

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.03.009

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.03.009>

## HIP1 与 AKT/GSK3 $\beta$ 信号通路及上皮间充质转化标志性分子在食管鳞癌组织中的表达及其相关性

孙盈, 夏靖华, 王雪娇, 文苗苗, 张晏宁, 张娇, 张志培, 李小飞

(空军军医大学第二附属医院胸外科, 西安 710038)

**[摘要]** 目的: 检测亨廷顿蛋白相互作用蛋白1(Huntingtin interacting protein 1, HIP1), AKT/GSK3 $\beta$ 信号通路及上皮间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)关键分子蛋白在食管鳞癌中的表达, 探讨HIP1表达与AKT/GSK3 $\beta$ 信号通路及EMT之间的相关性, 为进一步研究HIP1在食管鳞癌中的作用及其机制提供依据。方法: 采用免疫组织化学法检测85例食管鳞癌组织及其对应癌旁组织样本中HIP1, p-GSK3 $\beta$ , EMT标志性分子E-cadherin及Vimentin的表达, 并统计分析几者在临床病理特征中的表达差异及HIP1与p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin, Vimentin表达之间的相关性。采用荧光定量PCR(RT-qPCR)法检测HIP1, GSK3 $\beta$ , E-cadherin及Vimentin基因在食管癌及其癌旁组织中的表达。结果: HIP1, p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin及Vimentin在食管鳞癌组织中的阳性表达率分别为91.8%(78/85), 82.35%(70/85), 15.29%(13/85), 80%(68/85), 分别与癌旁组织中的表达差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。HIP1, p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin在不同病理分级组间的表达差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 而Vimentin在临床病理特征各组组间的表达差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。相关性结果显示, HIP1与p-GSK3 $\beta$ 及Vimentin在总的食管鳞癌中的表达均呈显著正相关( $P < 0.05$ ), HIP1与E-cadherin在总的食管鳞癌中的表达呈显著负相关( $P < 0.01$ )。RT-qPCR结果发现, HIP1, GSK3 $\beta$ 及Vimentin基因在食管鳞癌中的表达均高于其对应的癌旁组织, 而E-cadherin基因在食管鳞癌中的表达低于其对应的癌旁组织。结论: HIP1表达与p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin及Vimentin间存在相关性, 提示HIP1可能促进食管鳞癌组织中GSK3 $\beta$ 及Vimentin的表达, 抑制E-cadherin的表达。

**[关键词]** 亨廷顿蛋白相互作用蛋白1; 食管癌; 上皮间充质转化; 信号通路; 癌变

## Expression and correlation of HIP1 with AKT/GSK3 $\beta$ signal pathway and EMT signaling molecules in esophageal squamous cell carcinoma tissues

SUN Ying, XIA Jinghua, WANG Xuejiao, WEN Miaomiao, ZHANG Yanning, ZHANG Jiao, ZHANG Zhipei, LI Xiaofei

(Department of Thoracic Surgery, Second Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an 710038, China)

**Abstract Objective:** To explore the effect and mechanism of HIP1 in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC)

收稿日期 (Date of reception): 2018-10-22

通信作者 (Corresponding author): 张志培, Email: zpzpyy@fmmu.edu.cn; 李小飞, Email: lixiaofeichest@fmmu.edu.cn

基金项目 (Foundation item): 空军军医大学唐都医院创新发展基金 (2016JCYJ009)。This work was supported by the Air Force Medical University Tangdu Hospital Innovation and Development Foundation, China (2016JCYJ009).

carcinogenesis through exam the expression and correlation research of HIP1 with AKT/GSK3 $\beta$  signal pathway and epithelial-mesenchymal transition (EMT) in ESCC. **Methods:** In this study, HIP1, p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin, Vimentin expressions were assessed using immunohistochemistry (IHC) in 85 ESCC and adjacent ESCC tissues and the correlation research of HIP1 with p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin, Vimentin were analyzed. RT-qPCR was used to detect the gene expression of HIP1, GSK3 $\beta$ , E-cadherin and Vimentin in ESCC and adjacent ESCC tissues. **Results:** The expression rate of HIP1, p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin, Vimentin in ESCC (91.8%, 82.35%, 15.29%, 80%) showed extremely significance compared with adjacent ESCC tissues ( $P < 0.001$ ). HIP1, p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin expression was significantly associated with pathological grades ( $P < 0.05$ ), and there was no significance between Vimentin expression with clinicopathologic features ( $P > 0.05$ ). The correlation research showed that there were significant positive correlations between HIP1 and p-GSK3 $\beta$ , as well as Vimentin ( $P < 0.05$ ), and there was significant negative correlation between HIP1 and E-cadherin ( $P < 0.01$ ). RT-qPCR results showed that compared with adjacent ESCC tissues, HIP1, GSK3 $\beta$  and Vimentin gene were higher expressed in ESCC tissues, but E-cadherin gene was lower expressed in ESCC tissues. **Conclusion:** HIP1 maybe promote p-GSK3 $\beta$  and Vimentin expression and inhibit E-cadherin expression.

**Keywords** Huntingtin interacting protein 1; esophageal squamous cell carcinoma; epithelial-mesenchymal transition; signal pathway; carcinogenesis

亨廷顿蛋白相互作用蛋白1 (Huntingtin interacting protein 1, HIP1)<sup>[1-2]</sup>起初作为网格蛋白的一个组件参与细胞内吞作用而被报道<sup>[3-7]</sup>。随后,在前列腺癌、结肠癌等多种恶性肿瘤中检出HIP1高表达<sup>[8-10]</sup>。因此, HIP1被认为是重要的促癌蛋白。相比于食管鳞癌癌旁组织, HIP1在食管鳞癌组织中高表达,且其表达与食管鳞癌患者病理分级密切相关<sup>[11]</sup>。因此HIP1可能与食管鳞癌的发生发展密切相关。但是HIP1在食管鳞癌中的作用及其机制尚不清楚。

食管癌转移是导致食管癌治疗失败和患者死亡的主要原因<sup>[12-15]</sup>,延缓或阻断转移已成为提高其治疗效果的关键。上皮间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)作为肿瘤转移的起始环节,在肿瘤转移中的作用越来越受到重视。HIP1参与非小细胞肺癌EMT过程<sup>[16]</sup>,但HIP1是否可能参与食管鳞癌EMT过程尚不清楚。前人研究<sup>[17]</sup>发现, HIP1可以影响核转录因子 $\beta$ -catenin以及翻译后修饰因子Slug基因和蛋白的表达,而AKT/GSK3 $\beta$ 信号通路能够调节核转录因子 $\beta$ -catenin以及翻译后修饰因子Slug。推测HIP1可能通过AKT/GSK3 $\beta$ 信号通路调节 $\beta$ -catenin以及翻译后修饰因子Slug。但HIP1, AKT/GSK3 $\beta$ 信号通路以及EMT之间是否有关联性以及作用机制如何尚不得而知。因此,本研究通过免疫组织化学法检测HIP1, p-GSK3 $\beta$ ,

E-cadherin及Vimentin在食管鳞癌中的表达,并分析两两之间的相关性,初步为研究HIP1在食管鳞癌中的作用及其机制提供一定的基础。

## 1 资料与方法

### 1.1 病理资料

随机选取2006年5月至2007年12月于空军军医大学第二附属医院接受手术治疗的食管鳞癌患者85例,并完善临床病理资料。其中男68例,女17例;年龄41~76(中位61)岁;病理分级:中高分化61例,低分化24例;临床TNM分期:I~II期66例,III~IV期19例。本研究已通过空军军医大学第二附属医院医学伦理委员会批准,患者或其家属均签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 试剂

HIP1, p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin, Vimentin抗体购自Abcam公司, EnVision<sup>TM</sup>免疫组织化学试剂盒购自世纪康为公司, DAB显色剂购自北京中杉金桥公司。

#### 1.2.2 免疫组织化学染色法

免疫组织化学染色采用EnVision两步法,具体操作步骤如下:标本经4  $\mu$ m连续切片,切片脱蜡

至水, 尿素消化, 3%过氧化氢封闭, 用柠檬酸缓冲液进行微波修复、冷却, 10%山羊血清封闭, 加一抗4℃过夜; 37℃复温, 加入抗兔二抗, 37℃恒温反应(中间各步用PBS洗), DAB显色, 显微镜观察终止显色。苏木精轻微复染, 脱水透明封片, 光镜下观察。对照组设阳性、阴性和空白对照: 用已知阳性表达组织作为阳性对照; 以PBS代替一抗作为空白对照。

### 1.2.3 免疫组织化学结果判定

按照半定量积分方法判定, 每例均随机观察5个高倍视野( $\times 400$ ), 判断结果: 阳性细胞 $\leq 5\%$ 为0分, 6%~25%为1分, 26%~50%为2分, 51%~75%为3分,  $> 75\%$ 为4分; 阳性强度黄色为1分, 棕黄为2分, 棕褐色为3分。将细胞阳性率与染色强度积分相乘, 0分为阴性(-), 1~4分为弱阳性(+), 5~8分为中度阳性(++), 9~12分为强阳性(+++)。

### 1.2.4 荧光定量PCR法

通过TRIzol法提取组织及细胞中的mRNA, 测定其浓度后取总RNA 3  $\mu\text{g}$ , 按逆转录反应试剂说明完成cDNA的合成。每个样本重复3个复孔, 每孔上样20  $\mu\text{L}$ , 总计制备70  $\mu\text{L}$ 的PCR反应体系: 2 $\times$ SYBR mix buffer 35  $\mu\text{L}$ 、上游引物10  $\mu\text{mol/L}$ 、下游引物10  $\mu\text{mol/L}$ 、模板cDNA 0.05~0.1  $\mu\text{g}$ 、补水至70  $\mu\text{L}$ 。上机检测并设置反应条件: 95℃ 10 min; 95℃ 15s, 60℃ 30s, 72℃ 50s, 循环35次。结果通过 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 相对定量法进行分析。

## 1.3 统计学处理

采用SPSS 18.0统计软件进行数据分析。通过

卡方检验分析目的分子在食管鳞癌组织及对应癌旁组织中的差异; 目的分子表达与临床病理特征的关系中3组以上采用Kruskal-Wallis  $H$ 检验, 两组间采用Mann-Whitney  $U$ 秩和检验; 相关性分析采用Spearman秩和相关检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HIP1, p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin, Vimentin在食管鳞癌中的表达

免疫组织化学结果显示: HIP1在食管鳞癌组织中的阳性表达率为91.8%(78/85); p-GSK3 $\beta$ 在食管鳞癌组织中的阳性表达率为82.35%(70/85); E-cadherin在食管鳞癌组织中的阳性表达率为15.29%(13/85); Vimentin在食管鳞癌组织中的阳性表达率为80%(68/85)。分别与癌旁组织相比, 表达差异有统计学意义( $P < 0.001$ ; 表1, 图1)。

### 2.2 p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin, Vimentin表达与食管鳞癌临床病理特征的关系

p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin表达在患者临床病理分级组间表达差异有统计学意义( $P < 0.001$ ), 而在性别、年龄、TNM分期各组间差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ); Vimentin表达在性别、年龄、病理分级、TNM分期各组间差异均无统计学意义( $P > 0.05$ , 表2)。

表1 HIP1, p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin及Vimentin蛋白在食管鳞癌及癌旁组织中的表达( $n=85$ )

Table 1 Expressions of HIP1, p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin and Vimentin in ESCC and adjacent ESCC tissues ( $n=85$ )

分类	HIP1/[例(%)]			p-GSK3 $\beta$ /[例(%)]		
	阴性	阳性	$P$	阴性	阳性	$P$
食管癌旁	80 (94.12)	5 (5.88)	<0.001	65 (76.47)	20 (23.53)	<0.001
食管鳞癌	7 (8.24)	78 (91.76)		15 (17.65)	70 (82.35)	
分类	E-cadherin/[例(%)]			Vimentin/[例(%)]		
	阴性	阳性	$P$	阴性	阳性	$P$
食管癌旁	32 (37.65)	53 (62.35)	<0.001	60 (70.59)	25 (29.41)	<0.001
食管鳞癌	72 (84.71)	13 (15.29)		17 (20.00)	68 (80.00)	



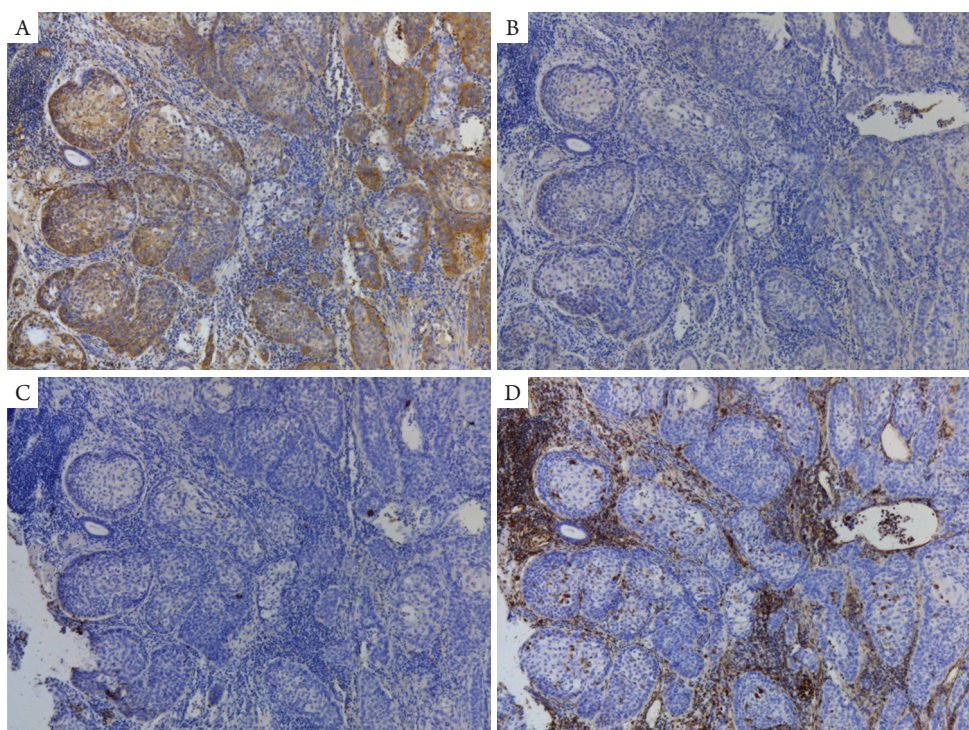


图1 HIP1, p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin及Vimentin蛋白在食管鳞癌中的表达(EnVision,  $\times 100$ )

Figure 1 Expressions of HIP1, p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin and Vimentin in ESCC (EnVision,  $\times 100$ )

(A)HIP1表达; (B)p-GSK3 $\beta$ 表达; (C)E-cadherin表达; (D)Vimentin表达。

(A) HIP1 expression; (B) p-GSK3 $\beta$  expression; (C) E-cadherin expression; (D) Vimentin expression.

表2 p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin及Vimentin表达与食管鳞癌临床病理特征的关系

Table 2 Expressions of p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin and Vimentin in different pathological features of ESCC

变量	n	p-GSK3 $\beta$					E-cadherin					Vimentin				
		-	+	++	+++	P	-	+	++	+++	P	-	+	++	+++	P
性别						0.194					0.061					0.139
男	68	14	33	16	5		60	5	3	0		12	9	36	11	
女	17	1	9	5	2		12	2	3	0		5	3	8	1	
年龄/岁						0.412					0.944					0.100
$\leq 61$	47	8	22	11	6		40	3	3	1		8	4	27	8	
$> 61$	38	7	20	10	1		32	3	3	0		9	8	17	4	
病理分级						$< 0.001$					0.002					0.261
中高分化	61	5	30	19	7		58	1	3	1		13	5	33	10	
低分化	24	10	12	2	0		14	4	4	0		4	7	11	2	
TNM分期						0.272					0.642					0.062
I-II	66	14	31	16	5		54	4	4	1		12	6	38	10	
III-IV	19	1	11	5	2		18	1	3	0		5	6	6	2	

### 2.3 HIP1与p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin及Vimentin在总的食管鳞癌中的表达相关性

在食管鳞癌中, HIP1与p-GSK3 $\beta$ 及Vimentin的表达均呈显著正相关(均 $P < 0.05$ ), 而与E-cadherin的表达呈显著负相关( $P < 0.05$ , 表3)。

### 2.4 HIP1与p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin及Vimentin在食管鳞癌不同临床病理特征中表达的相关性

HIP1与p-GSK3 $\beta$ 在不同的TNM分期、不同病理分级中均呈显著正相关( $P < 0.05$ ); HIP1与E-cadherin在不同的TNM分期、不同病理分级中均呈显著负相关( $P < 0.05$ ); 而HIP1与Vimentin在不同的TNM分期、不同病理分级中均无相关性( $P > 0.05$ , 表4)。

表3 总的食管鳞癌中HIP1与p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin及Vimentin表达的相关性

Table 3 The correlation of HIP1 expression with p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin and Vimentin expressions in ESCC

HIP1	p-GSK3 $\beta$						E-cadherin						Vimentin					
	-	+	++	+++	<i>r</i>	<i>P</i>	-	+	++	+++	<i>r</i>	<i>P</i>	-	+	++	+++	<i>r</i>	<i>P</i>
-	5	2	0	0	0.558	<0.001	2	0	4	1	-0.352	0.001	1	3	2	1	0.261	0.016
+	8	17	5	0			25	3	2	0			9	4	14	3		
++	2	20	13	2			35	1	1	0			7	5	20	5		
+++	0	3	3	5			10	1	0	0			0	0	8	3		

表4 HIP1与p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin及Vimentin在不同食管鳞癌临床病理特征中表达的相关性

Table 4 The correlation of HIP1 expression with p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin and Vimentin expressions in different pathological features of ESCC

临床病理参数	HIP1	p-GSK3 $\beta$						E-cadherin						Vimentin					
		-	+	++	+++	<i>r</i>	<i>P</i>	-	+	++	+++	<i>r</i>	<i>P</i>	-	+	++	+++	<i>r</i>	<i>P</i>
TNM分期																			
I~II	-	4	2	0	0	0.594	<0.001	1	0	2	1	-0.324	0.01	1	2	2	1	0.232	0.061
	+	8	10	3	0			20	2	2	0			6	1	12	2		
	++	2	17	10	1			28	1	0	0			5	3	17	5		
	+++	0	2	3	4			5	1	0	0			0	0	7	2		
III~IV	-	1	0	0	0	0.494	0.032	1	0	2	0	-0.426	0.048	0	1	0	0	0.283	0.241
	+	0	7	2	0			5	1	0	0			3	3	2	1		
	++	0	3	3	1			7	0	1	0			2	2	3	0		
	+++	0	1	0	1			5	0	0	0			0	0	1	1		
病理分级																			
中高分化	-	1	2	0	0	0.534	<0.001	1	0	3	1	-0.452	<0.001	1	0	1	1	0.211	0.103
	+	3	13	4	0			23	1	0	0			6	2	10	2		
	++	1	13	12	2			25	0	0	0			6	3	14	5		
	+++	0	2	3	5			9	0	0	0			0	0	8	2		
低分化	-	4	0	0	0	0.580	0.003	1	0	1	0	-0.347	0.113	0	3	1	0	0.297	0.158
	+	5	4	1	0			2	2	2	0			3	2	4	1		
	++	1	7	1	0			10	1	1	0			1	2	6	0		
	+++	0	1	0	0			1	1	0	0			0	0	0	1		

## 2.5 荧光定量PCR法检测HIP1, GSK3 $\beta$ , E-cadherin及Vimentin基因在食管鳞癌中的表达

随机选取3对食管鳞癌及其对应的癌旁组织样本, 荧光定量PCR(RT-qPCR)法检测HIP1, GSK3 $\beta$ , E-cadherin及Vimentin基因在食管

鳞癌及癌旁组织中的表达差异, 结果发现: HIP1, GSK3 $\beta$ 及Vimentin基因在食管鳞癌中的表达均高于其对应的癌旁组织, 而E-cadherin基因在食管鳞癌中的表达低于其对应的癌旁组织(图2)。

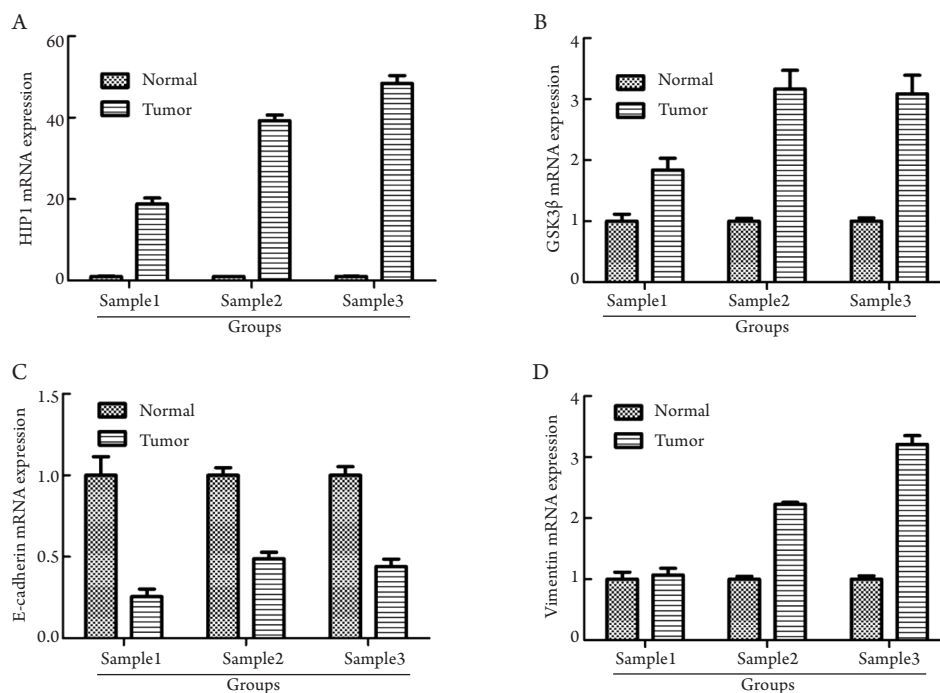


图2 HIP1, GSK3 $\beta$ , E-cadherin及Vimentin基因在食管鳞癌中的表达

Figure 2 Gene expression of HIP1, GSK3 $\beta$ , E-cadherin and Vimentin in ESCC tissue

(A)HIP1基因在食管鳞癌中的表达; (B)GSK3 $\beta$ 基因在食管鳞癌中的表达; (C)E-cadherin基因在食管鳞癌中的表达; (D)Vimentin基因在食管鳞癌中的表达。

(A) HIP1 gene expression; (B) GSK3 $\beta$  gene expression; (C) E-cadherin gene expression; (D) Vimentin gene expression.

## 3 讨论

癌基因的激活在肿瘤的形成中起关键作用。研究发现<sup>[8-10,16]</sup>: HIP1在多种肿瘤组织或细胞中高表达, 推测HIP1可能是一种新发现的癌基因并参与多种肿瘤的发病过程。笔者团队前期研究<sup>[11]</sup>发现: 与食管鳞癌癌旁组织相比, HIP1蛋白在食管鳞癌组织中高表达。提示HIP1蛋白可能是食管鳞癌组织和癌旁组织中的差异蛋白, 但HIP1在食管癌中的作用及其机制并不清楚。

EMT是指具有极性的上皮细胞转化为具有运动能力的间充质细胞并使细胞获得侵袭和迁移能力的过程, 它存在于胚胎发育、组织修复、肿瘤转移等多个生理和病理过程, 并受多种复杂信号通路的调节。主要的分子特征改变为E-cadherin等

上皮标志物表达和功能缺失, 同时Vimentin等间充质细胞标志物过量表达<sup>[18-19]</sup>。已有研究<sup>[20]</sup>证实: EMT是肿瘤转移的重要起始环节, 在肿瘤转移中的作用越来越受到重视, 但其影响食管鳞癌转移的机制尚不完全清楚。

以往的研究<sup>[16]</sup>显示: HIP1可能参与了其他肿瘤EMT过程, 但在食管鳞癌中却鲜见报道。不仅如此, HIP1还能够调控核转录因子 $\beta$ -catenin及翻译后修饰因子Slug的表达, 而这个过程可能与信号通路AKT/GSK3 $\beta$ 有关<sup>[17]</sup>。已报道的可诱导EMT发生的信号通路主要有TGF- $\beta$ /SMAD3, IL-6/STAT3, Wnt/ $\beta$ -catenin, Notch, Hedgehog等<sup>[21-23]</sup>。HIP1, AKT/GSK3 $\beta$ 信号通路以及EMT之间是否有关联性以及作用机制尚不明确。

本研究结果显示: HIP1, p-GSK3 $\beta$ ,



E-cadherin和Vimentin在食管鳞癌组织中的阳性表达率分别为91.8%(78/85), 82.35%(70/85), 15.29%(13/85), 80%(68/85), 从阳性表达率可以看出HIP1与p-GSK3 $\beta$ , Vimentin呈正相关, HIP1与E-cadherin呈反相关, 提示HIP1与AKT/GSK3 $\beta$ 信号通路及EMT可能相关。分别与癌旁组织相比, HIP1, p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin和Vimentin在食管鳞癌组织中的表达差异有统计学意义( $P < 0.001$ ), 表明HIP1蛋白表达的改变可能会影响p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin和Vimentin蛋白的表达。而统计分析p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin和Vimentin表达与食管鳞癌患者临床病理特征的关系发现, p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin表达在患者临床病理分级组间表达差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 而GSK3 $\beta$ , E-cadherin表达在患者性别、年龄、TNM分期各组间差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ), 表明p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin表达高低与病理分级高低成反比, 病理高分化时p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin表达低, 病理低分化时p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin蛋白表达高。Vimentin表达在患者性别、年龄、病理分级、TNM分期各组间差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。已知TNM分期与肿瘤的分化、增殖和转移相关, 本研究结果可能与样本量有限有关, 将在后续研究中进一步加大样本量。

食管鳞癌中HIP1与p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin和Vimentin表达相关性结果显示: 食管鳞癌中HIP1与p-GSK3 $\beta$ 及Vimentin的表达呈显著正相关, HIP1与E-cadherin表达呈显著负相关( $P < 0.05$ ), 说明食管鳞癌中HIP1与AKT/GSK3 $\beta$ 信号通路及EMT之间存在很好的相关性。Hsu等<sup>[16]</sup>研究的肺癌细胞系中HIP1及GSK3 $\beta$ 等相关结果与本研究结果相似。而进一步细化HIP1与p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin及Vimentin在食管鳞癌不同临床病理特征中表达的相关性发现, HIP1与p-GSK3 $\beta$ 在不同TNM分期及不同病理分级组间均呈显著正相关( $P < 0.05$ ), 说明二者相关性与病理分化程度成反比, 即与高分化组织相比, 在低分化组织样本中, HIP1对p-GSK3 $\beta$ 表达有较大的影响; HIP1与E-cadherin在不同TNM分期、不同病理分级组间均呈显著负相关( $P < 0.05$ ); 而HIP1与Vimentin在不同TNM分期、不同病理分级组间均无相关性( $P > 0.05$ ), 该结果可能与样本量有限有关。同时, 从RT-qPCR结果也能看出HIP1与GSK3 $\beta$ 以及Vimentin基因表达呈正相关, HIP1与E-cadherin基因表达呈负相关。

综上所述, 本研究初步证实HIP1表达与p-GSK3 $\beta$ , E-cadherin及Vimentin间存在相关性,

提示HIP1可能促进食管鳞癌组织中p-GSK3 $\beta$ 和Vimentin的表达, 抑制E-cadherin的表达, 这可为进一步研究HIP1在食管鳞癌中的作用及其机制提供重要依据。

## 参考文献

1. Kalchman MA, Koide HB, McCutcheon K, et al. HIP1, a human homologue of *S. cerevisiae* Sla2p, interacts with membrane-associated huntingtin in the brain[J]. *Nat Genet*, 1997, 16(1): 44-53.
2. Wanker EE, Rovira C, Scherzinger E, et al. HIP-1: a huntingtin interacting protein isolated by the yeast two-hybrid system[J]. *Hum Mol Genet*, 1997, 6(3): 487-495.
3. Wijayatunge R, Holmstrom SR, Foley SB, et al. Deficiency of the Endocytic Protein Hip1 Leads to Decreased Gdp3 Expression, Low Phosphocholine, and Kypholordosis[J]. *Mol Cell Biol*, 2018, 38(23).
4. Li D, Chen F, Ding J, et al. Knockdown of HIP1 expression promotes ligand-induced endocytosis of EGFR in HeLa cells[J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(6): 3387-3391.
5. Peng L, Yang Q, Xu X, et al. Huntingtin-interacting protein 1-related protein plays a critical role in dendritic development and excitatory synapse formation in hippocampal neurons[J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 186.
6. Gottfried I, Ehrlich M, Ashery U. The Sla2p/HIP1/HIP1R family: similar structure, similar function in endocytosis?[J]. *Biochem Soc Trans*, 2010, 38(Pt 1): 187-191.
7. Wilbur JD, Hwang PK, Brodsky FM, et al. Accommodation of structural rearrangements in the huntingtin-interacting protein 1 coiled-coil domain[J]. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, 2010, 66(Pt 3): 314-318.
8. Rice MA, Ishteiwy RA, Magani F, et al. The microRNA-23b/-27b cluster suppresses prostate cancer metastasis via Hunting-interacting protein 1-related[J]. *Oncogene*, 2016, 35(36): 4752-4761.
9. Wang J, Yu M, Guo Q, et al. Prognostic significance of huntingtin interacting protein 1 expression on patients with acute myeloid leukemia[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 45960.
10. Hong M, Kim RN, Song JY, et al. HIP1-ALK, a novel fusion protein identified in lung adenocarcinoma[J]. *J Thorac Oncol*, 2014, 9(3): 419-422.
11. 张亚斌, 孙盈, 孙蕾, 等. HIP1在食管癌中的表达及其临床意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(21): 3401-3404.  
ZHANG Yabin, SUN Ying, SUN Lei, et al. Expression of HIP1 in esophageal squamous cell carcinoma and its clinical significance[J]. *Journal of Modern Oncology*, 2018, 26(21): 3401-3404.
12. Socinski MA, Crowell R, Hensing TE, et al. Treatment of non-small cell

- lung cancer, stage IV: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition)[J]. Chest, 2007, 132(3 Suppl): 277S-289S.
13. Azzoli CG, Baker S Jr, Temin S, et al. American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline update on chemotherapy for stage IV non-small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2009, 27: 6251-6266.
  14. Felip E, Gridelli C, Baas P, et al. Metastatic non-small-cell lung cancer: consensus on pathology and molecular tests, first-line, second-line, and third-line therapy: 1st ESMO Consensus Conference in Lung Cancer; Lugano 2010[J]. Ann Oncol, 2011; 22: 1507-1519.
  15. van Klaveren RJ. Lung cancer screening[J]. Eur J Cancer, 2011, 47 (Suppl 3): S147-S155.
  16. Hsu CY, Lin CH, Jan YH, et al. HIP1 is an early-stage prognostic biomarker of lung adenocarcinoma and suppresses metastasis via Akt-mediated EMT[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2016, 193(8): 869-880.
  17. Kao SH, Wang WL, Chen CY, et al. GSK3beta controls epithelial-mesenchymal transition and tumor metastasis by CHIP-mediated degradation of Slug[J]. Oncogene, 2014, 33: 3172-3182.
  18. Scanlon CS, Van Tubergen EA, Inglehart RC, et al. Biomarkers of epithelial-mesenchymal transition in squamous cell carcinoma[J]. J Dent Res, 2013, 92(2): 114-121.
  19. Turley EA, Veiseh M, Radisky DC, et al. Mechanisms of disease: epithelial-mesenchymal transition--does cellular plasticity fuel neoplastic progression?[J]. Nat Clin Pract Oncol, 2008, 5(5): 280-290.
  20. Denlinger CE, Ikonomidis JS, Reed CE, et al. Epithelial to mesenchymal transition: the doorway to metastasis in human lung cancers[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2010, 140(3): 505-513.
  21. Zheng H, Kang Y. Multilayer control of the EMT master regulators[J]. Oncogene, 2014, 33(14): 1755-1763.
  22. De Craene B, Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression[J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(2): 97-110.
  23. Yang J, Weinberg RA. Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis[J]. Dev Cell, 2008, 14(6): 818-829.

**本文引用:** 孙盈, 夏靖华, 王雪娇, 文苗苗, 张晏宁, 张娇, 张志培, 李小飞. HIP1与AKT/GSK3 $\beta$ 信号通路及上皮间充质转化标志性分子在食管鳞癌组织中的表达及其相关性[J]. 临床与病理杂志, 2019, 39(3): 515-522. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.03.009

**Cite this article as:** SUN Ying, XIA Jinghua, WANG Xuejiao, WEN Miaomiao, ZHANG Yanning, ZHANG Jiao, ZHANG Zhipei, LI Xiaofei. Expression and correlation of HIP1 with AKT/GSK3 $\beta$  signal pathway and EMT signaling molecules in esophageal squamous cell carcinoma tissues[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2019, 39(3): 515-522. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.03.009