

- [22] 王晓李,马小来,张红侠,等. 酶法提取山楂叶中总黄酮的研究[J]. 食品工业科技,2002,(3):37-39.
- [23] 贾彬,麦子盈,陈启文,等. 山楂药用价值与上市药品研究进展[J]. 中草药,2023,54(20):6878-6888.
- [24] 刁婷婷,张雨晨,吕伟,等. 山楂叶总黄酮对胶质瘤U87细胞的抑制作用[J]. 中国药理学通报,2019,35(10):1448-1452.
- [25] 戴宏健,吕增鹏,黄振吾,等. 山楂叶黄酮对产蛋后期种鸡蛋壳品质的影响[J]. 畜牧兽医学报,2021,52(4):1010-1019.
- [26] 李杰,田思雨,谭怡然,等. 山楂叶多糖提取工艺优化及体外抗氧化和抑菌活性研究[J]. 食品工业,2023,44(4):91-95.
- [27] 张祺嘉钰,赵佩媛,孙静,等. 山楂的化学成分及药理作用研究进展[J]. 西北药学杂志,2021,36(3):521-523.
- [28] Turkmen D, Dursun A, Caliskan O, et al. Volatile Compounds, Phenolic Content, and Antioxidant Capacity in Sultan Hawthorn (*Crataegus azarolus* L.) Leaves[J]. J Agr Sci Tech-Iran, 2023, 25(5): 1089-1099.
- [29] 宋小锋,原增艳,申笑菡,等. 山楂叶总黄酮富集工艺的优化及其清除自由基能力的检测[J]. 中国生物制品学杂志,2020,33(2):184-188.
- [30] 张佳淼,李丹丹,李杰,等. 山楂叶总黄酮提取工艺优化及抗氧化性研究[J]. 食品工业,2023,44(11):82-87.
- [31] Rezaei-Golmisheh A, Malekinejad H, Asri-Rezaei S, et al. Hawthorn ethanolic extracts with triterpenoids and flavonoids exert hepatoprotective effects and suppress the hypercholesterolemia-induced oxidative stress in rats[J]. Iran J Basic Med Sci, 2015, 18(7): 691-699.
- [32] Qin C, Xia T, Li G, et al. Hawthorne leaf flavonoids prevent oxidative stress injury of renal tissues in rats with diabetic kidney disease by regulating the p38 MAPK signaling pathway[J]. Int j Clin Exp Pathol, 2019, 12(9): 3440-3446.
- [33] Li R, Luan F, Zhao Y, et al. Crataegus pinnatifida: A botanical, ethnopharmacological, phytochemical, and pharmacological overview[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 301: 115819.
- [34] Liu S, Wang MY, Xing YB, et al. Anti-oxidation and anti-fatigue effects of the total flavonoids of *Sedum aizoon* L[J]. J Agric Food Res, 2023, 12: 100560.
- [35] Guo W, Shao T, Peng Y, et al. Chemical composition, biological activities, and quality standards of hawthorn leaves used in traditional Chinese medicine:a comprehensive review[J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1275244.
- [36] 高静云,段丽颖,赵胜男,等. 基于HPLC指纹图谱评价不同产地山楂叶质量[J]. 湖北民族大学学报(医学版),2023,40(3): 62-67,72.
- [37] Wang ZY, Xiong H, Duan LY, et al. UPLC-Q-TOF-MS based metabolomics study of hawthorn leaves in different geographical regions[J]. Anal Methods, 2021, 13(45): 5458-5466.
- [38] 高静云,李艳荣,赵胜男,等. 山楂叶配方颗粒与标准汤剂药效等效性研究[J]. 承德医学院学报,2023,40(3):216-220.

(收稿日期:2024-01-27)

结直肠癌中BAIAP2L2的表达研究

王锦玉¹,贾依晗¹,邢思鸿²,刘素英¹,王 卯³,张 芳⁴,陈 健^{1*}

(1.承德医学院附属医院消化内科,河北承德 067000;2.承德医学院附属医院中心实验室;

3.承德医学院附属医院影像科;4.承德医学院附属医院康复科)

摘要: **目的** 观察结直肠癌(CRC)组织中BAIAP2L2蛋白的表达情况,并探讨其表达情况与临床病理资料的关系。**方法** 选取CRC患者31例、结直肠息肉(CP)患者33例,手术中留取切除的肿瘤组织分别记为CRC组、CP组,留取CRC患者的癌旁组织(距癌组织>5cm的正常黏膜组织)记为Control组。采用免疫组织化学染色法检测各组组织中BAIAP2L2蛋白,采用半定量评分法观察蛋白表达情况,包括阳性表达率、阳性强度,并分析BAIAP2L2蛋白表达与CRC患者临床相关参数的关系。**结果** BAIAP2L2蛋白在癌旁组织以及息肉组织中呈现不染色或染色颜色较浅、阳性面积小的染色结果,而在CRC组织中染色较深,多数呈黄色或棕黄色颗粒沉积,提示其在CRC组织表达较高。CRC组、CP组、Control组BAIAP2L2蛋白阳性表达率分别为96.8%(30/31)、24.2%

*通讯作者

(8/33)、3.2%(1/31),3组间阳性表达率存在显著差异($P<0.001$)。3组之间两两比较,BAIAP2L2蛋白阳性强度在CRC组与CP组、CRC组与Control组呈现差异表达(均 $P<0.001$),但CP组与Control组差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 CRC组织中BAIAP2L2蛋白呈现高表达,且阳性强度与CP组织及癌旁组织存在显著差异。

关键词: 结直肠癌;BAIAP2L2;结直肠息肉;癌旁组织;免疫组织化学染色法

中图分类号: R735.3

文献标志码: A

文章编号: 1004-6879(2024)06-0457-06

Expression of BAIAP2L2 in Colorectal Cancer

WANG Jin-yu¹, JIA Yi-han¹, XING En-hong², WANG Mao³, ZHANG Fang⁴, CHEN Jian^{1*}

(1.Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Chengde, Hebei, 067000, China;

2.Central Laboratory, Affiliated Hospital of Chengde Medical University; 3. Radiographic Imaging Department, Affiliated Hospital of Chengde Medical University; 4.Rehabilitation Department, Affiliated Hospital of Chengde Medical University)

Abstract: **Objective** To observe the expression changes of BAIAP2L2 protein in colorectal cancer(CRC)tissues, and the relationship between its expression and clinicopathological data was discussed. **Methods** Thirty-one patients with CRC and 33 patients with colorectal polyps were selected. The tumor tissues removed during the operation were recorded as CRC group and CP group, and the normal adjacent mucosal tissues (the normal tissue >5cm away from the cancer tissue) of colorectal cancer patients were recorded as the Control group. Immunohistochemical staining was used to detect BAIAP2L2 protein in the tissues of each group, and semi-quantitative scoring was used to observe the protein expression, including the positive expression rate, area of positive expression and the degree of positivity, and to analyze the relationship between the expression of BAIAP2L2 protein and the clinically relevant parameters of CRC patients. **Results** BAIAP2L2 protein showed no staining or lighter staining color and small positive area in paracarcinoma tissues as well as polyp tissues, whereas in colorectal cancer tissues the staining was darker, and most of them showed yellow or brownish-yellow granule deposition, suggesting that its expression was higher in CRC tissues. The positive expression rates of BAIAP2L2 proteins in the CRC group, CP group and Control group were 96.8% (30/31), 24.2% (8/33) and 3.2% (1/31), respectively, and there was a significant difference in the positive expression rates among the three groups ($P<0.001$). The positive intensity of BAIAP2L2 protein was differently expressed between CRC group and CP group, CRC group and Control group (all $P<0.001$), but there was no statistical difference between CP group and Control group ($P>0.05$). **Conclusion** The expression of BAIAP2L2 protein in CRC tissues is highly expressed, and the positive intensity is significantly different from that of colorectal polyp tissues and adjacent tissues.

Key words: Colorectal cancer; BAIAP2L2; Colorectal polyps; Adjacent mucosal tissues; Immunohistochemical staining

依据世界卫生组织估计,癌症排在约60%国家的高龄人群死因前列。全世界癌症的高发生率和死亡率高提示癌症已经成为威胁人类健康的重大疾病。其中,结直肠癌(Colorectal cancers, CRC)以10%的发病率位于世界常见恶性肿瘤的第三位,以9.4%的死亡率成为世界第二大癌症死亡原因。CRC被认为与社会经济发展相关,其发病率随人类发展指数的增加而增长。随着中国社会经济的发展, CRC在部分地区的发病率与死亡率下降,但总体

仍呈上升趋势^[1-2]。CRC目前已知三个致病性途径,其中腺瘤-癌途径是指腺瘤作为CRC的癌前病变来解释大部分CRC的经典途径^[3]。结直肠息肉(Colorectal polyp, CP)是指从肠黏膜表面突向肠腔内的隆起状病变,被普遍认为 是CRC的癌前病变,其主要通过腺瘤-癌途径缓慢发展成CRC^[4]。在该途径中, WNT/ β -catenin信号通路是公认的CRC的驱动因素,也是最具代表性的信号通路之一^[5],对其涉及的生物因子进行相关研究,可以进一步了解CRC

的发生发展途径,为临床治疗提供依据。

含有衔接蛋白的BAR/IMD结构域2样蛋白2 (BAR/IMD domain containing adaptor protein 2 like 2, BAIAP2L2) 又称Pinkbar, 位于染色体22q13.1上, 与胰岛素受体酪氨酸激酶底物(BAIAP2L1, 也称为IRTKS)、BAI1相关蛋白2(BAIAP2, 又称IRSP53)、转移抑制器1 (MIM, 又称为MTSS1) 和具有BAIAP2同源的肌动蛋白捆绑蛋白(ABBA, 即MTSS1L) 一起同属于反向Bin-AmphiPhysiPhyin-Rvs(I-BAR) 结构域家族^[6]。BAIAP2L2已被证实作为癌基因影响多种癌症的发生发展进程。有研究证明^[7], 其可以通过WNT/ β -catenin信号通路来促进胃癌的进展, 尚未有关于BAIAP2L2在CRC中通路的相关研究。本研究检测了CRC组织中BAIAP2L2蛋白的表达量, 并分析其表达情况与临床病理资料的相关性。

1 材料与方法

1.1 临床资料

选取2022年12月~2023年10月于承德医学院附属医院就诊的CRC患者31例, 其中男17例、女14例, 年龄(63.81 ± 9.33)岁, BMI(23.10 ± 3.12) kg/m^2 , 肿瘤位于结肠14例、直肠17例, 病理类型为中分化腺癌30例, 低分化腺癌1例。CRC患者均接受手术治疗, 手术过程中留取切除的肿瘤组织分别记为CRC组, 留取CRC患者的距癌组织 >5 cm癌旁组织记为Control组。另选取同期就诊的CP患者33例, 其中男24例、女9例, 年龄(57.21 ± 10.58)岁, BMI(24.88 ± 2.69) kg/m^2 , 位于结肠30例、直肠3例, 病理类型为管状腺瘤9例, 腺上皮低级别上皮内瘤变24例。每例CP患者均行内镜下息肉切除术, 术中留取切除息肉组织记作CP组。

纳入标准: (1) CRC组: ①未进行胆囊切除手术; ②术后病理确诊为肿瘤; ③术前均未接受放疗及化疗; CP组: 无家族性大肠腺瘤病、幼年性息肉病、炎症性肠病、肠结核等病史; Control组: 病理证实为无癌组织浸润的正常黏膜组织; (2) 所有受试者均知情同意, 且临床病理资料完整。排除标准: 合并其他恶性肿瘤。本研究经医院伦理委员会批准(伦理号: CYFYLL2021213)。

1.2 免疫组织化学染色

对3组留取的组织进行固定、脱水、透明、浸蜡及包埋后, 制作成蜡块, 经切片获得4 μm 切片标本。标本经脱

蜡、水化、抗原修复、过氧化氢孵育去除内源性过氧化氢酶后, 滴加5%山羊血清37 $^{\circ}\text{C}$ 封闭30 min, PBST清洗, 加入1:100的兔抗人BAIAP2L2抗体, 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱孵育过夜, 次日PBS清洗。使用二步法试剂盒(小鼠/兔增强聚合物法检测系统, 中山金桥)37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育25 min。滴加DAB显色液, 自来水冲洗后经苏木素复染、1%盐酸酒精分化、梯度乙醇脱水、二甲苯透明及中性树胶封片, 在显微镜下观察BAIAP2L2蛋白在2组组织中的染色情况, 计算阳性表达率和阳性强度。显微镜下每张切片随机选取5个高倍视野($\times 400$), 计算每个视野阳性面积所占比例。采用半定量评分法评估蛋白表达情况, 首先根据染色强度打分: 无着色记0分, 浅黄色记1分, 黄色记2分, 棕黄色记3分; 再根据阳性面积所占比例评分: 阳性面积占比 $\leq 1\%$ 为0分, 2%~25%为1分, 26%~50%为2分, 51%~75%为3分, $\geq 76\%$ 为4分; 2项评分乘积后进行阳性程度分级: 0~1分为阴性(-), 2~4分为弱阳性(+), 5~8分为中度阳性(++), 9~12分为强阳性(+++)。以上2项评分乘积 ≤ 1 为阴性表达, ≥ 2 为阳性表达。各组阳性表达率为该组阳性表达数占该组总数的比例^[21]。

1.3 统计学方法

采用SPSS 26.0统计软件进行数据分析。计量资料采用均数 $\pm$ 标准差表示, 组间比较用独立样本 t 检验; 计数资料比较用 χ^2 检验或Fisher确切概率法; 等级资料组间比较采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 通过数据库对BAIAP2L2进行表达分析

基因表达水平值的交互式分析平台(GEPIA, <http://gepia.cancer-pku.cn/>)是一个在线服务平台, 整合了TCGA和GTEx产生大量RNA测序数据^[8]。通过GEPIA进行表达分析, 本研究发现BAIAP2L2在结肠癌(COAD, $n=275$)中的表达高于正常对照($n=349$), 同样在直肠癌中(READ, $n=92$)也呈现高表达, 但在正常对照组中表达分布范围较广, 呈现偏态分布, 如图1。同时, 还用GEPIA分析了BAIAP2L2对CRC预后的影响, 结果显示BAIAP2L2高表达和低表达患者的总生存期无显著差异($P=0.16$)。基于CRC的重要致病途径为WNT/ β -catenin通路, 利用GEPIA进行分析发现, BAIAP2L2表达与 β -catenin表达呈负相关($P < 0.05$), 进而推测BAIAP2L2蛋白的表达情况可以影响

β-catenin蛋白的稳定性,从而促进CRC的病理过程,如图2。

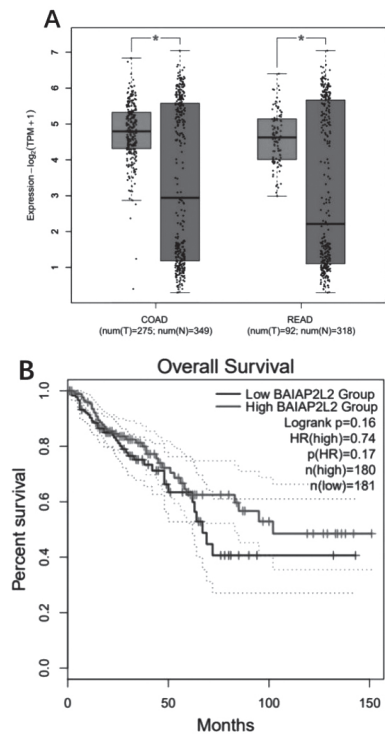


图1 GEPIA分析结果

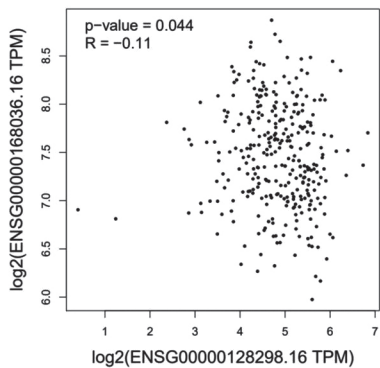


图2 通过GEPIA分析BAIAP2L2基因与β-catenin
基因表达的相关性

ENSG00000128298.16为BAIAP2L2的基因ID;
ENSG00000168036.16为β-catenin的基因ID

2.2 BAIAP2L2在人结肠肿瘤组织和细胞中高表达

本实验进一步对CRC组、CP组、Control组进行免疫组织化学染色,结果表明(图3),在癌旁组织以及息肉组织中呈现不染色或染色颜色较浅、阳性面积小的染色结果,而CRC组织中BAIAP2L2蛋白染色较深,多数呈黄色或棕黄色颗粒沉积,提示其在CRC组织中表达高于息肉组织及癌旁组织。

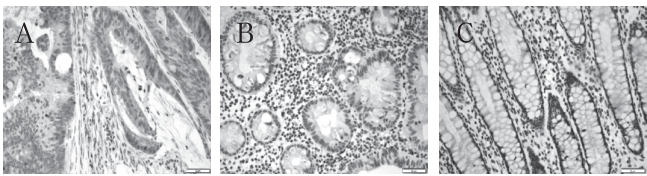


图3 BAIAP2L2在3种组织中的免疫组化染色情况
A. 结肠癌;B. 结肠息肉;C. 癌旁组织

CRC组、CP组、Control组BAIAP2L2蛋白阳性表达率分别是96.8%(30/31)、24.2%(8/33)、3.2%(1/31),3组阳性表达率差异具有统计学意义($\chi^2=61.958, P<0.001$)。3组中BAIAP2L2蛋白阳性强度比较,CRC组、CP组、Control组之间比较BAIAP2L2蛋白阳性强度呈现差异表达($H=65.319, P<0.001$),见表1。之后,两两之间分别比较阳性强度,CRC组与Control组、CRC组与CP组BAIAP2L2蛋白阳性表达差异均具有统计学意义($P<0.001$),但CP组与Control组BAIAP2L2蛋白阳性强度无明显差异($P>0.05$),见表2。

表1 3组中BAIAP2L2蛋白表达强度的比较

组别	n	-	+	++	+++	H	P
CRC组	31	1	16	7	7	65.319	<0.001
CP组	33	25	8	0	0		
Control	31	30	1	0	0		

表2 两两比较BAIAP2L2蛋白阳性表达强度

组别	n	-	+	++	+++	H	P
CRC组 vs. CP组	31	1	16	7	7	38.182	<0.001
CRC组 vs. Control组	31	1	16	7	7	46.694	<0.001
CP组 vs. Control组	33	25	8	0	0	38.182	0.484

2.3 BAIAP2L2蛋白表达与患者临床病理参数的关系

BAIAP2L2蛋白阳性表达的CRC患者年龄(64.00 ± 9.43)岁,男17例、女13例,BMI(23.05 ± 3.22)kg/m²,肿瘤直径(4.93 ± 2.01)cm,肿瘤位于结肠13例,其中回盲部1例,升结肠8例、降结肠1例、乙状结肠3例,直肠17例,TNM分期为I+II期13例,III+IV期17例;BAIAP2L2蛋白阳性表达的CP患者年龄(55.75 ± 6.52)岁,男6例、女2例,BMI(24.70 ± 1.79)kg/m²,肿瘤位于结肠7例,直肠1例,病理类型为管状腺瘤3例,腺上皮低级别上皮内瘤变5例。

BAIAP2L2蛋白表达与性别、年龄、BMI、肿瘤直径、肿瘤位置、TNM分期无明显相关性(均 $P>0.05$),见表3。

表3 BAIAP2L2表达与临床病理特征的关系

临床病理特征	<i>n</i>	阳性(<i>n</i> =30)	阴性(<i>n</i> =1)	<i>Z</i> / <i>F</i>	<i>P</i>
年龄(岁)	31	64.00±9.43	58.00±0.00	-0.841	0.400
性别(<i>n</i> , %)	男	17(100.0)	0(0.00)	-	0.452
	女	14(92.86)	1(7.14)		
BMI(kg/m ²)	31	23.05±3.22	24.55±0.00	-0.783	0.434
肿瘤直径(cm)	31	4.93±2.01	4.00±0.00	-0.454	0.649
肿瘤位置(<i>n</i> , %)	结肠	14(92.86)	1(7.14)	-	0.452
	直肠	17(100.0)	0(0.00)		
TNM分期(<i>n</i> , %)	I + II	13(91.67)	1(8.33)	-	0.419
	III + IV	18(100.0)	0(0.00)		

3 讨论

CRC具有较高的致病性,一直威胁人类的健康。根据之前的研究可以了解到,CRC具有遗传多样性,是具有大量突变负荷的癌症之一^[9]。传统的腺瘤-癌途径,又被称为染色体不稳定性,其占CRC发病途径的约70%~90%^[3]。CRC致病过程中包含APC突变、KRAS、BRAF、TP53等多种基因突变,其中多以APC突变为核心的WNT/ β -catenin信号通路最为常见。根据研究表明,此通路同样涉及多种基因的表达异常,如:RUNT相关转录因子1(RUNX1)^[10]、MRG结构域结合蛋白(MRGBP)^[11]、环指蛋白6(RNF6)^[12]等。BAIAP2L2蛋白被发现包含一个N末端I-BAR结构域,来促进细胞形态发生和迁移过程中膜突起的形成。BAIAP2L2蛋白可表达于小鼠组织的肠的上皮层和肾脏组织,在人的肠上皮层中也可检测到^[6]。BAIAP2L2在胃癌中高表达,敲除BAIAP2L2可以使Wnt3a、 β -catenin表达下降,可知BAIAP2L2是通过WNT/ β -catenin通路影响胃癌的发生发展^[7]。在肺癌组织中BAIAP2L2也存在表达上调,敲除BAIAP2L2基因可抑制肺癌细胞的增殖和生长^[13]。此外,通过基因表达谱和癌症基因组图谱的综合分析,BAIAP2L2可能是为前列腺癌预后提供可靠的生物标志物,并且可能通过影响血管内皮生长因子和细胞凋亡信号通路来影响前列腺癌细胞的肿瘤发生和恶性发展^[14-15]。对骨肉瘤肿瘤免疫相关基因进行分析,BAIAP2L2与骨肉瘤免疫细胞浸润具有差异相关性^[16]。BAIAP2L1与BAIAP2L2同属于I-BAR家族成员,在卵巢癌^[17]、肝癌^[18]中均存在表达上调,是潜在的生物标

志物,但同属于I-BAR一员的BAIAP2L2在癌症中的表达研究仍有欠缺。

由于BAIAP2L2在结直肠癌中的研究尚不完全,本研究通过公共数据库分析以及对临床收集的CRC组织进行免疫组织化学染色来了解其在CRC中的表达。首先,本研究利用公共数据库——GEPIA分析了解到BAIAP2L2在CRC中确实存在高表达状态,为进一步研究人CRC组织中蛋白表达情况提供了理论基础。接下来,通过对离体组织蜡块切片进行免疫组织化学染色,发现BAIAP2L2蛋白在CRC组织的表达明显高于CP组织和癌旁粘膜组织,但在CP组织和癌旁粘膜组织未见显著性差异。可能由于CP虽然作为CRC的癌前病变,但癌变过程缓慢,在社会经济飞速发展的背景下,CP已经可以做到早发现、早治疗,其病理以管状腺瘤、低级别上皮内瘤变为主,因此考虑与癌旁正常黏膜组织表达上并未出现明显差异^[19-20]。通过对所收集的病例的临床信息进行统计学分析,BAIAP2L2的阳性表达与年龄、BMI、肿瘤直径、肿瘤位置、TNM分期并未出现明显相关性,但存在着一定趋势。本实验的入组样本量偏低,后续扩大样本量,可能会出现临床信息的相关性。已有研究表明^[7],在胃癌中BAIAP2L2通过影响WNT/ β -catenin通路中 β -catenin表达量,结合上述GEPIA分析结果,推测BAIAP2L2在CRC中同样借助影响该通路相关因子来控制CRC的发生发展,但该实验尚未完善相关因子的检测,有待后续进一步明确此推测。

综上所述,BAIAP2L2蛋白表达水平在CRC组织中显著表达,其表达情况与CP、癌旁组织均存在显著差异,且BAIAP2L2基因与 β -catenin基因表达呈现相关性,提示BAIAP2L2可能通过WNT/ β -catenin通路参与了CRC的发生发展,有望成为CRC理想的治疗靶点。未来仍需进一步研究BAIAP2L2的作用通路,以便更加了解CRC的发生机制,从而为临床CRC诊断治疗及评估预后提供新的思路。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.

- (收稿日期:2024-01-14)

(基础医学栏目编辑:张明溪)

撤稿声明

本刊于2009年第26卷第3期337—339页刊登的论文《历史性思维在心理学史教学中的重要性》,作者:卢锴锋、董雅洁,由于存在数据滞后、表述不当的问题,作者主动要求撤稿。根据作者提出的撤稿申请,本着文责自负的出版原则,《承德医学院学报》编辑部经研究决定,对此文进行撤稿处理。特此声明。

《承德医学院学报》编辑部

2024年12月4日