

锌指转录因子 Sall4 在胰腺癌中的表达及对 细胞侵袭和迁移的影响

曾庆彬¹⁾, 徐蓉²⁾, 董文志¹⁾, 陈志坚¹⁾, 廖伟然¹⁾, 龙奎¹⁾
(1)昆明医科大学第二附属医院肝胆胰外科三病区; 2)手术室, 云南昆明 650033)

[摘要] **目的** 研究胰腺癌组织中锌指转录因子 4(spalt like transcription factor 4, Sall4)的表达, 探究抑制其基因表达后对胰腺癌细胞侵袭和迁移的影响。**方法** 选取 2014 年 1 月至 2018 年 1 月昆明医科大学第二附属医院诊治的 64 例胰腺癌患者的肿瘤组织及癌旁样本进行研究。通过免疫组织化学染色检测胰腺癌及癌旁组织中 Sall4 蛋白表达, 并用实时定量 PCR 法检测癌和癌旁组织中 Sall4 mRNA 水平。同时, 分析患者组织蜡块和临床资料与 Sall4 蛋白表达的关系。从胰腺癌细胞系中筛选高表达 Sall4 的细胞, 分为对照组、shRNA-1 组和 shRNA-2 组。用 Sall4 慢病毒(抑制基因序列)转染 shRNA-1 组和 shRNA-2 组, 对照组仅转染试剂。通过 Western blotting 法检测 Sall4 表达量, 并筛选出 Sall4 抑制明显的胰腺癌细胞进行侵袭性和迁移能力研究;**结果** 64 例胰腺癌组织样本中有 28 例 Sall4(43.8%)呈阳性, 蛋白表达阳性率高于癌旁组织 5 例(7.8%), 强阳性有 16 例, 中等至弱阳性 12 例。样本中有 11 例胰腺癌患者发生了复发, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), 且其表达与淋巴结转移情况、肿瘤的分化程度以及肿瘤的分期具有相关性。研究表明相比于癌旁组织, Sall4 在胰腺癌组织中的表达更为明显($P < 0.05$)。此外, 胰腺癌组织中 Sall4 表达水平的升高可能与患者术后复发率的增加密切相关。shRNA-1 组和 shRNA-2 组成功抑制了 Sall4 的表达, 而 shRNA-1 组的抑制效果更明显。与对照组相比, shRNA-1 组的 SW480 细胞侵袭和迁移能力降低($P < 0.05$)。**结论** 胰腺癌患者的 Sall4 表达越高, 术后越容易复发; 抑制 Sall4 的表达能够显著抑制胰腺癌的细胞侵袭和迁移能力。

[关键词] 胰腺癌; 锌指转录因子 Sall4; 细胞侵袭; 细胞迁移

[中图分类号] R735.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X(2024)12 - 0042 - 07

Expression of Zinc Finger Transcription Factor Sall4 In Pancreatic Cancer and Its Impact on Cell Invasion and Migration

ZENG Qingbin¹⁾, XU Rong²⁾, DONG Wenzhi¹⁾, CHEN Zhijian¹⁾, LIAO Weiran¹⁾, LONG Kui¹⁾

(1) Dept. of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, The 2 Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 65000; 2) Dept. of Anesthesiology and Surgery, The 2nd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650033, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of spalt like transcription factor 4 (Sall4) in pancreatic cancer tissues and its clinical significance, as well as the impact of inhibiting its gene expression on the migration and invasion of pancreatic cancer cells. **Methods** This study involved 64 patients with pancreatic cancer treated at the 2nd Affiliated Hospital of Kunming Medical University from January 2014 to January 2018. Immunohistochemical staining was used to detect the expression of Sall4 protein in adjacent non-tumor tissues and pancreatic cancer tissues, respectively. Real-time quantitative PCR was used to measure the mRNA expression levels of Sall4 in the

[收稿日期] 2024 - 02 - 03

[基金项目] 云南省教育科学基金项目(2023Y0717); 昆明医科大学第二附属医院内科技计划项目(2020yk003)

[作者简介] 曾庆彬(1989~), 男, 江西赣州人, 医学硕士, 主治医师, 主要从事肝胆胰外科临床工作。

[通信作者] 龙奎, E-mail: dragonlonglong@139.com

cancerous and adjacent non-tumor tissues, respectively. The relationship between the clinicopathological data of these patients and the expression of Sall4 protein was also analyzed. The cells of high Sall4 expression were screened from the human pancreatic cancer cell lines PANC-1, Capan-1, SW 1990, HPAC, and HPAF-II. The pancreatic cancer cells of high Sall4 expression were divided into three groups: control group, shRNA-1 group, and shRNA-2 group. The shRNA-1 and shRNA-2 groups were transfected with the corresponding Sall4 lentiviral inhibitory gene sequences, while the control group was transfected with the reagent without an interference sequence. Western blotting was used to measure the expression of Sall4, and cells with significantly reduced expression were selected for subsequent experiments. The transfected cells were then assessed for their invasive and migratory abilities. **Results** Among the 64 samples of pancreatic cancer tissues, 28 cases (43.8%) were positive for Sall4 expression, a rate significantly higher than 5 cases (7.8%) in adjacent non-tumor tissues. Furthermore, 16 cases exhibited strong positivity, while 12 cases showed moderate or weak positivity. Recurrence occurred in 11 pancreatic cancer patients. The difference was statistically significant. The expression of Sall4 was correlated with tumor differentiation, staging, and lymph node metastasis, suggesting that Sall4 positivity might be an independent risk factor affecting the prognosis of pancreatic cancer. Among the five cell lines, PANC-1 had the highest relative expression of Sall4 and was selected for further experiments. The shRNA-1 and shRNA-2 groups successfully suppressed the expression of Sall4, with the shRNA-1 group showing a more pronounced effect. Compared to the control group, the invasive and migratory abilities of SW480 cells were significantly reduced in the shRNA-1 group ($P < 0.05$). **Conclusion** Sall4 is highly expressed in pancreatic cancer tissues, and higher expression is associated with a greater likelihood of postoperative recurrence. Inhibiting the expression of Sall4 can significantly suppress the invasion and migration abilities of human pancreatic cancer cells.

[**Key words**] Pancreatic cancer; Zinc finger transcription factor 4; Cell invasion; Cell migration

胰腺癌是 1 种高发病率和高死亡率的恶性肿瘤, 其死亡率在全球恶性肿瘤中高达第 4 位^[1]。胰腺癌的发病率和死亡率呈逐年上升趋势, 在所有恶性肿瘤中为预后最差的恶性肿瘤之一, 5 年生存率不超过 1%。胰腺癌发现时大多数为晚期, 手术死亡率和治愈率都较差。胰腺癌的高复发率和高转移率是其治疗的主要难点, 主要原因在于胰腺癌细胞对于传统的放疗和化疗方法不敏感^[2], 且具有较强的浸润和转移能力。在胰腺癌的研究中, 癌基因和抑癌基因的发现具有重要意义。锌指转录因子 4(spalt like transcription factor 4, Sall4) 为近些年新发现的 1 种原癌基因, 与多种疾病的发生发展具有密不可分的关系, 如白血病、多种遗传性疾病和淋巴瘤等^[3]。因此, 从分子层面上研究影响胰腺癌细胞生长和侵袭性的因素, 以及寻找有效的早期诊断和治疗方法, 成为了胰腺癌研究的关键方向和热点。因此, 寻找 1 种胰腺癌早期诊断和治疗靶点对提高胰腺癌患者的生存率至关重要^[1]。

研究发现, Sall4 是 1 种锌指转录因子, 在胚胎干细胞的自我更新中以及胚胎干细胞的多能性中起着重要作用。研究显示, 虽然 Sall4 在发育过程中的表达通常会减少, 在大多数成人组织中

甚至不存在, 但它在多种人类癌症中可能会异常表达, 包括胰腺癌。这种异常表达与许多恶性肿瘤的进展有关, Sall4 在药物抵抗以及调控癌细胞增殖、凋亡、转移等方面发挥重要作用^[4-5]。Sall4 在癌症中的功能通过对其靶基因起到激活或抑制的双重作用来进行表观遗传调节。并调控许多下游基因的表达和激活关键信号传导途径, 从而促进癌症的进展、转移、侵袭和治疗抵抗。因此, 本研究拟采用细胞慢病毒抑制实验的方法以及免疫组织化学染色方法探究 Sall4 与胰腺癌之间的联系。为此, 选取了一些恶性程度较高的胰腺癌细胞系, 用于进行更深入的细胞实验。在初步实验的基础上, 选出了几种 Sall4 高表达的细胞株, 并对这些细胞株进行了慢病毒转染和扩大培养。实验的主要目的是通过体内外模型抑制 Sall4 基因的表达, 从而分析该基因被抑制后对胰腺癌细胞的迁移能力及侵袭性的影响。现将该实验的方法、过程和结论汇报如下。

1 材料与方法

1.1 材料

收集昆明医科大学第二附属医院 2014 年 1 月

至 2018 年 1 月行手术治疗的 64 例胰腺癌患者的肿瘤组织及癌旁样本, 本研究已得到了昆明医科大学第二附属医院伦理委员会的批准(伦理编号: kmmu20221318)。肿瘤组织样本的纳入和排除标准可参考文献^[1-4], 实验中使用的胰腺癌细胞株 PANC-1、Capan-1、SW 1990、HPAC、HPAF-II, PANC-1 和 SW 1990 细胞株购自中科院昆明细胞库; 中国科学院上海细胞库提供其余胰腺癌细胞株。慢病毒转染试剂和 polybrene/Trizol 试剂由上海翊圣生物科技有限公司提供(上海翊圣, 货号: 19202ES60)。实验所需的 GAPDH 单克隆抗体(昆明洁美生物, 货号: 30202ES60)、RPMI-1640 培养基(昆明洁美生物, 货号: 41402ES76)、胎牛血清和细胞培养基 DMEM 由昆明洁美生物公司供应(昆明洁美生物, 货号: 40131ES76, 41401ES76)。吉凯基因科技有限公司提供实验所需的实时荧光定量 PCR 引物以及慢病毒载体的设计、合成及验证(吉凯基因, 货号: 10137ES03)。实验所需的逆转录试剂盒和 RNA 提取试剂盒由大连宝生物工程有限公司生产(大连宝生物, 货号: 11297ES09)。雅酶生物技术有限公司供应胰酶消化液、细胞裂解液(RIPA)和 BCA 蛋白定量试剂盒(雅酶生物, 货号: CB011; ZJ103)。ECL 成像系统(Tanon Chemi Dog 5200T)和 Transwell 小室则分别由上海天能科技有限公司和美国 Corning 公司提供(Corning, 货号: 3422)。兔抗单克隆抗体从美国 Abcam 公司和北京 Bioss 生物购买(美国 Abcam, 货号: ab226756; 北京 bioss bs-12204R)。

1.2 免疫组织化学染色研究

在本研究中, 收集了 64 例胰腺癌手术后的肿瘤组织及癌旁样本。首先使用 4% 的多聚甲醛溶液将样本固定, 然后将固定后的样本进行石蜡包埋, 制成蜡块以供后续实验使用。免疫组化染色过程: 石蜡切片经脱蜡以及水化处理, 进行抗原修复, 接着涂覆封闭剂。之后加入 Sall4 一抗工作液, 在 4 °C 环境中过夜。随后用 PBS 溶液冲洗 3 次, 再滴加二抗, 并再次用 PBS 冲洗 3 次。之后进行 DAB 显色处理, 随后苏木素复染, 最后使用中性树脂封固。每次实验均配备阳性和阴性对照, 并配有 HE 染色切片作为对照。免疫组化结果评估标准: 双盲法观察切片, Sall4 免疫组化阳性细胞表现为黄色或褐色着色。评分标准基于细胞染色强度和着色细胞所占比例, 细胞着色比例的评分标准为 0 至 4 分, 而细胞染色强度的评分为 0 至 3 分, 每个病例的总评分范围为 0 至 7 分。根据得分, 将 Sall4 表达水平划分为低表达

组(≤ 3 分)和高表达组(> 3 分)^[6]。

1.3 胰腺癌细胞培养、筛选、细胞荧光与基因沉默实验

在本研究中, 对 5 种胰腺癌细胞株(PANC-1、Capan-1、SW 1990、HPAC、HPAF-II)进行了培养、筛选与基因沉默实验。实验中, HPAC、PANC-1 和 SW 1990 细胞株使用 DMEM 高糖培养基培养, 而 Capan-1 和 HPAF-II 细胞株则通过 RPMI-1640 培养基培养。在适宜的生长条件下将所有细胞株培养至 6 孔板中融合率达到 70% ~ 80%, 随后提取蛋白, 通过 WB 法检测 Sall4 的表达水平。同时进行细胞荧光实验, 确定 Sall4 的表达定位。随机将实验中的细胞分为 3 组: shRNA-1 抑制组、shRNA-2 抑制组以及对照组。根据 GenBank 中的 Sall4 基因(NM-020436)数据, 设计了 2 种短发夹 RNA(shRNA)序列, 分别为 shRNA-1(5'-GCCTTGAAACAAGCCAAGCTA-3')和 shRNA-2(5'-GCCTTGAAGCAAGCCACGCTA-3'), 对照组的 shRNA 序列为 5'-TTCTCCGAACGTGT-CACGT-3'。用相应的 RNA 抑制序列分别转染 shRNA-1 组和 shRNA-2 组, 而对照组不添加抑制序列, 只添加转染试剂。转染操作步骤如下: 将细胞培养至 1×10^5 /孔密度, 随后将细胞培养在 24 孔板中, 直至细胞密度达到 2×10^5 /孔; 用含有 polybrene(6 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的转染液替换原培养基, 并加入含有目标基因的病毒悬液接着培养; 转染 6 h 后, 将 1.5 mL 新鲜培养基添加到培养板中。持续培养 1 天后使用新鲜培养基进行细胞培养; 转染至第 2 天后进行荧光观察, 并在转染效果最佳时收集各组细胞, 进行后续的细胞功能实验。

1.4 WB 法检测 Sall4 表达及细胞抑制筛选

在本实验中, 首先从之前分组的细胞中提取蛋白, 并进行蛋白质定量。之后, 混合均匀上样缓冲液和蛋白样品, 然后将上述混合液在沸水中加热以致蛋白质变性。接下来进行蛋白质电泳, 准备好 WB 胶并进行上样, 每个样孔大约添加 30 μg 蛋白, 使用 110 V 的恒压电泳和 220 mA 的恒流转膜。转膜完成后, 在 TBS-T 溶液中将 PVDF 膜快速漂洗 10 s, 并使用脱脂牛奶进行 1 h 封闭。随后, 在内参抗体和目的抗体中孵育膜被, 并在 4 °C 环境过夜。第 2 天, 通过 TBS 溶液洗膜 3 次, TBS-T 溶液洗膜 1 次, 加入二抗溶液, 室温下孵育 1 h。再次洗膜后曝光, 分析结果条带。根据 WB 法的结果, 首先对实验中的 5 个细胞株进行上述实验, 筛选出 Sall4 高表达细胞株, 同时对该细胞株进行 Sall4 转染抑制其表达, 检测

上述实验结果(部分操作和1.3相同)。

1.5 细胞侵袭与迁移能力的测定

本实验通过 Transwell 细胞侵袭试验以及细胞划痕试验评估细胞的迁移能力及侵袭能力。Transwell 细胞侵袭试验: 准备阶段: 在已预备好的 Matrigel 基质胶的 24 孔板中加入 Transwell 小室, 并将其在培养箱中过夜; 实验操作: 在 Transwell 小室的下室加入 10%FBS 的 DMEM 高糖培养基 500 μ L。使用无血清的 DMEM 高糖培养液将各组细胞重悬, 并加入 100 μ L 细胞悬液(大约含有 1×10^5 个细胞)于 Transwell 的上室; 结果分析: 48 h 后, 移除下室中的培养液, 在 4% 的多聚甲醛中将小室固定 15 min, 将小室内侧膜上的细胞擦除。使用 0.1% 的结晶紫溶液染色 15 min, 随后用 PBS 缓冲液漂洗。在显微镜下观察并拍照, 每孔随机选取 5 个视野进行统计分析。细胞划痕试验: 准备阶段: 将上述细胞在 6 孔板中培养, 然后在无血清条件下持续饥饿 24 h。实验操作: 使用移液枪头对细胞层进行划伤, 随后用 PBS 洗涤。结果分析: 使用相差显微镜在 0 h、24 h、48 h 后拍照记录。通过手动计数方法测定细胞迁移抑制率, 并以百分比形式表示。本研究的所有实验均进行了 3 次重复, 以确保结果的可靠性和重复性。

1.6 统计学处理

本研究中的数据分析是通过 SPSS19.0 软件进行的。统计结果以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用独立样本 t 检验比较 2 组变量, 应用单因素方差分析比较多组间变量, 两两比较运用 $LSD-t$ 检验。在本研究中, 当 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Sall4 在胰腺癌组织中的表达及其与临床病理特征的相关性

在本研究的 64 例胰腺癌组织样本中, 有 28 例 Sall4(43.8%)呈阳性, 蛋白表达阳性率高于癌旁组织 5 例(7.8%), 同时, 强阳性有 16 例, 中等至弱阳性 12 例样本中。有 11 例胰腺癌患者发生了复发, 且复发肿瘤的 Sall4 染色强度明显高于未复发肿瘤组织。根据表 1 所示结果, 肿瘤的发生大小($P = 0.015$)、发生位置($P = 0.049$)、分化程度($P = 0.024$)、AJCC 分期($P = 0.004$)及淋巴结转移($P = 0.038$)与 Sall4 的表达之间存在显著相关性, 见图 1。

表 1 Sall4 蛋白表达与临床病理特征的关系 [$n(\%)$]

Tab. 1 Relationship between Sall4 protein expression and clinicopathological features [$n(\%)$]

类别		n	SALL4阳性	χ^2 值	P 值
性别	男	48	17	1.29	0.256
	女	16	11		
年龄(岁)	≤ 60	29	18	2.10	0.148
	> 60	35	10		
肿瘤直径(cm)	≤ 4	42	10	5.93	0.015**
	> 4	22	18		
肿瘤位置	胰头	46	26	3.883	0.049**
	胰体尾	18	2		
肿瘤分化程度	高中分化	45	12	5.119	0.024**
	低分化	19	16		
肿瘤 AJCC 分期	I	30	23	8.529	0.004***
	II ~ III	34	5		
淋巴结转移	有	31	21	4.564	0.038**
	无	33	7		

** $P < 0.05$; *** $P < 0.005$ 。

2.2 胰腺癌细胞株中 Sall4 表达量的筛选

在对各胰腺癌细胞株进行的 Sall4 表达量筛选中, 分析显示, 在所研究的胰腺癌细胞株中, PANC-1 细胞株中 Sall4 相对表达量较高。同时实验研究发现 Sall4 在 PANC-1 细胞株中, 主要表达定位为细胞核中, 见图 2。

2.3 慢病毒载体在 PANC-1 细胞中对 Sall4 表达的抑制效果

在 PANC-1 细胞中, 使用慢病毒载体对 Sall4 的表达进行抑制。Western Blot 实验结果表明, 对照组的 Sall4 相对表达量为 (6.44 ± 1.28) , 而 shRNA-1 组和 shRNA-2 组的表达量分别为 (2.58 ± 0.47) 和 (0.66 ± 0.13) 。与此同时, 实时荧光定量 PCR 的结果也显示了相似的趋势, 对照组的表达量为 (8.66 ± 1.27) , shRNA-1 组和 shRNA-2 组分别为 (3.71 ± 0.78) 和 (1.24 ± 0.12) 。在 2 个 shRNA 组中, Sall4 表达均得到了抑制, 其中 shRNA-1 组的抑制效果更为显著($P < 0.05$), 见图 3。

2.4 慢病毒载体通过抑制 Sall4 表达对 PANC-1 细胞侵袭能力及迁移能力的影响

本研究中, 使用慢病毒载体抑制 PANC-1 细胞中 Sall4 的表达, 并观察抑制 Sall4 的表达后对细胞迁移和侵袭能力的影响。在 PANC-1 细胞中, 对照组的细胞数量为 (312.00 ± 13.00) , 而 shRNA-1 组为 (79.00 ± 6.00) 。shRNA-1 组在 PANC-1 细胞中显著抑制了细胞的侵袭能力($P < 0.01$)。相关

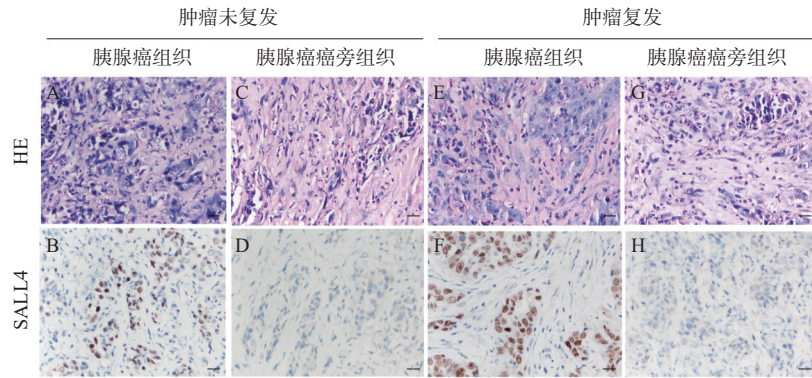


图 1 胰腺癌患者 Sall4 免疫组化表达及对应组织 HE 染色情况 ($\times 200$)

Fig. 1 Immunohistochemical expression of Sall4 in pancreatic cancer patients and corresponding HE staining of tissues ($\times 200$)

A: 胰腺癌组织 HE 染色; B: 胰腺癌组织 Sall4 染色; C: 胰腺癌癌旁组织 HE 染色; D: 胰腺癌癌旁组织 Sall4 染色; 注: A~D 组均为肿瘤未复发组; E: 胰腺癌组织 HE 染色; F: 胰腺癌组织 Sall4 染色; G: 胰腺癌癌旁组织 HE 染色; H: 胰腺癌癌旁组织 Sall4 染色; E-H 组均为肿瘤复发组。

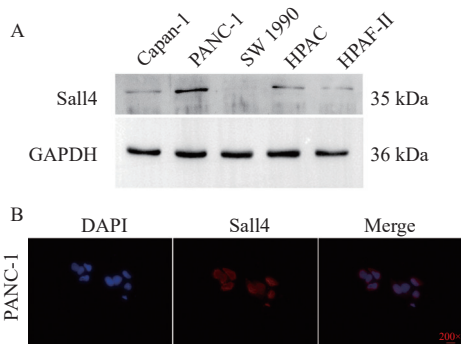


图 2 不同胰腺癌细胞中的 Sall4 表达情况 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Expression of Sall4 in Different Pancreatic Cancer Cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

A: 不同胰腺癌细胞中的 Sall4 表达 (WB); B: PANC-1 胰腺癌细胞中的 Sall4 表达 (细胞荧光)。

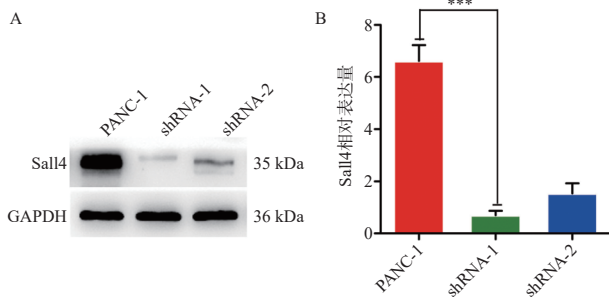


图 3 胰腺癌细胞 Sall4 抑制 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Sall4 inhibition of pancreatic cancer cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

A: shRNA 抑制胰腺癌细胞 PANC-1 中的 Sall4 表达; B: shRNA 抑制胰腺癌细胞 PANC-1 中的 Sall4 表达统计结果; *** $P < 0.001$ 。

的实验结果展示在图 4 中; 在迁移实验中, 通过慢病毒载体抑制 Sall4 表达, 观察其对 PANC-1 细胞迁移能力的影响。实验结果显示, PANC-1

对照组的细胞迁移率为 ($82.00\% \pm 13.00\%$), 而经 shRNA-1 处理后显著降低至 ($40.00\% \pm 5.00\%$)。shRNA-1 组在 SW480 细胞中有效抑制了细胞的迁移能力 ($P < 0.05$)。见图 4。

3 讨论

3.1 Sall4 在胰腺癌中的作用及与 DNA 甲基化的关联

Sall4 作为一种锌指转录因子, 在胰腺癌中有表达, 并与多种癌症的进展相关。Sall4 在调节癌细胞增殖、凋亡、转移和耐药性方面发挥重要作用。胰腺癌迁移能力和侵袭性与肿瘤微环境密切相关。近期的研究表明, 胰腺癌的表现遗传调控机制中, 在基因表达调控中, DNA 甲基化发挥着重要作用。Sall4 通过表观遗传修饰调节与干细胞自我更新和分化有关的基因的表达。Sall4 还通过表观遗传修饰调节其靶基因的表达, 包括 DNA 甲基化、组蛋白调节等。相比于正常上皮细胞, 肿瘤细胞表现出更强的 DNA 甲基化与 RNA 表达量的正相关关系, 特别是在基因本体的 DNA 甲基化和基因启动子区域的 DNA 甲基化与 RNA 表达量的关系中更为显著。这说明 DNA 甲基化在肿瘤发生过程中对基因表达的调控作用得到了增强。

3.2 Sall4 在肿瘤研究中的现状及作用

有研究提示胃癌中的 Sall4 是一种新发现的致癌基因, 通过调节各种下游基因, 参与肿瘤形成、肿瘤生长、肿瘤转移和药物抵抗^[4-7]。它与 β -连环蛋白相互作用, 激活 Wnt/ β -连环蛋白信号通路, 导致 Wnt/ β -连环蛋白途径的靶基因 (如

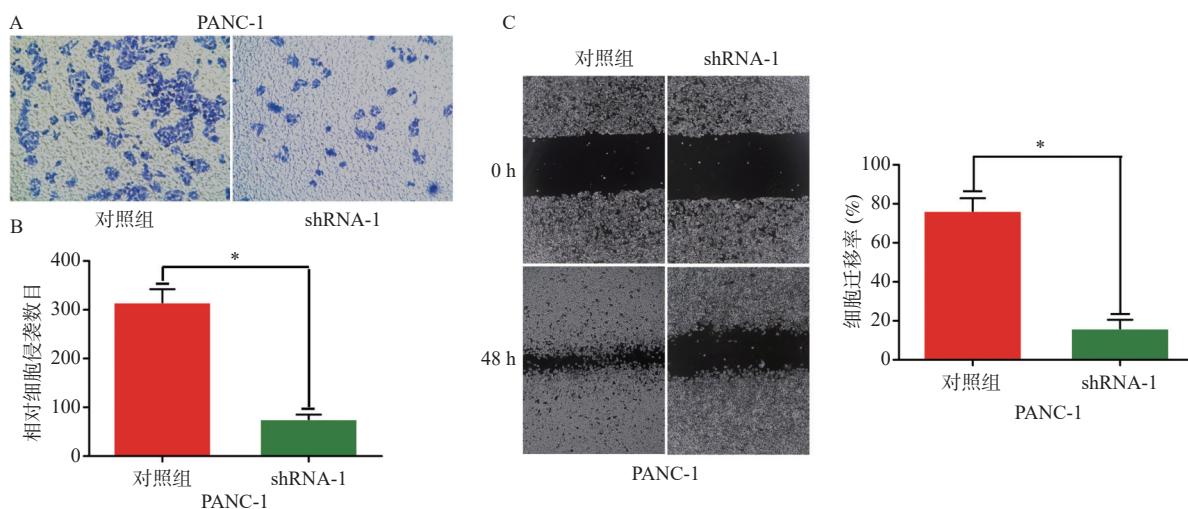


图 4 胰腺癌 PANC-1 抑制后侵袭结果和迁移结果

Fig. 4 Invasion and migration results of pancreatic cancer cells after PANC-1 inhibition

A: 胰腺癌 PANC-1 细胞在两组中的侵袭情况; B: 胰腺癌 PANC-1 细胞在 2 组中的侵袭情况结果统计; C: 胰腺癌 PANC-1 细胞在 2 组中的迁移情况; D: 胰腺癌 PANC-1 细胞在 2 组中的迁移情况统计; * $P < 0.05$ 。

cyclin D1 和 c-Myc) 的上调。Sall4 还可能通过与 β -连环蛋白的相互作用或通过招募组蛋白甲基转移酶复合物到特定启动子区域, 介导 H3-K4 三甲基化和转录激活, 从而激活 CD44 的表达。CD44 是 1 种细胞表面粘附分子, 在细胞增殖、分化、粘附、迁移和侵袭中起着关键作用, 并且对上皮-间质转换 (epithelial-mesenchymal transitions, EMT) 和癌症发展至关重要。CD44 也被认为是癌症干细胞标记。CD44 在胃癌中的表达增加, 并且与肿瘤分期和肿瘤转移呈正相关, 是胃癌的独立预后因子^[7-9]。研究观察到, 敲低 Sall4 导致胃癌细胞中 CD44 的下调, 而在 Sall4 敲低细胞中过表达 CD44 增加了体外的癌细胞增殖、迁移和侵袭, 以及小鼠模型中的肿瘤生长。在胃癌患者样本中, Sall4 和 CD44 的表达呈正相关, 它们的表达增加与不良预后相关^[10-11]。ChIP 研究表明, 内源性 Sall4 蛋白能够直接结合到胃癌细胞中 CD44 的启动子区域, 表明 CD44 是 Sall4 的直接靶标。这项研究提供了关于 Sall4 在癌症中的致癌功能的新见解, 并表明, 针对 Sall4-CD44 通路的靶向耗竭可能是 1 种新的抗癌治疗方法^[12-14]。

3.3 Sall4 在胰腺癌中的表达及对细胞侵袭和迁移的影响

研究表明 Sall4 的高表达与胰腺癌的不良预后相关, 并且 Sall4 基因的表达及其转录标记主要与间质通路相关联, 这表明 Sall4 通过产生和维持胶原蛋白网络在基质支持中起重要作用。尽管这项研究集中在胃癌上, 但 Sall4 和 CD44 及其在细胞增殖、迁移和侵袭中的作用的分子机制, 可

能也与胰腺癌相关, 鉴于这些因素在癌症进展中更广泛的参与。需要进一步的研究来确认这些机制和治疗策略在胰腺癌背景下的具体情况。然而, 胰腺癌的发生和发展涉及多种基因和信号通路的异常, 是一个复杂的多步骤过程。Sall4 的作用可能不仅限于单一的信号通路或靶基因, 它可能与多种信号通路和效应器相互作用, 共同推动肿瘤的进展^[14-16]。同时, Sall4 还可能通过招募组蛋白甲基转移酶复合物到特定启动子区域, 介导染色质的改造, 从而影响多个基因的表达^[15-17]。在致力于揭示 Sall4 在胰腺癌中的作用机制的同时, 还需注意到肿瘤微环境在肿瘤发展中的重要作用。肿瘤微环境的各种成分, 如基质细胞、免疫细胞以及细胞外基质, 都可能影响 Sall4 的表达和功能, 进而影响胰腺癌细胞的侵袭和迁移能力。

在本研究中, 笔者发现高表达的 Sall4 在胰腺癌患者中更易复发, 且与肿瘤的淋巴转移, 分级预后相关。研究揭示, 通过抑制 Sall4 的表达, 可以减弱 PANC-1 胰腺癌细胞的迁移能力和侵袭能力。因此, Sall4 有望成为治疗胰腺癌的潜在靶点以及胰腺癌药物研发的新方向。

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局. 胰腺癌诊疗指南 2022 年版 [J]. 中华消化外科杂志, 2022, 21(9): 1117-1136.
- [2] 王军华, 王锐炫. 胰腺癌新辅助化疗现状和治疗策略.

- 中华肝脏外科手术学电子杂志, 2024, 13(5): 640–643.
- [3] Fatma A, Abouelnazar, Xiaoxin Zhang, Maoye Wang, et al. The new advance of SALL4 in cancer: Function, regulation, and implication[J]. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 2023, 37(9): 1–16.
- [4] Zhang Y, Bharadwaj U, Logsdon C D, et al. ZIP4 regulates pancreatic cancer cell growth by activating IL-6/STAT3 pathway through zinc finger transcription factor CREB. [J]. *Clinical Cancer Research*, 2010, 16(5): 1423–1430.
- [5] Maity G, Haque I, Ghosh A, et al. The MAZ transcription factor is a downstream target of the oncoprotein Cyt61/CCN1 and promotes pancreatic cancer cell invasion via CRAF-ERK signaling[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2018, 293(12): 4334–4349.
- [6] Wei C Y, Zhu M X, Zhang P F, et al. PKC α /ZFP64/CSF1 axis resets the tumor microenvironment and fuels anti-PD1 resistance in hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2022, 77(1): 163–176.
- [7] Huang W, Li N, Hu J, et al. Inhibitory effect of RNA-mediated knockdown of zinc finger protein 91 pseudogene on pancreatic cancer cell growth and invasion[J]. *Oncology Letters*, 2016, 12(5): 1343–1348.
- [8] Shidan Liu, Jiayi Luan, Yan Ding, et al. miR-144-3p Targets FosB Proto-oncogene, AP-1 Transcription Factor Subunit (FOSB) to Suppress Proliferation, Migration, and Invasion of PANC-1 Pancreatic Cancer Cells[J]. *Oncology Research*, 2018, 26(5): 683–690.
- [9] Inaguma S, Ito H, Riku M, et al. Addition of pancreatic cancer cells to zinc-finger transcription factor ZIC2[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(29): 28257–28268;
- [10] Vienot A, Monnier F, Truntzer C, et al. SALL4-related gene signature defines a specific stromal subset of pancreatic ductal adenocarcinoma with poor prognostic features[J]. *Mol Oncol*, 2023, 17(7): 1356–1378.
- [11] Jung J, Park S, Jang Y, et al. Clinical significance of glycolytic metabolic activity in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 15(186): 1–14.
- [12] Ding Y, Cho M, Chan A, et al. SALL4 is expressed in pancreatic acinar cell carcinoma[J]. *Case Reports in Clinical Pathology*, 2014, 1(2): 36–41;
- [13] Hotz B, Visekruna A, Buhr H J, et al. Beyond epithelial to mesenchymal transition: a novel role for the transcription factor snail in inflammation and wound healing[J]. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 2010, 14(2): 388–397.
- [14] Dengfeng C, Humphrey P A, Allan R W. SALL4 is a novel sensitive and specific marker for metastatic germ cell tumors, with particular utility in detection of metastatic yolk sac tumors[J]. *Cancer*, 2019, 12(115): 2640–2651.
- [15] Akimasa Seno, Tomonari Kasai, Masashi Ikeda, et al. Characterization of Gene Expression Patterns among Artificially Developed Cancer Stem Cells Using Spherical Self-Organizing Map[J]. *Cancer Informatics*, 2016, 15(5): 163–178.
- [16] Sherma Zibadi et al. “SALL4 expression in gastrointestinal and pancreatic adenocarcinoma and hepatocellular carcinoma: an immunohistochemical study” [J]. *American Journal of Clinical Pathology*, 2014(1): 214–218.
- [17] Xingding Zhang, Jing Yu, Yang Qin, et al. The zinc finger transcription factor ZKSCAN3 promotes prostate cancer cell migration[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2012, 44(7): 1166–1173.