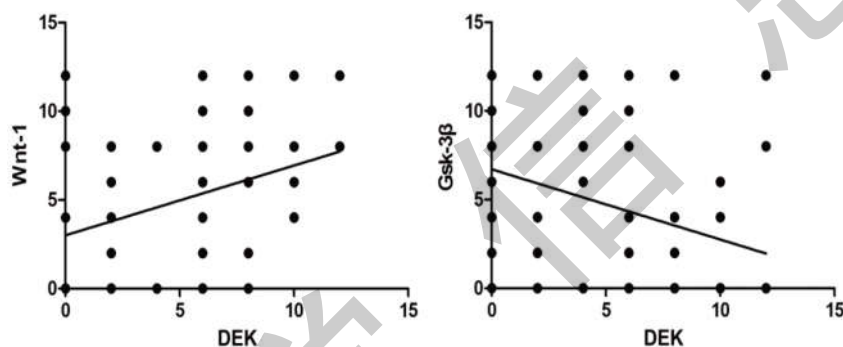
2.2 DEK 与 Wnt-1、GSK-3 β 的相关性分析 DEK 表达与 Wnt-1 表达呈正相关($r=0.304$, $P=0.001$);DEK 表达与 GSK-3 β 表达呈负相关($r=-0.289$, $P=0.002$),见图 1。

表 1 DEK、Wnt-1、GSK-3 β 在宫颈鳞状细胞癌组织中的表达及与临床病理参数的关系(n)

临床参数	n	DEK 高表达 ($n=52$)	χ^2	P	Wnt-1 高表达 ($n=49$)	χ^2	P	GSK-3 β 低表达 ($n=54$)	χ^2	P
组织			10.683	0.001	10	11.019	0.001		10.574	0.001
正常宫颈组织	50	12			49			13		
宫颈鳞状细胞癌组织	100	52						54		
淋巴结转移			7.390	0.007	23	5.778	0.016		5.715	0.017
无	59	24			26			26		
有	41	28						28		

表 1(续)

临床参数	<i>n</i>	DEK 高表达 (<i>n</i> =52)	χ^2	<i>P</i>	Wnt-1 高表达 (<i>n</i> =49)	χ^2	<i>P</i>	GSK-3 β 低表达 (<i>n</i> =54)	χ^2	<i>P</i>
TNM 分期			5.478	0.019	23	4.990	0.025		5.402	0.020
I	64	28			26			29		
II、III	36	24						25		
分化程度			7.015	0.008	9	7.168	0.007		4.229	0.040
高分化	31	10			40			12		
中低分化	69	42						42		
肿瘤大小(cm)			1.390	0.238	8	1.802	0.179		1.946	0.163
>4	22	9			41			9		
≤ 4	78	43						45		
年龄(岁)			0.188	0.664	25	0.975	0.323		0.114	0.735
≥ 50	46	25			24			24		
<50	54	27						30		

图 1 DEK 与 Wnt-1、GSK-3 β 的相关性

3 讨论

宫颈鳞状细胞癌是女性常见的恶性肿瘤,宫颈鳞状细胞癌是其主要类型。近年来,我国宫颈鳞状细胞癌发病呈上升趋势。随着国家对两癌普查的开展,宫颈鳞状细胞癌的早期诊断和早期治疗有了很大的改善,但仍有一部分患者在发现时就处于中晚期^[2,3]。因此,寻找新的治疗靶标是宫颈鳞状细胞癌治疗中的重要环节。

本研究首先分析了 DEK 蛋白在宫颈鳞状细胞癌组织及正常宫颈鳞状上皮的表达差异,结果表明 DEK 在宫颈鳞状细胞癌组织中高于正常宫颈鳞状上皮,并且 DEK 在宫颈鳞状细胞癌的表达与淋巴结转移、TNM 分期及分化程度有关,说明 DEK 参与了宫颈鳞状细胞癌的发生发展。以往报道指出^[9-12], DEK 在非小细胞肺癌、乳腺癌、胃癌中出现高表达,并且与肿瘤的高侵袭性行为相关,促进癌细胞的增殖、及侵袭、转移。本研究结果与前述报道一致,说明 DEK 会影响癌细胞的侵袭、转移,参与宫颈鳞状

细胞癌的发生发展。

Wnt-1 糖蛋白是 Wnt/ β -连环蛋白途径的分泌配体。它与细胞的跨膜卷曲(FZD)受体结合,激活 Wnt/ β -连环蛋白途径,导致 β -连环蛋白的细胞质积聚和核易位^[13,14]。Wnt/ β -连环蛋白途径的激活通过 GSK3 β /APC/Axin 破坏复合物阻止该途径的主要因素 β -连环蛋白的磷酸化和降解,并增加胞浆和核 β -连环蛋白的积累。积累在细胞核中的 β -连环蛋白与 T 细胞因子/淋巴增强因子(TCF/LEF)转录因子形成复合物,从而激活一系列调节基本细胞功能的基因,包括增殖、凋亡、分化和迁移^[13,14]。有研究指出^[15-17],Wnt-1 在乳腺癌、卵巢癌中表达异常,影响癌症的进展。另有研究发现^[18-20],Wnt-1 在前列腺癌、乳腺癌、结直肠癌中异常增多。本研究结果发现,Wnt-1 在宫颈鳞状细胞癌组织中高于正常宫颈鳞状上皮,并且 Wnt-1 在宫颈鳞状细胞癌的表达与淋巴结转移、TNM 分期及分化程度有关,说明 Wnt-1 具有促进癌细胞的增殖、侵袭能力。

GSK3 β /APC/AxinMMPs 是 Wnt/ β -连环蛋白途径激活的重要复合物^[16]。并且研究指出^[21-24],GSK3 β 的异常表达与胃癌、肝细胞癌、卵巢癌的发展有关。本研究结果发现,GSK3 β 在宫颈鳞状细胞癌组织中低于正常宫颈鳞状上皮,并且 GSK3 β 在宫颈鳞状细胞癌的表达与淋巴结转移、TNM 分期及分化程度有关,说明 GSK3 β 的异常影响了 Wnt-1 信号通路的活性,调节细胞的增殖、侵袭能力,参与了宫颈鳞状细胞癌的发生发展。

本研究进一步分析了 DEK 与 Wnt-1、GSK3 β 的关系,结果表明 DEK 表达与 Wnt-1 表达呈正相关,与 GSK3 β 表达呈负相关,说明 DEK 对宫颈鳞状细胞癌的影响与 Wnt-1、GSK3 β 有关。DEK 与 Wnt-1 的作用是协同的,与 GSK3 β 的作用是相反的。但是它们三者的具体关系及作用机制还需进一步去探讨。

综上所述,DEK 与 Wnt-1 在宫颈鳞状细胞癌组织中的表达升高,而 GSK3 β 表达降低,且 DEK 与 Wnt-1、GSK3 β 密切相关。DEK 对宫颈鳞状细胞癌的影响与 Wnt 通路有一定的关联,这为以后研究宫颈鳞状细胞癌的发病机制、指导治疗等提供研究方向。

参考文献:

- [1]Siegel RL,Miller KD,Fuchs HE,et al.Cancer Statistics,2021[J].CA Cancer J Clin,2021,71(1):7-33.
- [2]张仲华,刘晨瑛,任会叶,等.2003-2018 年间中国女性宫颈癌发病与死亡趋势研究[J].中华疾病控制杂志,2022,26(1):14-20.
- [3]Sundström K,Elfström KM.Advances in cervical cancer prevention:Efficacy, effectiveness, elimination? [J].PLoS Med,2020,17(1):e1003035.
- [4]童威,谢冬根,乐俊,等.DEK 激活 NF- κ B 信号通路抑制神经胶质瘤细胞凋亡[J].中国免疫学杂志,2019,35(12):1476-1481.
- [5]Chen Z,Huo D,Li L,et al.Nuclear DEK preserves hematopoietic stem cells potential via NCoR1/HDAC3-Akt1/2-mTOR axis[J].J Exp Med,2021,218(5):e20201974.
- [6]Zong W,Zhao B,Xi Y,et al.DEK domain-containing proteins control flowering time in Arabidopsis [J].New Phytol,2021,231(1):182-192.
- [7]Greene AN,Parks LG,Solomon MB,et al.Loss of DEK Expression Induces Alzheimer's Disease Phenotypes in Differentiated SH-SY5Y Cells[J].Front Mol Neurosci,2020,13:594319.
- [8]Cao J,Su J,An M,et al.Novel DEK-Targeting Aptamer Delivered by a Hydrogel Microneedle Attenuates Collagen-Induced Arthritis[J].Mol Pharm,2021,18(1):305-316.
- [9]Cai Y,Hao Y,Xu H,et al.Gigantol inhibits cell proliferation and induces apoptosis by regulating DEK in non-small cell lung

cancer[J].Exp Ther Med,2021,22(5):1317.

- [10]Lee KF,Tsai MM,Tsai CY,et al.DEK Is a Potential Biomarker Associated with Malignant Phenotype in Gastric Cancer Tissues and Plasma[J].Int J Mol Sci,2019,20(22):5689.
- [11]Pease NA,Shephard MS,Sertorio M,et al.DEK Expression in Breast Cancer Cells Leads to the Alternative Activation of Tumor Associated Macrophages[J].Cancers (Basel),2020,12(7):1936.
- [12]Hacker KE,Bolland DE,Tan L,et al.The DEK Oncoprotein Functions in Ovarian Cancer Growth and Survival[J].Neoplasia,2018,20(12):1209-1218.
- [13]高森,刘莉,关阿娜,等.MicroRNA-137 通过 Wnt 信号通路对宫颈癌细胞增殖、凋亡及裸鼠移植瘤的作用研究[J].中国现代医学杂志,2022,32(21):1-7.
- [14]王昊天,段晶晶,陈幸运,等.EHF 通过抑制 Wnt/ β -catenin 通路活性下调胰腺癌细胞的干性 [J]. 中国肿瘤临床,2022,49(23):1242-1248.
- [15]Yin GW,Xia XX,Song FJ,et al.Expression of Wnt-1 and TSLC1 in condyloma acuminatum [J].Clin Exp Dermatol,2019,44(6):620-624.
- [16]Gustin SE,Hogg K,Stringer JM,et al.WNT/ β -catenin and p27/FOXL2 differentially regulate supporting cell proliferation in the developing ovary[J].Dev Biol,2016,412(2):250-260.
- [17]李杉,尤琪,武金玉,等.Wnt-1、Wnt-5a、Wnt-7a 和卵巢癌的关系[J].中国临床研究,2019,32(2):158-161.
- [18]蒋岑,马洪,胡赞,等.S100A8/A9 通过 Wnt/ β -catenin 促进口腔鳞癌的侵袭迁移 [J]. 安徽医科大学学报,2022,57(12):1971-1978.
- [19]Krishnamurthy N,Kurzrock R.Targeting the Wnt/beta-catenin pathway in cancer: Update on effectors and inhibitors[J].Cancer Treat Rev,2018,62:50-60.
- [20]孙光蕊,杨阳,郑竞雄,等.Survivin 通过 Wnt/ β -catenin 信号通路调控食管癌的侵袭和迁移的机制研究 [J]. 河北医学,2022,28(10):1620-1625.
- [21]Fang G,Zhang P,Liu J,et al.Inhibition of GSK-3 β activity suppresses HCC malignant phenotype by inhibiting glycolysis via activating AMPK/mTOR signaling[J].Cancer Lett,2019,463:11-26.
- [22]Kim S,Cheon H,Kim SM,et al.GSK-3 β -mediated regulation of cadmium-induced cell death and survival [J].Cell Mol Biol Lett,2018,23:9.
- [23]Amici M,Lee Y,Pope RJP,et al.GSK-3 β regulates the synaptic expression of NMDA receptors via phosphorylation of phosphatidylinositol 4 kinase type II α [J].Eur J Neurosci,2021,54(8):6815-6825.
- [24]张笋雨,朱艳,Erastin 调节 GSK-3 β /NRF2 通路抑制卵巢癌细胞增殖的实验研究[J].临床肿瘤学杂志,2021,26(11):967-972.

收稿日期:2023-02-19;修回日期:2023-03-14

编辑/杜帆