

网络出版时间: 2024-07-03 09:49:11 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20240702.1450.019>

SOX7 通过靶向调控 SHP-2/Wnt/ β -catenin/ROS 通路抑制结直肠癌细胞增殖、侵袭和迁移

武雪亮^{1,2}, 王立坤³, 马洪庆⁴, 李少东¹, 梁艳¹, 惠志龙¹, 韩磊¹, 薛军¹

摘要 目的 研究 SOX7 调控 SHP-2/Wnt/ β -catenin/ROS 通路从而影响结直肠癌细胞增殖、侵袭和迁移的分子机制。方法 将 20 只裸鼠皮下移植瘤模型随机分为 SOX7 NC 组 ($n=5$)、SOX7 mimic 组 ($n=5$)、SOX7 NC + PHPS1 组 ($n=5$) 和 SOX7 mimic + PHPS1 组 ($n=5$), 观察肿瘤生长情况。通过脂质体法将人结直肠癌细胞系 SW480 细胞转染后, 将细胞分为 6 组, 分别为 SOX7 NC 组、SOX7 mimic 组、SOX7 NC + H₂O₂ 组、SOX7 mimic + H₂O₂ 组、SOX7 NC + PHPS1 组、SOX7 mimic + PHPS1 组。通过 Western blot 实验检测各组 SW480 细胞 SHP-2/Wnt/ β -catenin/ROS 通路相关蛋白的表达, 通过细胞划痕实验和 Transwell 侵袭迁移实验检测 SW480 细胞的侵袭迁移能力, 通过 CCK-8 检测 SW480 细胞的增殖。结果 小鼠体内实验显示: SOX7 mimic 组肿瘤体

积明显小于 SOX7 NC 组 ($P < 0.01$), 经过 PHPS1 干预的肿瘤体积明显增大, SOX7 mimic + PHPS1 组肿瘤体积和 SOX7 NC + PHPS1 组的差异无统计学意义。体外实验发现: SOX7 mimic 抑制了 SW480 细胞 Wnt、 β -catenin、NOX2、NOX4、PI3K、P-PI3K、AKT、P-AKT 蛋白表达 ($P < 0.01$), 促进了 p-SHP-2 蛋白表达 ($P < 0.01$); 加入 H₂O₂ 和 SHP-2 抑制剂后 SOX7 mimic 组和 SOX7 NC 组的 Wnt、 β -catenin、NOX2、NOX4、PI3K、P-PI3K、AKT、P-AKT 的蛋白表达水平升高, 但差异无统计学意义, SHP-2、p-SHP-2 蛋白的表达水平降低, 但差异无统计学意义; 细胞划痕、Transwell 侵袭迁移实验和 CCK-8 实验结果表明 SOX7 通过氧化应激和 SHP-2 通路抑制了 SW480 细胞的迁移、侵袭和增殖 ($P < 0.01$)。结论 SOX7 可通过靶向 SHP-2/Wnt/ β -catenin/ROS 通路抑制结直肠癌增殖、侵袭和迁移。

关键词 结直肠癌; SOX7; ROS; SHP-2; Wnt/ β -catenin; 增殖; 侵袭; 迁移

中图分类号 R 737.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2024)07-1237-07
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.07.020

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是一种常见的消化道恶性肿瘤, 在 2020 年在全球范围内引发了

2024-02-20 接收

基金项目: 河北省自然科学基金精准医学联合基金项目 (编号: H2022405033); 河北省卫计委医学科学重点课题计划项目 (编号: 20231402)

作者单位: 河北北方学院附属第一医院¹ 普通外科、² 肿瘤研究所、³ 超声医学科 张家口 075000⁴ 河北医科大学第四医院外二科 石家庄 050000

作者简介: 武雪亮, 男, 副主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: wxlwk@163.com

protein expression levels of LRRK2, p-p38 mitogen activated protein kinase (MAPK), p38 MAPK and Iba-1 in the dorsal horn of the rat spinal cord. **Results** Compared with the sham group, the model group showed a significant decrease in MWT and PWTL in the right hind limb of rats ($P < 0.01$). The levels of IL-1, IL-6, and TNF in the spinal dorsal horn tissue, as well as the expression levels of LRRK2, Iba-1 proteins and p-p38 MAPK/p38 MAPK protein ratio significantly increased ($P < 0.01$). The proportion of Iba-1 positive cells in the spinal cord tissue significantly increased ($P < 0.01$), while Nissl bodies were significantly reduced ($P < 0.01$). Compared with the model group, the MLI-2 group showed a significant increase in MWT and PWTL in the right hind limb of rats ($P < 0.01$), a significant increase in Nissl bodies ($P < 0.01$), a significant decrease in the proportion of Iba-1 positive cells in the spinal cord tissue ($P < 0.01$), and a significant decrease in the levels of IL-1, IL-6, and TNF and the expression levels of LRRK2, Iba-1 proteins and p-p38 MAPK/p38 MAPK protein ratio ($P < 0.01$). However, Anisomychin intervention could activate the p38 MAPK signaling pathway and partially reverse the beneficial effects of MLI-2 on pain sensitivity and neuroinflammation in rats with neuropathic pain. **Conclusion** Inhibiting the expression of LRRK2 can alleviate pain sensitivity in NP rats induced by microglia activation mediated neuroinflammation, and its mechanism of action may be related to regulating the p38 MAPK signaling pathway.

Key words neuropathic pain; leucine rich repeat kinase 2; microglia; neuroinflammation; p38 mitogen activated protein kinase

约 190 万例发病病例和 90 万例死亡病例^[1]。中国 CRC 标化发病率和标化病死率分别位居所有恶性肿瘤发病率与病死率的第 2 位和第 5 位^[2]。SRY-转录因子 7 (SRY-box transcription factor 7, SOX7) 是一种属于 SOX 家族的转录因子,在多种肿瘤中发挥抑癌基因的作用,如乳腺癌、胃癌等^[3]。SOX7 在人 CRC 中的表达水平显著低于正常组织^[4]。SOX7 可作为 Wnt/ β -catenin 信号通路的负调节因子^[5]。Wnt/ β -catenin 通路在 CRC 的发生、发展中发挥重要作用^[6]。同时活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 是细胞内的一种重要的信号分子,参与调节多种生物学过程,如细胞增殖、凋亡和氧化应激等^[7]。ROS 可以在癌细胞中增加抑癌基因 P53 与含 Src 同源 2 结构域的磷酸酶 2 (src homology 2 domain-containing phosphatase-2, SHP-2) 启动子的结合,从而下调 SHP-2 的表达^[8],同时 p-SHP-2 通过 SHP-2 磷酸酶去磷酸化来调节 ROS 的产生^[9]。该研究探讨 SOX7 是否通过 ROS 和 SHP-2 对 CRC Wnt/ β -catenin/ROS 通路影响 CRC 中的作用,为 CRC 的诊断和治疗提供新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 实验材料 6 周龄 BALB/cA-nu 裸鼠 20 只, 18~20 g, 购自河南斯克贝斯生物科技股份有限公司, SPF 级环境饲养。人 CRC 细胞系 SW480 购自中国科学院(上海)细胞库,胎牛血清(货号: A58G00J) 购自美国 Gemini 公司, DMEM 培养基、青-链霉素 (10 000 U/ml)、无血清培养基、TRIzol 试剂和 Lipofectamine™ 2000 转染试剂(货号: 11965092、15140122、A3969002、15596018、11668027) 购自美国赛默飞世尔科技公司, RIPA 裂解液和 CCK-8 试剂盒(货号: P0013K、C0037) 购自于江苏碧云天生物科技有限公司, PVDF 膜(货号: IPVH20200) 购自美国 Millipore 公司, BCA 蛋白质定量试剂盒(货号: PA115-01) 购自北京天根生化科技有限公司, Wnt、 β -catenin、p-SHP-2、NOX2、NOX4、p-PI3K、p-AKT、GAPDH (货号: ab24222、ab32572、ab62322、ab129068、ab154244、ab302958、ab8805、ab8245) Western blot 一抗和 Western blot 二抗均购自美国 Abcam 公司, Transwell 小室(货号: 3450) 购自美国 Corning 公司, 逆转录试剂盒和 PCR Master Mix(货号: RR024A、RR320Q) 购自日本 TaKaRa 公司, SOX7 mimic 购于中国 GenePharma 公司, PHPS1 购自北京索莱宝有限公司, 3% H₂O₂ 溶液购自德国

Merck 公司。

1.2 细胞系培养 SW480 细胞在含有 10% 胎牛血清和 1% 青-链霉素的 DMEM 培养基中培养, 置入 37 °C、5% CO₂ 的加湿培养箱中, 每 24 h 更换 1 次培养基。待细胞密度达到 70% 时, 用 0.25% 胰蛋白酶进行传代。

1.3 细胞转染与分组 采用 Lipofectamine™ 2000 转染试剂将 SOX7 mimic 或 SOX7 NC 转染后 12 h 加入 PHPS1 或 H₂O₂ 处理 SW480 细胞^[10]。转染后 24 h 更换无血清培养基, 48 h 后收集细胞进行后续实验。将细胞分为 6 组: SOX7 NC 组、SOX7 mimic 组、SOX7 NC + H₂O₂ 组、SOX7 mimic + H₂O₂ 组、SOX7 NC + PHPS1 组和 SOX7 mimic + PHPS1 组。ROS 激动剂 H₂O₂ 处理 SW480 细胞浓度为 100 μ mol/L^[11], SHP-2 抑制剂 PHPS1 处理 SW480 细胞浓度为 10 μ mol/L^[12]。

1.4 裸鼠皮下移植动物模型制备与分组 将 SW480 细胞以 5×10^6 个/只的浓度注射到裸鼠的皮下, 每只裸鼠接种同一部位。接种后将 20 只裸鼠随机分为 SOX7 NC 组 ($n=5$)、SOX7 mimic 组 ($n=5$)、SOX7 NC + PHPS1 组 ($n=5$) 和 SOX7 mimic + PHPS1 组 ($n=5$)。接种后每周用游标卡尺测量肿瘤的最大直径 (a) 和最小直径 (b), 计算肿瘤体积 ($V = \pi ab^2 / 6$)。

1.5 Western blot 实验 收集各组 SW480 细胞, 加入 RIPA 裂解液于冰上裂解 30 min, 提取总蛋白。用 BCA 法进行蛋白质定量。将蛋白样品 (40 μ g) 煮沸后置于冰上 2 min, 之后进行 SDS-PAGE 电泳, 随后将蛋白转移至 PVDF 膜上。用 5% 脱脂奶粉封闭后加入一抗, 进行 4 °C 下的过夜孵育, 然后用相应的二抗在室温下进行孵育 2 h。最后用 ECL 发光液显影。用 ImageJ 软件对蛋白条带进行定量分析。一抗浓度分别为 Wnt (1 : 1 000)、 β -catenin (1 : 5 000)、p-SHP-2 (1 : 1 000)、NOX2 (1 : 1 000)、NOX4 (1 : 1 000)、p-PI3K (1 : 1 000)、p-AKT (1 : 500)。

1.6 细胞划痕实验 将 SW480 细胞接种到 6 孔板中, 待细胞长满后用无菌枪头在细胞表面划一道 500 μ m 的痕迹, 拍照。然后更换含药物的培养基进行继续培养, 24 h 后再次拍照记录细胞的迁移情况。用 ImageJ 软件对细胞的迁移距离进行定量分析。

1.7 Transwell 实验 将 SW480 细胞制成 1×10^5 个/ml 密度的细胞悬液接种到 Transwell 小室中, 然

后加入 H_2O_2 、PHPS1 进行处理。24 h 后取出小室,用棉签轻轻擦去上室表面的细胞,用甲醇固定下室的细胞,并用结晶紫染色。用 10 倍镜记录细胞的侵袭和迁移情况。用 ImageJ 软件对细胞的侵袭和迁移数量进行定量分析。侵袭实验中,上室加入 Matrigel 基质胶,下室加入 $600 \mu\text{l}$ 含 20% PBS 的培养基进行 SW480 细胞侵袭能力的检测。迁移实验中,不加基质胶检测 SW480 细胞的迁移能力。

1.8 CCK-8 实验 将 SW480 细胞接种到 96 孔板中,然后加入 PHPS1 或 H_2O_2 药物试剂进行处理,在培养箱中分别培养 0、24、48 h 后加入 CCK-8 试剂孵育 4 h,在酶标仪上读取各孔 450 nm 的吸光度值。

1.9 统计学处理 采用 GraphPad Prism 软件进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验或方差分析进行比较 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 裸鼠成瘤实验检测 SOX7 过表达后的 SW480 细胞的成瘤性 裸鼠成瘤实验显示:SOX7 mimic 组肿瘤体积明显小于 SOX7 NC 组 ($P < 0.01$);与 SOX7 NC 组比较,SOX7 NC + PHPS1 组的肿瘤体积明显增大 ($P < 0.01$);与 SOX7 mimics 组比较,SOX7 mimics + PHPS1 组的肿瘤体积明显增大 ($P < 0.01$);SOX7 mimic + PHPS1 组和 SOX7 NC + PHPS1 组差异无统计学意义。见图 1。

2.2 SOX7 对 SHP-2 介导的 PI3K/AKT 通路相关蛋白表达情况的影响 Western blot 结果显示:与 SOX7 NC 组比较,SOX7 mimic 组的 WNT、 β -catenin、NOX2、NOX4、P-PI3K、P-AKT、PI3K、AKT 蛋白相对表达量明显下降(均 $P < 0.01$),p-SHP-2、SHP-2 的蛋白相对表达量明显上升(均 $P < 0.01$),SOX7 NC + H_2O_2 组干预后,WNT、 β -catenin、NOX2、NOX4、P-PI3K、P-AKT、PI3K、AKT 蛋白相对表达量明显升高,p-SHP-2、SHP-2 的蛋白相对表达量明显降低(均 $P < 0.001$);与 SOX7 mimic 组比较,SOX7 mimic + H_2O_2 组干预后,WNT、 β -catenin、NOX2、NOX4、P-PI3K、P-AKT、PI3K、AKT 蛋白相对表达量明显升高,p-SHP-2、SHP-2 的蛋白相对表达量明显降低(均 $P < 0.001$);与 SOX7 NC + H_2O_2 组比较,SOX7 mimic + H_2O_2 组干预后,WNT、 β -catenin、NOX2、NOX4、P-PI3K、P-AKT、PI3K、AKT、p-SHP-2、SHP-2 的蛋白无明显变化;与 SOX7 NC 组比较,SOX7 NC + PHPS1 组干预后,WNT、 β -catenin、NOX2、NOX4、P-PI3K、

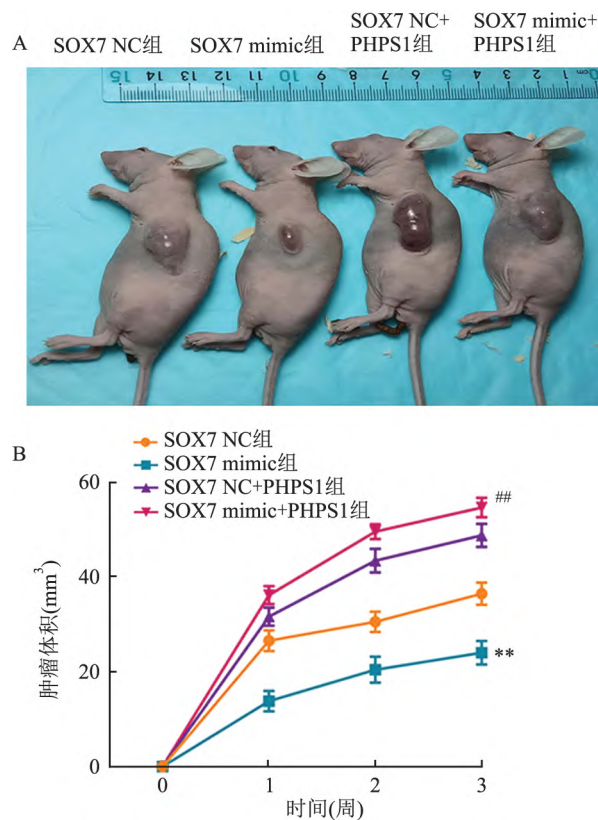


图1 裸鼠皮下成瘤实验瘤体体积变化曲线

A: 裸鼠皮下移植肿瘤大小图; B: 肿瘤体积统计图; 与 SOX7 NC 组比较: ** $P < 0.01$; 与 SOX7 mimics 组比较: ## $P < 0.01$

P-AKT、PI3K、AKT 蛋白相对表达量明显升高,p-SHP-2、SHP-2 的蛋白相对表达量明显降低(均 $P < 0.001$);与 SOX7 mimic 组比较,SOX7 mimic + PHPS1 组干预后,WNT、 β -catenin、NOX2、NOX4、P-PI3K、P-AKT、PI3K、AKT 蛋白相对表达量明显升高,p-SHP-2、SHP-2 的蛋白相对表达量明显降低(均 $P < 0.001$);SOX7 mimic + PHPS1 组和 SOX7 NC + PHPS1 组比较差异无统计学意义。见图 2。

2.3 SOX7 与 ROS、PHSP1 对 SW480 细胞迁移的影响 划痕实验结果显示:与 SOX7 NC 组比较,SOX7 mimic 组 48 h 细胞划痕相对间距显著增加 ($P < 0.01$),SOX7 NC + H_2O_2 组、SOX7 NC + PHPS1 组 48 h 细胞划痕相对间距均显著变窄(均 $P < 0.01$);与 SOX7 mimic 组比较,SOX7 mimic + H_2O_2 组、SOX7 mimic + PHPS1 组 48 h 细胞划痕相对间距均显著变窄(均 $P < 0.01$);SOX7 NC + H_2O_2 组和 SOX7 mimic + H_2O_2 组比较差异无统计学意义;SOX7 NC + PHPS1 组和 SOX7 mimic + PHPS1 组比较差异无统计学意义。见图 3。

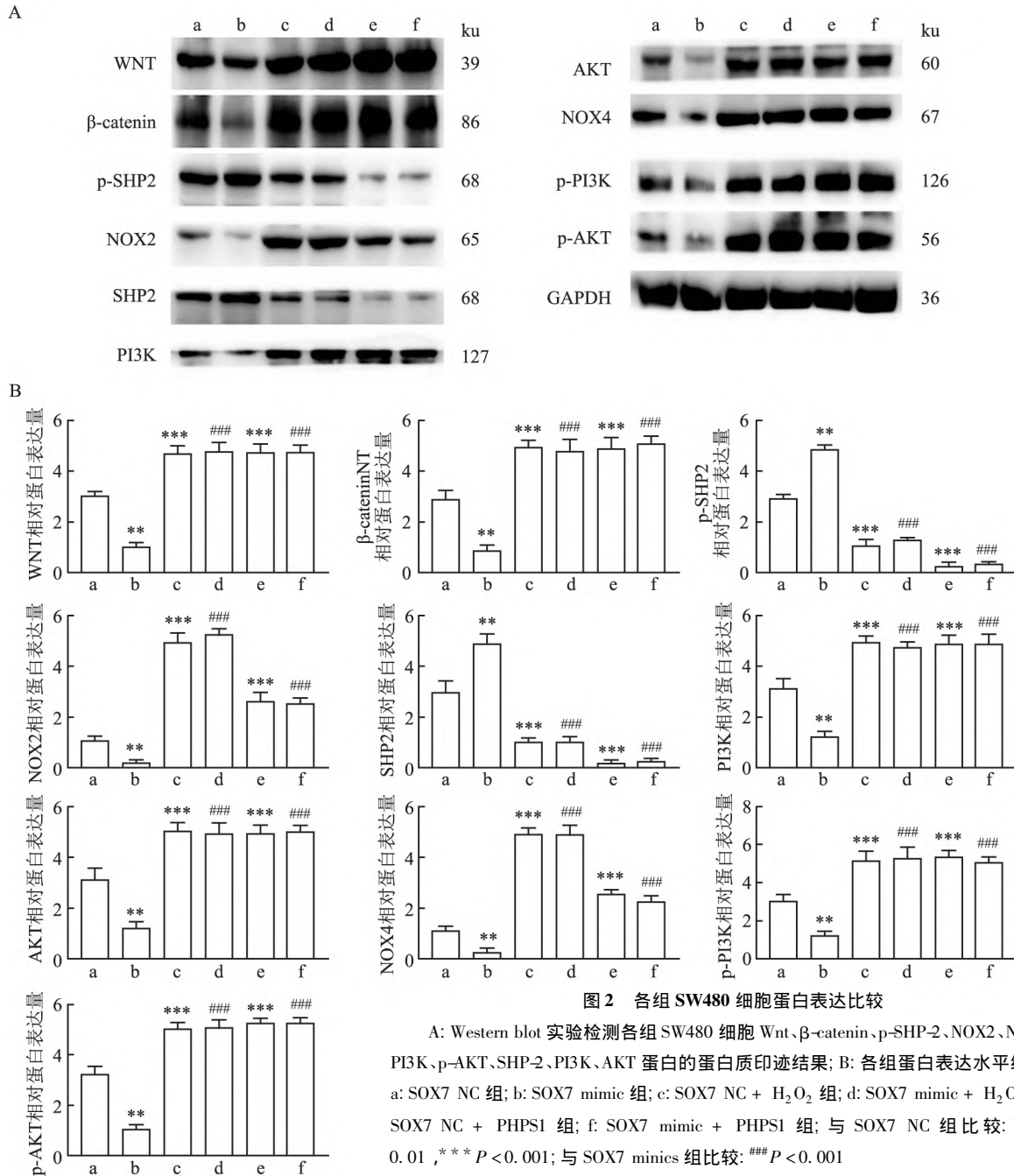


图2 各组 SW480 细胞蛋白表达比较

A: Western blot 实验检测各组 SW480 细胞 Wnt、 β -catenin、p-SHP-2、NOX2、NOX4、p-PI3K、p-AKT、SHP-2、PI3K、AKT 蛋白的蛋白质印迹结果; B: 各组蛋白表达水平统计图; a: SOX7 NC 组; b: SOX7 mimic 组; c: SOX7 NC + H₂O₂ 组; d: SOX7 mimic + H₂O₂ 组; e: SOX7 NC + PHPS1 组; f: SOX7 mimic + PHPS1 组; 与 SOX7 NC 组比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与 SOX7 mimics 组比较: ### $P < 0.001$

2.4 SOX7 对 SW480 细胞迁移和侵袭的影响 Transwell 实验结果所示: 与 SOX7 NC 组比较, SOX7 mimic 组 SW480 细胞迁移细胞数量和穿越基底膜的细胞数量明显减少 ($P < 0.01$), SOX7 NC + H₂O₂ 组、SOX7 NC + PHPS1 组 SW480 细胞迁移细胞数量和穿越基底膜的细胞数量均明显增多 (均 $P < 0.01$); 与 SOX7 mimic 组比较, SOX7 mimic + H₂O₂ 组、SOX7 mimic + PHPS1 组 SW480 迁移细胞数量和穿越基底膜的细胞数量均明显增多 ($P < 0.01$); SOX7 NC + H₂O₂ 组和 SOX7 mimic + H₂O₂ 组比较

差异无统计学意义; SOX7 NC + PHPS1 组和 SOX7 mimic + PHPS1 组比较差异无统计学意义。见图 4、5。

2.5 SOX7 通过调节氧化应激和 SHP-2 进而抑制 SW480 细胞增殖 CCK8 实验结果显示: 与 SOX7 NC 组比较, SOX7 mimic 组、SOX7 NC + H₂O₂ 组、SOX7 NC + PHPS1 组 SW480 细胞 450 nm 的 OD 值均明显升高 (均 $P < 0.01$); 与 SOX7 mimic 组比较, SOX7 mimic + H₂O₂ 组、SOX7 mimic + PHPS1 组 SW480 细胞 450 nm 的 OD 值均明显升高 (均 $P <$

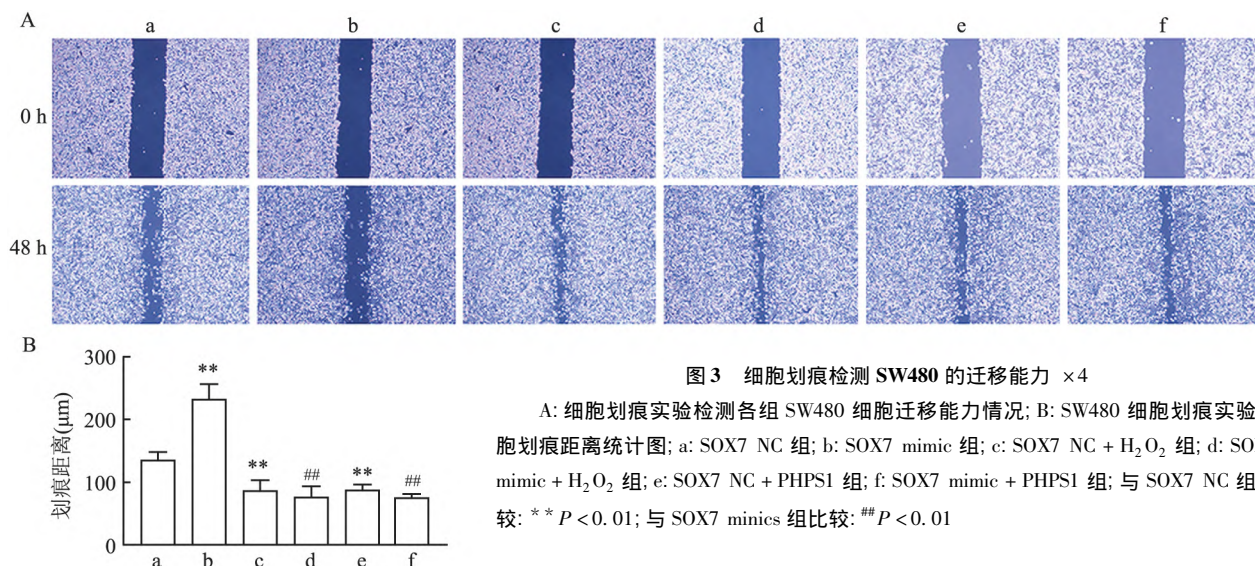


图3 细胞划痕检测 SW480 的迁移能力 ×4

A: 细胞划痕实验检测各组 SW480 细胞迁移能力情况; B: SW480 细胞划痕实验细胞划痕距离统计图; a: SOX7 NC 组; b: SOX7 mimic 组; c: SOX7 NC + H₂O₂ 组; d: SOX7 mimic + H₂O₂ 组; e: SOX7 NC + PHPS1 组; f: SOX7 mimic + PHPS1 组; 与 SOX7 NC 组比较: ** $P < 0.01$; 与 SOX7 mimics 组比较: ### $P < 0.01$

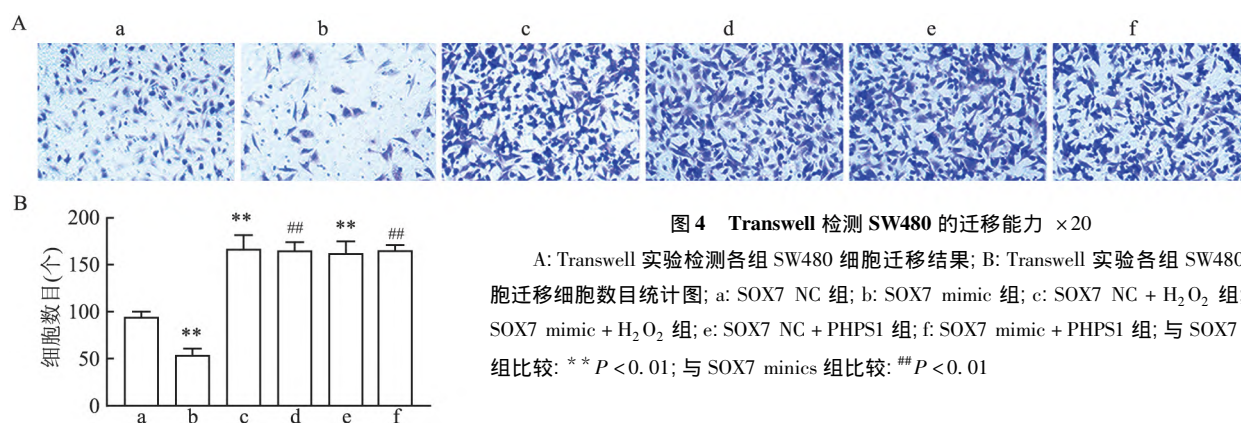


图4 Transwell 检测 SW480 的迁移能力 ×20

A: Transwell 实验检测各组 SW480 细胞迁移结果; B: Transwell 实验各组 SW480 细胞迁移细胞数目统计图; a: SOX7 NC 组; b: SOX7 mimic 组; c: SOX7 NC + H₂O₂ 组; d: SOX7 mimic + H₂O₂ 组; e: SOX7 NC + PHPS1 组; f: SOX7 mimic + PHPS1 组; 与 SOX7 NC 组比较: ** $P < 0.01$; 与 SOX7 mimics 组比较: ### $P < 0.01$

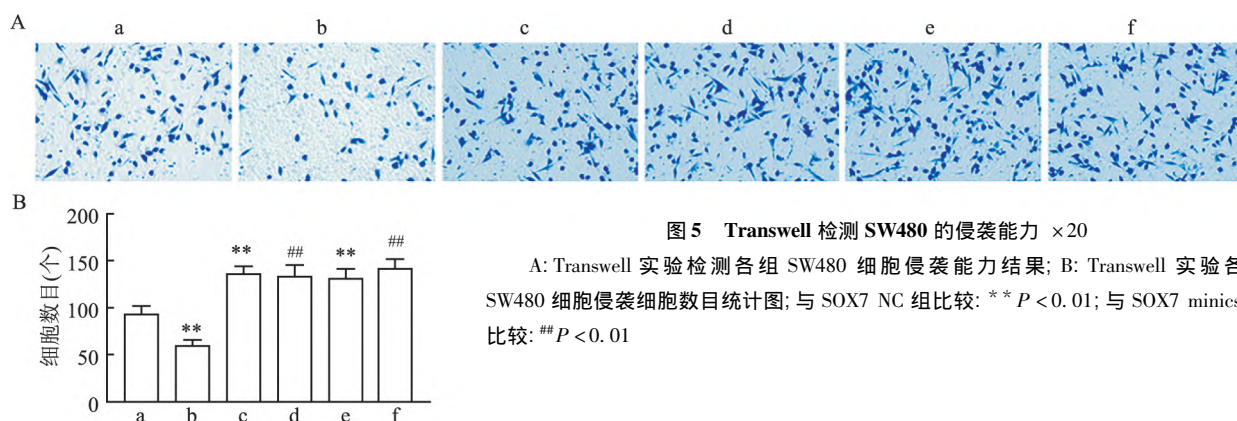


图5 Transwell 检测 SW480 的侵袭能力 ×20

A: Transwell 实验检测各组 SW480 细胞侵袭能力结果; B: Transwell 实验各组 SW480 细胞侵袭细胞数目统计图; 与 SOX7 NC 组比较: ** $P < 0.01$; 与 SOX7 mimics 组比较: ### $P < 0.01$

0.01); SOX7 NC + H₂O₂ 组和 SOX7 mimic + H₂O₂ 组比较差异无统计学意义; SOX7 NC + PHPS1 组和 SOX7 mimic + PHPS1 组比较差异无统计学意义。见图6。

3 讨论

SOX7 作为 SOX 家族的一员,在胚胎发育和肿瘤发生中具有重要作用。SOX7 通过影响氧化应激

和 SHP-2 介导的 PI3K/AKT 信号,SOX7 调控了 Wnt/ β -catenin/ROS 通路,从而抑制了 CRC 的增殖、侵袭和迁移。

Wnt/ β -catenin 通路是细胞内重要的信号传导通路之一,在 CRC 的发生和进展中发挥重要作用。当 Wnts 与由 frizzled 蛋白和 LRP5/6 组成的受体连接时,细胞质蛋白 DVL 被激活并诱导 GSK3 β 受抑制。随后,稳定的 β -catenin 转位到细胞核中,与

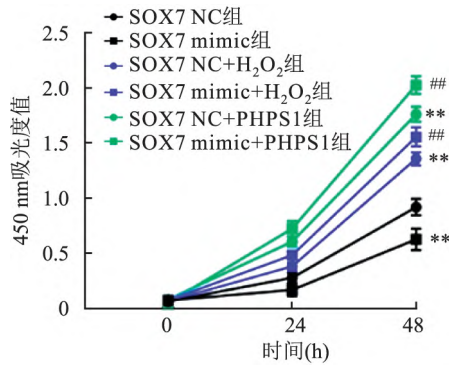


图6 CCK-8 检测 SW480 的增殖能力

与 SOX7 NC 组比较: ** $P < 0.01$; 与 SOX7 mimics 组比较: ## $P < 0.01$

TCF/LEF 转录因子结合,调节靶基因转录,进而导致了肿瘤的发生和进展^[6]。研究^[13]表明,SOX7 可以抑制 Wnt/ β -catenin 通路的活性,进而抑制 CRC 细胞的增殖、侵袭和迁移。本研究裸鼠皮下移植动物模型和人 CRC 细胞系 SW480 作为细胞模型进一步支持了上述的研究结果。同时本研究重点是进一步探讨 SOX7 和 Wnt/ β -catenin 通路的相互作用和机制。ROS 是细胞内重要的氧化还原信号分子,参与多种生物学过程。研究^[13]显示 ROS 可以通过 Wnt/ β -catenin 信号通路促进肿瘤的发展。本研究结果表明 H₂O₂ 可以提高氧化应激相关蛋白 NOX2、NOX4 的蛋白表达并上调了 Wnt/ β -catenin 蛋白的表达并逆转 SOX7 对 CRC 的影响。同时,在 SOX7 过表达的 SW480 细胞中发现 SOX7 通过调节 Wnt/ β -catenin 的表达抑制了 ROS 相关蛋白表达。这说明了 ROS 在 SOX7 的作用中起到了关键的反向调节作用。

在机制方面,ROS 可以增加 P53 与 SHP-2 启动子结合,在转录调控上,下调 SHP-2 的表达^[7]。研究^[14]表明 SHP-2 可以通过包括 Wnt/ β -catenin 在内的激酶发出信号调节细胞的增殖和分化。同时,Wnt/ β -catenin 和 PI3K/AKT 通路之间的相互作用已经在包括 CRC 在内的不同肿瘤环境中得到广泛证实^[15]。PI3K/AKT 信号通路参与葡萄糖代谢、细胞凋亡、细胞增殖和细胞迁移等多种细胞过程^[16]。PI3K 是一种质膜结合酶,激活的 PI3K 催化肌醇环 3 位上的 PIP₂ 发生磷酸化,生成 PIP₃,生成的 PIP₃ 通过 PH 结构域将 AKT 招募到质膜上,AKT 会磷酸化细胞膜上的靶蛋白,然后失去与细胞膜的连接,磷酸化细胞质和细胞核中的其他靶蛋白。靶蛋白的磷酸化会刺激细胞存活、生长和增殖^[17]。本研究结果发

现 PHPS1 抑制了 p-SHP-2 蛋白的表达后,SOX7 过表达的 CRC 细胞内的 Wnt/ β -catenin、NOX2、NOX4、p-PI3K、p-AKT 蛋白表达水平上调。这证明了 SOX7 能够通过激活 SHP-2 的表达抑制 Wnt/ β -catenin/ROS 通路及 PI3K/AKT 通路影响 CRC 的发展,进一步证明了 SOX7 通过调节 ROS 的水平来影响 Wnt/ β -catenin 信号通路的活性,从而影响 CRC 细胞的增殖、侵袭和迁移。

综上所述,本研究结果表明 SOX7 通过调节 ROS 和 SHP-2 的水平来影响 Wnt/ β -catenin 信号通路的活性,从而影响 CRC 细胞的增殖、侵袭和迁移。这一发现对于理解结直肠癌的发病机制以及寻找新的治疗靶点具有重要意义。后续,仍需进一步的研究以探索 SOX7 在其他类型的肿瘤中的作用,并深入探讨 SOX7 与 ROS 之间的相互作用机制。

参考文献

- [1] Xi Y, Xu P. Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040 [J]. *Transl Oncol* 2021, 14(10): 101174.
- [2] 周雄,胡明,李子帅,等. 2020 年全球及中国结直肠癌流行状况分析 [J]. *海军军医大学学报* 2022, 43(12): 1356-64.
- [3] Stovall D B, Cao P, Sui G. SOX7: From a developmental regulator to an emerging tumor suppressor [J]. *Histol Histopathol* 2014, 29(4): 439-45.
- [4] Katoh M. Expression of human SOX7 in normal tissues and tumors [J]. *Int J Mol Med* 2002, 9(4): 363-8.
- [5] Chan D W, Mak C S, Leung T H, et al. Down-regulation of Sox7 is associated with aberrant activation of Wnt/ β -catenin signaling in endometrial cancer [J]. *Oncotarget* 2012, 3(12): 1546-56.
- [6] Zhao H, Ming T, Tang S, et al. Wnt signaling in colorectal cancer: Pathogenic role and therapeutic target [J]. *Mol Cancer* 2022, 21(1): 144.
- [7] Liu M Y, Li H M, Wang X Y, et al. TIGAR drives colorectal cancer ferroptosis resistance through ROS/AMPK/SCD1 pathway [J]. *Free Radic Biol Med* 2022, 182: 219-31.
- [8] Wang Y C, Wu D W, Wu T C, et al. Dioscin overcome TKI resistance in EGFR-mutated lung adenocarcinoma cells via down-regulation of tyrosine phosphatase SHP-2 expression [J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(1): 47-56.
- [9] Li X J, Goodwin C B, Nabinger S C, et al. Protein-tyrosine phosphatase SHP2 positively regulates macrophage oxidative burst [J]. *J Biol Chem* 2015, 290(7): 3894-909.
- [10] Liu G, Yang Z F, Sun J, et al. The LINC00152/miR-205-5p/CX-CL11 axis in hepatocellular carcinoma cancer-associated fibroblasts affects cancer cell phenotypes and tumor growth [J]. *Cell Oncol (Dordr)* 2022, 45(6): 1435-49.
- [11] Schoenfeld J D, Sibenaller Z A, Mapuskar KA, et al. O₂ and H₂O₂ mediated disruption of Fe metabolism causes the differential susceptibility of NSCLC and GBM cancer cells to pharmacological a-

- scorbate [J]. *Cancer Cell* 2017 31(4): 487–500.
- [12] Li J, Kang Y, Wei L, et al. Tyrosine phosphatase Shp2 mediates the estrogen biological action in breast cancer *via* interaction with the estrogen extranuclear receptor [J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e102847.
- [13] Vallée A, Lecarpentier Y. Crosstalk between peroxisome proliferator-activated receptor gamma and the canonical WNT/ β -catenin pathway in chronic inflammation and oxidative stress during carcinogenesis [J]. *Front Immunol* 2018 9: 745.
- [14] Qi X, Sun Z, Li X, et al. SHP2 suppresses fat accumulation in white adipose tissue by activating Wnt/ β -catenin signaling following vertebral sleeve gastrectomy in obese rats with type-2 diabetes [J]. *Exp Ther Med* 2022 23(4): 302.
- [15] Barzegar Behrooz A, Talaie Z, Jusheghani F, et al. Wnt and PI3K/Akt/mTOR survival pathways as therapeutic targets in glioblastoma [J]. *Int J Mol Sci* 2022 23(3): 1353.
- [16] Qu J, Li J, Zhang Y, et al. AKR1B10 promotes breast cancer cell proliferation and migration *via* the PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway [J]. *Cell Biosci* 2021 11(1): 163.
- [17] Miricescu D, Totan A, Stanescu S II, et al. PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in breast cancer: From molecular landscape to clinical aspects [J]. *Int J Mol Sci* 2020 22(1): 173.

SOX7 inhibits colorectal cancer proliferation, invasion and migration through the SHP-2/Wnt/ β -catenin/ROS pathway

Wu Xueliang^{1,2}, Wang Likun³, Ma Hongqing⁴, Li Shaodong¹, Liang Yan¹, Hui Zhilong¹, Han Lei¹, Xue Jun¹

(¹Dept of General Surgery, ²Institute of Cancer, ³Dept of Ultrasound,

The First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou 075000;

⁴Dept of Surgery, The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000)

Abstract Objective To investigate the molecular mechanisms by which SOX7 regulates the SHP-2/Wnt/ β -catenin/ROS pathway affecting the proliferation, invasion, and migration of colorectal cancer cells. **Methods** Twenty nude mice with subcutaneously transplanted tumor models were randomly divided into four groups: SOX7 NC ($n = 5$), SOX7 mimic ($n = 5$), SOX7 NC + PHPS1 ($n = 5$), and SOX7 mimic + PHPS1 ($n = 5$) to observe tumor growth. Human colorectal cancer cell line SW480 cells were transfected via lipofection and divided into six groups: SOX7 NC, SOX7 mimic, SOX7 NC + H₂O₂, SOX7 mimic + H₂O₂, SOX7 NC + PHPS1, and SOX7 mimic + PHPS1. The expression of SHP-2/Wnt/ β -catenin/ROS pathway-related proteins in SW480 cells of each group was detected by Western blot. The invasion and migration capabilities of SW480 cells were assessed through scratch and Transwell invasion assays, while cell proliferation was evaluated using CCK-8. **Results** *In vivo* experiments demonstrated that tumors in the SOX7 mimic group were significantly smaller than those in the SOX7 NC group ($P < 0.01$). Tumors treated with PHPS1 intervention exhibited a significant increase in volume. There was no statistical significance in the difference in tumor volume between the SOX7 mimic + PHPS1 group and the SOX7 NC + PHPS1 group. *In vitro* experiments revealed that SOX7 mimic inhibited the expression of Wnt, β -catenin, NOX2, NOX4, PI3K, p-PI3K, AKT, p-AKT proteins ($P < 0.01$), and promoted the expression of p-SHP-2 protein ($P < 0.01$). The addition of hydrogen peroxide and SHP-2 inhibitor reversed the effects of SOX7 on SW480 cells ($P < 0.05$) and significantly promoted the expression levels of Wnt, β -catenin, NOX2, NOX4, PI3K, p-PI3K, AKT, p-AKT proteins, with no significant difference, while significantly reducing the expression levels of SHP-2, p-SHP-2 proteins, with no significant difference. PHPS1 inhibited the expression of SHP-2, p-SHP-2 proteins ($P < 0.05$) and upregulated the expression of Wnt, β -catenin, NOX2, NOX4, PI3K, p-PI3K, AKT, p-AKT proteins ($P < 0.05$). Scratch, Transwell invasion and migration assays, and CCK-8 experiments indicated that SOX7 suppressed the migration, invasion, and proliferation of SW480 cells through oxidative stress and the SHP-2 pathway ($P < 0.01$), while H₂O₂ and PHPS1 intervention promoted the migration, invasion, and proliferation of SW480 cells ($P < 0.05$). **Conclusion** SOX7 can suppress the proliferation, invasion, and migration of colorectal cancer by targeting the SHP-2/Wnt/ β -catenin/ROS pathway.

Key words colorectal cancer; SOX7; ROS; SHP-2; Wnt/ β -catenin; proliferation; invasion; migration