

网络出版时间: 2025-03-17 21:37:51 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20250314.1614.012>

GPR15 与 FOXP3 在结直肠癌组织中的表达及其临床预后价值研究

孙晶璐¹, 童利², 王娜娜¹, 吴阳阳¹, 吴琼^{3,4}

¹ 安徽省公共卫生临床中心(安徽医科大学第一附属医院北区) 临床病理中心, 合肥 230011;

² 镇江市第一人民医院病理科, 镇江 212002; ³ 蚌埠医科大学病理学教研室, 蚌埠 233030;

⁴ 蚌埠医科大学第一附属医院病理科, 蚌埠 233004]

摘要 目的 探讨 GPR15 与 FOXP3 在结直肠癌(CRC)组织中的表达情况及其临床预后价值。方法 收集 CRC 患者根治性手术标本 132 例, 对照组选择距癌灶 5 cm 以上边缘的正常黏膜组织, 采用免疫组织化学技术(Envision 二步法)分别检测 GPR15 与 FOXP3 在 CRC 组织及癌旁组织中的表达水平并分析两者与 CRC 各临床病理因素的关系。采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, 分析 CRC 组织中 GPR15 与 FOXP3 的表达与患者生存预后的关联性。采用 Cox 回归分析 CRC 患者预后的影响因素。结果 免疫组织化学结果显示, CRC 组织中 GPR15 与 FOXP3 两者的表达水平均显著高于正常结肠黏膜组织($P < 0.05$)。GPR15 在 CRC 组织中的表达与部位、神经侵犯、TNM 分期相关, FOXP3 表达与性别相关($P < 0.05$)。两者的表达均与患者年龄、肿块大小、分化程度、组织分型、浸润深度、肿瘤出芽、脉管侵犯、淋巴结转移等临床病理特征无显著相关性。相关性分析表明, GPR15 与 FOXP3 两者的表达情况无显著相关性($Kappa$ 系数 = -0.019)。GPR15 阳性组生存预后显著劣于阴性组(log-rank 检验: $\chi^2 = 4.3, P = 0.039$); FOXP3 阳性组生存预后显著优于阴性组(log-rank 检验: $\chi^2 = 7.3, P = 0.007$)。年龄 ≤ 55 岁、GPR15 阳性、FOXP3 阴性是促使 CRC 患者预后不良的独立危险因素($P < 0.05$)。结论 GPR15 与 FOXP3 均在 CRC 组织中的表达水平明显高于癌旁组织, GPR15 与 FOXP3 有望成为 CRC 早期筛查、精准治疗、预后评估的新型肿瘤标志物。

关键词 结直肠肿瘤; GPR15; FOXP3; 免疫组织化学; 预后

中图分类号 R 735.3

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)03-0480-08

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.03.013

世界卫生组织国际癌症研究机构(international agency for research on cancer, IARC)近期发布的全球最新癌症负担数据显示, 结直肠癌(colorectal carcinoma, CRC)是全球范围内第三大常见新发的恶性肿瘤, 并且位于癌症患者死亡病因的第二位^[1]。如今, 随着人口增长、老龄化, 与社会经济发展相关的风险因素(例如加工肉类、酒精饮料、肥胖、糖尿病)增加, CRC 发病率一直居高不下^[2]。G 蛋白偶联受体 15(G protein-coupled receptor 15, GPR15)是一种非传统的趋化因子受体, 引导调节性 T 细胞进入结肠, 从而改善肿瘤微环境, 促进肠道肿瘤发生^[3]。叉头框蛋白 P3(forkhead box P3, FOXP3)是一种含有 431 个氨基酸的蛋白, 属于叉状头转录因子家族

中的一个成员, 基因定位于 Xp11.23。FOXP3 已被确定是 CD4⁺、CD8⁺ 调节性 T 细胞(Treg)的标志物, 是一种免疫抑制功能的必需氨基酸^[4]。该实验研究主要运用免疫组织化学技术, 分析 GPR15 与 FOXP3 在 CRC 组织中的表达模式, 探讨两者与 CRC 各临床病理参数之间的关系及其临床预后价值, 为探索 CRC 实用型生物学标志物, 提供一些可供参考的实验基础及理论依据。

1 材料与方法

1.1 生物信息学分析 使用公共数据库 GEPIA(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)对 TCGA 和 GTEX 数据进行处理并分析 GPR15 和 FOXP3 在 CRC 中的表达情况。下载使用 GEO 数据库[Home - GEO - NCBI(nih.gov)]中 CRC 数据集 GSE113513, 其中包括 14 对配对 CRC 和癌旁组织, 验证 GPR15 和 FOXP3 的表达。

1.2 病例资料 随机选择 2019—2023 年存档于安徽省公共卫生临床中心(安徽医科大学第一附属医院北区)临床病理中心的 CRC 手术根治标本 132

2025-01-05 接收

基金项目: 安徽省高校自然科学基金项目(编号: 2022AH051505)

作者简介: 孙晶璐, 女, 硕士, 主治医师;

吴琼, 男, 硕士, 讲师, 通信作者, E-mail: wuqiong@bbmc.edu.cn

例,患者年龄 31~92(66.02±13.95)岁。所有研究对象术前均未接受过放疗、化疗或其他针对肿瘤的治疗。

1.3 试剂来源 浓缩型兔抗人 GPR15 多克隆抗体(ab188938,1:200)及鼠抗人 FOXP3 单克隆抗体(ab20034,1:200)购自英国 Abcam 公司;通用型二步法检测试剂盒(PV-6000)、DAB 显色试剂盒(ZLI-9018)购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.4 实验方法 选择 Envision 二步法进行实验^[8]。阴性对照选择 PBS 缓冲液替代一抗,阳性对照使用预实验阳性切片。所有切片经常规脱蜡至水(二甲苯 I、II 各 10 min;无水酒精 5 min、95% 酒精 5 min、75% 酒精 5 min、蒸馏水 5 min)。使用枸橼酸抗原修复液(pH 6.0)高压热修复 90 s,待切片冷却后,PBS 洗 3 次,每次 3 min;3% H₂O₂ 25℃ 孵育 10 min;PBS 洗 3 次,每次 3 min;滴加一抗,25℃ 孵育 3 h;PBS 洗 3 次,每次 3 min;滴加二抗,25℃ 孵育 15 min;PBS 洗 3 次,每次 3 min;DAB 显色,苏木精复染,酒精脱水,二甲苯透明,封片。

免疫组织化学阳性定位为 GPR15 细胞质中出现明显黄色或棕黄色颗粒,FOXP3 细胞核中出现明显黄色或棕黄色颗粒,采用半定量积分法判断结果,选择 5 个 400 倍视野,①以着色细胞占视野细胞总数的多少来记分:阳性细胞数≤10%为 1 分,阳性细胞数 11%~25%为 2 分,阳性细胞数 26%~50%为 3 分,阳性细胞数>50%为 4 分;②按着色细胞染色强度分:无着色为 0 分;淡黄色为 1 分,棕黄色为 2

分,棕褐色为 3 分。两项积分相乘,积分为 0~2 分,表示阴性(-),积分为 3~4 分弱阳性(+),积分为 6~8 分阳性(++),积分为 9~12 分强阳性(+++)。

1.5 随访方法 术后通过电话的方式进行随访,有 2 例 CRC 患者失访。随访时间 13~63 个月,中位时间 33 个月,记录患者的生存情况及生存时间。

1.6 统计学处理 应用 SPSS 26.0 软件包进行统计分析。正态资料使用 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态资料采用中位数(25 分位数,75 分位数)表示,计数资料采用 $n(\%)$ 表示。组间阳性率差异比较采用配对卡方检验,组间表达程度分布采用配对秩和检验。一般资料 and 临床资料组间比较采用 t 检验、秩和检验、卡方检验(理论频数小于 5 的指标使用 Fisher 确切概率法)。采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,并采用 log-rank 检验进行差异比较。采用 Cox 回归控制混杂因素,将单因素 $P < 0.05$ 的因素纳入多因素 Cox 回归模型中。

2 结果

2.1 GPR15 和 FOXP3 在正常结直肠黏膜与 CRC 组织中的表达 GEPIA 及 GEO 数据库结果显示,GPR15 在 CRC 组织中的表达显著低于正常黏膜组织,而 FOXP3 则在 CRC 组织中高表达,见图 1、2。免疫组织化学结果显示,GPR15 在 CRC 组织中阳性率为 65.2%(86/132),在正常结直肠黏膜组织中阳性率为 20.1%(27/132),GPR15 在 CRC 组织中的

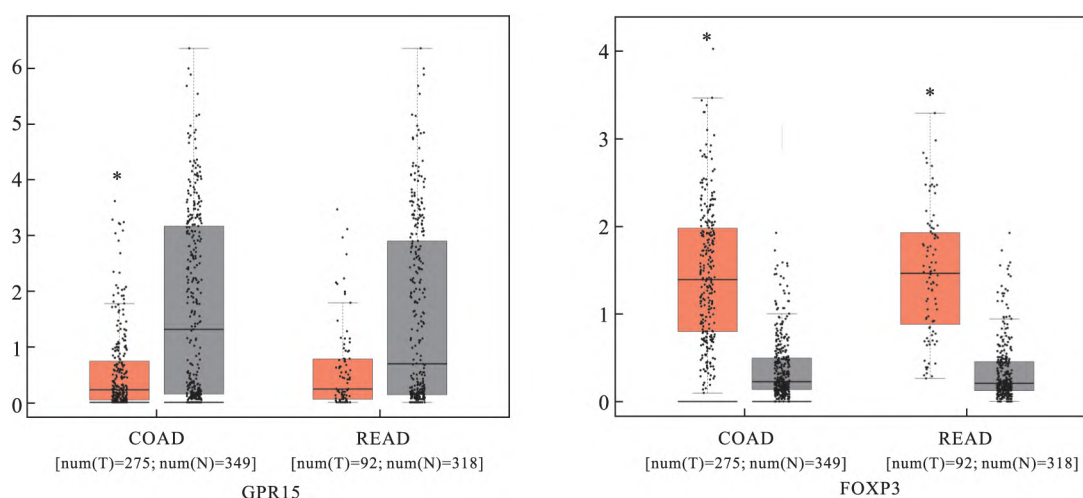


图1 GPR15 和 FOXP3 在 CRC 及正常结直肠黏膜组织中的表达情况(GEPIA 数据库)

Fig.1 The expression of GPR15 and FOXP3 in CRC and normal colorectal mucosa(GEPIA)

Red bars: CRC; Gray bars: normal colorectal mucosa; * $P < 0.05$ vs normal group.

表达显著高于正常结直肠黏膜组织 ($P < 0.001$) , 见表 1、图 3。FOXP3 在癌旁正常结直肠黏膜组织中阳性率为 22.7% (30/132) , 而在 CRC 组织中的阳性率为 86.4% (114/132) , FOXP3 在 CRC 组织中的表达同样显著高于正常结直肠黏膜组织 ($P < 0.001$) , 见表 2、图 4。

2.2 CRC 组织中 GPR15 和 FOXP3 的表达与

CRC 临床病理参数间的关系 GPR15 在 CRC 组织中的表达与部位、神经侵犯、TNM 分期相关, FOXP3 表达与性别相关 ($P < 0.05$) 。两者的表达均与患者年龄、肿块大小、分化程度、组织分型、浸润深度、肿瘤出芽、脉管侵犯、淋巴结转移等临床病理特征无显著相关性, 见表 3。

2.3 CRC 组织中 GPR15 与 FOXP3 表达的相

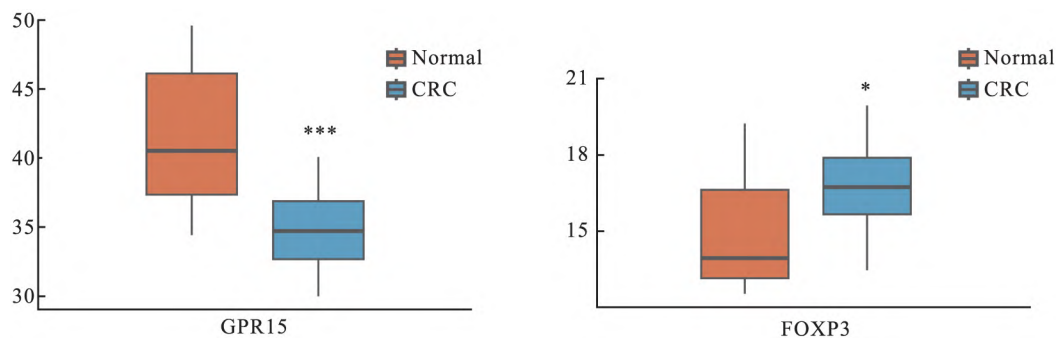


图 2 GPR15 和 FOXP3 在正常结直肠黏膜及 CRC 组织中的表达情况(GEO 数据库)
Fig. 2 The expression of GPR15 and FOXP3 in normal colorectal mucosa and CRC(GEO)
* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ vs normal group.

表 1 GPR15 在 CRC 组织与正常结直肠黏膜中的表达情况($n = 132$)
Tab. 1 The expression of GPR15 in CRC tissues and normal colorectal mucosa($n = 132$)

Group	GPR15				Z value	P value	Positive ratio(%)	χ^2 value	P value
	-	+	++	+++					
CRC	46	38	31	17	-6.809	<0.001	65.2	31.439	<0.001
Normal	105	27	0	0			20.1		

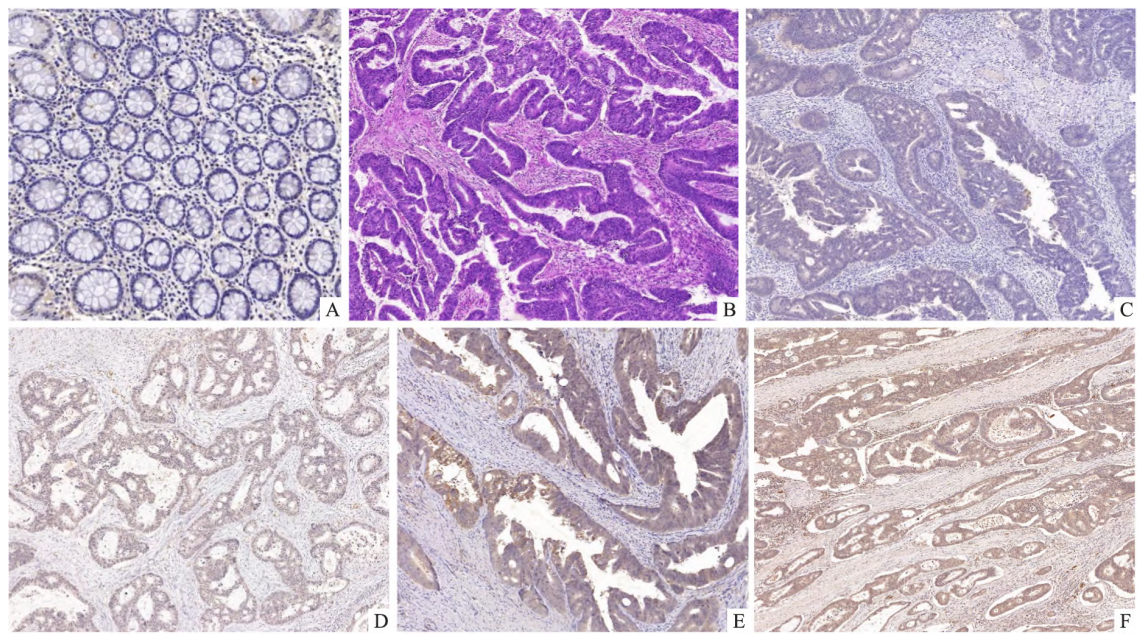


图 3 正常结直肠黏膜及 CRC 组织中 GPR15 的表达 IHC $\times 100$
Fig. 3 The expression of GPR15 in normal colorectal mucosa and CRC tissues IHC $\times 100$

A: The expression of GPR15 in normal colorectal mucosa; B: CRC tissues HE; C: Negative expression of GPR15 in CRC tissues; D: Weakly positive expression of GPR15 in CRC tissues; E: Positive expression of GPR15 in CRC tissues; F: Strong positive expression of GPR15 in CRC tissues.

表2 FOXP3 在 CRC 组织与正常结肠黏膜中的表达情况($n = 132$)Tab.2 The expression of FOXP3 in CRC tissues and normal colorectal mucosa($n = 132$)

Group	FOXP3		Positive ratio (%)	χ^2 value	P value
	-	+			
CRC	18	114	86.4	76.544	<0.001
Normal	102	30	22.7		

表3 CRC 组织中 GPR15 与 FOXP3 的表达与临床病理参数间的关系

Tab.3 The expression of GPR15 and FOXP3 in CRC tissues and their relationships with clinicopathologic features

Feature	n	GPR15		χ^2 value	P value	FOXP3		χ^2 value	P value
		-	+			-	+		
Sex									
Male	73	25	48	0.03	0.872	15	58	6.62	0.010
Female	59	21	38			3	56		
Age (years)									
≤55	33	15	18	2.18	0.140	2	31	-	0.240
>55	99	31	68			16	83		
Tumor size(cm)									
≤5	84	28	56	0.23	0.629	12	72	0.08	0.774
>5	48	18	30			6	42		
Differentiation degree									
High ,medium	113	39	74	0.04	0.844	15	98	-	0.724
Low	19	7	12			3	16		
Tissue type									
Adenocarcinoma	111	39	72	0.03	0.874	15	96	-	>0.999
Mucinous adenocarcinoma and others	21	7	14			3	18		
Location									
Colon	79	22	57	4.25	0.039	9	70	0.84	0.359
Rectum	53	24	29			9	44		
Depth of invasion									
T1 - T2	24	12	12	2.97	0.085	3	21	-	>0.999
T3 - T4	108	34	74			15	93		
Tumor budding									
Yes	24	5	19	2.54	0.111	6	18	-	0.097
No	108	41	67			12	96		
Vascular invasion									
Yes	62	18	44	1.74	0.187	10	52	0.62	0.432
No	70	28	42			8	62		
Nerve invasion									
Yes	43	8	35	7.41	0.006	7	36	0.38	0.539
No	89	38	51			11	78		
Lymph node metastasis									
Yes	60	16	44	3.24	0.072	8	52	0.01	0.926
No	72	30	42			10	62		
TNM stage									
I	20	11	9	7.19	0.027	3	17	-	0.781
II	44	18	26			7	37		
III - IV	68	17	51			8	60		

关性 132 例 CRC 组织中,GPR15 与 FOXP3 均阳性 74 例,均阴性 6 例,前者阴性而后者阳性 40 例,前者阳性而后者阴性 12 例。GPR15 与 FOXP3 在 CRC 组织中的表达无显著相关性($Kappa$ 系数 = -0.019),见表 4。

2.4 CRC 组织中 GPR15 与 FOXP3 表达与患者生存预后的关联性 GPR15 阳性组生存预后显著劣于阴性组,差异有统计学意义($\log$ -rank 检验: $\chi^2 = 4.3, P = 0.039$); FOXP3 阳性组生存预后显著优于阴性组,差异有统计学意义($\log$ -rank 检验:

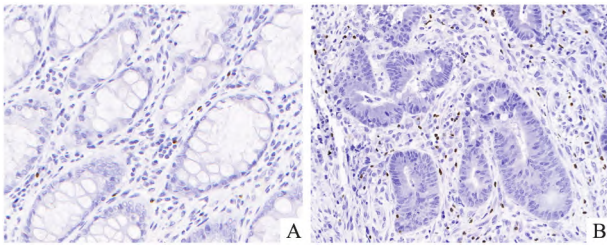


图4 正常结直肠黏膜及CRC组织中FOXP3的表达 IHC ×400

Fig.4 The expression of FOXP3 in normal colorectal mucosa and CRC tissues IHC ×400

A: Normal colorectal mucosa; B: CRC tissues.

表4 CRC组织中GPR15与FOXP3之间的关系

Tab.4 Relationship between GPR15 and FOXP3 in colorectal cancer tissues

GPR15	n	FOXP3		Kappa coefficient	P value
		-	+		
-	46	6	40	-0.019	0.607
+	86	12	74		

$\chi^2 = 7.3, P = 0.007$), 见图5。

2.5 CRC患者预后影响因素Cox回归结果分析

以CRC患者术后生存情况为因变量(1=生存, 0=死亡), 以性别、年龄、肿块大小、分化程度、组织分型、部位、浸润深度、肿瘤出芽、脉管侵犯、神经侵犯、淋巴结转移、TNM分期, 以及GPR15与FOXP3的表达情况为自变量进行Cox回归分析。结果显示, 年龄 ≤ 55 岁、GPR15阳性、FOXP3阴性是促使CRC患者预后不良的独立危险因素($P < 0.05$), 见表5。

3 讨论

G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)参与生物体内的众多生理活动和信号调节

过程, 与之相关的信号传导通路或信号分子发生异常会导致生物体内环境的失衡, 从而引起如自身免疫性疾病、类风湿性关节炎、肝脏损伤、癌症等疾病^[8]。GPR15(又称BOB)是一种孤儿GPCRs, 它和人体免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染、结肠炎症、吸烟等相关疾病息息相关。FOXP3最初被认为是调节性T细胞特异性表达分子, 最近的研究^[9]发现FOXP3在多种肿瘤中表达, 但功能作用不一致, 这可能与FOXP3的选择性剪接有关。

GPR15在CRC组织中表达情况的报道目前较少, 本研究中GPR15免疫组化表达情况和数据库的结果并不一致。查阅相关文献显示, GPR15在CRC组织与正常黏膜组织中的表达情况具有一定争议。有学者认为^[8], GPR15在CRC细胞中表达显著上调, 并且GPR15转录水平降低可诱导细胞凋亡, 抑制体外癌细胞生长, 限制癌细胞的迁移和侵袭。也有研究^[8]表明, 与正常结直肠黏膜相比, GPR15在CRC组织中的表达水平显著降低。对此, 本研究认为可能是组织样本量的原因造成GPR15的表达在数据库与免疫组化结果不尽相同, 亦或者是GPR15 mRNA相对表达量与蛋白表达阳性率在CRC与正常组织中存在一定的差异, 具体机制有待进一步研究。另发现FOXP3在CRC组织中的表达水平显著高于正常黏膜组织, 可能的机制是由于FOXP3+通过基因转录水平上调IL-10、TGF- β 1以及血红素加氧酶等免疫抑制因子的表达, 却下调TNF- α 、IL-2、GM-CSF等促炎性因子的表达, 从而发挥免疫抑制的功能^[10]。

有文献报道^[11], GPR15和FOXP3在人类结肠调节性T细胞中的表达呈正相关, FOXP3与Ahr(芳香烃受体)相互作用, 增强了Ahr DNA在GPR15位

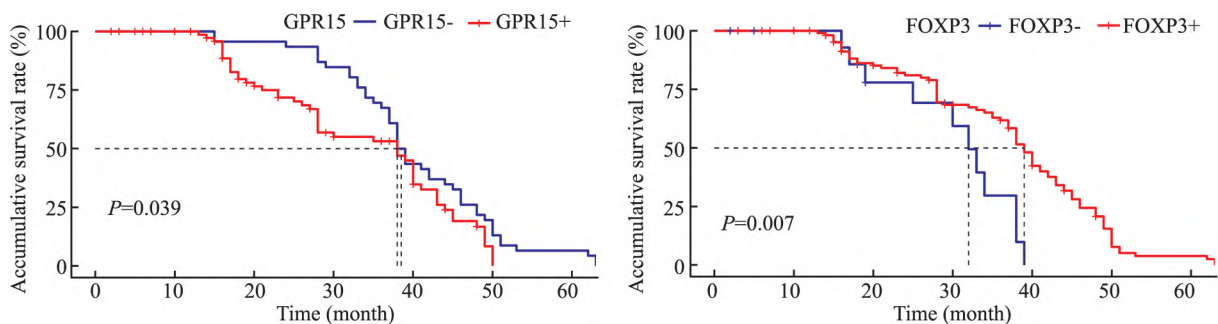


图5 GPR15与FOXP3在CRC组织的表达与患者生存预后关联性Kaplan-Meier曲线图

Fig.5 Kaplan-Meier curve of correlation between GPR15 and FOXP3 expression in colorectal cancer tissues and survival prognosis

表 5 CRC 患者预后影响因素的单因素和多因素 Cox 回归分析结果

Tab.5 Univariate and multivariate Cox regression analysis of prognostic factors in patients with colorectal cancer

Characteristics	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	HR(95% CI)	P value	HR(95% CI)	P value
Sex				
Male				
Female	1. 25 (0. 84 – 1. 86)	0. 262		
Age (years)				
≤55				
> 55	0. 55(0. 35 – 0. 84)	0. 007	0. 46(0. 30 – 0. 72)	0. 001
Tumor size(cm)				
≤5				
> 5	1. 03(0. 68 – 1. 56)	0. 875		
Differentiation degree				
High ,medium				
Low	0. 84(0. 47 – 1. 49)	0. 556		
Tissue type				
Adenocarcinoma				
Mucinous adenocarcinoma and others	1. 13(0. 65 – 1. 98)	0. 657		
Location				
Colon				
Rectum	0. 69(0. 46 – 1. 03)	0. 066		
Tumor budding				
Yes				
No	1. 43(0. 80 – 2. 56)	0. 232		
Vascular invasion				
Yes				
No	0. 91(0. 60 – 1. 38)	0. 660		
Nerve invasion				
Yes				
No	0. 86(0. 54 – 1. 36)	0. 518		
Lymph node metastasis				
Yes				
No	1. 14(0. 75 – 1. 74)	0. 524		
TNM stage				
I				
II	0. 71(0. 41 – 1. 23)	0. 223		
III – IV	0. 66(0. 38 – 1. 13)	0. 127		
GPR15				
Negative				
Positive	1. 58(1. 04 – 2. 41)	0. 032	1. 86(1. 21 – 2. 86)	0. 005
FOXP3				
Negative				
Positive	0. 41(0. 21 – 0. 79)	0. 008	0. 30(0. 15 – 0. 59)	0. 001

点的结合,从而促进 GPR15 的表达。然而本实验相关性分析表明,两者表达并无显著相关性。分析原因,可能和样本选取的片面性有关,也可能和实验方法、统计学方法不同有关,待今后实验研究继续探索。

此外,本研究结果显示,GPR15 阳性的 CRC 患者预后较差。然而,FOXP3 阳性的 CRC 患者却预后较好,这一结果耐人寻味。前期免疫组化结果提示 FOXP3 在 CRC 组织中的表达水平显著高于正常黏

膜组织,推测 FOXP3 阳性的 CRC 患者预后较差,而本实验患者的预后信息却得出相反的结论。查询相关文献^[2],同样有学者的实验结果表明 FOXP3 阳性细胞密度显著增高与预后改善相关。Saito et al^[3]发现 FOXP3 高表达的 Treg 细胞通常具有免疫抑制作用,但在 CRC 的免疫微环境中存在同样 FOXP3 低表达的非 Treg 细胞,此类细胞的浸润能力强于前者,可能依赖于组织分泌 IL-42 和 TGF-β 发挥促炎作用,同时此类细胞不表达幼稚 Treg 细胞标

志物 CD45RA 且 FOXP3 具有不稳定。因此,功能不同的肿瘤浸润 FOXP3⁺ T 细胞亚群以相反的方式决定 CRC 的预后。本研究的局限性在于通过免疫组化染色判断 FOXP3 阳性与否,而 FOXP3 高表达的 Treg 细胞与 FOXP3 低表达的非 Treg 细胞百分比尚不清楚;亦可能是肿瘤免疫微环境中 Tregs 的异质性导致的。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209–49. doi: 10.3322/caac.21660.
- [2] Paty P B, Garcia-Aguilar J. Colorectal cancer [J]. *J Surg Oncol*, 2022, 126(5): 881–7. doi: 10.1002/jso.27079.
- [3] Adameczyk A, Pastille E, Kehrmann J, et al. GPR15 facilitates recruitment of regulatory T cells to promote colorectal cancer [J]. *Cancer Res*, 2021, 81(11): 2970–82. doi: 10.1158/0008–5472.CAN–20–2133.
- [4] Ay E N, Demirkol S, Hakan M T, et al. Investigation of possible associations between tryptophan/kynurenine status and FOXP3 expression in colorectal cancer [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2022, 82(3): 185–91. doi: 10.1080/00365513.2022.2040050.
- [5] 曾 洁, 祖木热提古丽·阿不来提, 马琰迪, 等. 口腔鳞状细胞癌中 IGF1 的表达及其临床意义 [J]. *安徽医科大学学报*, 2023, 58(8): 1418–23. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000–1492.2023.08.029.
- [6] Zeng J, Zumuretiguli·Abulaiti, Ma Y D, et al. Expression of IGF1 and its clinical significance in oral squamous carcinoma [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2023, 58(8): 1418–23. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000–1492.2023.08.029.
- [7] 王 靖, 徐 芳, 杨 孔. G 蛋白偶联受体研究进展 [J]. *西南民族大学学报(自然科学版)*, 2020, 46(6): 563–70. doi: 10.11920/xnmdzk.2020.06.003.
- [8] Wang J, Xu F, Yang K. Research progress in G protein coupled receptors [J]. *J Southwest Minzu Univ Nat Sci Ed*, 2020, 46(6): 563–70. doi: 10.11920/xnmdzk.2020.06.003.
- [9] Wang J, Gong R, Zhao C, et al. Human FOXP3 and tumour microenvironment [J]. *Immunology*, 2023, 168(2): 248–55. doi: 10.1111/imm.13520.
- [10] Guo Y, Zhu Q, Chen S, et al. Post-transcriptional suppression of G protein-coupled receptor 15 (GPR15) by microRNA-1225 inhibits proliferation, migration, and invasion of human colorectal cancer cells [J]. *3 Biotech*, 2021, 11(3): 139. doi: 10.1007/s13205–021–02682–2.
- [11] Wang Y, Wang X, Xiong Y, et al. An integrated pan-cancer analysis and structure-based virtual screening of GPR15 [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(24): 6226. doi: 10.3390/ijms20246226.
- [12] 马虎林, 孙晓霞, 陈良全, 等. 结直肠癌组织 Tregs 占比和 Foxp3、IL-40、TGF-β1 mRNA 表达变化及其意义 [J]. *山东医药*, 2023, 63(24): 17–20. doi: 10.3969/j.issn.1002–266X.2023.24.004.
- [13] Ma H L, Sun X X, Chen L Q, et al. Proportion of Tregs in colorectal cancer and expression changes of Foxp3, IL-40 and TGF-β1 mRNA and their significance [J]. *Shandong Med J*, 2023, 63(24): 17–20. doi: 10.3969/j.issn.1002–266X.2023.24.004.
- [14] Xiong L, Dean J W, Fu Z, et al. Ahr-Foxp3-RORγt axis controls gut homing of CD4⁺ T cells by regulating GPR15 [J]. *Sci Immunol*, 2020, 5(48): eaaz7277. doi: 10.1126/sciimmunol.aaz7277.
- [15] Kuwahara T, Hazama S, Suzuki N, et al. Intratumoural-infiltrating CD4⁺ and FOXP3⁺ T cells as strong positive predictive markers for the prognosis of resectable colorectal cancer [J]. *Br J Cancer*, 2019, 121(8): 659–65. doi: 10.1038/s41416–019–0559–6.
- [16] Saito T, Nishikawa H, Wada H, et al. Two FOXP3⁺ CD4⁺ T cell subpopulations distinctly control the prognosis of colorectal cancers [J]. *Nat Med*, 2016, 22(6): 679–84. doi: 10.1038/nm.4086.

Expression and clinical prognostic value study of GPR15 and FOXP3 in colorectal carcinoma

Sun Jinglu¹, Tong Li², Wang Nana¹, Wu Yangyang¹, Wu Qiong^{3,4}

[¹Clinicopathological Center, Anhui Public Health Clinical Center(North District, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University), Hefei 230011; ²Dept of Pathology, Zhenjiang First People's Hospital, Zhenjiang 212002; ³Dept of Pathology, Bengbu Medical University, Bengbu 233030; ⁴Dept of Pathology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical University, Bengbu 233004]

Abstract Objective To investigate the expressions of GPR15 and FOXP3 in colorectal carcinoma(CRC) tissues and their clinical prognostic values. **Methods** A total of 132 patients with CRC underwent radical surgery were collected. The control group selected the normal mucosal tissues more than 5 cm away from the edge of the cancer

focus. Immunohistochemistry (Envision two-step method) was used to detect the expression levels of GPR15 and FOXP3 in CRC and adjacent tissues, and analyze their relationships with clinicopathological factors of colorectal cancer. Kaplan-Meier method was used to draw the survival curve to analyze the correlation between the expressions of GPR15 and FOXP3 and the survival prognosis of patients with CRC. The factors influencing prognosis of patients with colorectal cancer were analyzed by Cox regression. **Results** The immunohistochemistry showed that the expression levels of GPR15 and FOXP3 in CRC were significantly higher than those in normal colorectal mucosal tissues ($P < 0.05$). The expression of GPR15 in CRC tissues was correlated with location, nerve invasion and TNM stage; FOXP3 expression was correlated with sex ($P < 0.05$). Both expressions were not significantly correlated with the clinicopathologic features of age, tumor size, differentiation degree, tissue type, depth of invasion, tumor budding, vascular invasion and lymph node metastasis. Correlation analysis showed that there was no significant correlation between GPR15 and FOXP3 expression ($Kappa = -0.019$, $P > 0.05$). The survival prognosis of GPR15 positive group was significantly worse than that of negative group (log-rank: $\chi^2 = 4.3$, $P = 0.039$); while the survival prognosis of FOXP3 positive group was significantly better than that of negative group (log-rank: $\chi^2 = 7.3$, $P = 0.007$). Age ≤ 55 years, positive GPR15 and negative FOXP3 were independent risk factors for poor prognosis in patients with CRC ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression levels of GPR15 and FOXP3 in CRC are significantly higher than those in paracancer tissues, GPR15 and FOXP3 are expected to become new tumor markers for early screening, accurate treatment and prognosis assessment of CRC.

Key words colorectal carcinoma; GPR15; FOXP3; immunohistochemistry; prognosis

Fund program Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. 2022AH051505)

Corresponding author Wu Qiong, E-mail: wuqiong@bbmc.edu.cn

(上接第 479 页)

binding domain protein 2 (HMG2) on lung adenocarcinoma cells. **Methods** This work first analyzed the association between HMG2 and lung adenocarcinoma tissues using The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. Lung adenocarcinoma tissues and adjacent normal tissues were collected to compare the differential expression levels of HMG2. The expression of HMG2 mRNA in lung adenocarcinoma cell lines A549 and NC-H1299 were detected by qRT-PCR and Western blot. HMG2 expression was knocked down using si-RNA technology, with the control group transfected with an equivalent amount of NC-siRNA, and the si-RNA group transfected with si-HMG2. Stable transfected cell lines were established based on si-RNA knockdown efficiency. The effects of HMG2 knockdown on the growth, movement, and spread of lung adenocarcinoma cells were assessed using CCK-8, Transwell assays, scratch assays, colony formation assays, and EdU assays. Transcriptome sequencing analysis revealed pathways related to tumorigenesis associated with HMG2. The relative expression levels of MAPK pathway proteins after HMG2 knockdown were detected by Western blot. **Results** HMG2 mRNA expression was significantly elevated in lung cancer tissues and lung adenocarcinoma cell lines ($P < 0.05$). After HMG2 knockdown, cell proliferation, migration, and invasion were significantly reduced ($P < 0.05$), and the phosphorylation levels of the MAPK signaling pathway markedly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** HMG2 enhances the proliferation, migration, and invasion of lung adenocarcinoma cells, and its mechanism may be closely related to the activation of the MAPK signaling pathway *via* phosphorylation.

Key words lung adenocarcinoma; HMG2; proliferation; migration; invasion; MAPK signaling pathway

Fund programs Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. 2023AH052005); Natural Science Project of Bengbu Medical University (No. 2022byzd066)

Corresponding author Zhang Lei, E-mail: 13855282388@139.com