

卵巢子宫内膜异位症恶变 AXIN 和 β -catenin 表达及意义

宋冰冰^{1,2}, 赵飞¹, 王黎明¹

(1 青岛大学附属医院妇科, 山东 青岛 266003; 2 威海市妇幼保健院妇科)

[摘要] 目的 探讨轴蛋白 (AXIN) 与 β -连环蛋白 (β -catenin) 在卵巢子宫内膜异位症 (OE) 恶变过程中的表达及临床意义。方法 采用定量酶联免疫吸附试验 (ELISA) 及免疫组化方法, 检测 30 例 OE 组织、17 例非典型子宫内膜异位症 (aEM) 组织及 30 例子官内膜异位症相关性卵巢癌 (EAOC) 组织中 AXIN 与 β -catenin 的表达情况, 并分析 β -catenin 及 AXIN 与 EAOC 病人的年龄、FIGO 分期、病理组织类型、肿瘤侧别等临床特征的关系。结果 免疫组化检测显示, AXIN 在 OE 组、aEM 组、EAOC 组的阳性表达率分别为 76.7% (23/30)、41.2% (7/17)、30.0% (9/30), 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 13.852, P < 0.05$); β -catenin 在 OE 组、aEM 组、EAOC 组的阳性表达率分别为 13.3% (4/30)、29.4% (5/17)、63.3% (19/30), 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 16.661, P < 0.05$)。ELISA 检测显示, AXIN 在 OE 组、aEM 组、EAOC 组的表达水平逐渐降低, 差异有统计学意义 ($F = 1\ 986.939, P < 0.001$); β -catenin 在 OE 组、aEM 组、EAOC 组的表达水平逐渐升高, 差异有统计学意义 ($F = 7\ 361.889, P < 0.001$)。EAOC 病变组织中 AXIN 与 β -catenin 的表达呈负相关 ($r = -0.86, P < 0.05$); AXIN 及 β -catenin 的表达与肿瘤 FIGO 分期、组织学分级有显著相关性 ($P = 0.000 \sim 0.013$)。结论 AXIN 低表达与 β -catenin 高表达可能参与了 OE 的恶变过程, 且可能促进了 EAOC 的浸润转移。

[关键词] β -连环蛋白; 轴蛋白质; 卵巢疾病; 子宫内膜异位症; 卵巢肿瘤

[中图分类号] R588.6; R737.31

[文献标志码] A

[文章编号] 2096-5532(2023)59-044-05

doi: 10.11712/jms.2096-5532.2023.59.044

[开放科学(资源服务)标识码(OSID)]



[网络出版]

EXPRESSION AND SIGNIFICANCE OF AXIN AND B-CATENIN IN MALIGNANT TRANSFORMATION OF OVARIAN ENDOMETRIOSIS SONG Bingbing, ZHAO Fei, WANG Liming (Department of Gynecology, Qingdao University Affiliated Hospital, Qingdao 266003, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression and clinical significance of AXIN and β -catenin in the malignant transformation of ovarian endometriosis (OE). **Methods** ELISA and immunohistochemistry were used to measure the expression of AXIN and β -catenin in 30 samples of OE, 17 samples of atypical endometriosis (aEM), and 30 samples of endometriosis-associated ovarian cancer (EAOC), and the association of β -catenin and AXIN with the clinical features of EAOC was analyzed, including age, FIGO stage, pathological type, and tumor side. **Results** Immunohistochemistry showed that the positive expression rate of AXIN was 76.7% (23/30) in the OE group, 41.2% (7/17) in the aEM group, and 30.0% (9/30) in the EAOC group, and there was a significant difference between the three groups ($\chi^2 = 13.852, P < 0.05$); the positive expression rate of β -catenin was 13.3% (4/30) in the OE group, 29.4% (5/17) in the aEM group, and 63.3% (19/30) in the EAOC group, and there was also a significant difference between the three groups ($\chi^2 = 16.661, P < 0.05$). ELISA showed that the expression level of AXIN gradually decreased in the OE group, the aEM group, and the EAOC group ($F = 1\ 986.939, P < 0.001$), while the expression level of β -catenin gradually increased in the OE group, the aEM group, and the EAOC group ($F = 7\ 361.889, P < 0.001$). The expression of AXIN was negatively correlated with that of β -catenin in EAOC lesion ($r = -0.86, P < 0.05$), and the expression of AXIN and β -catenin was significantly correlated with FIGO stage and histological grade ($P = 0.000 - 0.013$). **Conclusion** The low expression of AXIN and the high expression of β -catenin may be involved in the malignant transformation of OE and might even promote the invasion and metastasis of EAOC.

[KEY WORDS] β -catenin; axin protein; ovarian diseases; endometriosis; ovarian neoplasms

[收稿日期] 2022-02-28; **[修订日期]** 2022-11-29

[基金项目] 青岛西海岸新区 2019 年度科技项目 (2019-54)

[第一作者] 宋冰冰 (1993-), 男, 硕士研究生。

[通信作者] 王黎明 (1969-), 男, 教授, 硕士生导师。E-mail:

wlmqingyi@163.com。

卵巢癌为最常见的妇科恶性肿瘤之一, 每年约有 24 万女性病人被确诊, 因该病早期缺乏可靠的筛查方法, 晚期缺乏有效的治疗手段, 病人 5 年生存率较低, 约为 45%, 其致死率位居所有癌症第 8 位, 妇

科恶性肿瘤死亡率的首位,严重威胁着全球女性的健康^[1-3]。因此,探索卵巢癌可能的发病机制并探求其有效的临床治疗方法尤为重要。目前,卵巢子宫内膜异位症(OE)发生恶变的机制尚不明确,可能与某些信号转导通路因子的异常表达有关。轴蛋白(Axin)与 β -连环蛋白(β -catenin)分别为Wnt经典信号转导通路中重要的抑癌因子与致癌因子,二者在胃癌、肺癌、肝癌等多种人体癌症的发生、发展及转归中起重要作用,但二者在OE恶变过程中的作用尚不清楚。本研究检测Axin、 β -catenin在OE、卵巢非典型子宫内膜异位症(aEM)和子宫内膜异位症(EM)相关性卵巢癌(EAOC)组织的表达情况,旨在探讨二者在OE恶变过程中发挥的作用。

1 材料和方法

1.1 标本及其来源

收集2014年4月1日—2017年4月1日青岛大学附属医院诊治的EAOC病人的术后标本共30例,其中22例为卵巢子宫内膜样腺癌,8例为卵巢透明细胞癌,病人年龄为30~68岁,平均(50.53±7.78)岁;aEM病人术后组织17例,病人年龄30~54岁,平均(47.06±6.52)岁;OE病人术后组织30例,病人年龄为30~62岁,平均(48.03±7.29)岁。所有病人术前均未接受化疗、激素类药物治疗、放疗、中医治疗,所有组织标本均经病理检查确诊。新鲜标本获取后,一部分立刻应用40 g/L甲醛固定24 h,浓度梯度乙醇脱水后行完整石蜡包埋,连续切片(厚度为4 μ m);另一部分组织用已预冷的1×PBS溶液充分冲洗,去除其中残留血液,称质量后剪碎,放入烧杯中,加入含蛋白酶抑制剂的PBS溶液(体积比1:9),充分混匀,在冰上充分研磨,应用超声波细胞破碎仪进一步处理。将得到的匀浆以7 254 r/min离心10 min后,用无菌EP管分装,放置-80℃冰箱保存备用。

1.2 主要试剂及仪器

兔抗人Axin多克隆抗体、兔抗人 β -catenin多克隆抗体均购于北京博奥森生物技术有限公司,根据使用说明配制试剂,抗体稀释度为1:100;DAB显色试剂盒、PBS缓冲液等均购于北京中杉金桥生物有限公司;人Axin酶联免疫吸附试验(ELISA)测定试剂盒、人 β -catenin ELISA测定试剂盒均购于上海茁彩生物科技有限公司;离心机(北京白洋器械有限公司);多功能酶标仪(美国BIO-RAD公司

产品);包埋机(德国Leica EG1150H);电子天平(上海良平仪器仪表有限公司,FA1004)等。

1.3 Axin、 β -catenin蛋白表达检测

采用免疫组化方法检测Axin和 β -catenin蛋白的表达,按照常规实验流程进行操作,抗体严格按照试剂盒说明书进行稀释。阴性对照采用PBS替代一抗,阳性对照采用已知食管癌阳性标本。采用ELISA方法检测样本组织中Axin、 β -catenin的浓度,严格按照试剂盒说明书进行操作,用酶标仪检测标本光密度(OD)值,按照所配置的标准品浓度以及所测得的标准品OD值绘制标准曲线,计算Axin、 β -catenin的浓度。

1.4 免疫组化结果判读标准

Axin蛋白阳性主要定位在细胞核和(或)细胞膜,阳性表达为出现褐黄色染色颗粒; β -catenin蛋白阳性主要定位在细胞浆和(或)细胞核,阳性表达为出现褐黄色染色。按照SHIMIZU等^[4]的方法,综合所选视野中阳性细胞百分比以及阳性细胞染色强度确定样本蛋白的表达水平。①染色强度评分:无(或不清楚)染色为0分,染色淡黄褐色为1分,染色棕黄色为2分,染色深褐色为3分。②阳性细胞百分比评分:阳性细胞数<10%为0分,阳性细胞数10%~25%为1分,阳性细胞数26%~50%为2分,阳性细胞数>50%为3分。根据染色强度与阳性细胞百分比得分乘积判定结果:0~1分为阴性(-), ≥ 2 分为阳性(+)。所有样本的染色结果均由两名经验丰富的病理科主任医师采用双盲法进行诊断。

1.5 统计学处理

采用SPSS 22.0软件进行统计学处理,计量资料先用Shapiro-Wilk检验进行正态性分布分析,符合正态分布计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组数据比较采用单因素方差分析,两两比较采用Bonferroni法, $\alpha'(\alpha/3) < 0.0167$ 表示差异有统计学意义。多组计数资料比较采用R×C表卡方检验,两个独立样本比较采用Pearson卡方、连续性校正卡方或Fisher检验。相关性分析采用Pearson相关或Spearman相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

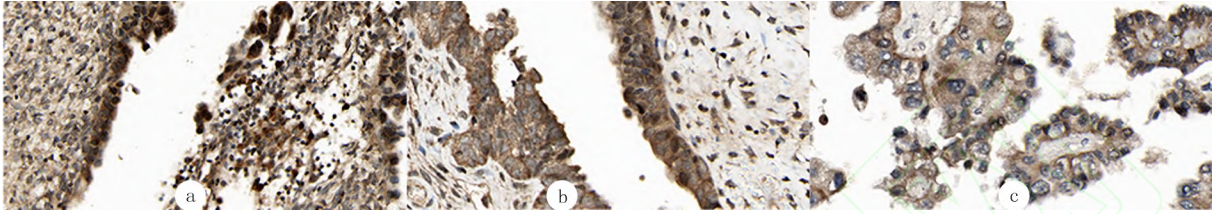
2 结果

2.1 不同组织中Axin、 β -catenin表达比较

免疫组化检测结果显示,Axin表达于细胞核和(或)细胞膜,且所有检测样本组织中均有不同程

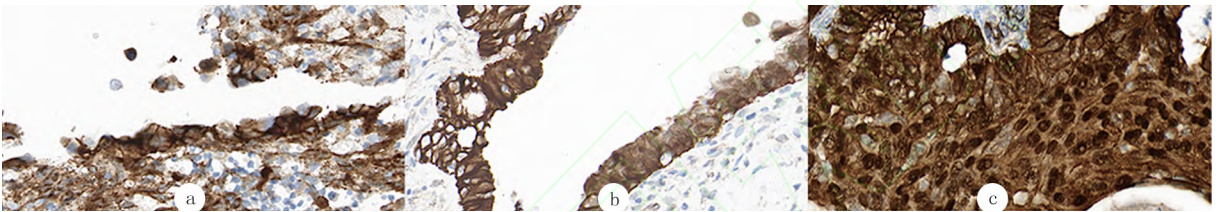
度的表达(图 1), AXIN 在 OE 组、aEM 组、EAOC 组中的阳性表达率逐渐下降,除 aEM 组与 EAOC 组比较差异无统计学意义外,余各组间差异均有统计学意义($\chi^2=13.852, P<0.05$); β -catenin 表达于细胞核和(或)细胞浆,且在所有检测样本组织中均

有不同程度的表达(图 2), β -catenin 在 OE 组、aEM 组、EAOC 组中的阳性表达率呈逐渐升高的趋势,除 aEM 组与 OE 组比较差异无统计学意义外,其余各组间比较差异均有显著意义($\chi^2=16.661, P<0.05$)。见表 1。



a:OE 组;b:aEM 组;c:EAOC 组。免疫组织化学染色,400 倍。

图 1 AXIN 在各组组织中的表达



a:OE 组;b:aEM 组;c:EAOC 组。免疫组织化学染色,400 倍。

图 2 β -catenin 在各组组织中的表达

表 1 AXIN、 β -catenin 在不同组织中的表达比较(例(χ /%))

组别	n	AXIN 阳性	β -catenin 阳性
OE 组	30	23(76.7)	4(13.3)
aEM 组	17	7(41.2)*	5(29.4)
EAOC 组	30	9(30.0)*	19(63.3)**

注:与 OE 组相比,* $\chi^2=13.852,16.661, P<0.05$;与 aEM 组相比,* $P<0.05$ 。

2.2 各组 AXIN、 β -catenin 浓度比较

各组 AXIN、 β -catenin 浓度差异有显著性($F=1\ 986.939, 7\ 361.889, P<0.01$),OE 组、aEM 组、EAOC 组 AXIN 的浓度逐渐降低,各组间两两比较差异均有统计学意义($P<0.016\ 7$);OE 组、aEM 组、EAOC 组中 β -catenin 浓度依次升高,各组间两两比较差异均具有统计学意义($P<0.016\ 7$)。见表 2。

2.3 AXIN、 β -catenin 表达与 EAOC 临床病理特征的关系

EAOC 组织中 AXIN、 β -catenin 的表达与病人年龄、肿瘤侧别及组织学类型无明显相关性($P>0.05$),但与临床 FIGO 分期和组织学分级有显著相关性($P=0.000\sim 0.013$)。见表 3。

2.4 EAOC 组织 AXIN 与 β -catenin 表达的相关性

EAOC 组织 AXIN 与 β -catenin 表达呈负相关($r=-0.86, P<0.05$)。见表 4。

表 2 不同组织 AXIN、 β -catenin 浓度比较($\rho/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}, x\pm s$)

组别	n	AXIN	β -catenin
OE 组	30	18.646 \pm 0.623	168.379 \pm 14.683
aEM 组	17	12.278 \pm 0.627*	315.454 \pm 15.720*
EAOC 组	30	8.887 \pm 0.576* Δ	673.409 \pm 18.347* Δ

注:与 OE 组比较,* $F=1\ 986.939, 7\ 361.889, P<0.01$;与 aEM 组比较, $\Delta P<0.05$ 。

表 3 EAOC 组织 AXIN 和 β -catenin 表达与临床病理特征的关系(例)

临床病理特征	n	AXIN		P	β -catenin		P
		阳性	阴性		阳性	阴性	
年龄(岁)				0.431			1.000
<50	10	4	6		6	4	
≥ 50	20	5	15		13	7	
组织学类型				1.000			1.000
子宫内膜样癌	22	7	15		14	8	
透明细胞癌	8	2	6		5	3	
组织学分级				0.000			0.001
G1~G2	20	1	19		17	3	
G3	10	8	2		2	8	
FIGO 分期				0.013			0.009
I、II 期	12	7	5		4	8	
III、IV 期	18	2	16		15	3	
肿瘤侧别				0.440			0.466
单侧	14	3	11		10	4	
双侧	16	6	10		9	7	

表4 EAO组织 AXIN 与 β -catenin 表达的相关性(例)

AXIN 表达	n	β -catenin 表达	
		阳性	阴性
阳性	9	0	9
阴性	21	19	2
合计	30	19	11

3 讨 论

EM 为临床最常见的妇科良性疾病之一,育龄期女性中其发病率可达 10%~15%^[5],全世界范围内约有 1.76 亿妇女受到影响^[6],其临床特点包括不孕、盆腔疼痛、多次手术以及对病人社会心理和生活质量产生严重的负面效应^[7]。EAO 病人的发病年龄较低,临床分期较早,预后好^[8],早发现、早治疗尤为重要。EM 恶变率为 0.7%~1.0%^[9],其中 80%发生于卵巢^[10],为卵巢癌已知的高危因素之一。早在 1952 年就有研究论述了 EM 与卵巢癌之间的关系,提出并制定了 EAO 的诊断标准;随后,有研究于 1953 年对其诊断标准给予了进一步补充^[5],并一直沿用至今。OE 的存在使卵巢癌发生的风险增加了 4 倍^[11]。目前,部分国外学者认为,组织病理学上的“aEM”是 EM 恶变的中间过渡阶段,也是 EM 恶变的关键性证据之一^[12]。本研究通过对 OE 恶变过程中 Wnt 信号通路中相关生物因子变化的分析,为 OE 恶变的早期诊治提供依据。

Wnt 家族是一个与诸多细胞功能相关的蛋白家族,参与调控器官形成、干细胞自我更新、细胞增殖和凋亡等生物过程。目前研究表明,Wnt 信号转导通路在人类机体发育过程中起重要作用,可促进细胞的增殖、分化以及黏附等过程,Wnt/ β -catenin 经典信号通路具有促进卵巢上皮癌发展的作用^[13]。该途径也可促进肿瘤细胞的迁移和侵袭,诱导肿瘤细胞抵抗治疗药物,并可能参与肿瘤组织的血管生成和免疫抑制^[14]。Wnt/ β -catenin 信号通路失调可能导致肿瘤的形成及肿瘤的复发^[15]。近年来有研究发现,Wnt 信号通路的相关因子参与了 OE 的发生^[16]。但该通路是否参与 OE 的恶变过程尚不清楚。通过检测 Wnt 信号通路的关键因子在 OE 恶变过程中的表达,进而了解该通路是否参与 OE 恶变的发生,并在临床上结合 OE 病理切片图像中 aEM 病变组织的出现,可以为 EAO 的早期诊治提供新思路。

β -catenin 是经典 Wnt 通路的重要递质,它能够

有效促进癌细胞的迁移、侵袭及增殖等,并能够明显阻断癌细胞的凋亡。在缺乏 Wnt 配体的情况下, β -catenin 可以被酪蛋白激酶 1(CK1)、AXIN、糖原合成酶激酶 3 β (GSK3 β)等组成的复合物所降解^[14]。NGUYEN 等^[14]研究发现,16%~54%的 OE 病人发生了 β -catenin 蛋白基因 *CTNNB1* 突变,进而导致 β -catenin 表达上调。而 GOLDSBERRY 等^[17]对 DC 小鼠生物模型的研究结果也显示,因体内缺乏 β -catenin,小鼠卵巢肿瘤的生长速度较慢。本研究发现, β -catenin 在 OE 恶变过程中的表达明显增加,其浓度在 OE 组、aEM 组、EAO 组依次升高。说明 Wnt 信号通路可能参与了 OE 恶变的过程,提示 β -catenin 可能为 OE 恶变潜在的生物指标之一。本研究对 EAO 病人相关临床病理特征分析发现, β -catenin 蛋白高表达与病人的 FIGO 分期、组织学分级显著相关, β -catenin 高表达促进了 EAO 的侵袭与转移。因此,未来在 EAO 的临床诊治过程中,可对 β -catenin 高表达者予以更为积极的手术及化疗方案。

AXIN 是一种支架蛋白,它与多种蛋白质(包括 GSK3 β 、CK1 等)具有相互作用的位点^[18]。AXIN 在 Wnt 信号转导通路中对 β -catenin 的降解起到至关重要的作用。既往研究显示,AXIN2 基因沉默可通过调节线粒体相关凋亡信号通路从而减少细胞的凋亡,并通过调节细胞中 Wnt/ β -catenin 信号通路的分子来增强细胞的增殖^[19]。本研究结果显示,AXIN 在 OE 恶变过程中的表达呈明显降低的趋势,提示 Wnt 信号通路可能参与了 OE 恶变的发生,并且与 aEM 发展为 EAO 的过程有关,AXIN 可作为监测 OE 恶变的潜在的参考指标。本文研究结果还显示,AXIN 表达与 EAO 病人的 FIGO 分期、组织学分级显著相关;EAO 组织中 β -catenin、AXIN 表达高度负相关,提示 β -catenin、AXIN 可能在 EAO 的发生、侵袭、转移过程中起互相拮抗的作用。

近年来,随着对 Wnt 信号通路研究的深入,国内外学者也在其他恶性肿瘤中发现了 AXIN 与 β -catenin 的异常表达。YU 等^[20]研究显示,乳腺癌细胞中 AXIN2 低水平表达导致 Wnt/ β -catenin 信号转导通路异常,从而致乳腺癌的发生。YAMAMOTO 等^[21]通过对 174 例直肠癌根治术后病人研究显示,在 Wnt 信号通路中,AXIN 可通过将 β -catenin 磷酸化而下调其表达水平,抑制 Wnt 信号通路的激活,

从而降低结直肠癌的发生发展。梁仁杰等^[22]研究表明,胃癌中 AXIN 可与突变型 p53 相互作用,降低 β -catenin 的表达,从而协同发挥肿瘤抑制因子的作用。本研究结果与上述研究结果相一致。

综上所述,在 OE、aEM、EAOC 组织中 β -catenin 阳性表达率依次升高,而 AXIN 阳性表达率依次下降,提示 Wnt 信号通路可能参与了 OE 恶变的过程,且 AXIN 与 β -catenin 可能为 OE 癌变过程的重要因子,发挥着关键性的生物学作用。AXIN 和 β -catenin 可能成为 OE 恶变早期诊断的潜在生物学指标,在临床上结合病理组织学检测结果,可以为 EAOC 病人的早期诊疗提供指导。

[参考文献]

[1] MODUGNO F, GOUGHNOUR S L, WALLACK D, et al. Breastfeeding factors and risk of epithelial ovarian cancer[J]. *Gynecologic Oncology*, 2019,153(1):116-122.

[2] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, 2018,68(6):394-424.

[3] LHEUREUX S, GOURLEY C, VERGOTE I, et al. Epithelial ovarian cancer[J]. *Lancet (London, England)*, 2019,393(10177):1240-1253.

[4] SHIMIZU M, SAITOH Y, ITOH H. Immunohistochemical staining of Ha-ras oncogene product in normal, benign, and malignant human pancreatic tissues[J]. *Human Pathology*, 1990,21(6):607-612.

[5] 王姝,郎景和. 子宫内异位症相关性卵巢癌的研究现状及展望[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2017,33(4):360-364.

[6] ADAMSON G D, KENNEDY S, HUMMELSHOJ L. Creating solutions in endometriosis: global collaboration through the world endometriosis research foundation[J]. *Journal of Endometriosis*, 2010,2(1):3-6.

[7] DIVASTA A D, VITONIS A F, LAUFER M R, et al. Spectrum of symptoms in women diagnosed with endometriosis during adolescence vs adulthood[J]. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2018,218(3):324.e1-324.e11.

[8] GIANNELLA L, MARCONI C, DI GIUSEPPE J, et al. Malignant transformation of postmenopausal endometriosis: a systematic review of the literature[J]. *Cancers*, 2021,13(16):4026.

[9] 郎景和. 子宫内异位症的研究与设想[J]. *中华妇产科杂志*, 2003,38(8):478-480.

[10] KRAWCZYK N, BANYS-PALUCHOWSKI M, SCHMIDT

D, et al. Endometriosis-associated malignancy[J]. *Geburtshilfe Und Frauenheilkunde*, 2016,76(2):176-181.

[11] HERREROS-VILLANUEVA M, CHEN C C, TSAI E M, et al. Endometriosis-associated ovarian cancer: what have we learned so far?[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2019,493:63-72.

[12] MOGENSEN J B, KJÆR S K, MELLEMKJÆR L, et al. Endometriosis and risks for ovarian, endometrial and breast cancers: a nationwide cohort study[J]. *Gynecologic Oncology*, 2016,143(1):87-92.

[13] DEB B, UDDIN A, CHAKRABORTY S. miRNAs and ovarian cancer: an overview[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2018,233(5):3846-3854.

[14] NGUYEN V H L, HOUGH R, BERNAUDO S, et al. Wnt/ β -catenin signalling in ovarian cancer: insights into its hyperactivation and function in tumorigenesis[J]. *Journal of Ovarian Research*, 2019,12(1):122.

[15] 李孝琼,肖云峰,吴妮莎,等. 肿瘤干细胞及 Wnt/ β -catenin 信号通路在结直肠癌肝转移中的作用[J]. *中华肝脏外科手术学电子杂志*, 2019,8(4):377-378.

[16] DE MATTOS R M, PEREIRA P R, BARROS E G, et al. Aberrant levels of Wnt/ β -catenin pathway components in a rat model of endometriosis[J]. *Histology and Histopathology*, 2016,31(8):933-942.

[17] GOLDSBERRY W N, MEZA-PEREZ S, LONDOÑO A I, et al. Inhibiting WNT ligand production for improved immune recognition in the ovarian tumor microenvironment[J]. *Cancers*, 2020,12(3):766.

[18] STAMOS J L, WEIS W I. The β -catenin destruction complex [J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2013,5(1):a007898.

[19] FU F, DENG Q, LI R, et al. AXIN2 gene silencing reduces apoptosis through regulating mitochondria-associated apoptosis signaling pathway and enhances proliferation of ESCs by modulating Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2020,24(1):418-427.

[20] YU S B, WANG Z Y, SU Z J, et al. Gigantol inhibits Wnt/ β -catenin signaling and exhibits anticancer activity in breast cancer cells[J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2018,18(1):59.

[21] YAMAMOTO H, MIYOSHI N, MIMORI K, et al. MACC1 expression levels as a novel prognostic marker for colorectal cancer[J]. *Oncology Letters*, 2014,8(5):2305-2309.

[22] 梁仁杰,卫利民,徐斌,等. 胃癌患者组织中 p53, axin 蛋白表达与 hp 感染和病理特征的关系分析[J]. *中国实验诊断学*, 2020,24(11):1811-1815.

(本文编辑 黄建乡)