

结肠癌中 Septin9 与 CD44 的表达及临床意义

宋德旭^{1,2}, 高 莹^{1,2}, 窦鹏挥^{2*}

¹佳木斯大学 黑龙江佳木斯

²佳木斯大学附属第一医院肿瘤综合科 黑龙江佳木斯

【摘要】近年来结直肠癌已是全球第三大常见的癌症。结肠癌起病常较隐匿，早期临床表现常不明显，绝大多数患者就诊时已处于肿瘤晚期。癌症干细胞（CSC）以前在多种类型的癌症中发现，结肠癌就是其中之一，它与几种生物标志物相关。与结直肠相关的两个最重要的标志物是 CD44 和 CD133。结肠癌患者的上皮细胞中 Septin9 的转录本就过表达。本文将从 Septin9 与 CD44 在结肠癌中的表达及其临床意义进行阐述。

【关键词】结肠癌；Septin9；CD44；肿瘤干细胞

【收稿日期】2023 年 11 月 17 日 **【出刊日期】**2023 年 12 月 28 日 **【DOI】**10.12208/j.ijcr.20230362

Expression and clinical significance of Septin9 and CD44 in colon cancer

Dexu Song^{1,2}, Xuan Gao^{1,2}, Penghui Dou^{2}*

¹*Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang*

²*Department of Oncology Comprehensive Treatment, the First Affiliated Hospital of Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang*

【Abstract】In recent years, colorectal cancer has become the third most common cancer worldwide. The onset of colon cancer is often insidious, the early clinical manifestations are often not obvious, and the vast majority of patients have been in the advanced stage of cancer. Cancer stem cells (CSC) have previously been found in many types of cancer, colon cancer being one of them, and are associated with several biomarkers. The two most important markers associated with colorectal cancer are CD44 and CD133. Septin9 transcripts are overexpressed in epithelial cells of patients with colon cancer. This article will discuss the expression of Septin9 and CD44 in colon cancer and their clinical significance.

【Keywords】Colon cancer; Septin9; CD44; Tumor stem cell

据 2020 年全球癌症统计报告显示：全球结肠癌发病例数 193.2 万例，死亡例数 93.5 万例。是全球第三大常见的癌症。结肠癌最常见的筛查方式是粪便潜血试验，通过酶学或免疫学检测粪便中的血红蛋白。然而，粪便潜血试验的敏感性和特异性不足，限制了其在早期癌症检测中的应用。虽然结肠镜检查或乙状结肠镜检查的敏感性较高，但被认为耗时、侵入性强且繁琐。因此，非侵入性筛查生物标志物对于结肠癌的早期检测至关重要。结肠癌起源于胃肠道内壁的上皮细胞，这些细胞在特定的 DNA 序列中发生连续突变，破坏了增殖和自我更新的正常机制^[1]。肠道由小肠（十二指肠、空肠和回肠）和大肠或结肠组成，大肠或结肠包括盲肠、升结肠、横结肠和降结肠、乙状结肠、直肠和肛管。结肠壁的最内层（粘膜）内衬有吸收和分泌的柱状上

皮，该柱状上皮被折叠成手指状内陷，并与粘膜下结缔组织，形成肠道的功能单位，即 Lieberkühn 隐窝。正常人结肠由数百万个隐窝组成，其中包含约 2000 个细胞，并包括分化的细胞谱系（肠细胞，肠内分泌细胞和杯状细胞）。结肠癌是一种复杂的疾病，由环境因素、不同种类基因（癌基因、错配修复、细胞周期和肿瘤抑制基因）的遗传和表观遗传改变引起，这些改变信号通路已被确定为结肠癌发展的分子机制。当其中一些遗传改变和环境因素积累时，它们可以通过称为腺瘤癌序列的多阶段肿瘤发生过程导致结肠癌的发生和进展。人们普遍认为，干细胞生态位是由细胞成分和细胞外基质形成的，它们创造了一个特殊的微环境，对维持干细胞特性很重要，保护干细胞免受分化和凋亡刺激，并通过各种细胞因子和生长因子的直接相互作用和分

*通讯作者：窦鹏挥

泌调节增殖和分化之间的平衡^[2]。干细胞的自我更新和分化还受到源自细菌或上皮细胞的隐窝腔成分以及肠上皮肌成纤维细胞分泌的形态发生因子的影响。假设肿瘤发生过程是由癌症干细胞中关键信号通路的失调引起的, 从而改变了包括生长、增殖和细胞凋亡在内的几种细胞生物学过程的平衡。

1 CD44

1.1 CD44 基因结构

目前, 越来越多的证据支持一种假设, 即存在一种称为癌症干细胞 (CSC) 的癌细胞亚群, 它们有助于肿瘤的发生、复发和对放疗或化疗的耐药性, 例如: 一些肿瘤起始细胞标志物为 CD24、CD26、CD29、CD44; CD133、CD166 已在结肠癌中报道。其中, CD166 (ALCAM) 与总生存期相关, 被认为是结肠癌患者 II 期的预测生物标志物。同样, CD44 表达在结肠癌患者中相关性为 100%, 其表达与预后不良显著相关。

CD44 是跨膜蛋白家族的成员, 该家族包括至少 20 个由单个基因通过选择性剪接和翻译后修饰产生的变异。人类 CD44 基因包括 20 个外显子: 外显子 1-5 和外显子 16-20 形成一个 mRNA, 编码存在于所有组织中的标准形式的 CD44; 外显子 6-15 受到选择性剪接的影响。人 CD44 蛋白的标准亚型包含 363 个氨基酸, 由三个区域组成: 细胞外 (270 aa)、跨膜 (21 aa) 和 C 末端细胞质 (72aa) 结构域。可变外显子的存在, 主要涉及细胞外结构域, 赋予 CD44 很大的生物学功能变异性, 当 CD44 在肿瘤细胞上表达时, 这有助于致瘤性^[3]。CD44 mRNA 中可变外显子的选择性剪接带来了丰富的变异, 包括 CD44v2、CD44v3、CD44v5、CD44v6 等, CD44v 仅在部分上皮细胞中检测到。此外, CD44 没有可变外显子的同工型称 CD44s, 它是最小的 CD44 分子, 在脊椎动物细胞上表达。CD44 及其同工型在癌症中发挥着不同的作用。先前的研究报道, CD44 激活了许多信号通路, 包括 MAPK、PI3K/Akt 和 Wnt 通路。这些通路的激活与肿瘤生长、迁移、EMT、化疗耐药和细胞凋亡耐药有关^[4]。此外, CD44 已被证明可将 MMP-9 活性定位于细胞表面, 然后促进肿瘤生长和转移。

1.2 CD44 与结肠癌的关系

目前 CD44 已被提议作为多种实体瘤的标志物, 包括乳腺癌、胰腺癌、头颈癌、非小细胞肺癌、肝细胞癌和结肠癌。与 CD44s 细胞相比, CD44⁺ CRC 细胞在体外形成集落的能力更强, 在体外的致瘤性更高。在结肠癌中, CD44 在肿瘤组织中的表达水平较正常组织显著

增高, 且下调其表达可以抑制肿瘤细胞的克隆形成能力。血管生成是恶性肿瘤的重要特征之一, 基于基因芯片的研究发现, CD44 可以促进血管结构的形成, 进而在肿瘤的恶性进展中发挥作用。Galizia 等研究发现, CD44 表达阳性往往提示结直肠癌患者的不良预后。CD44 可以代表 CRC 的合适治疗靶点, 因为它在正常细胞和癌细胞之间呈现出两种不同的形式。事实上, 不同的局部环境压力导致了不同的剪接和翻译后修饰, 从而产生了不同的 CD44 分子, 这些分子可以被用于诊断和治疗的特定药物识别^[5]。CD44 敲除被证明可以抑制体内肿瘤的生长和转移^[6], Du 等证实了这一发现。樊慧云等采用免疫组化方法, 检测 65 例结直肠癌原发灶、正常结肠黏膜、转移淋巴结 CD44 表达与病理和临床分期。结果 65 例结直肠癌原发灶、正常结肠黏膜、转移淋巴结 CD44 表达阳性率分别为: 47.7%、21.5%、89.2%。原发灶和转移淋巴结中 CD44 表达阳性率高于正常肠黏膜组织 ($P < 0.01$)。比较不同病理组织学类型 CD44 表达检测结果, 低分化腺癌 CD44 阳性率高于中分化和高分化腺癌 ($P < 0.05$)。结直肠癌原发灶 CD44 阳性组淋巴结转移率明显高于 CD44 阴性组淋巴结转移率。两组比较有显著统计学差异 ($P < 0.01$)。结论 CD44 表达与结直肠癌发生、淋巴结转移及患者预后密切相关^[7]。Khoursheed 等对 49 例结直肠癌的癌旁组织和肝组织、原发性结直肠癌以及转移癌标本进行 CD44 表达分析时发现, 41% 的恶性上皮组织染色阳性, 而 10% 的正常组织染色阳性。恶性和正常结直肠组织间质细胞均呈高染色 (86%), CD44 呈细胞质、混合或膜质染色。此外, 在邻近的正常组织中, 只有 4% 的上皮细胞和 65% 的间质组织的 CD44 染色是中等至强烈的^[8]。

2 Septin9 基因结构

Septin 系基因是一类具有三磷酸鸟苷活性的保守基因家族, 在芽殖酵母的细胞周期过程中首次被发现, 后续研究表明其广泛存在于真核生物中。Septin 基因家族编码胞质 GTP 结合和水解蛋白, 这些蛋白可能形成丝状复合物, 并参与多种细胞过程, 包括细胞分裂、囊泡运输、细胞凋亡和细胞极性维持, 12 个人类 septin 家族在核心 GTP 结合域显示出相当大的同源性, 但在 N 和 C 端出现分化。虽然大多数可用的数据与模式生物中 septin 的生物学和生物化学有关, 一些证据表明 septin 在肿瘤的发展中起作用^[9]。我们已经证明, 在散发性上皮性卵巢肿瘤中, Septin9 映射到染色体 17q25.3 上的等位基因不平衡区域和 Septin9 被独立鉴定为散发

性乳腺癌中一个等位基因不平衡的区域^[10]。Ontagna 等人表明, Septin9 在小鼠乳腺癌模型和 9 种人类乳腺癌细胞系中的 6 种中被扩增和过表达^[11]。

2.1 Septin9 与结肠癌的关系

Kinga 等对样本的 37 个组织病例进行了免疫组织化学染色, 在正常样本中, 上皮细胞中发现弥漫性细胞质 Septin9 蛋白表达, 其对管腔上皮的表达更强烈。在大多数腺瘤样本中, 中度或弱免疫反应主要局限于上皮细胞的顶端细胞。Septin9 蛋白在大多数结肠癌样本中的表达是异质的。发现弱的弥漫性细胞质蛋白表达但肿瘤组织的某些部分比其他区域显示出更密集的免疫染色。健康组的所有标本 (即 100%) Septin9 具有强烈的免疫反应。在腺瘤和癌症中, 对应于免疫反应性上皮细胞率分别为 42.8% 和 38.4%。因此, 在疾病进展的腺瘤序列中^[12]观察到 Septin9 免疫检测减弱的趋势。李楠等通过免疫组织化学方法检测胃癌及其癌旁组织中 Septin9 蛋白表达水平。结果在 102 例中, 胃癌组织中 Septin9 的阳性表达率明显高于癌旁组织。在 58 例中, 23 例高中分化胃癌组织的 Septin9 高表达, 在 44 例中, 40 例低分化胃癌组织 Septin9 高表达。Septin9 在胃癌组织中高达, 且与胃癌的分化程度有关^[13]。有研究通过抗 SEPT9_v1 特异性抗体以 1:200 稀释在石蜡包埋或冷冻的人乳腺组织切片上进行免疫组化, 通过免疫组化测试 17 对匹配的正常和原发性乳腺癌组织, 使用亚型特异性抗体进行 Septin9-v1 表达。引人注目的是, 配对样本中有 17 个 (70%) 在原发性正常乳腺上皮组织中 Septin9-v1 染色呈阴性或非常弱, 但患者匹配的肿瘤组织染色非常强烈^[14]。Guodong Zhang 等发现 Septin9 表达水平在胶质瘤组织和细胞系中显著上调。Septin9 的高表达预示着胶质瘤患者的总生存期较差。Septin9 敲低显著降低了胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭。此外, 上皮-间充质转化 (EMT) 标志物, 包括 N-钙粘蛋白、基质金属蛋白酶-9 (MMP9)、波形蛋白, 均因敲低 Septin9 而显著降低; 然而, Septin9 沉默使钙粘蛋白的表达升高。神经胶质瘤细胞中的这种 EMT 过程依赖于转化生长因子 (TGF) - β 1 的表达。此外, 临床分析表明, 不同级别原发性胶质瘤患者 Septin9 基因表达与 TGF- β 1 呈正相关。此外, 敲除 Septin9 显著降低了体内胶质瘤的进展^[15]。Roni Gilad 研究了 Septin9 亚型 1 蛋白 (Septin9-i1) 在人前列腺癌标本中的表达, 是一项对 50 个石蜡包埋的前列腺癌样本的回顾性研究: 38 个来自根治性前列腺切除术, 6 个来自根治性膀胱前列腺切除术, 6 个来自经尿道前列腺

切除术, Septin9-i1 蛋白在前列腺癌细胞中表达, 但在正常上皮细胞中不存在。染色强度与治疗前前列腺特异性抗原 (PSA) 血水平和格里森评分成正比。Septin9-i1 在所有转移性病灶中均高表达^[16]。

目前结肠癌发病率极高, 起病常较隐匿, 早期临床表现常不明显, 缺乏有效的诊疗手段。Septin9 与 CD44 在结肠癌诊断、疗效、预后具有显著的临床意义, 但具体机制需要进一步研究。希望为以后的临床诊疗提供有效的帮助。

参考文献

- [1] McDonald, Stuart A C et al. "Mechanisms of disease: from stem cells to colorectal cancer." *Nature clinical practice. Gastroenterology & hepatology* vol. 3,5 (2006): 267-74.
- [2] Medema, Jan Paul, and Louis Vermeulen. "Microenvironmental regulation of stem cells in intestinal homeostasis and cancer." *Nature* vol. 474,7351 318-26. 15 Jun. 2011.
- [3] Sneath RJ, Mangham DC. The normal structure and function of CD44 and its role in neoplasia. *Mol Pathol*. 1998 Aug;51(4):191-200.
- [4] Miletti-González, Karl E et al. "The CD44 receptor interacts with P-glycoprotein to promote cell migration and invasion in cancer." *Cancer research* vol. 65,15 (2005): 6660-7.
- [5] Misra, Suniti et al. "Delivery of CD44 shRNA/nanoparticles within cancer cells: perturbation of hyaluronan/CD44v6 interactions and reduction in adenoma growth in Apc Min/+ MICE." *The Journal of biological chemistry* vol. 284,18 (2009): 12432-46.
- [6] Du, Lei et al. "CD44 is of functional importance for colorectal cancer stem cells." *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* vol. 14,21 (2008): 6751-60.
- [7] 蔡慧云, 于波, 白雪等. CD44 在结直肠癌病灶及转移淋巴结中的表达及临床意义[J]. *临床军医杂志*, 2012, 40(04): 851-853.
- [8] Khoursheed, Mousa et al. "Expression of CD44s in human colorectal cancer." *Pathology oncology research: POR* vol. 8,3 (2002): 170-4.
- [9] Kartmann, B, and D Roth. "Novel roles for mammalian septins: from vesicle trafficking to oncogenesis." *Journal of*

- cell science vol. 114,Pt 5 (2001): 839-44.
- [10] Kalikin, L M et al. "Genomic and expression analyses of alternatively spliced transcripts of the MLL septin-like fusion gene (MSF) that map to a 17q25 region of loss in breast and ovarian tumors." *Genomics* vol. 63,2 (2000): 165-72.
- [11] Montagna, Cristina et al. "The Septin 9 (MSF) gene is amplified and overexpressed in mouse mammary gland adenocarcinomas and human breast cancer cell lines." *Cancer research* vol. 63,9 (2003): 2179-87.
- [12] Tóth K, Wasserkort R, Sipos F,etal. Detection of methylated septin 9 in tissue and plasma of colorectal patients with neoplasia and the relationship to the amount of circulating cell-free DNA. *PLoS One*. 2014 Dec 19;9(12):e115415.
- [13] 李楠,王贺玲,梁晓平等.SEPTIN 9 在胃癌组织中的表达及临床意义[J].中国微创外科杂志,2014,14(12):1125-1127.
- [14] Gonzalez, Maria E et al. "High SEPT9_v1 expression in human breast cancer cells is associated with oncogenic phenotypes." *Cancer research* vol. 67,18 (2007): 8554-64.
- [15] Zhang, Guodong et al. "Down-regulation of SEPT9 inhibits glioma progression through suppressing TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition (EMT)." *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* vol. 125 (2020): 109768.
- [16] Gilad R, Meir K, Stein I,etal. High SEPT9_i1 protein expression is associated with high-grade prostate cancers. *PLoS One*. 2015 Apr 21;10(4):e0124251.

版权声明: ©2023 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS