

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.04.008

肿瘤防治专题

FBXL2 和 Dkk-1 在结直肠癌组织中的表达及临床意义

李晓宁, 李小龙, 宋瑞, 张惠卿

基金项目: 河北省医学科学研究课题(20191111); 保定市社发类项目(18ZF262)

作者单位: 071000 河北省保定市第一中心医院普通外科(李晓宁), 普通外一科(李小龙, 宋瑞), 普通外三科(张惠卿)

通信作者: 张惠卿, E-mail: zhang13931386542@163.com

【摘要】目的 研究结直肠癌(CRC)组织中 F-盒富含亮氨酸的重复蛋白 2(FBXL2)、Wnt 信号通路抑制剂 1(Dkk-1)的表达及临床意义。**方法** 选取 2017 年 10 月—2019 年 5 月保定市第一中心医院普通外科诊治 CRC 患者 75 例作为研究对象。应用荧光定量 PCR 及免疫组化检测 CRC 癌组织和癌旁组织中 FBXL2、Dkk-1 mRNA 及蛋白表达水平。比较不同临床病理特征 CRC 患者癌组织中 FBXL2、Dkk-1 蛋白表达差异。Kaplan-Meier 生存分析(Log-rank 检验)FBXL2、Dkk-1 蛋白表达与 CRC 患者生存预后的关系。多因素 COX 回归分析影响 CRC 患者生存预后的危险因素。**结果** CRC 癌组织中 FBXL2、Dkk-1 mRNA 表达水平低于癌旁组织($t=25.053, 34.053, P$ 均 <0.001)。CRC 癌组织中 FBXL2、Dkk-1 蛋白表达阳性率低于癌旁组织($\chi^2=58.134, 51.042, P$ 均 <0.001)。CRC 癌组织中 FBXL2 与 Dkk-1 蛋白表达呈显著正相关($r_s=0.714, P<0.001$)。TNM 分期 I ~ II 期、淋巴结转移阴性 CRC 患者癌组织中 FBXL2、Dkk-1 蛋白表达阳性率高于 TNM 分期 III 期、淋巴结转移阳性患者, 差异均有统计学意义($\chi^2/P=7.588/0.006, 5.220/0.022$)。FBXL2 阴性表达组患者 3 年累积生存率明显低于阳性表达组患者($\chi^2=5.991, P=0.014$); Dkk-1 阴性表达组患者 3 年累积生存率明显低于阳性表达组患者($\chi^2=8.058, P=0.005$)。肿瘤分期 III 期、淋巴结转移阳性、FBXL2 阴性表达、Dkk-1 阴性表达是影响 CRC 患者预后的独立危险因素[$HR(95\% CI)=1.613(1.223 \sim 2.126), 1.917(1.314 \sim 2.799), 1.837(1.229 \sim 2.745), 1.738(1.246 \sim 2.426), P$ 均 <0.001]。**结论** CRC 癌组织中 FBXL2、Dkk-1 表达降低, 两者表达与 CRC 肿瘤分期及淋巴结转移有关, 是评估 CRC 患者生存预后新的肿瘤标志物。

【关键词】 结直肠癌; F-盒富含亮氨酸的重复蛋白 2; Wnt 信号通路抑制剂 1; 临床预后**【中图分类号】** R735.3*5; R735.3*7 **【文献标识码】** A

Expression and clinical significance of FBXL2 and Dkk-1 in colorectal cancer Li Xiaoning, Li Xiaolong*, Song Rui, Zhang Huiqing. *The Second Department of Surgery, Baoding First Central Hospital, Hebei Province, Baoding 071000, China
Corresponding author: Zhang Huiqing, E-mail: zhang13931386542@163.com

Funding program: Hebei Medical Science Research Project (20191111); Baoding Social Development Projects (18ZF262)

【Abstract】 Objective To study the expression and clinical significance of F-box leucine-rich repeat protein 2 (FBXL2) and Wnt signal pathway inhibitor 1 (Dkk-1) in colorectal cancer (CRC). **Methods** From October 2017 to May 2019, 75 patients with CRC diagnosed and treated by general surgery in Baoding First Central Hospital were selected as the study subjects. The expression levels of FBXL2, Dkk-1 mRNA and protein in CRC carcinoma and adjacent tissues were detected by fluorescence quantitative PCR and immunohistochemistry. To compare the differences of FBXL2 and Dkk-1 protein expression in cancer tissues of CRC patients with different clinicopathological characteristics. Kaplan-Meier survival analysis (Log-rank test) The relationship between the expression of FBXL2 and Dkk-1 protein and the survival and prognosis of CRC patients. Multivariate COX regression analysis was used to analyze the risk factors affecting the survival and prognosis of CRC patients. **Results** The expression level of FBXL2 and Dkk-1 mRNA in CRC cancer tissue was lower than that in adjacent tissues ($t=25.053, 34.053, P<0.001$). The positive rate of FBXL2 and Dkk-1 protein expression in CRC cancer tissue is lower than that in adjacent tissues ($\chi^2=58.134, 51.042, P<0.001$). There was a significant positive correlation between FBXL2 and Dkk-1 protein expression in CRC cancer tissue ($r_s=0.714, P<0.001$). The positive rates of FBXL2 and Dkk-1 protein expression in cancer tissues of patients with stage I to stage II of TNM stage and negative lymph node metastasis were higher than those of patients with stage III of TNM stage and positive lymph node metastasis. The difference was statistically

significant ($\chi^2/P=7.588/0.006, 5.220/0.022$). The 3-year cumulative survival rate of patients with negative FBXL2 expression was significantly lower than that of patients with positive FBXL2 expression ($\chi^2=5.991, P=0.014$). The 3-year cumulative survival rate of Dkk-1 negative expression group was significantly lower than that of positive expression group ($\chi^2=8.058, P=0.005$). Tumor stage III, positive lymph node metastasis, negative expression of FBXL2 and negative expression of Dkk-1 were independent risk factors affecting the prognosis of CRC patients [$HR(95\% CI)=1.613(1.223-2.126), 1.917(1.314-2.799), 1.837(1.229-2.745), 1.738(1.246-2.426), P<0.001$]. **Conclusion** The expression of FBXL2 and Dkk-1 in CRC cancer tissue is decreased. The expression of FBXL2 and Dkk-1 is related to the tumor stage and lymph node metastasis of CRC, and is a new tumor marker to evaluate the survival and prognosis of CRC patients.

【Key words】 Colorectal cancer; F-box leucine rich repeat protein 2; Wnt signal pathway inhibitor 1; Clinical prognosis

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是常见的消化系统恶性肿瘤, 全球范围内每年新发病例达 200 万, 死亡病例达 90 万例, 严重威胁人类健康^[1]。目前临床上, CRC 的治疗以手术、放化疗及靶向治疗为主, 特别是新的免疫治疗药物的应用改善了部分患者的临床预后, 但对于晚期 CRC 患者, 临床生存获益有限^[2]。深入研究 CRC 的机制, 寻找新的 CRC 肿瘤标志物, 具有重要意义。F-盒富含亮氨酸的重复蛋白 2 (F-box and leucine rich repeat protein 2, FBXL2) 编码基因位于 3p22.3, 编码蛋白属于 F 盒蛋白家族成员, 参与构成泛素蛋白连接酶复合体, 在蛋白泛素化修饰中起重要作用^[3]。研究表明, FBXL2 在非小细胞肺癌、胃癌等恶性肿瘤中异常表达下调, 并通过激活 Wnt 信号通路, 促进肿瘤细胞的恶性增殖及转移^[4-5]。Wnt 信号通路抑制剂 1 (dickkopf 1, Dkk-1) 基因位于 10q21.1, 属于 dickkopf 蛋白家族成员, 结构上包含 2 个半胱氨酸的结构域, 参与机体正常胚胎发育、骨形成等生理过程。研究表明, Dkk-1 在前列腺癌等恶性肿瘤中异常下调, 并激活 Wnt 通路促进癌细胞系的增殖、侵袭和生长^[6-7]。本研究通过观察 CRC 癌组织中 FBXL2、Dkk-1 的表达, 探讨两者的临床意义, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2017 年 10 月—2019 年 5 月保定市第一中心医院普通外科诊治 CRC 患者 75 例作为研究对象。其中, 男 41 例, 女 34 例, 年龄 30~78 (62.5±5.6) 岁; 肿瘤位置: 结肠癌 43 例, 直肠癌 32 例; 伴有淋巴结转移 20 例; 肿瘤直径: ≤3 cm 45 例, >3 cm 30 例; 肿瘤 TNM 分期: I~II 期 52 例, III 期 23 例; 肿瘤分化: 高中分化 50 例, 低分化 25 例; 合并吸烟史 34 例, 饮酒史 41 例; 既往心脑血管疾病 7 例; CRC 家族史 2 例。本研究经医院伦理委员会审核通过 (2017-0214), 患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①经病理组织学

检查明确诊断为 CRC; ②初次诊治, 既往无放化疗等肿瘤治疗; ③临床病理和随访资料完整。(2) 排除标准: ①合并其他恶性肿瘤; ②合并感染性疾病, 自身免疫性疾病等; ③合并严重的心肺功能障碍。

1.3 检测指标与方法

1.3.1 荧光定量 PCR 检测组织中 FBXL2、Dkk-1 mRNA 表达: Trizol 法提取癌组织及癌旁组织中总 RNA, 将总 RNA 反转录为 cDNA 后, 进行荧光定量 PCR 反应。引物序列由华大公司设计合成。FBXL2 上游引物: 5'-TGGAACATCTTAGCCCTGGAT-3', 下游引物: 5'-CCACCACTCGACCCCTCTACAT-3'; Dkk-1 上游引物: 5'-TAGAGGGCTCGAGTGCTGGAAA-3', 下游引物: 5'-TCAAGGAGGAATCCCCAACAC-3'; FBXL2 和 Dkk-1 均以 GAPDH 为内参, 上游引物: 5'-ATGAGCTTGTGAGCCTCAACT-3', 下游引物: 5'-CAGCCCTGCATATCTGCAC-3'。PCR 反应条件: 95℃ 5 min, 95℃ 30 s, 60℃ 30 s, 70℃ 30 s, 共 40 个循环。反应体系: SYBR Green Master Premix 10 μl, 引物 1 μl, cDNA 1 μl 和双蒸水 8 μl。FBXL2、Dkk-1 mRNA 的相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法表示。

1.3.2 免疫组化法检测 FBXL2、Dkk-1 蛋白表达: 将癌组织和癌旁正常组织用 10% 中性甲醛固定, 常规石蜡包埋切片, 进行免疫组化染色。FBXL2、Dkk-1 兔单克隆抗体—抗稀释比均为 1:400, 购自美国 Abcam 公司。DAB 显色, 苏木素染核后梯度乙醇脱水, 中性树脂封片镜检, 镜下进行免疫组化染色评分。

以染色面积评分与染色强度评分乘积表示, 染色面积评分: <5% 为 0 分, 5%~25% 为 1 分, 26%~50% 为 2 分, 51%~75% 为 3 分, >75% 为 4 分; 染色强度评分: 淡黄色为 1 分, 黄或深黄色为 2 分, 褐色为 3 分。免疫组化染色评分结果 <2 分为阴性, ≥2 分判定为阳性。

1.3.3 随访情况: 所有研究对象自术后开始定期随访, 以门诊复查或电话方式进行随访, 术后第 1 年每 3

个月随访 1 次,术后第 2、3 年每 6 个月随访 1 次,随访内容为患者生存情况,随访截至 2022 年 6 月或患者死亡。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 22.0 软件包进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用独立样本 χ^2 检验;相关性分析采用 Spearman 秩相关分析;Kaplan-Meier 生存分析(Log-rank 检验)FBXL2、Dkk-1 蛋白表达对 CRC 患者生存预后的影响;单因素及多因素 COX 回归分析影响 CRC 患者预后的危险因素。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

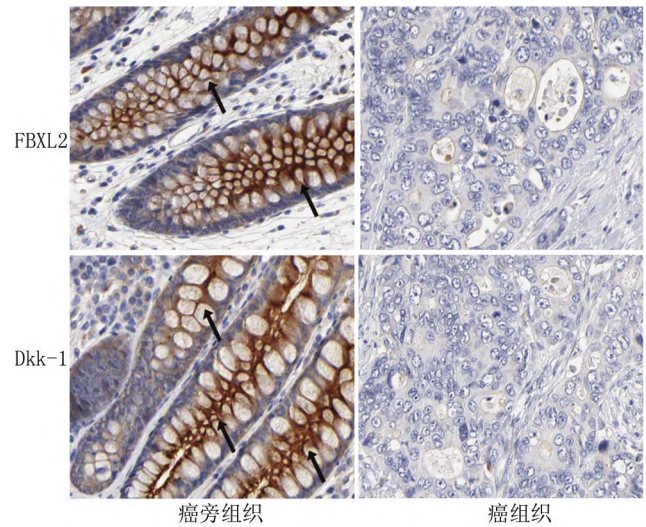
2.1 CRC 癌组织与癌旁组织中 FBXL2、Dkk-1 mRNA 及蛋白表达比较 CRC 癌组织中 FBXL2、Dkk-1 mRNA 的表达分别为(2.24 ± 0.34)、(2.59 ± 0.41),显著低于癌旁组织的(4.16 ± 0.57)、(5.48 ± 0.61),差异均具有统计学意义($t = 25.053, 34.053, P$ 均 < 0.001)。

CRC 癌旁组织中 FBXL2、Dkk-1 蛋白棕黄色阳性染色主要位于腺泡细胞的细胞浆和细胞膜。CRC 癌组织中 FBXL2、Dkk-1 蛋白表达阳性率分别为 33.33% (25/75)、36.00% (27/75),低于癌旁组织的 93.33% (70/75)、92.00% (69/75),差异均具有统计学意义($\chi^2 = 58.134, 51.042, P$ 均 < 0.001),见图 1。

2.2 CRC 癌组织中 FBXL2、Dkk-1 蛋白表达的相关性

Spearman 秩相关分析结果显示,CRC 癌组织中 FBXL2 与 Dkk-1 蛋白表达呈显著正相关($r_s = 0.714, P < 0.001$)。

2.3 CRC 癌组织中 FBXL2、Dkk-1 蛋白表达在不同临床/病理参数中比较 TNM 分期 I ~ II 期、淋巴结转移阴性 CRC 患者癌组织中 FBXL2、Dkk-1 蛋白表达阳性率高于 TNM 分期 III 期、淋巴结转移阳性患者,差异均有统计学意义($P < 0.05$),不同性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤位置、肿瘤分化患者癌组织中 FBXL2、Dkk-1 蛋白阳性率比较,差异均无明显统计学意义($P > 0.05$)。



注:箭头指示为棕黄色阳性染色,主要定位于癌旁组织中腺泡细胞的细胞浆和细胞膜。

图 1 CRC 癌组织与癌旁组织中 FBXL2、Dkk-1 蛋白表达比较(免疫组化染色, × 200)

Fig. 1 Comparison of FBXL2 and Dkk-1 protein expression in CRC cancer tissue and adjacent tissues (immunohistochemical staining, × 200)

表 1 CRC 癌组织中 FBXL2、Dkk-1 蛋白表达在不同临床/病理特征中比较 [例(%)]

Tab. 1 Comparison of FBXL2 and Dkk-1 protein expression in different clinical/pathological features in CRC cancer tissue

项目	例数	FBXL2	χ^2 值	P 值	Dkk-1	χ^2 值	P 值
性别	男	12(29.27)	0.673	0.412	14(34.15)	0.135	0.713
	女	13(38.24)			13(38.24)		
年龄	≤60 岁	15(42.86)	2.679	0.102	16(45.71)	2.688	0.101
	>60 岁	10(25.00)			11(27.50)		
肿瘤大小	≤3 cm	17(37.78)	0.563	0.453	17(37.78)	0.154	0.694
	>3 cm	8(26.67)			10(33.33)		
肿瘤位置	结肠癌	14(32.56)	0.518	0.472	13(30.23)	1.455	0.228
	直肠癌	13(40.63)			14(43.75)		
肿瘤分化	高中分化	18(36.00)	0.480	0.488	19(38.00)	0.260	0.610
	低分化	7(28.00)			8(32.00)		
肿瘤 TNM 分期	I ~ II 期	22(42.31)	6.145	0.013	24(46.15)	7.588	0.006
	III 期	3(13.04)			3(13.04)		
淋巴结转移	阳性	2(10.00)	6.682	0.010	3(15.00)	5.220	0.022
	阴性	23(41.82)			24(43.64)		

注:FBXL2. F-盒富含亮氨酸的重复蛋白 2;Dkk-1. Wnt 信号通路抑制剂 1。

2.4 CRC 癌组织中 FBXL2、Dkk-1 蛋白表达与生存预后的关系 75 例结直肠癌患者随访过程中,失访 1 例,死亡 25 例。FBXL2 阴性表达组和阳性表达组患者平均生存时间分别为(30.83 ± 3.25)月、(33.27 ± 3.17)月。Dkk-1 阴性表达组和阳性表达组患者的平均生存时间分别为(28.57 ± 3.34)月、(34.63 ± 3.29)月。Kaplan-Meier 生存曲线(Log-rank 检验)分析结果显示,FBXL2 阴性表达组患者 3 年累积生存率明显低于阳性表达组患者(Log-rank $\chi^2 = 5.991, P = 0.014$)。Dkk-1 阴性表达组患者 3 年累积生存率明显低于阳性表达组患者(Log-rank $\chi^2 = 8.058, P = 0.005$),见图 2。

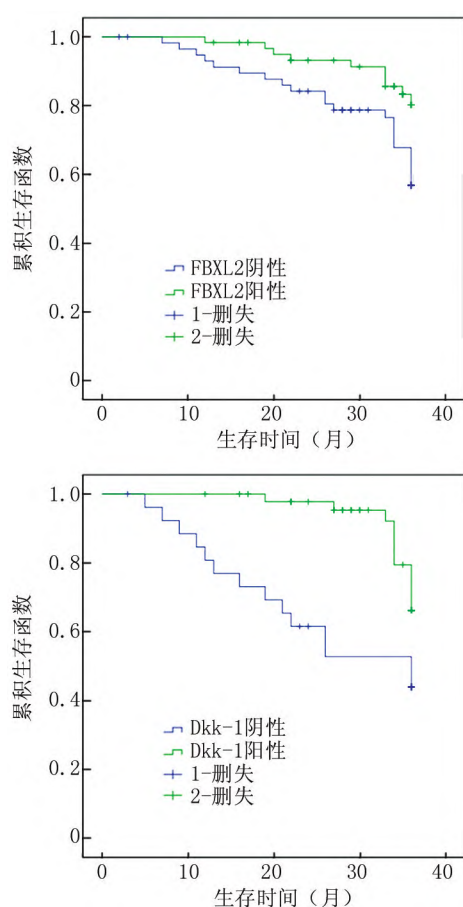


图 2 CRC 癌组织中 FBXL2、Dkk-1 蛋白表达与生存预后的关系

Fig. 2 Relationship between FBXL2, Dkk-1 protein expression and survival and prognosis in CRC cancer tissue

2.5 多因素 COX 回归分析影响 CRC 患者生存预后的因素 以 CRC 患者的生存预后为因变量(1 = 死亡, 0 = 存活, t = 生存时间),以上述结果中差异有统计学意义的指标为自变量,多因素 COX 回归分析结果显示,肿瘤 TNM 分期 III 期、淋巴结转移、FBXL2 阴性表

达、Dkk-1 阴性表达是影响 CRC 患者预后的独立危险因素($P < 0.01$),见表 2。

表 2 影响 CRC 患者预后的多因素 COX 回归分析

Tab. 2 Multifactor Cox regression analysis of prognosis of CRC patients

因素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR 值	95% CI
TNM 分期 III 期	0.478	0.141	11.493	<0.001	1.613	1.223 ~ 2.126
淋巴结转移	0.651	0.193	11.377	<0.001	1.917	1.314 ~ 2.799
FBXL2 阴性表达	0.608	0.205	8.796	<0.001	1.837	1.229 ~ 2.745
Dkk-1 阴性表达	0.553	0.170	10.581	<0.001	1.738	1.246 ~ 2.426

3 讨论

CRC 是我国常见恶性肿瘤,全国每年结直肠癌新发病例数约为 38.76 万,死亡人数约为 18.71 万,严重威胁我国人民健康^[8]。由于早期 CRC 临床症状和体征不典型,难以早期发现,一旦发生肿瘤进展转移,患者的远期生存预后显著降低^[9]。深入研究 CRC 的疾病发生发展机制,寻找能够预测患者临床预后及为临床提供潜在治疗靶点的肿瘤标志物,具有重要的临床意义。

FBXL2 蛋白属于 F 盒蛋白家族成员,具有特征性 F 盒结构域,其作为 SCFs 泛素蛋白连接酶复合体的亚单位之一,能够与富含亮氨酸的重复序列的蛋白相互作用,参与蛋白的泛素化调控。研究表明,FBXL2 在非小细胞肺癌等恶性肿瘤中表达下调,导致表皮生长因子受体的过度激活,促进肿瘤的恶性进展^[4, 10]。Pan 等^[11]在结直肠癌肿瘤细胞系 SW620 和 HCT116 中发现 FBXL2 表达下调,这与本研究中 CRC 癌组织 FBXL2 表达下调结果一致,但本研究在组织水平进一步证实 CRC 中 FBXL2 表达下调,表明 FBXL2 的表达下调可能参与 CRC 的肿瘤发生。FBXL2 表达下调的原因可能与蛋白翻译后修饰异常有关。Ueda 等^[12]研究表明,胃癌中 FBXL2 蛋白存在 O-连接-N-乙酰葡萄糖胺糖基化修饰位点,修饰后 FBXL2 蛋白稳定性降低,导致下游转录因子插头框 M1 的表达升高,促进肿瘤增殖。本研究中,CRC 中 FBXL2 表达与肿瘤分期及淋巴结转移有关,提示 FBXL2 的表达降低参与促进 CRC 的肿瘤进展。其原因与 FBXL2 的表达降低促进 CRC 肿瘤的增殖和侵袭转移能力有关。有学者发现,CRC 肿瘤细胞中 FBXL2 的表达下调导致细胞核中 β -连环蛋白表达水平显著上调, β -连环蛋白可激活下游细胞周期素 D1 和 N-钙黏素等的表达,细胞周期素 D1 能够促进 G1 期向 S 期转换,促进肿瘤细胞过度增殖,而 N-钙黏素的表达能增强肿瘤细胞的侵袭和淋巴转移能

力,共同促进 CRC 的肿瘤进展^[11,13]。因此,CRC 中 FBXL2 的表达降低促进肿瘤的发生发展,可能是新的预后相关肿瘤标志物。本研究通过生存分析证实,CRC 癌组织中 FBXL2 阴性表达患者生存预后较差,是影响 CRC 患者不良预后的独立因素,表明检测 FBXL2 表达有助于评估 CRC 患者的生存预后。分析其原因,一方面是 FBXL2 表达较低的 CRC 患者肿瘤恶性程度高,术后肿瘤复发转移风险较大。另一方面是 FBXL2 表达较低的 CRC 肿瘤细胞对化疗等术后辅助治疗的敏感性较差。Chen 等^[14]报道,FBXL2 的表达下调导致雄激素受体经泛素蛋白酶体途径降解减少,雄激素受体的激活能够增强肿瘤细胞对化疗药物替莫唑胺的耐药性,导致患者不良预后。因此,FBXL2 作为一种肿瘤抑制因子,其表达降低导致 CRC 患者肿瘤进展及不良预后。

Dkk-1 属于 Dickkopf 家族成员,结构上富含半胱氨酸蛋白,是一种可溶性 Wnt 信号传导抑制分子。近年来发现,Dkk-1 在肺癌、前列腺癌等恶性肿瘤中表达下调,导致 Wnt 通路的过度激活,增强肿瘤的侵袭和转移能力,促进肿瘤进展^[7,15]。本研究中,CRC 癌组织中 Dkk-1 表达下调,与 Dahlmann 等^[16]利用人类肿瘤基因组图谱数据库中 CRC 数据集分析结果一致,提示 Dkk-1 的表达下调可能参与 CRC 的肿瘤发生。CRC 中 Dkk-1 表达下调与表观遗传学调控异常有关。Kim 等^[17]研究表明,肿瘤中多梳蛋白染色体盒同源物 7 表达升高,其通过与 p300 乙酰基转移酶协同作用增强 Dkk-1 启动子组蛋白乙酰化修饰,抑制 Dkk-1 的表达,激活 Wnt 信号通路,促进肿瘤增殖及转移。此外,本研究 CRC 中 Dkk-1 的表达与肿瘤 TNM 分期及淋巴结转移有关,提示 Dkk-1 表达下调参与促进 CRC 的肿瘤进展。分析其机制,一方面是 Dkk-1 表达下调通过激活 Wnt/ β -连环蛋白通路,促进 CRC 肿瘤细胞的上皮间质转化,增强肿瘤细胞的侵袭和转移能力,促进肿瘤的淋巴结转移^[18]。另一方面,Dkk-1 作为一种分泌型蛋白,其表达下调能够抑制肿瘤微环境中效应 T 细胞的肿瘤杀伤功能,促进肿瘤细胞免疫逃逸,导致肿瘤的恶性进展^[19]。因此,推测 CRC 中 Dkk-1 表达降低可能有助于评估患者的临床预后。本研究证实,Dkk-1 阴性表达的患者生存预后较差,是影响 CRC 患者生存预后的独立危险因素,表明检测 CRC 癌组织中 Dkk-1 的表达有助于评估 CRC 患者的生存预后。其原因与 Dkk-1 的表达降低可增加 CRC 化疗耐药性有关。有研究表明,Dkk-1 的表达降低通过促进肿瘤干细胞标志物醛脱氢酶 1A1 的表达,增加结直肠癌化疗耐药

性,是预测 CRC 患者化疗敏感性的重要生物标志物。因此,CRC 中 Dkk-1 作为一种肿瘤抑制因子,其表达下调参与促进 CRC 的肿瘤进展,导致 CRC 患者不良预后。

本研究中,CRC 癌组织中 FBXL2 与 Dkk-1 表达呈显著正相关。其原因可能是两者均参与调节 Wnt/ β -连环蛋白通路的调节。研究发现,FBXL2 通过泛素化导致 Smad 泛素化调节因子 1 降解,抑制 Wnt/ β -连环蛋白信号通路^[20],而 Dkk-1 也是该通路的主要抑制因子。因此,CRC 中 FBXL2、Dkk-1 表达下调可通过协同激活 Wnt/ β -连环蛋白信号通路,促进 CRC 肿瘤进展。但目前 FBXL2 与 Dkk-1 在 CRC 中的具体作用机制有待深入探索。

综上所述,CRC 中 FBXL2、Dkk-1 表达降低,两者表达与肿瘤 TNM 分期和淋巴结转移相关,共同促进 CRC 肿瘤的发生发展。CRC 中 FBXL2、Dkk-1 阴性表达的 CRC 患者生存预后较差,是影响 CRC 患者不良预后的独立危险因素,亦是评估 CRC 预后新的肿瘤标志物。但本研究也存在一定的不足之处,样本量有限,未能对不同临床特征的 CRC 患者进行分层分析,有待今后扩大样本量深入研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

李晓宁:提出研究方向、研究思路,设计研究方案、研究流程,实施研究过程,数据收集、分析整理,设计论文框架,论文撰写;李小龙:提出研究思路,分析试验数据、资料收集整理;宋瑞:资料收集整理、分析试验数据、修改论文;张惠卿:设计论文框架、论文终审

参考文献

- [1] Baidoun F, Elshiwiy K, Elkeraia Y, et al. Colorectal cancer epidemiology: Recent trends and impact on outcomes [J]. *Curr Drug Targets*, 2021, 22(9):998-1009. DOI: 10.2174/1389450121999201117115717.
- [2] 张忠涛,杨盈赤. 结直肠癌外科临床研究进展及展望 [J]. *中国实用外科杂志*, 2020, 40(1): 65-69. DOI: 10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2020.01.12. Zhang ZT, Yang YC. Clinical research progress and prospect of colorectal cancer surgery [J]. *Chinese Journal of Practical Surgery*, 2020, 40(1): 65-69. DOI: 10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2020.01.12.
- [3] Ren J, Sun M, Zhou H, et al. FUNDC1 interacts with FBXL2 to govern mitochondrial integrity and cardiac function through an IP3R3-dependent manner in obesity [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(38): 1457-1468. DOI: 10.1126/sciadv.abc8561.
- [4] Niu M, Xu J, Liu Y, et al. FBXL2 counteracts Grp94 to destabilize EGFR and inhibit EGFR-driven NSCLC growth [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5919-5928. DOI: 10.1038/s41467-021-26222-x.
- [5] Li Q, Tang H, Hu F, et al. Circular RNA SMARCA5 inhibits gastric cancer progression through targeting the miR-346/FBXL2 axis [J]. *RSC Adv*, 2019, 9(32): 18277-18284. DOI: 10.1039/c9ra02230a.

- [6] Sadeghi S, Poorebrahim M, Rahimi H, et al. In silico studying of the whole protein structure and dynamics of Dickkopf family members showed that N-terminal domain of Dickkopf 2 in contrary to other Dickkopfs facilitates its interaction with low density lipoprotein receptor related protein 5/6 [J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2019, 37 (10): 2564-2580. DOI: 10. 1080/07391102. 2018. 1491891.
- [7] Supsavhad W, Hassan BB, Simmons JK, et al. Effect of Dickkopf-1 (Dkk-1) and SP600125, a JNK inhibitor, on Wnt signaling in canine prostate cancer growth and bone metastases[J]. *Vet Sci*, 2021, 8(8):459-467. DOI:10. 3390/vetsci8080153.
- [8] 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. DOI: 10. 19401/j. cnki. 1007-3639. 2020. 04. 001.
- [9] 姜志超, 孙永琨, 张雯, 等. 瑞戈非尼治疗晚期结肠癌患者真实世界数据分析 [J]. *中华医学杂志*, 2020, 100 (26): 2018-2022. DOI:10. 3760/cma. j. cn112137-20200424-01304.
- Jiang ZC, Sun YK, Zhang W, et al. Real world data analysis of patients with advanced colorectal cancer treated with regafinil [J]. *Chinese Medical Journal*, 2020, 100 (26): 2018-2022. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112137-20200424-01304.
- [10] Kuchay S, Giorgi C, Simoneschi D, et al. PTEN counteracts FBXL2 to promote IP3R3- and Ca²⁺-mediated apoptosis limiting tumour growth [J]. *Nature*, 2017, 546 (7659): 554-558. DOI: 10. 1038/nature22965.
- [11] Pan S, Wu W, Ren F, et al. MiR-346-5p promotes colorectal cancer cell proliferation in vitro and in vivo by targeting FBXL2 and activating the β -catenin signaling pathway [J]. *Life Sci*, 2020, 244 (5): 1173-1180. DOI:10. 1016/j. lfs. 2020. 117300.
- [12] Ueda Y, Moriwaki K, Takeuchi T, et al. O-GlcNAcylation-mediated degradation of FBXL2 stabilizes FOXM1 to induce cancer progression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 521 (3): 632-638. DOI: 10. 1016/j. bbrc. 2019. 10. 164.
- [13] Mason B, Laman H. The FBXL family of F-box proteins: variations on a theme [J]. *Open Biol*, 2020, 10 (11): 2003-2019. DOI:10. 1098/rsob. 200319.
- [14] Chen TC, Chuang JY, Ko CY, et al. AR ubiquitination induced by the curcumin analog suppresses growth of temozolomide-resistant glioblastoma through disrupting GPX4-Mediated redox homeostasis [J]. *Redox Biol*, 2020, 30 (5): 1014-1023. DOI:10. 1016/j. redox. 2019. 101413.
- [15] Gan DX, Wang YB, He MY, et al. Lung cancer cells-controlled Dkk-1 production in brain metastatic cascade drive microglia to acquire a pro-tumorigenic phenotype [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8 (2): 5914-5925. DOI:10. 3389/fcell. 2020. 591405.
- [16] Dahlmann M, Monks A, Harris ED, et al. Combination of Wnt/ β -catenin targets S100A4 and DKK1 improves prognosis of human colorectal cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 14 (1): 37. DOI: 10. 3390/cancers14010037.
- [17] Kim HY, Park JH, Won HY, et al. CBX7 inhibits breast tumorigenicity through DKK-1-mediated suppression of the Wnt/ β -catenin pathway [J]. *FASEB J*, 2015, 29 (1): 300-313. DOI: 10. 1096/fj. 14-253997.
- [18] Wang W, He Y, Rui J, et al. miR-410 acts as an oncogene in colorectal cancer cells by targeting dickkopf-related protein 1 via the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Oncol Lett*, 2019, 17 (1): 807-814. DOI:10. 3892/ol. 2018. 9710.
- [19] Guo S, Xiao P, Li B, et al. Co-immunizing with PD-L1 induces CD8⁺ DCs-mediated anti-tumor immunity in multiple myeloma [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 84 (7): 1065-1076. DOI: 10. 1016/j. intimp. 2020. 106516.
- [20] Liu Y, Yue M, Li Z. FOSL1 promotes tumorigenesis in colorectal carcinoma by mediating the FBXL2/Wnt/ β -catenin axis via Smurf1 [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 165 (90): 1054-1065. DOI: 10. 1016/j. phrs. 2020. 105405.

(收稿日期:2022-11-02)

(上接 376 页)

- [4] Aydin AM, Haberal B, Artykov M, et al. Clinicopathological predictors of positive 68Ga-PSMA-11 PET/CT in PSA-only recurrence of localized prostate cancer following definitive therapy [J]. *Ann Nucl Med*, 2019, 33 (5): 326-332. DOI:10. 1007/s12149-019-01340-1.
- [5] Yan P, Wang Y, Meng X, et al. Whole exome sequencing of ulcerative colitis-associated colorectal cancer based on novel somatic mutations identified in Chinese patients [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2019, 25 (8): 1293-1301. DOI:10. 1093/ibd/izz020.
- [6] Xiong W, Deng Z, Tang Y, et al. Downregulation of KMT2D suppresses proliferation and induces apoptosis of gastric cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 504 (1): 129-136. DOI: 10. 1016/j. bbrc. 2018. 08. 143.
- [7] 那彦群, 叶章群, 孙颖浩, 等. 中国泌尿外科疾病诊断治疗指南 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 62-65.
- [8] 冯小兰, 黄喜健. 前列腺癌组织前列腺特异性抗原、雌激素受体、嗜铬粒蛋白 A 表达与 Gleason 分级的相关性 [J]. *现代医学与健康研究电子杂志*, 2022, 6 (8): 98-102.
- [9] 陈宏达, 郑荣寿, 王乐, 等. 2019 年中国肿瘤流行病学研究进展 [J]. *中华疾病控制杂志*, 2020, 24 (4): 373-379. DOI: 10. 16462/j. cnki. zhjbkz. 2020. 04. 001.
- [10] 刘云, 甘为, 张正龙, 等. miR-182 在前列腺癌组织中的表达及其对前列腺癌细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18 (9): 1674-1678. DOI: 10. 13241/j. cnki. pmb. 2018. 09. 015.
- [11] Lv S, Wen H, Shan X, et al. Loss of KMT2D induces prostate cancer ROS-mediated DNA damage by suppressing the enhancer activity and DNA binding of antioxidant transcription factor FOXO3 [J]. *Epigenetics*, 2019, 14 (12): 1194-1208. DOI: 10. 1080/15592294. 2019. 1634985.
- [12] 吕世栋. 组蛋白甲基化转移酶 KMT2D 缺失介导前列腺癌氧化 DNA 损伤的作用和机制研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2020.
- [13] Kim TW, Lee YS, Yun NH, et al. MicroRNA-17-5p regulates EMT by targeting vimentin in colorectal cancer [J]. *Br J Cancer*, 2020, 123 (7): 1123-1130. DOI:10. 1038/s41416-020-0940-5.
- [14] Cosma G, Acampora G, Brown D, et al. Prediction of pathological stage in patients with prostate cancer: A neuro-fuzzy model [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (6): e0155856. DOI: 10. 1371/journal.pone. 0155856.

(收稿日期:2022-12-15)