

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2023.02.006

· 基础研究 ·

## CRABP2通过Wnt/ $\beta$ -catenin通路调控子宫内膜样腺癌细胞的增殖与侵袭

张红<sup>a</sup>, 康朋朋<sup>b</sup>, 种肖宇<sup>a</sup>, 胡景玉<sup>a</sup>, 张长庚<sup>a</sup>(衡水市人民医院 a. 检验科; b. 病理科, 河北 衡水 053000)

**[摘要]** **目的:** 探讨细胞视黄酸结合蛋白2(CRABP2)在子宫内膜样腺癌组织和细胞中的表达及其对子宫内膜样腺癌细胞增殖与侵袭的影响与其分子机制。**方法:** 收集2020年6月至2021年4月在衡水市人民医院手术切除的子宫内膜样腺癌组织及配对正常子宫内膜组织,共24对;体外培养人子宫内膜样腺癌细胞An3ca、KLE。采用免疫组化分析及WB法检测子宫内膜样腺癌组织及正常子宫内膜组织中CRABP2的表达情况,采用WB法检测An3ca及KLE细胞中敲低CRABP2表达的效率,并以EDU法及Transwell实验检测敲低CRABP2表达后的An3ca及KLE细胞的增殖及侵袭能力,免疫荧光染色及WB法检测敲低CRABP2表达后的An3ca及KLE细胞中Wnt/ $\beta$ -catenin通路相关关键蛋白( $\beta$ -catenin、c-Myc、cyclin-D1、MMP7及MMP9)的表达情况。以裸鼠体内成瘤实验观察敲低CRABP2表达对子宫内膜样腺癌细胞移植瘤生长和移植瘤组织中Ki67和 $\beta$ -catenin表达的影响。**结果:** 与正常子宫内膜组织相比,CRABP2在子宫内膜样腺癌组织中表达上调( $P<0.01$ )。转染靶向CRABP2的shRNA后,An3ca、KLE细胞中CRABP2的表达降低(均 $P<0.01$ );敲低CRABP2表达后An3ca及KLE细胞增殖及侵袭能力均降低(均 $P<0.01$ ),并且Wnt/ $\beta$ -catenin通路受到抑制( $P<0.01$ )。成瘤实验显示敲低CRABP2表达后,裸鼠体内移植瘤体积明显缩小( $P<0.01$ )。**结论:** CRABP2可通过调节Wnt/ $\beta$ -catenin通路发挥对子宫内膜样腺癌细胞增殖与侵袭的促进作用。

**[关键词]** 子宫内膜样腺癌;细胞视黄酸结合蛋白2;Wnt/ $\beta$ -catenin通路;增殖;侵袭

**[中图分类号]** R737.33; R730.21 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)02-0135-07

## CRABP2 regulates the proliferation and invasion of endometrioid adenocarcinoma cells through the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway

ZHANG Hong<sup>a</sup>, KANG Pengpeng<sup>b</sup>, CHONG Xiaoyu<sup>a</sup>, HU Jingyu<sup>a</sup>, ZHANG Changgeng<sup>a</sup> (a. Clinical Laboratory; b. Pathology Department of Hengshui People's Hospital, Hengshui 053000, Hebei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression of cellular retinoic acid binding protein 2 (CRABP2) in endometrial adenocarcinoma tissues and cells and its effects on the proliferation and invasion of endometrial adenocarcinoma cells as well as its molecular mechanism. **Methods:** A total of 24 pairs of endometrioid adenocarcinoma tissues and matched normal endometrial tissues were collected from Hengshui People's Hospital from June 2020 to April 2021, and human endometrial adenocarcinoma cells (An3ca and KLE) were cultured *in vitro*. The expression of CRABP2 in human endometrioid adenocarcinoma tissues and normal endometrial tissues was analyzed by immunohistochemistry and WB. The knockdown efficiency of CRABP2 in An3ca and KLE cells was detected by WB method, and the proliferation and invasion ability of An3ca and KLE cells after CRABP2 knockdown was detected by EDU method and Transwell assay, the expressions of key proteins related to Wnt/ $\beta$ -catenin pathway ( $\beta$ -catenin, c-Myc, cyclin-D1, MMP7 and MMP9) in An3ca and KLE cells after CRABP2 knockdown were detected by WB. The effects of CRABP2 on the growth of xenograft tumor and the expression of Ki67 and  $\beta$ -catenin in xenograft tumor tissues were observed in nude mice tumorigenesis assay. **Results:** Compared with normal endometrial tissue, the expression of CRABP2 was up-regulated in human endometrioid adenocarcinoma tissue. Expression of CRABP2 in An3ca and KLE cells decreased after transfection of shRNA targeting CRABP2 (all  $P<0.01$ ). The proliferation and invasion ability of An3ca and KLE cells were decreased after CRABP2 knockdown (all  $P<0.01$ ) and the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway was inhibited ( $P<0.01$ ). The tumor formation experiment showed that the tumor volume of transplanted tumor in nude mice decreased significantly after CRABP2 knockdown ( $P<0.01$ ). **Conclusion:** CRABP2 can promote the proliferation and invasion of endometrioid adenocarcinoma cells by regulating the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway

**[Key words]** endometrioid adenocarcinoma; cellular retinoic acid binding protein 2 (CRABP2); Wnt/ $\beta$ -catenin pathway; proliferation; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2023, 30(2): 135-141. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.02.006]

**[基金项目]** 河北省重点课题基金项目(No. 20181599)

**[作者简介]** 张红(1988—),女,硕士生,主管检验师,主要从事肿瘤分子生物学研究,E-mail: 564966815@qq.com

**[通信作者]** 张长庚,E-mail: 13831839080@163.com

子宫内膜癌是威胁女性生殖健康的恶性肿瘤, 占有女性生殖道肿瘤的20%~30%。子宫内膜样腺癌是其最常见的亚型, 占80%~85%<sup>[1]</sup>。子宫内膜样腺癌的发生和发展可归因于各种信号转导途径和基因调节失衡, 然而其具体发病机制尚不清楚, 致癌基因和抑癌基因的研究一直是子宫内膜样腺癌领域的重点研究课题<sup>[2]</sup>。与子宫内膜样腺癌相关的遗传因素包括K-RAS突变、PTEN失活和 $\beta$ -catenin激活等, 其中由 $\beta$ -catenin激活导致的Wnt/ $\beta$ -catenin通路的异常信号转导是子宫内膜样腺癌发生及发展中重要因素之一<sup>[3]</sup>。细胞视黄酸结合蛋白2 (cellular retinoic acid binding protein 2, CRABP2) 属于视黄酸结合蛋白家族和脂钙蛋白/胞质脂肪酸结合蛋白家族, 参与视黄酸信号通路<sup>[4]</sup>。视黄酸是胚胎发育时期基因表达的关键调节因子, 在细胞生长、分化中具有关键作用<sup>[5]</sup>。CRABP2为核质穿梭蛋白, 可将视黄酸转运至核内, 目前在多种肿瘤中都发现CRABP2存在异常表达, 例如乳腺癌<sup>[6]</sup>、食管癌<sup>[7]</sup>、肺癌<sup>[8]</sup>、甲状腺癌<sup>[9]</sup>等。既往研究<sup>[10-11]</sup>显示, CRABP2与Wnt/ $\beta$ -catenin通路存在一定的相互关系, 但CRABP2与子宫内膜样腺癌的关系尚无明确报告。本研究拟通过探索CRABP2在子宫内膜样腺癌组织及其细胞系中的表达情况, 进而探讨CRABP2在子宫内膜样腺癌细胞侵袭中的作用, 并对其机制进行初步探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂与仪器

新生牛血清购自浙江天杭生物科技股份有限公司(22012-8612, 四季青), CRABP2抗体(PA5-27451, Invitrogen)、 $\beta$ -catenin抗体(PA5-141137, Invitrogen)、RPMI-1640细胞培养液(22400097, Gibco)、DAPI染色液(62248, Thermo Scientific)、Lipofectamine 2000试剂(11668-019, Gibco)及EDU染色试剂盒(C10640, Invitrogen)购自美国Thermo Fisher Scientific公司, Ki67抗体(ab92742)购自英国abcam公司, c-Myc抗体(13987)、cyclin-D1抗体(55506)、MMP-7抗体(3807)、MMP-9抗体(货号15749)购自美国Cell Signaling Technology公司, 辣根过氧化物酶(HRP)或Alexa Fluor 488标记山羊抗兔IgG(H+L)二抗(A0208, A0423)、GAPDH抗体(AF1186)及超灵敏ECL试剂盒(P0018AM)购自上海碧云天生物科技股份有限公司, 4%多聚甲醛(83472)及Hoechst 33342染液(364263)购自北京优尼康生物科技有限公司。携带CRABP2的shRNA编码序列的质粒载体(CRABP2-shRNA1、CRABP2-shRNA2)及阴性对照scramble shRNA(SC-shRNA)由苏州吉玛基因股份有

限公司合成。Transwell培养板(3422, 孔径8.0  $\mu\text{m}$ )购自美国Corning公司, Axioplan 2 imaging MOT荧光显微镜购自德国Carl Zeiss公司, CX31P-OC-2光学显微镜购自日本Olympus公司, ChemiDoc XRS化学发光系统购自美国Bio-Rad公司。

### 1.2 子宫内膜样腺癌组织标本收集与细胞系

本研究纳入2020年6月至2021年4月在衡水市人民医院手术切除的子宫内膜样腺癌组织及配对正常子宫内膜组织, 共24对。其中, FIGO分期I期8例、II期8例、III期8例。所有患者均为首次确诊且未进行放、化疗。本研究方案获得了衡水市人民医院伦理委员会批准(No.2020-LS-06-012), 且获得了所有患者签署的知情同意书。临床病理标本(子宫内膜样腺癌组织及配对的正常子宫内膜组织)分成两部分, 一部分直接冻存在 $-80^{\circ}\text{C}$ 保存, 另外一部分包埋于石蜡中。人子宫内膜样腺癌细胞(An3ca、KLE)购自上海联祖生物科技有限公司。

### 1.3 免疫组化法检测子宫内膜样腺癌组织及正常子宫内膜组织中CRABP2的表达

分别取石蜡包埋的子宫内膜样腺癌组织及其配对的癌旁正常子宫内膜组织, 切为5  $\mu\text{m}$ 厚的石蜡切片。将组织切片进行常规脱蜡至水化后, 0.3%过氧化氢消除内源性过氧化物酶, 用5% BSA封闭1 h。滴加CRABP2抗体(1:1 000)并 $4^{\circ}\text{C}$ 下反应过夜; 次日, PBS洗片后, 滴加生物素标记羊抗兔二抗(1:200)室温反应1 h; 再次用PBS洗片后, 滴加HRP标记链霉卵白素(1:200)室温反应2 h, 用DAB染色, 苏木精复染, 光学显微镜下观察。每个样本任选5个不连续的切片, 每个切片任选4个不重叠的视野, 按照文献[12-13]所述方法, 用Image J软件的IHC Profiler插件对阳性染色强度和染色细胞比例进行自动化评分, 根据最终评分自动输出强阳性(3+)、中阳性(2+)、弱阳性(1+)和阴性(0)。

### 1.4 细胞培养和分组转染

将An3ca、KLE细胞分别接种于含10%新生牛血清的RPMI 1640细胞培养液中, 并置于 $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 的细胞培养箱中常规培养。于转染前1 d, 取对数生长期的细胞接种于6孔细胞培养板内(不含血清和抗生素的RPMI 1640细胞培养液), 待细胞汇合率达到70%时, 按照说明书步骤用Lipofectamine 2000试剂分别将SC-shRNA、CRABP2-shRNA1和CRABP2-shRNA2转染An3ca、KLE细胞, 各组shRNA终浓度为100 nmol/L; 细胞继续培养6 h后换正常培养液, 待转染48 h后, 用WB法检测CRABP2表达以鉴定转染效果。将转染SC-shRNA的细胞命名为SC-shRNA组, 转染CRABP2-shRNA1的细胞命

名为CRABP2-shRNA1组,转染CRABP2-shRNA2的细胞命名为CRABP2-shRNA2组。

1.5 WB实验检测子宫内膜样腺癌组织和转染后各组An3ca、KLE细胞中CRABP2及Wnt/ $\beta$ -catenin通路相关蛋白的表达情况

收集子宫内膜样腺癌组织和配对正常子宫内膜组织及各组An3ca、KLE细胞,将其在超声破碎后,用RIPA裂解液在冰上裂解各样本30 min,并在4℃下12 000×g离心10 min,收集上清液(蛋白裂解液)。用BCA法测定各样本中蛋白质浓度,并将其调整为1 g/L,各样品取20  $\mu$ L蛋白裂解液进行SDS-PAGE,并用电转法将电泳分离的蛋白条带转移到PVDF膜上,将膜浸入含5%脱脂奶粉的TBST溶液中室温封闭1 h。分别加入CRABP2(1:1 000)、 $\beta$ -catenin(1:500)、c-Myc(1:1 000)、cyclin-D1(1:2 000)、MMP7(1:1 000)、MMP9(1:1 000)及GAPDH抗体(1:1 000),室温下处理2 h。TBST洗涤3次(5 min/次)后,加入HRP标记山羊抗兔IgG(H+L)二抗(1:1 000)再次处理1 h。TBST洗涤3次(5 min/次)后,用ECL化学发光系统使蛋白质条带显像,并用自带软件测定各蛋白条带灰度值。

1.6 EDU法检测敲低CRABP2对An3ca、KLE细胞增殖能力的影响

分别收集SC-shRNA组、CRABP2-shRNA1组及CRABP2-shRNA2组An3ca、KLE细胞,并分别重新接种在24孔板中( $1 \times 10^5$ 个/孔),每个处理组设5个复孔,培养24 h,温度为37℃。向每孔中加10  $\mu$ mol/L EDU试剂,2 h后将细胞在40 g/L多聚甲醛中固定15 min;同时,用0.5% Triton X-100促渗20 min,用Hoechst 33342染液对细胞核在室温下染色5 min。荧光显微镜观察EDU阳性细胞以分析细胞增殖能力。每样本随机采集4个视野图像进行数据分析。

1.7 Transwell实验检测敲低CRABP2对An3ca、KLE细胞侵袭能力的影响

用基质胶涂覆Transwell上室滤膜。分别收集SC-shRNA组、CRABP2-shRNA1组及CRABP2-shRNA2组An3ca、KLE细胞,并用无血清培养基分别将其制作成 $2 \times 10^5$ 个/mL的细胞悬液,取100  $\mu$ L加入Transwell上室,Transwell下室加入800  $\mu$ L含10%新生牛血清培养液,在37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养24 h,去除小室中培养液,用棉球轻擦去上室的细胞。使用4%多聚甲醛固定小室15 min,PBS润洗3次,每次5 min;0.3%结晶紫室温染色30 min,PBS润洗3次,每次3 min。在倒置显微镜下观察细胞的形态和数量。

1.8 免疫荧光染色观察敲低CRABP2表达对An3ca、

KLE细胞中 $\beta$ -catenin表达分布的影响

分别收集SC-shRNA组、CRABP2-shRNA1组及CRABP2-shRNA2组An3ca、KLE细胞,并分别重新接种于48孔板,在37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养过夜。弃去培养基,用PBS洗涤2次,每孔加入200  $\mu$ L的4%多聚甲醛固定液,室温下固定30 min后洗涤3次。每孔加入200  $\mu$ L 0.1% Triton X-100,室温下静置15 min。PBS洗涤3次后,用5%BSA 37℃封闭2 h。加入一抗 $\beta$ -catenin(1:500)4℃下处理过夜。PBS洗涤3次后,加入Alexa Fluor 488标记山羊抗兔IgG(H+L)荧光二抗(1:500),37℃避光处理1 h。洗涤3次后,Hoechst 33342染液(终质量浓度2  $\mu$ g/mL)进行染核,室温避光染色15 min,置于荧光显微镜下观察 $\beta$ -catenin表达。每样本随机采集4个视野图像,用自带软件分析每视野下阳性信号的平均表达强度。

1.9 裸鼠体内成瘤实验检测敲低CRABP2对An3ca细胞移植瘤的影响

7周龄C57BL/6雌性小鼠购自北京维通利华实验动物中心[生产许可证号为SCXK(京)2021-0011],适应性饲养3 d后,按随机表法将其分为CRABP2-shRNA组和SC-shRNA组,每组5只。两组的小鼠分别经皮下接种已转染CRABP2-shRNA2和SC-shRNA的An3ca细胞,每只接种 $1 \times 10^6$ 个细胞。待瘤体约100 mm<sup>3</sup>时,每2~3 d观察肿瘤生长情况,观察至第8周,用游标卡尺测量肿瘤长径(a)及短径(b),并计算瘤体体积,公式为体积(mm<sup>3</sup>)= $a \times b^2 / 2$ 。麻醉小鼠,剥离瘤体组织,用石蜡包埋后切片,用免疫组化法检测瘤体组织中Ki67和 $\beta$ -catenin表达,其中Ki67和 $\beta$ -catenin的稀释度均为1:300。

1.10 统计学处理

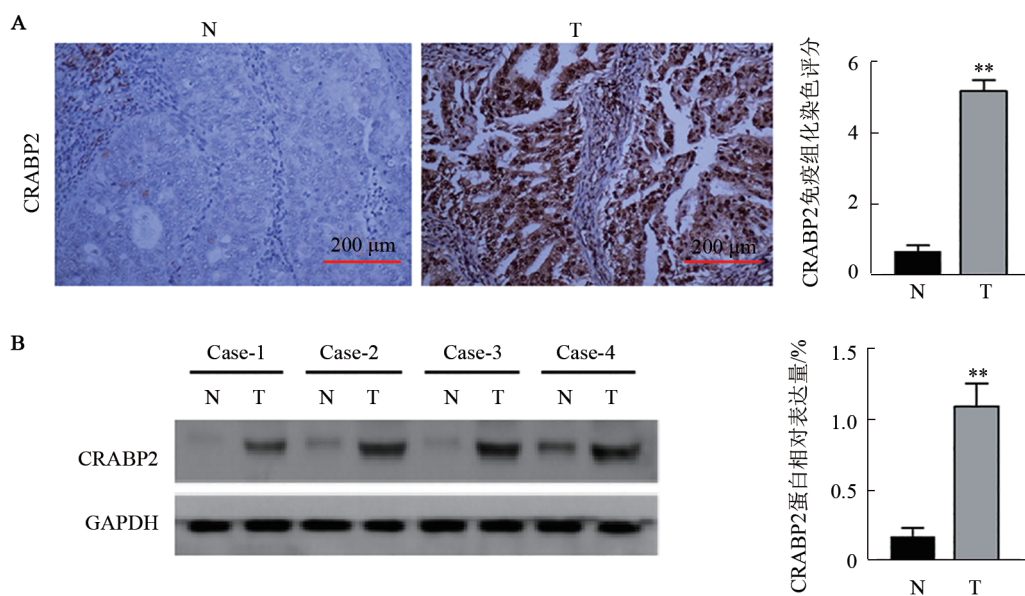
使用SPSS 21.0统计软件进行相关数据分析,每项实验均独立重复3次。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示,两组间比较采用 $t$ 检验;多组间的比较采用单因素方差分析(ANOVA),并用采用Tukey法对各组均值的差异进行两两成对检验。以 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 CRABP2在子宫内膜样腺癌组织中表达增加

免疫组化染色结果(图1)显示,与正常子宫内膜组织(normal, N)相比,子宫内膜样腺癌组织中(tumor, T)中CRABP2表达增加(图1A,  $P < 0.01$ )。随后,进行WB实验,其结果与免疫组化实验结果相似,即与正常子宫内膜组织相比,肿瘤组织中CRABP2表达显著增加(图1B,  $P < 0.01$ )。





与正常子宫内膜组织相比,\*\* $P<0.01$

A: 子宫内膜样腺癌及正常子宫内膜组织中CRABP2染色的免疫组化代表性图像( $\times 100$ )和CRABP2表达的数据统计图;

B: WB法实验检测CRABP2在子宫内膜样腺癌及正常子宫内膜组织中的表达和CRABP2蛋白表达的数据统计图

图1 CRABP2在子宫内膜样腺癌及正常子宫内膜组织中的表达

## 2.2 成功构建敲低CRABP2表达的子宫内膜样腺癌细胞

为进一步验证CRABP2对子宫内膜样腺癌细胞的影响,通过转染技术,对An3ca及KLE细胞中的CRABP2表达进行敲低。WB实验结果显示,与SC-shRNA组相比,CRABP2-shRNA1组及CRABP2-shRNA2组An3ca及KLE细胞中CRABP2均显著降低(图2A,均 $P<0.01$ ),表明转染成功。

## 2.3 敲低表达CRABP2后子宫内膜样腺癌细胞增殖及侵袭能力降低

EDU法结果(图2B)显示,与SC-shRNA组相比,CRABP2-shRNA1组、CRABP2-shRNA2组An3ca及KLE细胞增殖显著降低( $P<0.01$ )。Transwell实验显示(图2C),与SC-shRNA组相比,CRABP2-shRNA1组及CRABP2-shRNA2组An3ca及KLE细胞侵袭能力均显著降低(均 $P<0.01$ )。

## 2.4 敲低CRABP2可抑制子宫内膜样腺癌细胞中Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路相关蛋白表达

为探讨CRABP2影响子宫内膜样腺癌细胞生物学活性的机制,本研究对Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路相关蛋白进行了检测。免疫荧光染色结果显示,与SC-shRNA组相比,CRABP2-shRNA1组及CRABP2-shRNA2组An3ca及KLE细胞中 $\beta$ -catenin的表达均显著降低(图3A,均 $P<0.01$ )。进一步利用WB实验对其验证,结果显示,与SC-shRNA组相比,CRABP2-shRNA1组及CRABP2-shRNA2组An3ca及KLE细胞中Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路相关分子( $\beta$ -catenin、

c-Myc、cyclin-D1、MMP7及MMP9)表达水平均显著降低(图3B,均 $P<0.01$ )。

## 2.5 敲低CRABP2表达可明显抑制子宫内膜样腺癌细胞裸鼠移植瘤的生长

为进一步验证CRABP2对子宫内膜样腺癌细胞的调控作用,本研究进行了相关体内实验。成瘤实验显示,与SC-shRNA组成瘤体积[(750.27 $\pm$ 47.29)mm<sup>3</sup>]相比,CRABP2-shRNA组瘤体体积[(384.92 $\pm$ 29.73)mm<sup>3</sup>]显著减小(图4A, $P<0.01$ );同时,对小鼠移植瘤组织Ki67及 $\beta$ -catenin进行免疫组化分析,结果显示,与SC-shRNA组相比,CRABP2-shRNA组Ki67及 $\beta$ -catenin表达水平降低(图4B,均 $P<0.01$ )。

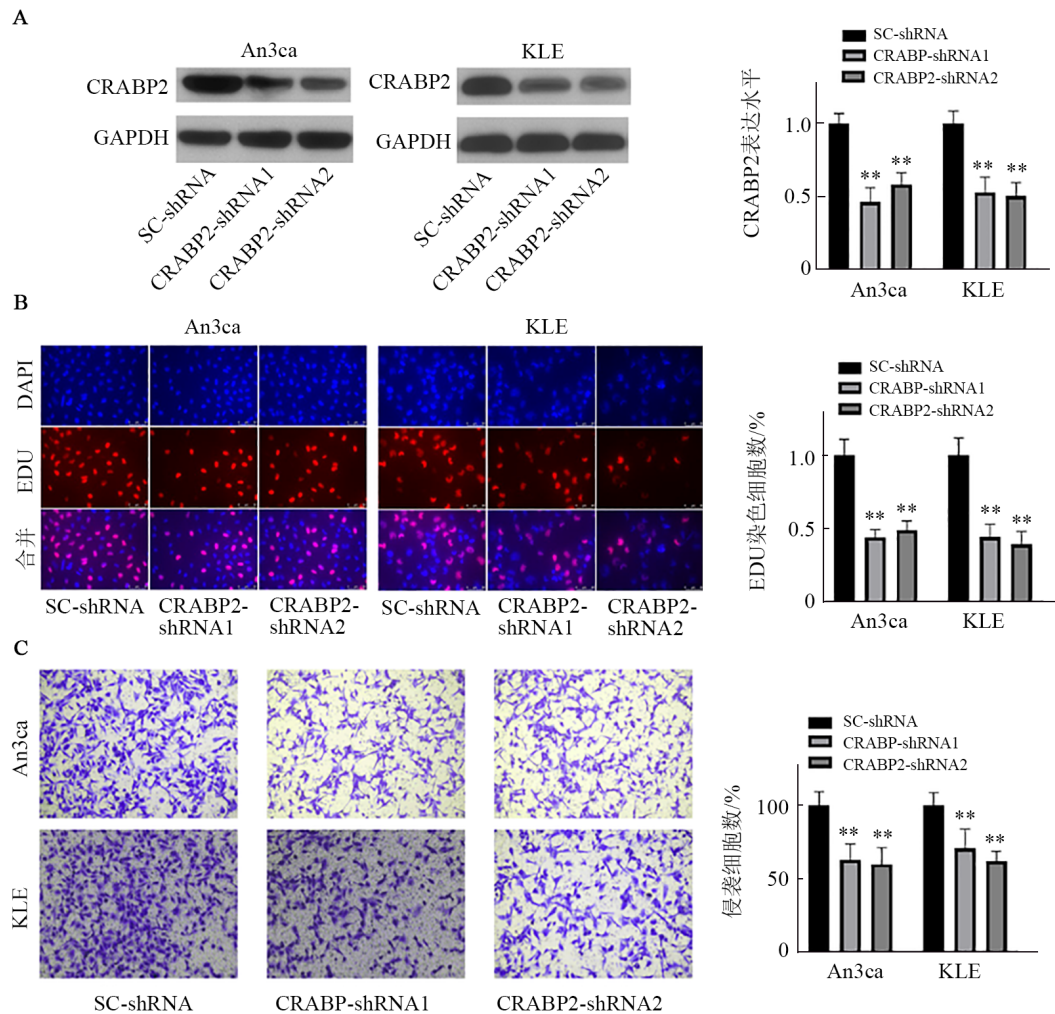
## 3 讨论

据相关研究<sup>[14]</sup>报道,子宫内膜癌的发病率及病死率已位居女性生殖系统恶性肿瘤的第2位,其中子宫内膜样腺癌是其最常见的亚型。但迄今为止,尚无确切有效的针对晚期及复发肿瘤患者的靶向药物<sup>[2]</sup>。因此此类患者的预后较差,亟需寻找更有效治疗靶点。

CRABP2可将视黄酸从胞质转运至胞核,与核受体相互作用调节基因表达,同时视黄酸及其衍生物具有抗肿瘤效应,已被用于治疗一些恶性肿瘤<sup>[15]</sup>。有研究<sup>[16]</sup>发现,CRABP2还参与转录后调节,RNA结合蛋白HuR结合3' UTR区可以提高RNA稳定性,防止RNA降解,而CRABP2可以与HuR相互作用,增

强其与目的RNA的结合能力,提高转录稳定性。目前,已发现CRABP2在多种肿瘤中呈现异常表达<sup>[7]</sup>,但CRABP2在子宫内膜样腺癌中的作用尚无明确报道。本研究通过对子宫内膜腺癌组织及正常子宫内膜组织进行检测,结果显示CRABP2在子宫内膜腺癌组织中呈高表达,鉴于此,推测CRABP2在子宫内

膜腺癌的发生及发展中发挥一定的调节作用。随后对CRABP2在子宫内膜腺癌细胞中的作用进行研究,发现敲低CRABP2表达后子宫内膜样腺癌细胞增殖及侵袭能力降低,以上可初步说明CRABP2在子宫内膜腺癌细胞中发挥促癌作用。



与SC-shRNA组相比,\*\* $P < 0.01$

A:敲低CRABP2表达后各组细胞中CRABP2的表达情况;B:敲低CRABP2表达后各组细胞的Edu染色细胞及其分析( $\times 400$ );

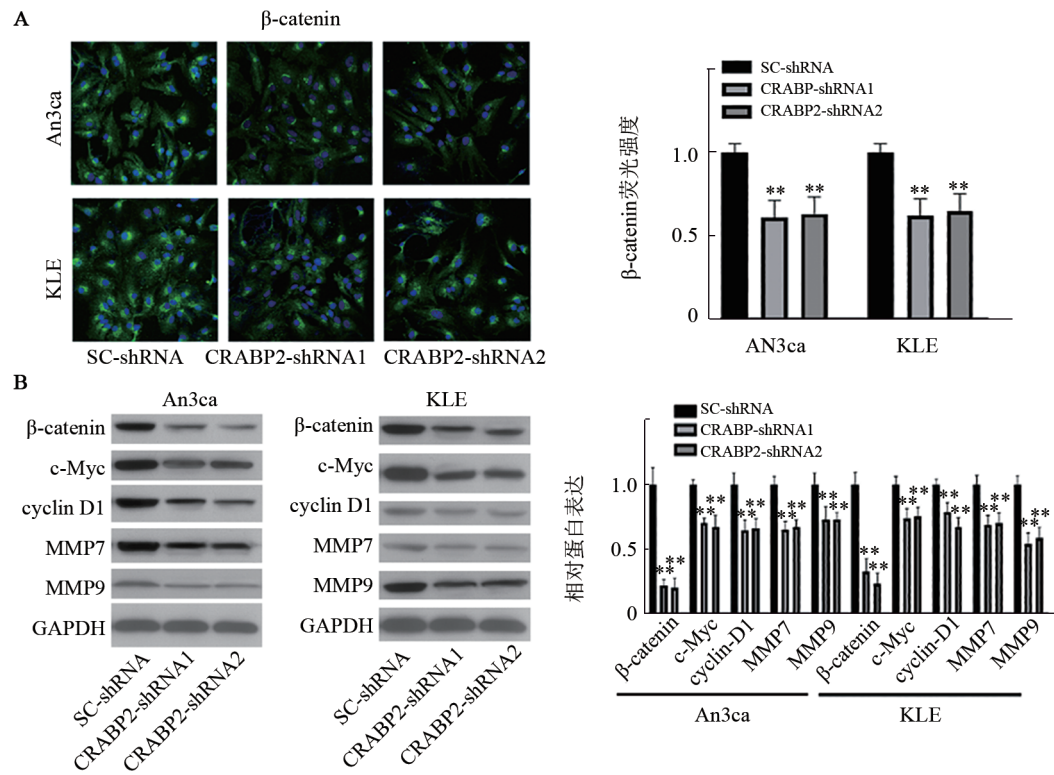
C:敲低CRABP2表达后各组细胞的侵袭能力( $\times 200$ )

图2 敲低CRABP2表达后子宫内膜样腺癌细胞增殖及侵袭能力明显降低

Wnt蛋白是一种广泛表达于各种组织中的分泌型糖蛋白,其介导的经典通路Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路调控细胞的生长、分化、增殖、凋亡和迁移,这些都与多种恶性肿瘤的侵袭和转移密切相关<sup>[18-20]</sup>。本研究结果显示,子宫内膜样腺癌细胞中抑制CRABP2的表达后,Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路受到显著抑制,说明CRABP2可在一定程度上调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路。此外,本研究证实在体内实验中,敲低CRABP2的表达后,肿瘤细胞的增殖水

平下降,并且肿瘤组织中的 $\beta$ -catenin表达同样受到抑制。上述研究结果证明,CRABP2可通过调节 $\beta$ -catenin相关通路发挥对子宫内膜样腺癌侵袭的促进作用。

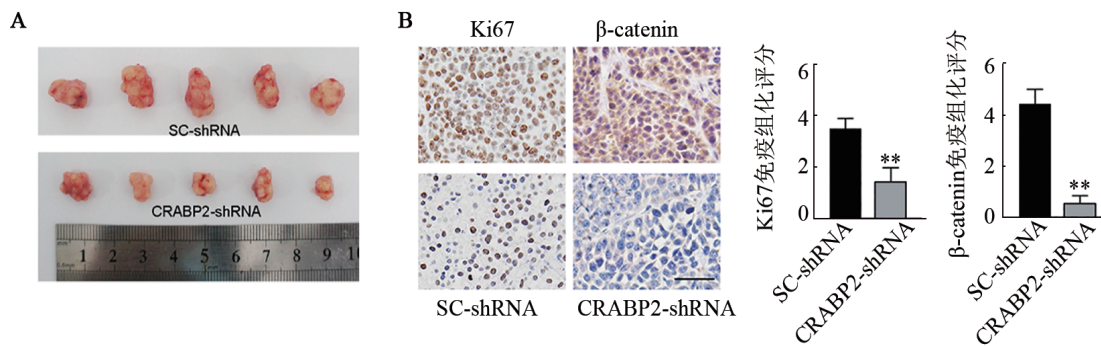
本研究发现,CRABP2通过影响Wnt/ $\beta$ -catenin通路进而调控子宫内膜样腺癌的恶性生物性行为,可为临床治疗提供新的诊断思路和潜在治疗靶点,有助于促进子宫内膜样腺癌的临床治疗。



与 SC-shRNA 组相比, \*\* $P < 0.01$

A: 各组细胞 β-catenin 免疫荧光染色代表性图像( $\times 400$ )和 β-catenin 蛋白表达的数据统计图; B: 各组细胞 Wnt/β-catenin 信号通路相关蛋白 WB 法检测的代表性图像和其相关蛋白表达数据统计图

图3 敲低 CRABP2 表达可抑制子宫内膜样腺癌细胞中 Wnt/β-catenin 信号通路相关蛋白的表达



与 SC-shRNA 组相比, \*\* $P < 0.01$

A: 敲低 CRABP2 表达后各组细胞的移植瘤体积; B: 敲低 CRABP2 表达后各组细胞移植组织中 Ki67 及 β-catenin 免疫组化染色代表性图像( $\times 400$ )和其蛋白表达的数据统计图

图4 敲低 CRABP2 表达可抑制子宫内膜样腺癌细胞移植瘤生长及移植瘤组织中 Ki67 和 β-catenin 的表达

[参考文献]

[1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424. DOI: 10.3322/caac.21492.

[2] 赵也恬, 韩旭. 子宫内膜癌的靶向治疗研究进展[J]. *中国医药*, 2022, 17(6): 953-956. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2022.06.036

[3] HUSSEIN Y R, SOSLOW R A. Molecular insights into the

classification of high-grade endometrial carcinoma[J]. *Pathology*, 2018, 50(2): 151-161. DOI: 10.1016/j.pathol.2017.09.010.

[4] ZHANG G M, SONG C C, LI L J, *et al.* DNA methylation status of CRABP2 promoter down-regulates its expression[J/OL]. *Gene*, 2018, 676: 243-248[2022-12-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30031031/>. DOI: 10.1016/j.gene.2018.07.049.

[5] SCHLEIF M C, HAVEL S L, GRISWOLD M D. Function of retinoic acid in development of male and female gametes[J/OL]. *Nutrients*, 2022, 14(6): 1293[2022-12-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35334951/>. DOI: 10.3390/nu14061293.



- [6] LIU X, LI H, WU M L, *et al.* Resveratrol reverses retinoic acid resistance of anaplastic thyroid cancer cells *via* demethylating CRABP2 Gene[J/OL]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10: 734 [2022-12-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31736873/>. DOI: 10.3389/fendo.2019.00734.
- [7] KIM D J, KIM W J, LIM M, *et al.* Plasma CRABP2 as a novel biomarker in patients with non-small cell lung cancer[J/OL]. *J Korean Med Sci*, 2018, 33(26): e178 [2022-12-20]. <https://jkms.org/DOIx.php?id=10.3346/jkms.2018.33.e178>. DOI: 10.3346/jkms.2018.33.e178.
- [8] LI M, LI C, LU P, *et al.* Expression and function analysis of CRABP2 and FABP5, and their ratio in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Open Med (Wars)*, 2021, 16(1): 1444-1458. DOI: 10.1515/med-2021-0350.
- [9] FENG X, ZHANG M, WANG B, *et al.* CRABP2 regulates invasion and metastasis of breast cancer through hippo pathway dependent on ER status[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 361 [2022-12-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31419991/>. DOI: 10.1186/s13046-019-1345-2.
- [10] YAN Y, QI S, GONG S, *et al.* Effect of CRABP2 on the proliferation and odontoblastic differentiation of hDPSCs[J/OL]. *Braz Oral Res*, 2017, 31: e112 [2022-12-20]. <https://www.scielo.br/j/bor/a/GyzwLn3XT7Db9CnrcZw54kh/?lang=en>. DOI: 10.1590/1807-3107bor-2017.vol31.0112.
- [11] COLLINS C A, WATT F M. Dynamic regulation of retinoic acid-binding proteins in developing, adult and neoplastic skin reveals roles for beta-catenin and Notch signalling[J]. *Dev Biol*, 2008, 324(1): 55-67. DOI: 10.1016/j.ydbio.2008.08.034.
- [12] JENSEN E C. Quantitative analysis of histological staining and fluorescence using ImageJ[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2013, 296(3): 378-381. DOI: 10.1002/ar.22641.
- [13] VARGHESE F, BUKHARI A B, MALHOTRA R, *et al.* IHC profiler: an open source plugin for the quantitative evaluation and automated scoring of immunohistochemistry images of human tissue samples [J/OL]. *Plos One*, 2014, 9(5): e96801 [2022-12-20]. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0096801>. DOI: 10.1371/journal.pone.0096801.
- [14] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会. 子宫内膜癌诊断与治疗指南(2021年版)[J]. *中国癌症杂志*, 2021, 31(6): 501-512. DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2021.06.08.
- [15] CHEN M C, HSU S L, LIN H, *et al.* Retinoic acid and cancer treatment[J/OL]. *Biomedicine (Taipei)*, 2014, 4(4): 22 [2022-12-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25520935/>. DOI: 10.7603/s40681-014-0022-1.
- [16] VREELAND A C, YU S, LEVI L, *et al.* Transcript stabilization by the RNA-binding protein HuR is regulated by cellular retinoic acid-binding protein 2[J]. *Mol Cell Biol*, 2014, 34(12): 2135-2146. DOI: 10.1128/MCB.00281-14.
- [17] JIAO X, LIU R, HUANG J, *et al.* Cellular retinoic-acid binding protein 2 in solid tumor[J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2020, 21(5): 507-516. DOI: 10.2174/1389203721666200203150721.
- [18] SUMITHRA B, SAXENA U, DAS A B. Alternative splicing within the Wnt signaling pathway: role in cancer development[J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2016, 39(1): 1-13. DOI: 10.1007/s13402-015-0266-0.
- [19] 兰代群, 闫志强, 林丽慧, 等. TAN通过 Galectin-9及其配体 Tim-3途径促进子宫内膜癌细胞迁移、侵袭及血管生成[J]. *现代肿瘤医学*, 2022, 30(11): 1941-1947. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2022.11.006.
- [20] 陈佩琴, 吕牧, 黄宝珠, 等. 毒毛花苷通过 Nrf2抑制子宫内膜癌细胞增殖活性[J]. *现代生物医学进展*, 2022, 22(12): 2208-2211. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.12.002.
- [收稿日期] 2022-12-30 [修回日期] 2023-02-05  
[本文编辑] 沈志超, 向正华