Modern Practical Medicine, January 2025, Vol. 37, No. 1

·诊治分析·

DKK-1、β-catenin 在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义

张君智，陈璇，郑浩，李雨玲

【关键词】 非小细胞肺癌；Dickkopf -相关蛋白 1；β-catenin；病理特征
doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2025.01.017
【中图分类号】 R734.2 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-0800(2025)01-0064-03

非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer，NSCLC）是肺癌中最常见的类型，占肺癌总数的 80%～85%，包括鳞状细胞癌、腺癌及大细胞癌等多种亚型，患者主要表现出咳嗽、咯血、胸痛及呼吸困难等症状[1]。NSCLC 发生机制较为复杂，涉及多基因参与、多步骤发展过程，如抑癌基因失活、抗凋亡基因过度表达以及一些列信号转导通路改变等均可能促进肿瘤的发生、发展[2-3]。Dickkopf -相关蛋白 1（dickkopf-related protein 1，DKK1）属于分泌蛋白（DKKs）家族中的一员，是 Wnt/β-连环蛋白（β-catenin）信号转导通路的拮抗剂，可通过抑制 Wnt 信号通路调控 NSCLC 癌细胞的凋亡。研究认为[4]，DKK-1 可通过影响肿瘤免疫微环境来促进癌细胞的免疫逃逸。β-catenin 是一种多功能蛋白质，在细胞连接处与钙黏素相互作用参与形成黏合带，而游离β-catenin 可进入细胞核，调节基因表达。此外，β-catenin 是 Wnt/β-catenin 信号转导通路的关键蛋白，可通过调控该通路导致癌细胞的增殖和转移[5]。本研究拟探讨 DKK-1、β-catenin 在 NSCLC 中的表达及与病理特征的关系，现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2020 年 1 月至 2022 年 4 月丽水市人民医院收治的 NSCLC 患者 106 例，其中男 69 例，女 37 例；年龄 45～79 岁，平均（64.4±4.9）岁；腺癌 61 例，鳞癌 45 例。纳入标准：（1）病理学检查确诊为 NSCLC；（2）年龄＞18 岁；（3）具有完整的临床病理资料，包括肿瘤大小、淋巴结转移情况及病理分型等；（4）体能状态评分（eastern cooperative oncology group，ECOG）0～2 分，能够耐受相关检查和治疗；（5）随访信息齐全。排除标准：（1）合并其他恶性肿瘤者；（2）患有严重的心、肝、肾等重要脏器功能障碍者；（3）存在自身免疫性疾病或正在接受免疫抑制治疗者；（4）有精神疾病或认知障碍者；（5）近 3 个月内有严重感染或重大手术史者。本研究获得丽水市人民医院科研伦理委员会批准，免除/豁免知情同意。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂 特异性抗 DKK-1 抗体、抗β-catenin 抗体、免疫组化试剂盒、抗原修复液（柠檬酸缓冲液或 EDTA 缓冲液）、过氧化氢溶液、磷酸盐缓冲液（PBS）及苏木精染液。

1.2.2 检测方法 将 NSCLC 癌组织进行石蜡包埋，切片（4～5 μm 厚度），然后将切片置于 60 ℃烤箱中放置 60 min，使切片紧密黏附在载玻片上。将切片依次放入二甲苯 I 15 min、二甲苯 II 15 min 进行脱蜡，然后依次放入无水乙醇 5 min、95%乙醇 5 min、80%乙醇 5 min 及 70%乙醇 5 min 进行水化。根据抗体说明书选择合适的抗原修复方法，将切片放入 EDTA 缓冲液的高压锅中加热至沸腾，喷气 2～3 min 后自然冷却至室温。将切片浸泡在 3%过氧化氢溶液中，室温孵育 10～15 min，用 PBS 冲洗切片 3 次，每次 5 min。滴加封闭液，室温孵育 10～15 min，以减少非特异性染色。分别滴加特异性抗 DKK-1 抗体和抗β-catenin 抗体，4 ℃过夜，用 PBS 冲洗切片 3 次，每次 5 min。滴加 DAB 显色剂，显微镜下观察显

基金项目： 浙江省医药卫生科技计划项目（2023KY1374）
作者单位： 323000 浙江省丽水，丽水市人民医院
通信作者： 张君智，Email：zhangjunzhi212@16.com

色情况，控制显色时间，直至出现合适的显色强度。用苏木精染液对细胞核进行复染 1 ～ 2 min，依次经过 70%乙醇 5 s、80%乙醇 5 s、95%乙醇 5 s、无水乙醇 5 s、二甲苯 I 5 s 及二甲苯 II 5 s 进行脱水透明，最后用中性树胶封片。

1.2.3　结果判读　显微镜下随机选择 5 个高倍视野（×400）进行观察和评估。染色强度计分为无染色 0 分，淡黄色 1 分，棕黄色 2 分，棕褐色 3 分。阳性细胞比例计分为无阳性细胞 0 分，阳性细胞比例＜ 10%计 1 分，阳性细胞比例 10%～ 50%计 2 分，阳性细胞比较＞ 50%计 3 分。染色强度计分和阳性细胞比例计分的乘积即为综合得分。DKK-1 阳性表达标准：综合计分＞ 2 分判定为阳性表达。β-catenin 阳性表达标准：细胞膜染色连续、完整，计为正常表达（阴性）；细胞膜染色不连续、部分缺失，同时伴有细胞质或细胞核染色，计为异常表达（阳性）。

1.3　统计方法　数据采用 SPSS 21.0 软件处理，计数资料以例数表示，采用χ^2检验；相关性分析采用 Spearman 分析。P ＜ 0.05 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　DKK-1、β-catenin 在 NSCLC 患者中表达及与临床病理特征的关系　NSCLC 癌组织中，DKK-1 阳性表达率为 27.36%（29/106），β-catenin 阳性表达率为 68.87%（73/106）。DKK-1 在Ⅰ～Ⅱ期、未发生淋巴结转移、未发生器官转移及低/中化的肿瘤组织中阳性表达率更高，而β-catenin 在Ⅰ～Ⅱ期、未发生淋巴结转移、未发生器官转移及高分化的肿瘤组织中阳性表达率更低，差异均有统计学意义（均P ＜ 0.05），见表 1。

2.2　DKK-1 和β-catenin 表达的相关性　DKK-1 和β-catenin 表达呈负相关（r= −0.639，P ＜ 0.05）。

3　讨论

研究表明[6]，DKK1 可在细胞外与配体 Wnt 竞争受体密度脂蛋白受体相关蛋白 6（LRP6）。当 DKK-1 与 LRP6 结合时，不仅阻断了 Wnt 蛋白与 LRP6 的结合，而且可以与细胞表面 Kremen 形成 DKK1-LRP6-Kremen 三元复合物并迅速被细胞内吞，从而导致 LRP6 被清除，阻断 Wnt 信号通路[7-8]。目前，DKK-1 已被证实在胃癌、结直肠癌、乳腺癌及白血病等疾病中存在表达下调[9-10]。也有研究发现[11]，DKK-1 在肺腺癌中的低表达与 DKK-1 启动子区域的甲基化有关。郭孟刚等[12]选取了 60 例 NSCLC 患者进行研究，经免疫组化法检测病理组织中的 DKK-1 表达情况发现，低分化程度、TNM 分期为III期、存在淋巴结转移的患者均表现为 DKK-1 低表达，这与本研究结果相符。该研究认为，DKK-1 低表达可能与β-catenin 蛋白的异常表达有关。本研究结果显示，DKK-1 在Ⅰ～Ⅱ期、未发生淋巴结转移、未发生器官转移及低/中分化的肿瘤组织中阳性表达率更高，而β-caten-

表 1　DKK-1、β-catenin 在 NSCLC 患者中的表达及与患者临床病理特征的关系　例（%）

病理特征		例数	DKK-1 表达			β-catenin 表达		
			阳性	χ^2 值	P 值	阳性	χ^2 值	P 值
性别	男	69	20（69.0）	0.26	＞ 0.05	51（69.9）	2.34	＞ 0.05
	女	37	9（31.0）			22（30.1）		
年龄	＜ 60 岁	35	11（37.9）	0.43	＞ 0.05	23（31.5）	0.24	＞ 0.05
	≥60 岁	71	18（6.1）			50（68.5）		
临床分期	Ⅰ～Ⅱ期	41	21（72.4）	19.15	＜ 0.05	19（26.0）	15.82	＜ 0.05
	Ⅲ～Ⅳ期	65	8（27.6）			54（74.0）		
肿瘤直径	＜ 5 cm	39	12（41.4）	0.36	＞ 0.05	28（38.4）	0.24	＞ 0.05
	≥5 cm	67	17（58.6）			45（61.6）		
淋巴结转移	是	62	4（13.8）	32.85	＜ 0.05	48（65.8）	8.24	＜ 0.05
	否	44	25（86.2）			25（34.2）		
器官转移	是	60	6（20.7）	20.96	＜ 0.05	47（64.4）	5.77	＜ 0.05
	否	46	23（79.3）			26（35.6）		
分化程度	低/中分化	84	15（51.7）	18.38	＜ 0.05	64（87.7）	10.12	＜ 0.05
	高分化	22	14（48.3）			9（12.3）		
病理类型	鳞癌	45	13（44.8）	0.09	＞ 0.05	29（39.7）	0.71	＞ 0.05
	腺癌	61	16（55.2）			44（60.3）		

in在Ⅰ～Ⅱ期、未发生淋巴结转移、未发生器官转移及高分化的肿瘤组织中阳性表达率更低（均$P < 0.05$）。这一研究结果提示DKK-1低表达和β-catenin高表达在NSCLC的发生发展及癌细胞转移中发挥了关键的作用。

研究证实[13]，β-catenin可以进入细胞核，与T细胞因子/淋巴增强因子（TCF/LEF）转录因子结合，激活与细胞增殖相关的基因表达，从而促进癌细胞的增殖。在正常细胞中，细胞质中的β-catenin与Axin、腺瘤性息肉病coli（APC）蛋白、糖原合成酶激酶3β（GSK-3β）和酪蛋白激酶1α（CK1α）等组成的“破坏复合体”相互作用，GSK-3β和CK1α对β-catenin进行磷酸化修饰，导致其被泛素化标记，通过蛋白酶体途径降解，从而维持细胞质中β-catenin的低水平状态。而在癌细胞中，当Wnt配体与Frizzled受体和LRP5/6结合时，会抑制“破坏复合体”的活性，阻止β-catenin的磷酸化和降解，使β-catenin在细胞质中积累，并进入细胞核与TCF/LEF结合，发挥转录激活作用[14]。既往有研究表明[15]，β-catenin的核内积累与肿瘤的恶性程度和不良预后密切相关。从本研究中也可以看出，高分化NSCLC的β-catenin表达阳性率较低，而低/中分化NSCLC表现出细胞质或细胞核的表达，说明β-catenin异常表达与癌细胞的分程度有关。王林辉等[16]研究表明，β-catenin的阳性表达与NSCLC的分化程度、远处器官转移、淋巴结转移及TNM分期明显相关（$P < 0.05$）。临床认为，β-catenin的异常激活可能导致其与E-钙黏蛋白的结合减少，从而破坏细胞间黏附，导致癌细胞更容易从原发肿瘤脱落而发生转移。本研究结果显示，在NSCLC癌组织中，DKK-1和β-catenin表达存在负相关性（$r=-0.639$，$P < 0.05$），这是因为DKK-1是Wnt/β-catenin信号通路的抑制因子。当DKK-1表达升高时，会与LRP5/6结合，使得Wnt信号无法传递，导致β-catenin不能在细胞质中积累，进而减少其进入细胞核发挥转录激活作用，使β-catenin的表达水平下降。

综上所述，在NSCLC中DKK-1与β-catenin的表达呈负相关，且两者的表达情况与患者的肿瘤分期、淋巴结转移、器官转移及分化程度等病理特征密切相关。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

[1] TSAI P C, LIU C A, YEH Y C, et al. Prognostic factors for recurrence-free survival in resected pathologic N2-stage III non-small cell lung cancer treated with upfront surgery[J]. J Chin Med Assoc, 2024, 87(2): 212-218.

[2] SUN Y, FAN L M, LI Y X. Low expression of LncRNA AFAP1-AS1 inhibits proliferation and promotes apoptosis of non-small cell lung cancer cells through inhibiting Wnt signaling pathway[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2023, 69(12): 176-180.

[3] NI L L, LI Z J, REN H L, et al. Berberine inhibits non-small cell lung cancer cell growth through repressing DNA repair and replication rather than through apoptosis[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2022, 49(1): 134-144.

[4] 乔华,谢丽,尤丽娜,等.血清Dickkopf-1水平与非小细胞肺癌骨转移的临床关系[J].国际肿瘤学杂志,2015,42(8):638-639.

[5] 禹莉,许颖,杨靖瑞,等.miR-497阻断Wnt/β-catenin信号通路抑制SGC-7901人胃癌失巢凋亡抵抗细胞的生长和转移[J].细胞与分子免疫学杂志,2023,39(7):617-625.

[6] ZENG P, YANG J, LIU L P, et al. ERK1/2 inhibition reduces vascular calcification by activating miR-126-3p-DKK1/LRP6 pathway[J]. Theranostics, 2021, 11(3): 1129-1146.

[7] ROY R, CHAKRABORTY B, PAL D,et al. Downregulation of Wnt/SScatenin self-renewal pathway in cervical cancer cells by polyphenolic compounds[J].Indian J Exp Biol, 2023, 61(9):673.

[8] CHOI R B, HOGGATT A M, HORAN D J, et al. Targeting sclerostin and Dkk1 at optimized proportions of low-dose antibody achieves similar skeletal benefits to higher-dose sclerostin targeting in the mature adult and aged skeleton[J]. Aging Dis, 2022, 13(6): 1891-1900.

[9] 王文涛,孔滨.DKK-1,VEGF在乳腺癌组织中的表达及其与预后的关系[J].中国现代普通外科进展, 2022, 25(10):777-781.

[10] 王丁,甘霖,张国铎,等.乳腺癌中DKKL1的表达、作用及机制探讨[J].肿瘤,2020,40(10):696-707.

[11] LICCHESI J D F, WESTRA W H, HOOKER C M, et al. Epigenetic alteration of Wnt pathway antagonists in progressive glandular neoplasia of the lung[J]. Carcinogenesis, 2008, 29(5): 895-904.

[12] 郭孟刚,秦治明,李珞畅.DKK-1和β-catenin在非小细胞肺癌中的表达及其相关性[J].重庆医科大学学报,2011,36(6):654-657.

[13] KARAMAN I, GUNAY A E, YERER M B, et al. Effect of kirenol on the interaction between the WNT/β-Catenin and RUNX2/TCF/LEF1 pathways in fracture healing in vivo[J]. Acta Orthop Traumatol Turc, 2020, 54(3): 320-329.

[14] CHEN M R, HE X. APC deficiency leads to β-catenin stabilization and signaling independent of LRP5/6[J]. Dev Cell, 2019, 49(6): 825-826.

[15] 王姗姗,赵天增.G蛋白信号传导调控因子17在肺癌中的表达及对细胞增殖和转移的影响[J].中华实验外科杂志,2024,41(2):259-262.

[16] 王林辉,陈慧勇,杜日昌,等.ILK、β-catenin和VEGF在非小细胞肺癌中的表达及意义[J].重庆医学,2020,49(9):1433-1437.

收稿日期：2024-08-28

（本文编辑：钟美春）