

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.04.007

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.04.007

## Wnt11 与 ROCK2 在食管鳞状细胞癌中的表达及其临床意义

苗娜<sup>1</sup>, 李俊芝<sup>1</sup>, 王志强<sup>2</sup>, 刘涛<sup>3</sup>

(1. 新疆医科大学第一附属医院病理科, 乌鲁木齐 830054; 2. 新疆武警总队医院神经内科, 乌鲁木齐 830091;  
3. 新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院, 乌鲁木齐 830054)

**[摘要]** 目的: 研究Wnt/PCP通路中Wnt11和ROCK2在食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)组织中的表达及其与临床病理特征的关系。方法: 采用免疫组织化学染色法, 在250例石蜡包埋标本中检测Wnt11和ROCK2蛋白的表达变化。采用Western印迹在20例ESCC患者肿瘤组织和癌旁正常组织中检测Wnt11和ROCK2的表达情况。结果: Wnt11在正常食管组织中的阳性表达率为29.8%, 而在ESCC组织中为31.9%, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ); Rck2在正常食管组织中的阳性表达率为12.3%, 而在ESCC中的阳性表达率为56.5%, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。ROCK2在肿瘤组织的表达与其浸润血管相关( $P<0.05$ ), 而与肿瘤发生的部位、肿瘤分化程度、肿瘤T分期、肿瘤是否有淋巴结转移无关。在食管癌组织中Wnt11的蛋白表达与ROCK2的表达无明显相关性。结论: 在食管癌组织中, ROCK2的异常表达可能与食管癌的发生发展密切相关, 其具体作用机制有待进一步深入研究。

**[关键词]** 食管鳞状细胞癌; Wnt/PCP通路; Wnt11; ROCK2; 肿瘤侵袭

## Expression of Wnt11 and ROCK2 in esophageal squamous cell carcinoma and its clinical significance

MIAO Na<sup>1</sup>, LI Junzhi<sup>1</sup>, WANG Zhiqiang<sup>2</sup>, LIU Tao<sup>3</sup>

(1. Department of Pathology, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Wulumuqi 830054;  
2. Department of Neurology, Xinjiang Armed Police General Team Hospital, Wulumuqi 830091;  
3. Institute of Clinical Medicine, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Wulumuqi 830054, China)

**Abstract** **Objective:** To investigate the expression and relationship of Wnt11, ROCK2 and clinical characteristics in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). **Methods:** Expression of Wnt11 and ROCK2 protein were examined on immunohistochemistry containing 260 paraffin-embedded specimens of ESCC and specimens of normal cervical tissues. Expression of Wnt11 and ROCK2 protein were verified on Western blot containing 20 specimens of ESCC and specimens of normal cervical tissues. **Results:** The positive rates of Wnt11 protein in

收稿日期 (Date of reception): 2017-12-18

通信作者 (Corresponding author): 刘涛, Email: lt02-16@163.com

基金项目 (Foundation item): 省部共建国家重点实验室培育基地 - 新疆重大疾病医学重点实验室 (SKL-HIDCA-2017-Y9); 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (2017D01C315)。This work was supported by the Provincial Department of National Key Laboratory Cultivation Project-Xinjiang Key Laboratory of Major Diseases (SKL-HIDCA-2017-Y9) and the Xinjiang Uygur Autonomous Region Natural Science Foundation (2017D01C315), China.

normal normal esophageal mucosa tissues were 29.8% and in esophageal carcinomas tissues were 31.9%, there was no significant difference between the two groups ( $P>0.05$ ). The positive rates of ROCK2 protein in normal esophageal mucosa tissues were 12.3% and in esophageal carcinomas tissues were 56.5%, there was a significant difference between the two groups ( $P<0.05$ ). The expression of ROCK2 protein was significantly related with the invasion of vascular and there was no significantly difference between the expression of ROCK2 protein and ESCC patients' tumour location, differentiation, T stage and lymph node metastasis. **Conclusion:** The abnormal expression of ROCK2 protein may promote the invasion of tumor cell.

**Keywords** esophageal squamous cell carcinoma; Wnt/PCP pathway; Wnt11; ROCK2; tumor invasion

食管癌是一种高发于消化道的恶性肿瘤, 根据其组织学分型可分为食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)和食管腺癌两大基本类型。这两种类型的分布具有一定地域性, 欧美等一些国家的食管癌约70%是Barrett食管腺癌, 而在我国则95%为ESCC<sup>[1]</sup>。据统计, 食管癌的5年生存率仅为5%~13%<sup>[2]</sup>。食管癌的发生和发展是一个多阶段、多步骤、多种因素共存、多种基因相互作用的过程<sup>[3-4]</sup>, 研究其发病机制对食管癌的诊断及治疗意义重大。Wnt/PCP途径是Wnt信号通路的一个非经典通道, 涉及的关键蛋白主要为Wnt11蛋白、Rho相关蛋白激酶2(Rho-associated protein kinase, ROCK2)蛋白等。已有诸多研究<sup>[5-10]</sup>证实: Wnt11, ROCK2蛋白与肿瘤的发生、侵袭及转移关系密切, 并证明了其在胃癌、肝癌、结直肠癌、膀胱癌、前列腺癌和乳腺癌等癌症中相关的作用机制。但目前关于Wnt/PCP通路中Wnt11及ROCK2在ESCC的研究罕见报道。本研究应用免疫组织化学与Western印迹法, 检测Wnt11与ROCK2蛋白分别在ESCC中的表达情况, 运用相关统计学方法分析并探讨其在食管癌发生的表达与各临床参数之间的相关性分析, 为研究ESCC发生、发展机制提供新的思路, 从而为有效治疗食管癌提供新的方向。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 食管癌组织标本

搜集2007至2014年新疆医科大学第一临床医院病理科归档的病历资料和250例食管癌石蜡标本, 所有患者术前均未经过放射、化学治疗, 排除合并非肿瘤性疾病和其他肿瘤患者。同时切取距离癌组织边缘5 cm处的非肿瘤组织作为参照组。选取手术切除的20例食管癌患者肿瘤组织和癌旁正常黏膜组织, 均为新疆医科大学第一附属医院

医学研究中心标本库液氮中保存的新鲜组织。所有石蜡标本的HE染色切片均由病理科中级以上医师阅片核实诊断并确诊。

#### 1.1.2 主要抗体和试剂

兔抗Wnt11, ROCK2抗体购自美国Abcam公司。鼠抗兔IgG-辣根过氧化物酶(HRP)抗体和二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒购自北京中杉金桥公司。RIPA蛋白裂解液、BCA蛋白定量试剂盒购自美国Thermo公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 免疫组织化学检测

石蜡组织连续切片连续4  $\mu\text{m}$ 切片, 二甲苯脱蜡, 梯度乙醇水化; 3%的双氧水消除内源性过氧化酶; 微波炉高火20 min抗原修复, 自然冷却至室温, PBS充分清洗, 分别滴加一抗Wnt11(1:200稀释)和ROCK2(1:300稀释), 湿盒4  $^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷藏过夜, 然后用PBS缓冲液冲洗切片, 再滴加二抗, 37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育箱孵育40 min。PBS缓冲液再次冲洗切片, DAB显色, 最后苏木精复染, 乙醇脱水、透明、中性树胶封固, 以PBS来代替一抗, 作为本次试验的阴性对照。

### 1.2.2 食管癌及癌旁组织蛋白的提取

将干净的研钵用液氮提前预冷, 将100 mg组织在液氮中研磨成粉末状, 接着加入1 mL的RIPA裂解液, 继续研磨。将蛋白转移到1.5 mL的Eppendorf管中, 12 000 r/min, 4  $^{\circ}\text{C}$ 离心10 min。取上清, BCA法蛋白定量, 分装, 于-20  $^{\circ}\text{C}$ 保存。

### 1.2.3 Western 印迹检测

将组织样本研磨后, 使用RIPA进行列解、匀浆, 离心30 min后弃掉沉淀, 上清液蛋白浓度使用考马斯亮蓝法(Bradford)法检测。分别去食管癌和癌旁组织40  $\mu\text{g}$ , 以聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳分离后, 转印至聚偏氟乙烯(PVDF)膜中, TBST封闭1 h, 分别加入兔抗Wnt11多克隆抗体(1:1 000)

和兔抗ROCK2多克隆抗体(1:1 000), 4 °C过夜。次日使用TBST洗涤后, 采取DAB试剂进行显影, 以Wnt11/ $\beta$ -action, ROCK2/ $\beta$ -action分别分析Wnt11和ROCK2的相对表达量。

#### 1.2.4 免疫组织化学阳性判读标准

判读标准: ROCK2在癌组织细胞质中以出现棕色或棕黄色颗粒为阳性细胞。遵照半定量积分来判断抗体的表达。染色强度: 未着色为0分, 着色较浅为1分, 中度着色为2分, 着色较深为3分。阳性细胞百分比标准: 在高倍镜( $\times 400$ )下随机选取5个视野分别计算阳性细胞百分率并取其平均值。依据平均阳性细胞百分比标准: 阳性细胞数 $\leq 5\%$ 为0分,  $6\% \sim 25\%$ 为1分,  $26\% \sim 49\%$ 为2分,  $\geq 50\%$ 为3分。将2项评分相乘所得: 0~3分为(-), 4分为(+), 5~8分为(++),  $> 8$ 分为(+++)。将其作为临床病理参数分析时: (-)为阴性表达组, (+), (++) , (+++)为高表达组。Wnt11表达于正常细胞或癌组织细胞的间质。每张切片随机选择5个高倍视野, 计算其阳性细胞所占的百分数的平均值, 标准为: 阳性细胞数 $< 5\%$ 为阴性,  $\geq 5\%$ 为阳性, 使用双盲方式分析其结果。

#### 1.3 统计学处理

采用SPSS 17.0统计软件进行数据分析。采用 $\chi^2$ 检验检测Wnt11和ROCK2蛋白在ESCC组织中的表达及其与临床病理特征的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Wnt11 在癌组织及癌旁正常组织中的阳性表达率

Wnt11在正常食管黏膜主要定位于细胞间质, 在胞质几乎不表达(图1)。在250例ESCC患者中, Wnt11在癌组织及癌旁正常组织中阳性表达率分别为31.9%(80/250), 29.8%(75/250)。癌组织的阳性表达率高于癌旁正常组织, 但两组间的差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。ROCK2蛋白主要表达在组织细胞的细胞质(图2A~2C)。在250例ESCC患者中, ROCK2蛋白在癌及癌旁组织阳性表达率分别为56.5%(141/260), 12.3%(31/250), 癌组织阳性表达率明显高于癌旁非肿瘤组织, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 2.2 Wnt11 和 ROCK2 在正常食管黏膜和 ESCC 组织中的表达

采用Western印迹法检测Wnt11和ROCK2在正常食管黏膜、ESCC组织中的表达。一抗Wnt11和ROCK2分别能够与食管癌组织中的Wnt11, ROCK2蛋白特异性结合, 杂交出分子质量为37 000, 160 000 kD(1 D=1 u)的条带。Wnt11蛋白在正常食管组织中呈低表达或阴性表达, ROCK2在正常食管组织和肿瘤组织中均表达, 在ESCC组织中呈高表达(图3)。

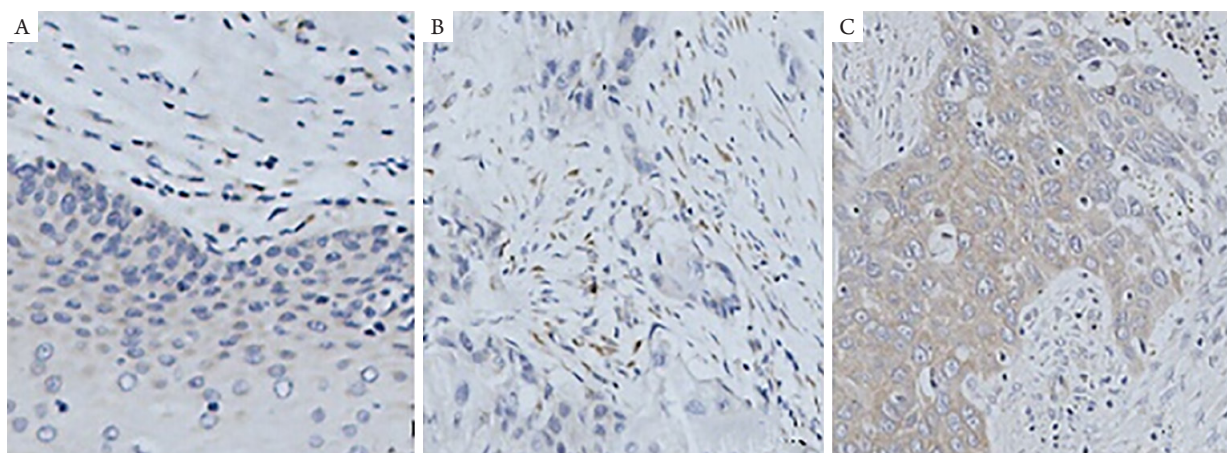


图1 免疫组织化学方法检测Wnt11在ESCC组织及正常食管组织的表达(En Vision,  $\times 400$ )

Figure 1 Immunohistochemical methods were used to detect the expression of Wnt11, in ESCC tissue and normal esophageal tissue (En Vision,  $\times 400$ )

(A)正常鳞状上皮Wnt11着色于细胞间质; (B)肿瘤细胞Wnt11着色于间质; (C)阳性着色于癌细胞细胞质。

(A) Normal squamous epithelium Wnt11 staining in intercellular substance; (B) Wnt11 is staining in tumor cell interstitium; (C) Wnt11 stained with cytoplasm of cancer cells.

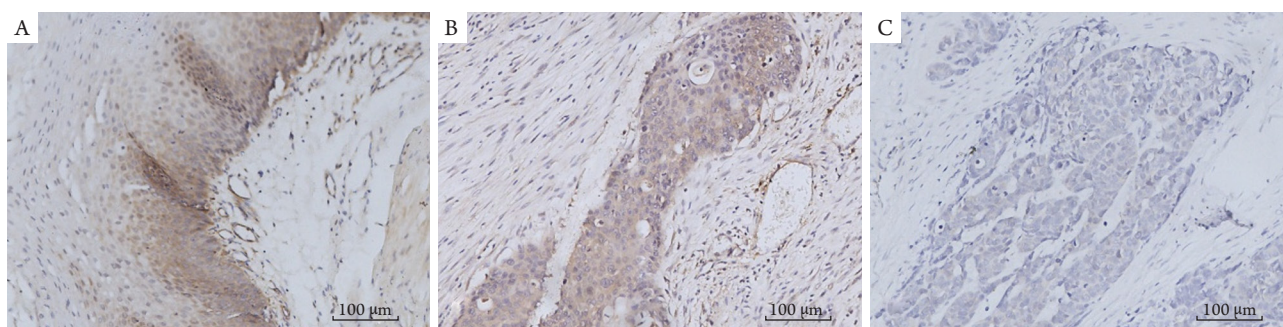


图2 免疫组织化学方法检测ROCK2在ESCC组织及正常食管组织的表达(En Vision, ×400)

Figure 2 Immunohistochemical methods were used to detect the expression of Rock2, in ESCC tissue and normal esophageal tissue (En Vision, ×400)

(A)正常鳞状上皮Rock2着色于细胞间质; (B)肿瘤细胞Rock2着色于间质; (C)肿瘤细胞Rock2阴性。

(A) Normal squamous epithelial Rock2 is stained with intercellular substance; (B) Tumor cell Rock2 staining in interstitial substance;

(C) Tumor cell Rock2 negative.

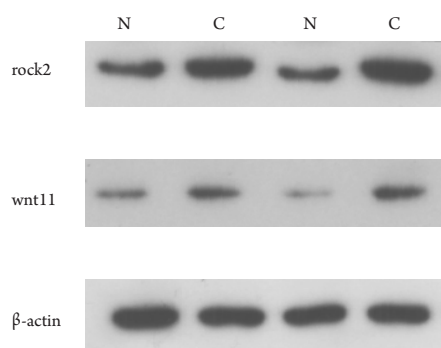


图3 Western印迹法检测Wnt11蛋白在ESCC组织及正常食管组织中的表达

Figure 2 Western blot was used to detect the expression of Wnt11 protein in ESCC and normal esophageal tissue

N代表正常食管黏膜组织, C代表ESCC组织。

N represents normal esophageal mucosal tissue; C represents the ESCC tissue.

### 2.3 Wnt11 和 ROCK2 蛋白表达与临床病理参数之间的关系

为进一步探讨肿瘤组织中Wnt11和ROCK2表达的差异性,本研究按照患者性别、肿瘤大小、部位、病理分化程度、肿瘤T分期、淋巴结转移、是否侵及神经、血管进行分层分析。结果显示:Wnt11蛋白表达与其他临床参数差异无统计学意义( $P>0.05$ )。ROCK2蛋白表达与肿瘤侵及血管相关,在肿瘤侵及血管的患者中,高表达组与低表达组之间的差异有统计学意义( $P<0.05$ )。ROCK2蛋白表达与其他临床参数差异无统计学意义( $P>0.05$ ,表1)。

### 2.4 ESCC 中 Wnt11 与 ROCK2 蛋白表达的关系

经Spearman相关分析得出:在ESCC中Wnt11与ROCK2蛋白表达并无正相关( $P>0.05$ )。

表1 ESCC患者临床病理参数与Wnt11, ROCK2蛋白表达之间的关系( $n=260$ )

Table 1 Relationship between the clinicopathological parameters and expression of Wnt11 and ROCK2 protein in patients with ESCC ( $n=260$ )

临床参数	例数/(%)	Wnt11表达水平/[例(%)]			ROCK2表达水平/[例(%)]		
		低	高	P	低	高	P
性别				0.470			0.847
男	175 (70.0)	125 (71.4)	50 (28.6)		63 (35.8)	112 (64.2)	
女	75 (30.0)	21 (28.1)	54 (71.9)		25 (33.3)	50 (66.7)	
肿瘤直径/cm				0.565			0.352
≤3	70 (28.0)	22 (31.3)	48 (68.7)		23 (32.7)	47 (67.3)	
>3	180 (72.0)	124 (68.7)	56 (31.3)		121 (67.3)	59 (32.7)	

续表1

临床参数	例数/(%)	Wnt11表达水平/[例(%)]			ROCK2表达水平/[例(%)]		
		低	高	P	低	高	P
部位				0.735			0.124
颈部/胸上段	5 (2.0)	5 (100.0)	0 (0.0)		1 (4.0)	4 (96.0)	
胸中段	35 (14.0)	4 (12.5)	31 (87.5)		8 (24.5)	27 (75.5)	
胸下段	185 (74.0)	140 (75.5)	45 (24.5)		132 (71.5)	53 (28.5)	
分化				0.242			0.558
高分化	40 (16.0)	28 (71.8)	12 (28.2)		20 (48.5)	22 (51.5)	
中/低分化	210 (84.0)	92 (43.8)	118 (56.2)		106 (50.3)	104 (49.7)	
肿瘤T分期				0.520			0.364
T0	20 (8.0)	5 (28.1)	15 (71.9)		8 (44.4)	12 (55.6)	
T1	95 (38.0)	39 (40.8)	56 (50.2)		48 (51.1)	47 (48.9)	
T2	20 (8.0)	4 (22.2)	16 (77.8)		8 (40.0)	12 (60.0)	
T3	115 (46.0)	58 (50.5)	57 (49.5)		60 (52.1)	45 (47.9)	
N0	165 (66.0)	120 (72.8)	45 (27.2)		83 (50.3)	82 (49.7)	
N1	85 (34.0)	29 (34.5)	56 (65.5)		42 (49.1)	43 (50.9)	
侵袭血管				0.915			0.036
否	235 (93.9)	119 (50.8)	116 (49.2)		130 (55.5)	105 (44.5)	
是	15 (6.1)	6 (38.5)	9 (61.5)		2 (14.8)	13 (85.2)	
侵袭神经				0.344			0.268
否	203 (81.3)	116 (57.3)	87 (42.7)		104 (51.1)	99 (48.9)	
是	47 (18.7)	11 (23.3)	36 (76.7)		21 (44.4)	26 (55.6)	

### 3 讨论

Wnt通路介导细胞生长, 是组织胚胎发育中细胞生长、分化的重要通路, 在肿瘤的发生发展过程中发挥重要作用<sup>[11]</sup>。Wnt通路一般分为Wnt/ $\beta$ -catenin信号经典通路和Wnt/PCP信号通路的非经典通路两种。而Wnt蛋白作为最核心的蛋白, 大致又可分为两类: 1) Wnt1类, 可激活Wnt经典通路的Wnt-1, Wnt-3a等; 1) Wnt5a类, 包括Wnt-5a, Wnt-11等, 可激活Wnt非经典通路。而Wnt11和ROCK2属于Wnt/PCP途径。近年来研究<sup>[12]</sup>表明: Wnt11可激活非经典Wnt通路即Wnt/ $Ca^{2+}$ 和Wnt/PCP等途径。Wnt11最早在斑马鱼原肠形成过程中被提出, 不仅是Wnt通路的起始蛋白, 而且还能控制组织形态的发生。近年来研究<sup>[13-18]</sup>发现: Wnt11不但参与细胞的生长发育、坏死、凋亡等功能, 甚至参与肿瘤的发生、发展。

Wnt11不仅参与个体发育、细胞黏附、迁移、增殖、分化、极性和死亡, 并作为癌基因或抑癌基因参与肿瘤发生。Wnt11通过与Wnt信号通路相关受体的结合, 进而激发下游因子, 从而影响细胞的黏附、迁移、增殖、分化、极性和死亡。研究<sup>[13-15]</sup>发现: Wnt11在乳腺癌和正常肝中高表达, 但在肝癌细胞中表达却较低。同时研究<sup>[16-18]</sup>表明: Wnt11通过非经典通路可以诱导细胞增殖、分化和前列腺癌进展。然而目前尚未有关于Wnt11在ESCC中的表达及其与Wnt信号通路的关系的研究报道。本研究检测了250例ESCC患者中Wnt11的表达, 虽然Wnt11在肿瘤间质中的表达高于正常细胞间质, 但其与各临床参数之间差异无统计学意义。穆庆等<sup>[19]</sup>发现: Wnt11与宫颈鳞状细胞癌的发生发展相关。但本实验并未发现Wnt11与食管癌各临床参数有相关性, 其原因可能为Wnt11并未参与食管癌的发生发展, 其活性具有组织特异性。

Rho是细胞内一类小分子G蛋白, 具有GTP酶的活性, 通过结合GTP成为活性形式的Rho-GTP, 通过结合下游分子使其活化, 在细胞的信号转导中起关键作用。ROCK是Rho下游的主要效应分子, 属丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶家族, 是目前为止研究最为清楚的Rho下游的靶效应分子。ROCK2通过与Rho-GTP结合后构象发生改变, 进而发挥激酶活性, 使下游的靶分子磷酸化。Rho/ROCK通过促使张力纤维的形成和促进细胞间黏附的形成等来激活并调节细胞骨架蛋白的再生、极性<sup>[20]</sup>, 与恶性肿瘤细胞的浸润和转移等多种生物学行为<sup>[21]</sup>有关, 并在细胞的变形迁移中起开关作用<sup>[22]</sup>。ROCK2通过G肌动蛋白结合蛋白、单丝氨酸蛋白激酶、内收蛋白及细胞骨架连接蛋白等来调节细胞的运动和迁移能力。研究<sup>[5-7]</sup>发现: ROCK2在多种肿瘤中呈现高表达。在膀胱癌中较早发现ROCK2表达增高, 并与其恶性程度相关<sup>[5]</sup>。Sawada等<sup>[6-7]</sup>研究发现: 结肠癌、T3/T4期胃癌中与Rho/ROCK通路有关。Ying等<sup>[8]</sup>研究表明: ROCK2抑制剂可降低乳腺癌鼠动物模型中肿瘤的转移率。研究<sup>[23-24]</sup>发现: 肿瘤细胞侵袭与转移均需要Rho/ROCK信号通路参与, 而在其调节过程中起ROCK2起重要作用。

Fu等<sup>[25]</sup>研究报道: 黄体酮和醋酸甲孕酮可通过快速的肌动蛋白重塑促进乳腺癌细胞骨架的运动, 这个过程由RhoA/ROCK2级联的途径引起, 从而促进乳腺癌细胞的侵袭运动。本研究结果提示: 患者肿瘤侵及血管程度越高, ROCK2表达越高。这与Fu等<sup>[25]</sup>的结果一致, 进一步证明ROCK2具有促进肿瘤细胞侵袭的活性。

Lock等<sup>[26]</sup>研究发现: ROCK1和ROCK2在调节细胞的终末分化和细胞外基质的黏附方面的作用不尽相同, 证实ROCK2在促进上皮细胞分化方面具有正性作用。本研究统计分析ROCK2的表达与肿瘤分期及转移之间的相关性差异, 结果提示其差异无统计学意义, 其原因可能为样本量偏小。本实验结果显示: 在T分化组, 患者ROCK2高表达率有增高的趋势, 为证明其是否促进肿瘤的分化, 还需进一步进行大样本检测。

ROCK2还可促进细胞的迁徙和运动。Wang等<sup>[27]</sup>发现: ROCK2在ESCC细胞系中转染外源表达载体, 过表达自分泌运动因子受体(autocrine motility factor receptor, AMFR)后, 其表达水平有所上调, 并通过介导AMFR来促进细胞的转移。张俊波等<sup>[28]</sup>发现: ROCK2可能与人喉鳞状细胞癌的

淋巴结转移的发生有关。本研究未观察到ROCK2高表达与肿瘤分期及转移之间的相关性差异具有统计学意义, 提示ROCK2在ESCC中的作用与在其他肿瘤中的作用并不一致, 其活性具有组织特异性。这为进一步研究ROCK2在ESCC中的作用机制提供了新的理论依据, 也为更加全面阐明ROCK2在肿瘤发生发展中的作用提供了新的线索和方向。综上所述, ROCK2是一种潜在的判断食管癌侵袭血管的分子标志物。

## 参考文献

1. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2012, 62(1): 10-29.
2. Taziki MH, Rajae S, Behnampour N, et al. Esophageal carcinoma: 5-year survival rate at south-east of caspian see of northern Iran[J]. *J Cancer Res Ther*, 2011, 7(2): 135-137.
3. Moyes LH, Going JJ. Still waiting for predictive biomarkers in Barrett, soesophagus[J]. *J Clin Pathol*, 2011, 64: 742-750.
4. Lordick F. Current standard and trends in oesophageal cancer[J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(Suppl 3): S353-S354.
5. Kamai T, Tsujii T, Arai K, et al. Significant association of Rho/ROCK pathway with invasion and metastasis of bladder cancer[J]. *Clin Cancer Res* 2003, 9(7): 2632-2641.
6. Sawada K, Morishige K, Tahara M, et al. Lysophosphatidic acid induces focal adhesion assembly through Rho/Rho-associated kinase pathway in human ovarian cancer cells[J]. *Gynecol Oncol*, 2002, 87(3): 252-259.
7. Taniguchi K, Tsujitani S, Tokuyasu N, et al. Rho-ROCK expression predicts the prognosis in patients with T3/T4 gastric cancer[J]. *Yonago Acta Medica*, 2007, 50(6): 9-15.
8. Ying H, Biroc SL, Li WW, et al. The Rho kinase inhibitor fasudil inhibits tumor progression in human and rat tumor models[J]. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5(9): 2158-2164.
9. Wong CC, Wong CM, Tung EK, et al. Rho-kinase 2 is frequently overexpressed in hepatocellular carcinoma and involved in tumor invasion[J]. *Hepatology*, 2009, 49(5): 1583-1594.
10. Zheng F, Liao YJ, Cai MY, et al. The putative tumour suppressor microRNA-124 modulates hepatocellular carcinoma cell aggressiveness by repressing ROCK2 and EZH2[J]. *Gut*, 2012, 61(2): 278-289.
11. Behrens J, Lustig B. The Wnt connection to tumorigenesis[J]. *Int J Dev Biol*, 2004, 48: 477-487.
12. Kühl M, Sheldahl LC, Park M, et al. The Wnt/Ca<sup>2+</sup> pathway: a new vertebrate Wnt signaling pathway takes shape[J]. *Trends Genet*, 2000, 16(7): 279-283.
13. Klaus A, Birchmeier W. Wnt signalling and its impact on development

- and cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(5): 387-398.
14. Yang Y. The Wnt signaling pathway in development and disease[J]. *Cell Biosci*, 2012, 2(1): 14.
  15. Toyama T, Lee HC, Koga H, et al. Noncanonical Wnt11 inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation and migration[J]. *Mol Cancer Res*, 2010, 8(2): 254-265.
  16. Ouko L, Ziegler TR, Gu LH, et al. Wnt11 signaling promotes proliferation, transformation, and migration of IEC6 intestinal epithelial cells[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(25): 26707-26715.
  17. Christiansen JH, Monkley SJ, Wainwright BJ. Murine Wnt11 is a secreted glycoprotein that morphologically transforms mammary epithelial cells[J]. *Oncogene*, 1996, 12(12): 2705-2711.
  18. Zhu H, Mazor M, Kawano Y, et al. Analysis of Wnt gene expression in prostate cancer: mutual inhibition by Wnt11 and the androgen receptor[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(21): 7918-7926.
  19. 穆庆, 魏恒, 张瑶, 等. Wnt-11及其受体在宫颈鳞癌中的表达及意义[J]. *中国医科大学学报*, 2013, 42(5): 420-424.  
MU Qing, WEI Heng, ZHANG Yao, et al. Expression and significance of Wnt11 and its receptor in cervical squamous cell carcinoma[J]. *Journal of China Medical University*, 2013, 42(5): 420-424.
  20. Imamura F, Mukai M, Ayaki M, et al. Y-27632, an inhibitor of rho-associated protein kinase, suppresses tumor cell invasion via regulation of focal adhesion and focal adhesion kinase[J]. *Jpn J Cancer Res*, 2000, 91(8): 811-816.
  21. Ridley AJ, Schwartz MA, Burridge K, et al. Cell migration: integrating signals from front to back[J]. *Science*, 2003, 302(5651): 1704-1709.
  22. Wettschureck N, Offermanns S. Rho/Rho-kinase mediated signaling in physiology and pathophysiology[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2002, 80(10): 629-638.
  23. 易龙, 张乾勇, 糜漫天. Rho家族蛋白在肿瘤侵袭转移中作用[J]. *中国公共卫生*, 2007, 23(4): 492-494.  
YI Long, ZHANG Qianrong, MI Mantian. The role of Rho family protein in tumor invasion and metastasis[J]. *Chinese Journal of Public Health*, 2007, 23(4): 492-494.
  24. 徐艳群, 康俊升. Rho/ROCK蛋白与恶性肿瘤发病机制及靶点治疗的研究近况[J]. *实用医药杂志*, 2009, 26(4): 68-70.  
XU Yanqun, KANG Junsheng. Research on the pathogenesis of Rho/ROCK protein and malignancy and target therapy[J]. *Practical Journal of Medicine & Pharmacy*, 2009, 26(4): 68-70.
  25. Fu XD, Giretti MS, Beldaei C. Extra-nuclear signaling of progesterone receptor to breast cancer cell movement and invasion through the actin cytoskeleton[J]. *PLoS One*, 2008, 3(7): e2790.
  26. Lock FE, Hotchin NA. Distinct roles for rock1 and rock2 in the regulation of keratinocyte differentiation[J]. *PLoS One*, 2009, 4: e8190.
  27. Wang L, Hou G, Xue L, et al. Autocrine motility factor receptor signaling pathway promotes cell invasion via activation of ROCK-2 in esophageal squamous cell cancer cells[J]. *Cancer Invest*, 2010, 28(10): 993-1003.
  28. 张俊波, 石怀银, 刘良发. RhoC及其效应分子ROCK2在人喉鳞状细胞癌中的表达及临床意义[J]. *医学研究杂志*, 2011, 40(12): 73-76.  
ZHANG Junbo, SHI Huaiyin, LIU Liangfa. To investigate the expression and clinical significance of rhoC and its effector ROCK2 in laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC)[J]. *Journal of Medical Research*, 2011, 40(12): 73-76.

本文引用: 苗娜, 李俊芝, 王志强, 刘涛. Wnt11与ROCK2在食管鳞状细胞癌中的表达及其临床意义[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(4): 724-730. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.04.007

**Cite this article as:** MIAO Na, LI Junzhi, WANG Zhiqiang, LIU Tao. Expression of Wnt11 and ROCK2 in esophageal squamous cell carcinoma and its and clinical significance[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(4): 724-730. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.04.007