

SOST 和 β -catenin 蛋白表达与非小细胞肺癌预后的相关性

姚 东,徐裕金,徐晓玲,徐海苗

(浙江省肿瘤医院,浙江 杭州 310022)

摘 要: [目的] 研究 SOST 与 β -catenin 蛋白表达与对非小细胞肺癌(non-small cell carcinoma, NSCLC) 预后的相关性。[方法] 614 例 NSCLC 手术患者癌组织石蜡制作成组织芯片,免疫组化检测 SOST 与 β -catenin 蛋白表达。分析 SOST、 β -catenin 蛋白表达与临床病理特征的相关性;Cox 回归分析患者预后影响因素,采用 Kaplan-Meier 法及 Log-rank 检验分析临床病理特征及 SOST、 β -catenin 蛋白表达与患者无疾病进展生存期(DFS)和总生存期(OS)的关系。[结果] 614 例患者中 SOST、 β -catenin 蛋白表达阳性率分别为 39.6%(243/614)、55.2%(339/614);SOST 表达与肿瘤的分化、分期、家族史、术前后有无新辅助放疗、淋巴结转移及骨转移均独立相关($P<0.05$),SOST 蛋白阳性表达患者的 DFS 与 OS 较阴性表达患者好; β -Catenin 蛋白表达与肿瘤分化、分期、淋巴结转移独立相关($P<0.05$), β -Catenin 蛋白阳性表达患者的 DFS 与 OS 较表达阴性患者低;SOST 蛋白表达阳性患者中, β -Catenin 蛋白表达阳性率降低。[结论] SOST 表达阳性者、 β -Catenin 表达阴性者具有更好的预后;SOST 蛋白可能抑制 Wnt 信号通路,降低 β -Catenin 蛋白表达;SOST 和 β -Catenin 蛋白可能是判断 NSCLC 患者的独立预后因子。

关键词: SOST; β -Catenin;癌,非小细胞肺;预后

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2018)06-0573-07

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2018.06.B009

Relationship of SOST and β -catenin Protein Expression with Prognosis of Non-small Cell Lung Cancer

YAO Dong, XU Yu-jin, XU Xiao-ling, et al.

(Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou 310022, China)

Abstract: [Objective] To study the relationship of SOST and β -catenin protein expression with the prognosis of non-small cell lung cancer(NSCLC). [Methods] The expression of SOST and β -catenin protein was detected by immunohistochemistry on paraffin tissue microarray from 614 NSCLC patients. The relationship of SOST and β -catenin protein expression with the clinicopathological features of NSCLC patients was analyzed. The disease-free survival(DFS) and overall survival(OS) were determined by Kaplan-Meier method. The correlation of clinicopathological factors and expression of SOST and β -catenin protein with the DFS and OS were analyzed by COX regression and Log-rank test. [Results] The positive expression rate of SOST and β -catenin protein was 39.6%(243/614) and 55.2%(339/614) in the 614 patients, respectively. The expression of SOST was correlated with tumor differentiation, tumor stages, family history, new adjuvant chemoradiotherapy before operation, bone metastasis and lymph node metastasis($P<0.05$); the DFS and OS in positive SOST expression patients were better than those in negative patients. The expression of β -catenin protein was correlated with tumor differentiation, stages and lymph node metastasis($P<0.05$); the DFS and OS in β -catenin positive patients was poorer than those in negative expression patients. The positive rate of β -catenin protein was lower in patients with positive SOST expression. [Conclusion] Patients with positive SOST expression or negative β -catenin expression have better prognosis. And SOST and β -catenin protein may be independent prognostic factors in NSCLC patients.

Subject words: SOST; β -catenin; NSCLC; prognosis

肺癌是世界范围内常见及致死率较高的恶性肿瘤之一^[1,2],且多数患者初诊时就已处于临床晚期,由于肿瘤的浸润和转移而无法进行有效治疗^[3,4]。肺癌中 75%~85%为 NSCLC,其余为小细胞肺癌(small

cell lung carcinoma, SCLC),约占 15%~25%,及少量其他类型肺癌。NSCLC 病理上主要分为鳞状细胞癌、腺癌和大细胞癌。临床上分期 I~III A 的 NSCLC 通常以手术为主要治疗手段。寻找合适的肿瘤标志物是目前的研究热点,多项研究揭示合适的肿瘤标志物能有效监测其与肿瘤预后的相关性^[5,6]。

通讯作者: 徐海苗,副主任,主任医师,硕士;浙江省肿瘤医院病理科,浙江省杭州市拱墅区半山山东路 1 号(310022),E-mail: xuhm@zjcc.org.cn
收稿日期: 2018-04-14

肿瘤预后相关的生物标志物,可独立于肿瘤特性及临床治疗预测患者预后^[7],识别预后生物标志物的目标是定义具有显著不同预期结果的患者亚群,它们可能受益于不同治疗策略。在肺癌中,根据国际肺癌研究协会数据库(IASLC)提供临床相关的预后信息(IASLC)^[8],已有超过 100 个生物标志物可很好地提供一些生物学信息以评估 NSCLC 患者预后^[9-13]。然而,这些潜在的生物标志物多没有在临床应用,并仍需要深入研究证明这些最近发现的潜在生物标志物的临床相关性^[9]。

研究显示硬化蛋白(sclerostin, SOST)除在骨骼中表达外,也可在肾脏、肺、胰腺中表达,且 SOST 表达在骨质疏松与 Wnt 信号途径存在密切关系。我们收集了 614 例 NSCLC 患者石蜡组织,对其进行组织芯片制作,免疫组化检测 SOST 与 β -catenin 的表达,探讨 SOST 与 NSCLC 患者的临床病理及预后的相关性,以期临床 NSCLC 的诊治及预后判断提供依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集 2006 年 3 月至 2010 年 4 月浙江省肿瘤医院住院患者手术切除,并具有完整临床分期及明确肿瘤分化的 614 例 NSCLC 患者组织标本,经 HE 染色病理医生确诊定位后,制作成组织芯片。其中术前行新辅助放化疗的患者 80 例,未经新辅助放化疗及其它肿瘤治疗的患者 534 例;男性 473 例,女性 141 例;年龄 30~82 岁,平均 59.8 ± 8.54 岁。组织学诊断采用 1981 年 WHO 肺癌组织学分类标准,腺癌 285 例,鳞癌 323 例,其他 6 例(大细胞癌、基底样癌、上皮样癌、肉瘤癌、黏液表皮样癌等);按照 1997 年国际抗癌联盟 TNM 分期,Ⅰ期 247 例(Ⅰa 期 45 例,Ⅰb 期 202 例),Ⅱ期 167 例(Ⅱa 期 6 例,Ⅱb 期 161 例),Ⅲ期 197 例(Ⅲa 期 144 例,Ⅲb 期 53 例),Ⅳ期 3 例。所有标本获取经本院伦理委员会批准并征得患者知情同意。

对所有手术后患者通过电话对其本人或家属进行随访,随访至 2017 年 10 月 30 日,最

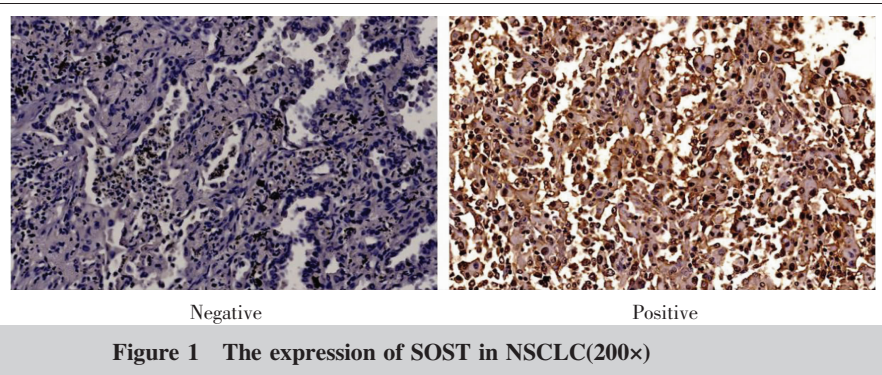
长随访时间为 118 个月。

1.2 组织芯片制作

选择 614 例患者的肿瘤蜡块 HE 染色片,选定需要的蜡块组织位置,标记需要的范围。用组织包埋机制备空白的受体蜡块,按实验目的设计组织芯片陈列的组织类型和排列方式,用组织陈列仪按照陈列设计取其孔径 1mm,深度为 3mm 病理蜡块组织芯,并有规律的排列在空白受体蜡块中,后组织陈列块在 52℃ 恒温烤箱中加热融合,使其组织芯片与受体蜡块紧密相连。修正蜡块后,切片后 HE 染色及后续组织化学检测进行确认。

1.3 免疫组化分析

切片在二甲苯中脱蜡 5min,再换用新鲜的二甲苯脱蜡,共用二甲苯脱蜡 3 次。无水乙醇 5min,2 次。90%乙醇 5min,2 次,70%乙醇 5min,1 次。蒸馏水 5min,2 次,根据不同的抗原和抗体,可以选择把切片放置在抗原修复液中,(10mM 柠檬酸钠,pH6.0),高压锅 90s 后,30min 内缓慢冷却至室温。取出切片,封闭液封闭后,参考 SOST 抗体(Proteintech), β -catenin 抗体(Abcam)按说明书稀释比率进行一抗室温下孵育 1h,PBS 冲洗 3 次,切片上滴加反应增强液,室温下孵育 20min 后,PBS 冲洗 3 次,切片上滴加新鲜配置的 DAB 显色试剂显色,自来水冲洗终止显色,苏木素复染,PBS 返蓝。结果分析:在 400 倍显微镜下,SOST 蛋白定位在细胞浆(Figure 1), β -catenin 正常表达定位于细胞膜,可出现细胞质或核异位表达。均以棕色至深棕色颗粒为阳性细胞。根据染色强度分为阴性(-)、弱阳性(+)、阳性(++)和强阳性(+++),按阳性细胞百分比分为 0~3 分:0:<5%,1:5%~25%,2:25%~50%,3:>50%,观察染色强度与阳性细胞百分比,采用积分综合计量。计算公式为:(+)% $\times$ 1+(++)% $\times$ 2(+++)% $\times$ 3;总数值<1.0 者为



(+), 1.0~1.5 者为(++), >1.5 者为(+++). 中强度以上表达为阳性组, 无和弱表达为阴性组^[5]。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据处理, 计数资料的分析采用 χ^2 检验, SOST、 β -catenin 与临床病理特征相关性的多因素分析采用多元回归。患者的生存及疾病进展曲线采用 Kaplan-Meier 法, 并采用 Log-rank 检验进行分析, 生存数据的多因素分析采用 Cox 回归分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SOST 蛋白表达与 NSCLC 临床病理特征的相关性

免疫组化结果显示, 614 例患者中 SOST 阳性表达 243 例 (39.6%), 阴性表达 371 例 (60.4%)。SOST 表达与病理类型、分化、分期及淋巴结转移有关 (P<0.05)。多元回归分析 SOST 表达与临床病理特征的结果发现, SOST 表达与分化、分期、淋巴结转移、骨转移、术前行新辅助放化疗及家族史均独立相关 (P<0.05)。见 Table 1, Table 2。

2.2 β -Catenin 蛋白表达与 NSCLC 临床病理特征的相关性

免疫组化结果显示, 614 例患者中 β -catenin 蛋白阳性表达患者 339 例 (55.2%), 阴性表达 275 例 (44.8%)。 β -catenin 蛋白表达与病理类型、分化、分期及淋巴结转移有关 (P<0.05)。见 Table 3。多元回归分析 β -catenin 蛋白表达与临床病理特征的相关性显示, β -catenin 表达与分化、分期及淋巴结转移独

Table 1 The relationship between SOST expression and the clinicopathological features of NSCLC

Factors	n(%)	SOST		χ^2	P
		Negative(%)	Positive(%)		
Gender				1.040	0.308
Male	473 (77.04)	291 (47.39)	182 (29.64)		
Female	141 (22.96)	80 (13.03)	61 (9.93)		
Age(years)				0.375	0.541
<65	443 (72.15)	217 (35.34)	172 (28.01)		
≥ 65	171 (27.85)	100 (16.29)	71 (11.56)		
Family history*				5.314	0.021
No	480 (78.18)	302 (49.19)	178 (28.99)		
Yes	108 (17.59)	55 (8.96)	53 (8.63)		
Smoking*				1.667	0.197
Never	173 (28.18)	98 (15.96)	75 (12.22)		
Ever/current	417 (67.92)	260 (42.35)	157 (25.57)		
Alcohol*				2.203	0.138
Never	292 (47.56)	169 (27.52)	123 (20.03)		
Ever/current	296 (48.21)	189 (30.78)	107 (17.43)		
Neoadjuvant chemotherapy				2.667	0.102
No	534 (86.97)	316 (51.47)	218 (35.50)		
Yes	80 (13.03)	55 (8.96)	25 (4.07)		
Differentiation				19.269	<0.001
High-middle	322 (52.44)	168 (27.36)	154 (25.08)		
Middle-low	292 (47.56)	203 (33.06)	89 (14.50)		
Clinical stage				60.453	<0.001
I ~ II	414 (67.43)	206 (33.55)	208 (33.88)		
III ~ IV	200 (32.57)	165 (26.87)	35 (5.70)		
Pathological type				-	0.001
Squamous cell carcinoma	323 (52.61)	217 (35.34)	106 (17.26)		
Adenocarcinoma	285 (46.42)	151 (24.59)	134 (21.82)		
Others	6 (0.98)	3 (0.49)	3 (0.49)		
Bone metastasis				7.292	0.007
No	563 (91.69)	336 (54.72)	227 (36.97)		
Yes	51 (8.31)	39 (6.35)	12 (1.95)		
Brain metastasis				3.152	0.053
No	539 (87.79)	318 (51.79)	221 (35.99)		
Yes	75 (12.21)	53 (8.63)	22 (3.58)		
Lymph node metastasis				104.248	<0.001
No	296 (48.21)	117 (19.06)	179 (29.15)		
Yes	308 (50.16)	247 (40.23)	61 (9.93)		
β -Catenin				209.253	<0.001
Negative	275 (44.79)	79 (12.87)	196 (31.92)		
Positive	339 (55.21)	292 (47.56)	47 (7.65)		

Note: *, date missing

Table 2 Multivariate analysis of SOST expression with clinicopathological features of NSCLC

Index	B	SE	Wald	P	Exp(B)(95%CI)
Gender	0.121	0.474	0.065	0.799	1.129(0.446~2.859)
Age	0.414	0.173	2.307	0.129	1.513(0.887~2.583)
Family history	-0.637	0.316	4.058	0.044	0.529(0.285~0.983)
Smoking	-0.218	0.437	0.249	0.618	0.804(0.342~1.893)
Alcohol	0.264	0.268	0.969	0.325	1.302(0.770~2.200)
Neoadjuvant chemotherapy	0.647	0.321	4.061	0.044	1.909(1.018~3.580)
Differentiation	-1.070	0.261	16.879	<0.001	16.417(9.884~27.269)
Clinical stage	0.838	0.270	9.629	0.002	2.311(1.361~3.922)
Pathological type	-0.386	0.225	2.935	0.087	0.680(0.437~1.057)
Bone metastasis	-0.881	0.232	14.403	0.001	0.414(0.263~0.653)
Brain metastasis	-0.347	0.308	1.269	0.260	0.707(0.386~1.293)
Lymph node metastasis	1.893	0.293	41.778	<0.001	6.636(3.739~11.781)

Table 3 The relationship between β -catenin expression and clinicopathological features of NSCLC

Factors	n(%)	β -Catenin		χ^2	P
		Negative(%)	Positive(%)		
Gender				1.746	0.186
Male	473 (77.04)	205 (33.39)	268 (43.65)		
Female	141 (22.96)	70 (11.40)	71 (11.56)		
Age(years)				1.348	0.246
<65	443 (72.15)	192 (31.27)	251 (40.88)		
≥ 65	171 (27.85)	83 (13.52)	88 (14.33)		
Family history*				3.619	0.057
No	480 (78.18)	205 (33.39)	275 (44.79)		
Yes	108 (17.59)	57 (9.28)	51 (8.31)		
Smoking*				3.233	0.072
Never	173 (28.18)	87 (14.17)	86 (14.01)		
Ever/current	417 (67.92)	176 (28.66)	241 (39.25)		
Alcohol*				3.574	0.059
Never	292 (47.56)	141 (22.96)	151 (24.59)		
Ever/current	296 (48.21)	120 (19.54)	176 (28.66)		
Neoadjuvant chemotherapy				2.667	0.102
No	534 (86.97)	316 (51.47)	218 (35.5)		
Yes	80 (13.03)	55 (8.96)	25 (4.07)		
Differentiation				5.339	0.021
High-middle	322 (52.44)	130 (21.17)	192 (31.27)		
Middle-low	292 (47.56)	145 (23.62)	147 (23.94)		
Clinical stage				31.824	<0.001
I ~ II	414 (67.43)	218 (35.50)	196 (31.92)		
III ~ IV	200 (32.57)	57 (9.28)	143 (24.10)		
Pathological type				-	0.039
Squamous cell carcinoma	323 (52.61)	129 (21.01)	194 (31.6)		
Adenocarcinoma	285 (46.42)	143 (23.29)	142 (23.13)		
Others	6 (0.98)	3 (0.49)	3 (0.49)		
Bone metastasis				7.545	0.154
No	563 (91.69)	257 (41.86)	306 (49.84)		
Yes	51 (8.31)	18 (2.93)	33 (5.37)		
Brain metastasis				1.295	0.255
No	539 (87.79)	246 (40.07)	293 (47.72)		
Yes	75 (12.21)	29 (4.72)	46 (7.49)		
Lymph node metastasis				29.507	<0.001
No	296 (48.21)	166 (27.04)	130 (21.17)		
Yes	308 (50.16)	105 (17.1)	203 (33.06)		

Note: *: date missing

Table 4 Multiivariate analysis of β -catenin expression with clinicopathological features of NSCLC

Index	B	SE	Wald	P	Exp(B)(95%CI)
Sex	0.147	0.360	0.166	0.684	1.158(0.571~2.347)
Age(years)	-0.074	0.197	0.142	0.706	0.928(0.631~1.367)
Family history	-0.406	0.226	3.223	0.073	0.666(0.427~1.038)
Smoking	0.169	0.329	0.264	0.607	1.184(0.621~2.259)
Alcohol	0.253	0.198	0.1632	0.201	1.288(0.873~1.900)
Neoadjuvant chemotherapy	0.061	0.273	0.051	0.822	1.063(0.623~1.815)
Differentiation	-0.422	0.184	5.260	0.022	0.656(0.457~0.940)
Clinical stage	0.790	0.255	12.377	<0.001	2.204(1.419~3.423)
Pathological type	0.237	0.942	0.063	0.801	1.268(0.200~8.041)
Bone metastasis	0.243	0.335	0.525	0.469	1.275(0.661~2.460)
Brain metastasis	0.339	0.288	1.390	0.238	1.404(0.799~2.468)
Lymph node metastasis	0.538	0.202	7.093	0.008	1.713(1.153~2.545)

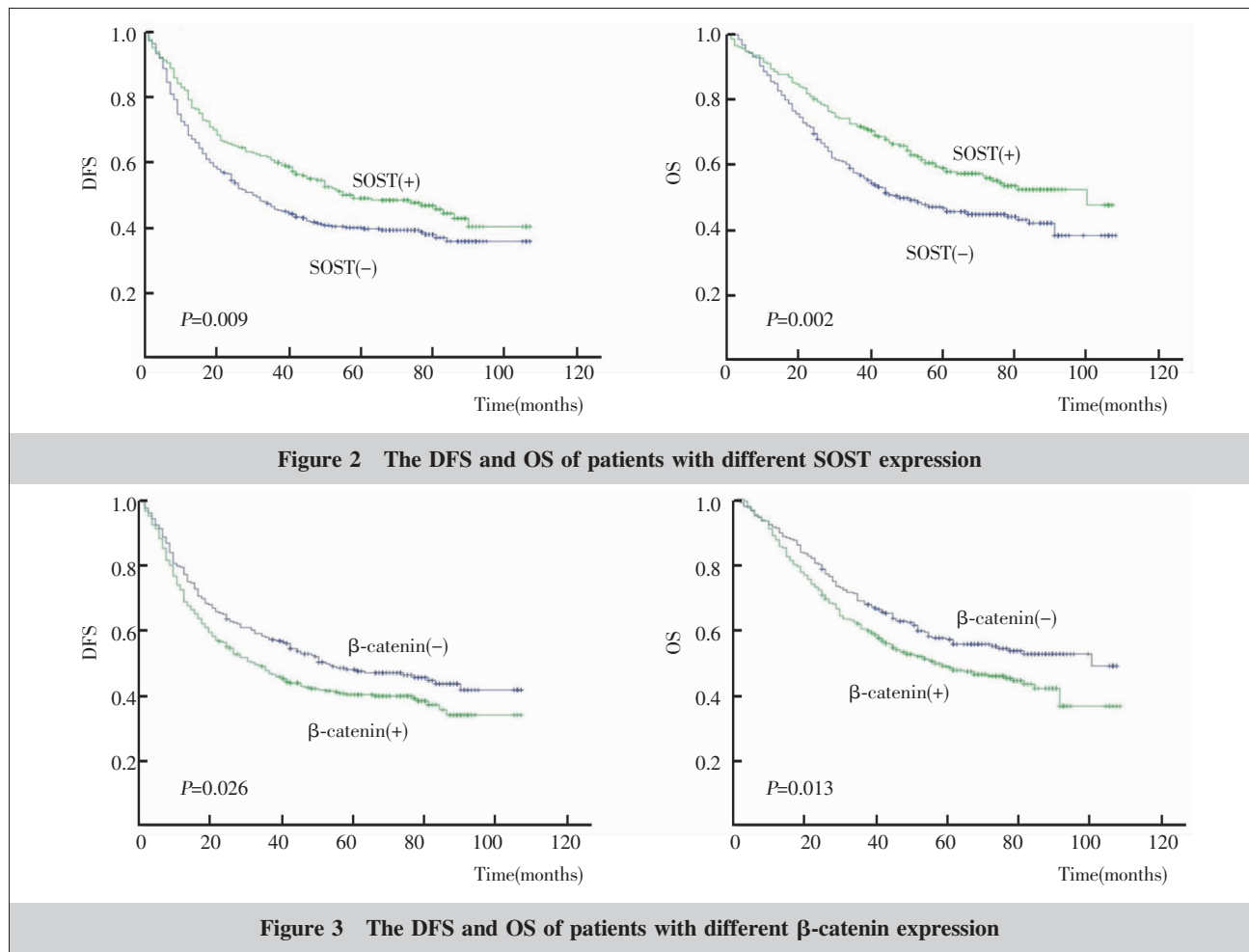
立相关($P < 0.05$)。见 Table 4。**2.3 SOST- β -catenin 表达与 NSCLC 复发与生存的相关性**

614 例患者在随访周期内有 341 例患者出现复发转移, 13 例患者无疾病进展资料, 298 例患者随访周期内死亡, 21 例无死亡资料, 既无疾病进展资料也无死亡资料的共 10 例。5 年 DFS 和 OS 分别为 43.5% 和 51.7%。不同 SOST 蛋白表达者 DFS、OS 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (Figure 2); 不同 β -catenin 蛋白表达者 DFS、OS 差异也有统计学意义 ($P < 0.05$) (Figure 3)。OS 与患者肿瘤分化、分期、年龄、术前新辅助化疗、SOST 蛋白表达及 β -catenin 蛋白表达有关 ($P < 0.05$)。

SOST 蛋白表达阳性患者中位 DFS 与中位 OS 分别为 58 个月、100 个月, 表达阴性患者分别为 30 个月和 48 个月; β -catenin 蛋白表达阳性的患者中位 DFS 与中位 OS 分别为 32 个月和 55 个月, 表达阴性患者分别为 52 个月和 98 个月 (Table 5)。Cox 比例风险回归分析显示, SOST 及 β -catenin 蛋白表达是 NSCLC 患者的独立预后因子 ($P < 0.05$), SOST 蛋白表达阳性患者 DFS 和 OS 较阴性组高 (DFS: HR=0.722, 95%CI: 0.578~0.903; OS: HR=0.666, 95%CI: 0.523~0.846), β -catenin 蛋白表达阳性患者 DFS 和 OS 较阴性组低 (DFS: HR=1.317, 95%CI: 1.060~1.636; OS: HR=1.377, 95%CI: 1.0091~1.739)。见 Table 6。

3 讨论

SOST 蛋白是 SOST 基因编码的分泌型糖蛋白, 通过与细胞表面的低密度脂蛋白相关蛋白复合



受体(LRP4/5/6)结合抑制 Wnt 信号通路^[14-16]。SOST 蛋白主要由骨细胞特异性表达,是骨形成的负性调节因子,目前大量文献发现 SOST 表达对骨质疏松与 Wnt 信号途径存在非常密切的关系^[17-20]。亦有文献显示其除在骨骼中表达外也在肾脏、肺、胰腺中表达^[14,21,22]。但在与肿瘤发生发展中罕见报道,最近有研究报道 SOST 的低表达与乳腺癌生长及骨转移存在密切联系^[23,24]。我们的研究发现类似的结果,骨转移患者中 SOST 表达阳性率低于无骨转移者,分别为 23.5%(12/51)和 40.3%(227/563),且多因素分析显示 SOST 表达与骨转移独立相关($P=0.001$)。有文献报道 SOST 与肿瘤发生及预后存在一定相关性^[23-25],我们的研究结果显示 SOST 表达阳性患者的 DFS 和 OS 较阴性组高,提示较好的预后,多因素分析提示其是 NSCLC 患者的独立预后因子($P<0.05$)。

Wnt/ β -catenin 信号途径参与细胞的很多生物学过程,包括细胞增殖、分化、凋亡、衰老和死亡等,

也包括细胞形态与功能的维持和免疫应激、细胞癌变等^[26-30]。Wnt 蛋白可与细胞表面特异性受体卷曲蛋白(Frizzled)受体和辅助受体低密度脂蛋白受体相关蛋白(LRP5/6)结合启动 Wnt 信号途径^[31],结合后,磷酸化胞浆中的 Dsh(Dishevelled)蛋白而使其活化,阻止 APC、axin 和糖原合酶激酶 3 β (GSK-3 β)形成蛋白复合体,GSK-3 β 不能结合到 β -catenin 上, β -catenin 因不能磷酸化而不被降解,在胞质中积累,当 β -catenin 积聚到一定浓度后会进入细胞核内,与 TCF/LEF 二聚体相互作用调节相关靶基因的表达。本研究发现,SOST 表达阳性患者中, β -catenin 表达阳性率明显低,反之 SOST 表达阴性患者中, β -catenin 表达阳性率明显高,这可能因为 SOST 对 Wnt 信号途径有抑制作用,能够导致 Wnt 信号通路的异常表达,从而引起 β -catenin 表达的改变, β -catenin 表达改变能引起肿瘤及肿瘤 EMT 转化,EMT 转化后使肿瘤更加容易复发转移,因此 β -catenin 是属于监测

Table 5 The relationship of DFS and OS with clinicopathological features of NSCLC

Factors	n	5-years DFS (%)	Median DFS (months)	χ^2	P	5-years OS (%)	Median OS (months)	χ^2	P
Gender									
Male	456	42.8	38	1.656	0.198	50.9	67	1.167	0.280
Female	137	45.9	46			54.2	81		
Age(years)									
<65	426	45.8	44	3.683	0.055	53.2	81	4.746	0.029
≥65	167	38.6	33			47.7	54		
Neoadjuvant chemotherapy									
No	518	45.8	45	6.688	0.01	54.1	78	5.509	0.019
Yes	75	29.9	16			36.9	41		
Differentiation									
High-middle	308	47.1	52	7.084	0.008	54.5	–	3.476	0.062
Middle-low	285	40.1	31			49.1	54		
Clinical stage									
I ~ II	400	51.5	77	37.351	0.0001	61.3	100	49.119	0.0001
III ~ IV	193	27.4	20			32.2	29		
Pathological type									
Squamous cell carcinoma	308	46.6	41	2.131	0.345	52.9	78	0.700	0.705
Adenocarcinoma	297	40.0	40			50.4	60		
Others	6	66.7				66.7	–		
SOST									
Negative	355	40.0	30	6.787	0.009	47.7	48	9.483	0.002
Positive	238	49.1	58			59.0	100		
β-catenin									
Negative	267	48.0	52	4.973	0.026	56.5	98	6.146	0.013
Positive	327	40.2	32	47.7	55				

Table 6 The Cox regression analysis of the influencing factors of DFS and OS in NSCLC

Factors	DFS		OS	
	HR(95% CI)	P	HR(95% CI)	P
Gender	0.748(0.494~1.134)	0.171	0.905(0.573~1.430)	0.670
Age	1.282(1.014~1.622)	0.038	1.337(1.042~1.717)	0.023
Smoking	0.943(0.643~1.384)	0.766	1.065(0.694~1.636)	0.772
Neoadjuvant chemotherapy	1.360(1.000~1.850)	0.0498	1.369(0.994~1.885)	0.055
Differentiation	1.283(1.029~1.601)	0.027	1.191(0.941~1.507)	0.147
Clinical stage	1.823(1.461~2.275)	0.0001	2.143(1.695~2.708)	0.0001
Pathologicil type	1.089(0.864~1.374)	0.469	0.979(0.762~1.256)	0.865
SOST	0.722(0.578~0.903)	0.004	0.666(0.523~0.848)	0.001
β-catenin	1.317(1.060~1.636)	0.013	1.377(1.091~1.739)	0.007

预后不良的因子^[32,33]。我们研究也发现 β-catenin 蛋白表达阳性的患者 DFS 和 OS 较阴性组低,提示预后较差,说明 β-catenin 蛋白表达是一个预后危险因素。本研究还发现 β-catenin 表达与患者的肿瘤分化、病理类型、分期、淋巴结转移有关($P<0.05$)。

本研究初步表明,SOST 与 β-catenin 蛋白均可作为 NSCLC 患者预后判断的生物标志物,对 NSCLC 的预后判断均有重要的参考价值,且两者表

达呈负相关,可能是 SOST 抑制 Wnt 信号通路进而影响了 β-catenin 表达,引起了肿瘤的 EMT 转化,从而对肿瘤患者的发生及预后产生的影响。在本研究的基础上,需进一步深入 SOST 蛋白的表达与采用免疫荧光及共聚焦计数对 β-catenin 细胞定位的相关性,并进一步深入地探索其内在机制。

参考文献:

- [1] Singh PM, Borle A, Goudra BG, et al. Translational research in pain and itch (advances in experimental medicine and biology) [J]. Anesth Analg, 2016, 123(6): 1630–1631.
- [2] Siegel RL, Miller KD, Jemal A, et al. Cancer statistics, 2017 [J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(4): 7–30.

- [3] Molina R, Holdenrieder S, Auge JM, et al. Diagnostic relevance of circulating biomarkers in patients with lung cancer [J]. *Cancer Biomark*, 2010, 6(3-4): 163-178.
- [4] Miller KD, Siegel RL, Lin CC, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(4): 271-289.
- [5] Chihong Z, Yutian L, Danying W, et al. Prognostic value of Transglutaminase 2 in non-small cell lung cancer patients [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(28): 45577-45584.
- [6] Huaying S, Dong Y, Chihong Z, et al. Transglutaminase 2 inhibitor KCC009 induces p53-independent radiosensitization in lung adenocarcinoma cells [J]. *Med Sci Monit*, 2016, 22: 5041-5048.
- [7] Shepherd FA, Tsao MS, et al. Unraveling the mystery of prognostic and predictive factors in epidermal growth factor receptor therapy [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(7): 1219-1220.
- [8] Mirsadraee S, Oswal D, Alizadeh Y, et al. The 7th lung cancer TNM classification and staging system: review of the changes and implications [J]. *World J Radiol*, 2012, 4(4): 128-134.
- [9] Botling J, Edlund K, Lohr M, et al. Biomarker discovery in non-small cell lung cancer: integrating gene expression profiling, meta-analysis, and tissue microarray validation [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(1): 194-204.
- [10] Coate LE, John T, Tsao MS, et al. Molecular predictive and prognostic markers in non-small-cell lung cancer [J]. *Lancet Oncol*, 2009, 10(10): 1001-1010.
- [11] Goldstraw P, Ball D, Jett JR, et al. Non-small-cell lung cancer [J]. *Lancet*, 2011, 378(9804): 1727-1740.
- [12] Kanters SD, Lammers JW, Voest E, et al. Molecular and biological factors in the prognosis of non-small cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 1996, 14(1): 161.
- [13] Subramanian J, Simon R. Gene expression-based prognostic signatures in lung cancer: ready for clinical use? [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2010, 102(7): 464-474.
- [14] Collette NM, Genetos DC, Economides AN, et al. Targeted deletion of *Sost* distal enhancer increases bone formation and bone mass [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(35): 14092-14097.
- [15] Kode A, Obri A, Paone R, et al. *Lrp5* regulation of bone mass and serotonin synthesis in the gut [J]. *Nat Med*, 2014, 20(11): 1228-1229.
- [16] Johnson ML. *LRP5* and bone mass regulation: where are we now? [J]. *Bonekey Rep*, 2012, 1: 1.
- [17] Li X, Ominsky MS, Niu QT, et al. Targeted deletion of the sclerostin gene in mice results in increased bone formation and bone strength [J]. *J Bone Miner Res*, 2008, 23(6): 860-869.
- [18] Ko FC, Martins JS, Reddy P, et al. Acute Phosphate restriction impairs bone formation and increases marrow adipose tissue in growing mice [J]. *J Bone Miner Res*, 2016, 31(12): 2204-2214.
- [19] Li X, Ominsky MS, Warmington KS, et al. Sclerostin antibody treatment increases bone formation, bone mass, and bone strength in a rat model of postmenopausal osteoporosis [J]. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(4): 578-588.
- [20] Ominsky MS, Vlasseros F, Jolette J, et al. Two doses of sclerostin antibody in cynomolgus monkeys increases bone formation, bone mineral density, and bone strength [J]. *J Bone Miner Res*, 2010, 25(5): 948-959.
- [21] Hernandez P, Whitty C, John Wardale R, et al. New insights into the location and form of sclerostin [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 446(4): 1108-1113.
- [22] Moester MJ, Papapoulos SE, Lowik CW, et al. Sclerostin: current knowledge and future perspectives [J]. *Calcif Tissue Int*, 2010, 87(2): 99-107.
- [23] Kyveritakis I, Rachner TD, Urbach A, et al. Effect of aromatase inhibition on serum levels of sclerostin and dickkopf-1, bone turnover markers and bone mineral density in women with breast cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2014, 140(10): 1671-1680.
- [24] Taipaleenmaki H, Farina NH, van Wijnen AJ, et al. Antagonizing miR-218-5p attenuates Wnt signaling and reduces metastatic bone disease of triple negative breast cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(48): 79032-79046.
- [25] Cheng J, Guo D, Chen X, et al. Knockdown of *SOST* in MDA-MB-231 breast cancer cells increase MG-63 osteoblast-like cell function in co-culture system [J]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 2016, 32(11): 1481-1485.
- [26] He F, Xiong W, Wang Y, et al. Epithelial Wnt/beta-catenin signaling regulates palatal shelf fusion through regulation of *Tgfbeta3* expression [J]. *Dev Biol*, 2011, 350(2): 511-519.
- [27] Wu XQ, Wang YQ, Xu SM, et al. The WNT/beta-catenin signaling pathway may be involved in granulosa cell apoptosis from patients with PCOS in North China [J]. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*, 2017, 46(1): 93-99.
- [28] Wu XQ, Wang YQ, Xu SM, et al. The WNT/beta-catenin signaling pathway may be involved in granulosa cell apoptosis from patients with PCOS in North China [J]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*, 2015, 10: 1016.
- [29] Rapetti-Mauss R, Bustos V, Thomas W, et al. Bidirectional *KCNQ1*:beta-catenin interaction drives colorectal cancer cell differentiation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(16): 4159-4164.
- [30] McCubrey JA, Rakus D, Gizak A, et al. Effects of mutations in Wnt/beta-catenin, hedgehog, Notch and PI3K pathways on GSK-3 activity-Diverse effects on cell growth, metabolism and cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(12): 2942-2976.
- [31] Ren DN, Chen J, Li Z, et al. *LRP5/6* directly bind to *Frizzled* and prevent *Frizzled*-regulated tumour metastasis [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6906.
- [32] Mitra T, Roy SS. Co-activation of TGFbeta and Wnt signalling pathways abrogates EMT in ovarian cancer cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(4): 1336-1345.
- [33] Shrivastava S, Jeengar MK, Thummuri D, et al. Cardamonin, a chalcone, inhibits human triple negative breast cancer cell invasiveness by downregulation of Wnt/beta-catenin signaling cascades and reversal of epithelial-mesenchymal transition [J]. *Biofactors*, 2017, 43(2): 152-169.