

CLCA1 在结直肠癌中的表达及其基因集富集分析

罗世波, 吴江妮, 丘新泽, 梁志海, 刘诗权

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号:81460380); 广西自然科学基金项目(编号:2017GXNSFAA198019,2020GXNSFAA159056)

作者单位: 530007 南宁,广西医科大学第二附属医院消化内科(罗世波,吴江妮,丘新泽,刘诗权); 530021 南宁,广西医科大学第一附属医院消化内科(梁志海)

作者简介: 罗世波(1995-),男,在读硕士研究生,研究方向:消化道肿瘤的侵袭转移机制研究。E-mail:1113219453@qq.com

通讯作者: 刘诗权(1975-),男,医学博士,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:消化道肿瘤的侵袭转移机制研究。E-mail:poempower@163.com

[摘要] **目的** 探讨钙激活的氯离子通道辅助蛋白 1 (CLCA1)在结直肠癌(CRC)中的表达及其与临床病理特征和预后的关系,分析其基因集富集情况。**方法** 通过肿瘤基因组图谱(TCGA)数据库下载 CLCA1 mRNA 表达数据,应用 GSEA 软件进行 CLCA1 不同表型的基因集富集分析。分析 CLCA1 mRNA 在 CRC 组织与癌旁组织中的差异表达,并分析其与临床病理特征的关联性。采用免疫组织化学染色法分析 CLCA1 在 CRC 组织和癌旁组织中的差异。**结果** CRC 组织中 CLCA1 表达较癌旁组织明显降低。CRC 组织的免疫组织化学染色评分显著低于癌旁组织[(2.46±1.09)分 vs (5.65±0.49)分; $t=6.458, P=0.000$]。癌旁组织的 CLCA1 mRNA 表达水平显著高于临床 I ~ II 期 CRC 组织和临床 III ~ IV 期 CRC 组织($P<0.05$),临床 I ~ II 期 CRC 组织的 CLCA1 mRNA 表达水平显著高于临床 III ~ IV 期 CRC 组织($P<0.05$)。CLCA1 高表达组临床分期为 I ~ II 期、N 分期为 N₀ 期以及 M 分期为 M₀ 期的人数比例显著大于 CLCA1 低表达组($P<0.05$)。CLCA1 高表达组的生存预后显著优于 CLCA1 低表达组($\chi^2=8.200, P=0.004$)。基因集富集分析结果显示,有 19 个基因集显著富集于 CLCA1 高表达表型,未发现有基因集显著富集于 CLCA1 低表达表型。**结论** CLCA1 在 CRC 组织中表达下调,并且与患者的临床病理特征及预后有关,具有作为 CRC 诊断、治疗和预后预测标志物的潜力。

[关键词] 结直肠癌; 钙激活的氯离子通道辅助蛋白 1; 诊断; 预后; 基因集

[中图分类号] R 735.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2021)07-0675-05

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2021.07.08

Expression of CLCA1 in colorectal cancer and its gene set enrichment analysis LUO Shi-bo, WU Jiang-ni, QIU Xin-ze, et al. Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nan-ning 530007, China

[Abstract] **Objective** To explore the expression of calcium-activated chloride channel regulator 1 (CLCA1) in colorectal cancer (CRC) and its relationship with clinicopathological characteristics and prognosis, and to analyze its gene set enrichment. **Methods** The data of CLCA1 messenger RNA (mRNA) expression were downloaded from the Cancer Genome Atlas (TCGA) database, and the gene set enrichment analysis of different phenotypes of CLCA1 was performed by using GSEA software. The differential expression of CLCA1 mRNA between the CRC tissues and the adjacent tissues was analyzed, and its correlation with clinicopathological characteristics was analyzed. The difference of CLCA1 between the CRC tissues and the adjacent tissues was analyzed by immunohistochemistry. **Results** The expression of CLCA1 in the CRC tissues was significantly lower than that in the adjacent tissues. The immunohistochemical staining scores of the CRC tissues were significantly lower than those of the adjacent tissues [(2.46±1.09) scores vs (5.65±0.49) scores; $t=6.458, P=0.000$]. The level of CLCA1 mRNA expression in the adjacent tissues was significantly higher than that in the CRC tissues in clinical stage I - II and clinical stage III - IV ($P<0.05$), and the level of CLCA1 mRNA expression in the CRC tissues in clinical stage I - II was significantly higher than that in the CRC tissues in clinical stage III - IV ($P<0.05$). The proportion of the patients in the CLCA1 high expression group with clinical stage I - II, N₀ stage (N staging) and M₀ stage (M staging) was significantly greater than that in the CLCA1 low expression

group ($P < 0.05$). The survival prognosis of the CLCA1 high expression group was significantly better than that of the CLCA1 low expression group ($\chi^2 = 8.200$, $P = 0.004$). The results of gene set enrichment analysis showed that 19 gene sets were significantly enriched in the CLCA1 high expression phenotypes, and that no gene sets were found to be significantly enriched in the CLCA1 low expression phenotypes. **Conclusion** CLCA1 is down-regulated in the CRC tissues and is related to the patients' clinicopathological characteristics and prognoses. It has the potential as a marker for the diagnosis, treatment and outcome prediction of CRC.

[**Key words**] Colorectal cancer(CRC); Calcium-activated chloride channel regulator 1(CLCA1); Diagnosis; Prognosis; Gene set

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是常见的恶性肿瘤之一, CRC所致死亡约占肿瘤相关死亡的10%^[1]。目前, 我国的CRC发病率呈逐年增长的趋势^[2]。尽管在诊断和治疗方面取得了进步, 但在过去的20年中, CRC患者的存活率并未得到显著的改善, 50%以上的患者在确诊时已发生区域性或远处转移^[3]。钙激活的氯离子通道辅助蛋白1(calcium-activated chloride channel regulator 1, CLCA1)是钙激活的氯离子通道调节蛋白家族成员, 其基因组序列由31 902个碱基对组成, 具有15个外显子和14个内含子, 位于1号染色体的短臂上(p22-31)^[4], 参与调节上皮细胞氯化物电流, 并与黏液分泌过多相关呼吸道和胃肠道疾病的发生发展具有关联性^[5]。CLCA1参与上皮细胞膜的氯离子传导, 可影响上皮黏液产生、细胞信号转导、细胞黏附、细胞周期控制、凋亡以及肿瘤的发生和转移等^[6]。有研究显示, 人CLCA1主要在小肠和结肠黏膜中表达^[4]。而针对CRC标本的研究表明, CLCA1表达水平与肿瘤分期呈负相关^[7], 但也有研究发现CLCA1高表达与CRC患者的不良预后有关^[8]。由此可见, CLCA1在CRC中的作用机制尚未完全阐明。鉴此, 本研究旨在探讨CLCA1在CRC中的表达情况及其与临床特征的关系, 为CRC患者的诊断和预后预测提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 数据来源 通过肿瘤基因组图谱(the Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库(<https://tcga-data.nci.nih.gov/tcga>)下载CRC样本CLCA1基因的表达数据及其匹配的临床信息。临床信息包括TNM分期、血管侵袭情况、肿瘤状态、生存资料等。排除临床信息不全的样本, 最终共纳入370例CRC原发样本和51例癌旁组织样本进行分析。

1.2 标本来源 选择2013年3月至2014年3月在广西医科大学第一附属医院接受手术治疗的CRC患者50例, 均经影像及病理检查确诊。收集其肿瘤组织和癌旁组织(距离肿瘤边缘>10 cm)各50例。排除在手术前接受过化学疗法或放射疗法的患者, 排

除合并其他肿瘤或慢性疾病者, 排除有吸毒史患者。

1.3 方法

1.3.1 生物信息学分析方法^[9] 应用GSEA软件对获取自TCGA数据库的数据进行分析, 将CLCA1基因表达水平的中位数作为截断值, 分为高表达组和低表达组。通过基因集数据库(MsigDB数据库)的致癌基因集进行基因集富集分析, 设置置换检验的次数为1 000次。有意义的基因集的筛选条件: 错误发现率(false discovery rate, FDR) < 25%, 且 $P < 0.05$ 。

1.3.2 免疫组织化学染色方法 将收集到的临床标本进行石蜡包埋组织切片, 厚度4~5 μm , 提前4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷, 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱烤片30 min, 烘干后用二甲苯进行脱蜡, 梯度洗脱脱水。滴加3% H_2O_2 溶液至标本上, 湿盒中室温静置15 min以消除内源性过氧化物酶活性。滴加山羊血清封闭液(北京中杉金桥生物公司), 湿盒中室温静置15 min。滴加CLCA1一抗(工作浓度为1:4 000; Abcam公司, 英国), 湿盒中4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。复温, 使用磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)冲洗3次, 滴加生物素标记二抗(北京中杉金桥生物公司), 湿盒中37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育15 min。滴加辣根过氧化物酶标记的链霉素卵白素(北京中杉金桥生物公司), 湿盒37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育15 min; PBS浸洗3次, 5 min/次。应用3,3-二氨基苯联胺(diaminobenzidine, DAB)显色剂和苏木素进行复染, 最后滴加适量中性树胶封片, 于显微镜下进行观察。

1.3.3 免疫组织化学染色结果判定^[10] 免疫组织化学染色结果由3名专业人员采用半定量法进行独立评判。以胞质中出现明显黄色或棕黄色颗粒判定为阳性。综合染色强度及阳性细胞数量进行半定量分析, 根据阳性细胞染色强度(A): 无明显着色为0分; 细胞浆内出现淡黄色颗粒, 明显高于背景为1分; 出现较多棕黄色颗粒为2分; 出现大量棕褐色颗粒为3分。每个组织随机观察5个高倍镜视野, 计数500个细胞中染色阳性细胞所占比率(B): 阳性细胞数<5%为0分; 5%~25%为1分; 26%~50%为2分; >50%为3分。A与B相加为最终得分, 以0~2分判定为

阴性(-), ≥3 分判定为阳性(+).

1.4 统计学方法 应用 SPSS17.0 软件和 R 软件进行数据分析.符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用配对 t 检验进行比较;不符合正态分布的计量资料以中位数(下四分位数,上四分位数)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示,采用秩和检验进行比较.计数资料以例数(n)表示,组间比较采用 χ^2 检验.采用 log-rank 检验分析组间生存预后差异. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 免疫组织化学染色评分比较 CRC 组织中 CLCA1 表达较癌旁组织明显降低,见图 1. CRC 组织的免疫组织化学染色评分为(2.46 ± 1.09)分,低于癌旁组织的(5.65 ± 0.49)分,差异有统计学意义($t = 6.458$, $P = 0.000$).

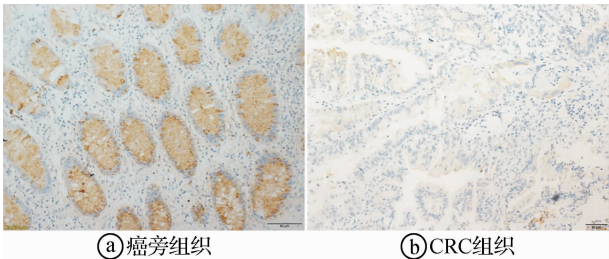


图 1 免疫组织化学染色结果图(×200)

2.2 CLCA1 mRNA 表达水平与临床分期的关联性

表 2 CLCA1 高表达组与低表达组临床病理特征比较(n)

组 别	例数	临床分期		T 分期		N 分期		M 分期	
		I ~ II 期	III ~ IV 期	T ₁ ~ T ₂	T ₃ ~ T ₄	N ₀	N ₁₋₂	M ₀	M ₁
CLCA1 高表达组	185	114	71	41	144	116	69	162	23
CLCA1 低表达组	185	91	94	40	145	95	90	146	39
χ^2	—	5.786		0.016		4.864		4.960	
P	—	0.016		0.900		0.027		0.026	

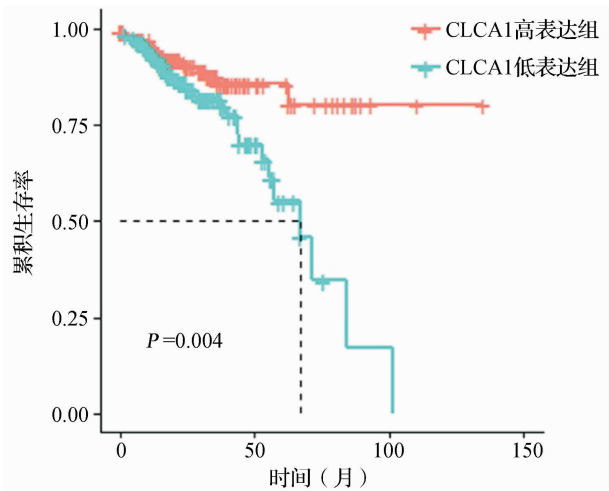


图 2 CLCA1 高表达组与 CLCA1 低表达组生存曲线图

分析结果 癌旁组织的 CLCA1 mRNA 表达水平显著高于临床 I ~ II 期 CRC 组织和临床 III ~ IV 期 CRC 组织($P < 0.05$),临床 I ~ II 期 CRC 组织的 CLCA1 mRNA 表达水平显著高于临床 III ~ IV 期 CRC 组织($P < 0.05$).见表 1.

表 1 CLCA1 mRNA 表达水平与临床分期的
关联性分析结果[$M(P_{25}, P_{75})$]

组织类型	例数	CLCA1 mRNA 相对表达量
癌旁组织	51	23.384(22.770,23.950)
临床 I ~ II 期 CRC 组织	205	17.887(14.094,20.357) ^a
临床 III ~ IV 期 CRC 组织	165	16.704(13.198,19.703) ^{ab}
H	—	112.121
P	—	0.000

注:与癌旁组织比较,^a $P < 0.05$;与临床 I ~ II 期 CRC 组织比较,^b $P < 0.05$

2.3 CLCA1 高表达组与低表达组临床病理特征比较 CLCA1 高表达组临床分期为 I ~ II 期、N 分期为 N₀ 期以及 M 分期为 M₀ 期的人数比例显著大于 CLCA1 低表达组($P < 0.05$)。两组 T 分期比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

2.4 CLCA1 表达水平与预后关联性分析结果 CLCA1 高表达组的生存预后显著优于 CLCA1 低表达组,两组生存时间比较差异有统计学意义(log-rank 检验: $\chi^2 = 8.200$, $P = 0.004$)。见图 2。

2.5 CLCA1 基因表型富集分析结果 共纳入 188 个致癌基因的基因集进入分析,结果显示,有 180 个基因集在 CLCA1 高表达表型中富集,其中 19 个基因集在 $FDR < 25\%$ 的条件下显著富集,21 个基因集在 $P < 0.05$ 的条件下显著富集。 $FDR < 25\%$ 且 $P < 0.05$ 条件下富集的基因集共有 19 个。见表 3。有 8 个基因集在 CLCA1 低表达表型中富集,但是没有基因集显著富集在该表型中。

表 3 19 个 CLCA1 高表达表型中显著富集的基因集

基因集名称	大小	富集评分	标准化富集评分	P	FDR
LEF1_UP, V1_DN	186	0.5976	2.5759	0.000	0.0000
SIRNA_EIF4G1_UP	95	0.5512	2.5398	0.000	0.0000
CAMP_UP, V1_UP	199	0.3642	2.1285	0.002	0.0064

续表 3

基因集名称	大小	富集评分	标准化富集评分	P	错误发现率
SINGH_KRAS_DEPENDENCY_SIGNATURE	20	0.7716	2.0550	0.000	0.0120
RB_P107_DN.V1_DN	126	0.3697	2.0304	0.006	0.0121
LTE2_UP.V1_UP	187	0.4151	1.9269	0.000	0.0276
BCAT_GDS748_UP	48	0.5758	1.9136	0.004	0.0265
TBK1.DN.48HRS_DN	50	0.4153	1.8998	0.012	0.0275
STK33_DN	275	0.4367	1.8608	0.000	0.0368
STK33_NOMO_DN	274	0.4507	1.8118	0.000	0.0473
CYCLIN_D1_KE_.V1_UP	187	0.4362	1.8108	0.005	0.0438
ERBB2_UP.V1_UP	190	0.4322	1.7072	0.014	0.0972
CYCLIN_D1_UP.V1_UP	185	0.4804	1.7035	0.004	0.0925
ESC_J1_UP_EARLY.V1_UP	177	0.4098	1.6827	0.004	0.1024
PTEN_DN.V2_DN	142	0.4107	1.6631	0.004	0.1153
AKT_UP_MTOR_DN.V1_UP	178	0.3649	1.5729	0.025	0.2170
ESC_J1_UP_LATE.V1_UP	185	0.4058	1.5602	0.025	0.2252
RB_P130_DN.V1_DN	134	0.3229	1.5600	0.046	0.2128
AKT_UP.V1_UP	169	0.3476	1.5307	0.025	0.2431

3 讨论

3.1 尽管 CRC 的全人群发病率有所改善,但其在 <50 岁患者中的发病率却在不断上升。预估至 2030 年,年龄为 20~34 岁者的结肠癌和直肠癌发病率将分别增加 90.0% 和 124.2%^[11]。目前存在以手术治疗为主的各种治疗手段,但是 CRC 患者的 5 年生存率仍较低^[12]。因此,探索新的生物标志物对于 CRC 的诊断、治疗、预后预测具有重要意义。CLCA1 参与调节 Ca²⁺ 激活的氯离子在上皮细胞上的转运、杯状细胞的黏蛋白表达、单核细胞和巨噬细胞的细胞因子和趋化因子表达、肿瘤细胞迁移和转移等过程^[5]。氯通道,尤其是 Ca²⁺ 激活的氯通道参与了细胞增殖、迁移和转移等活动,可作为治疗癌症新兴药物的作用靶点^[13-15]。有研究显示,CLCA1 与癌症进展密切相关^[16]。离子通道与卵巢癌的发生、发展和耐药性均具有关联^[17]。蛋白质组学研究结果显示,CLCA1 在卵巢癌细胞系和肿瘤聚集形成细胞模型中表达增加,且敲降 CLCA1 表达可降低癌细胞形成多细胞聚集体的能力^[18]。在肺癌研究中发现,β4 整合素连接 CLCA1 激活下游粘着斑激酶(focal adhesion kinase,FAK)/细胞外信号调节激酶(extracellular-signal-regulated kinase,ERK)信号通路并与之形成复合物,促进肺癌细胞早期的血管内生长和转移性生长^[19]。有研究提示,低水平的 CLCA1 与胰腺癌的不良预后显著相关,是胰腺癌无病生存期较差的独立因素^[20-21]。因此,CLCA1 在不同类型的癌症中的作用机制可能不同。本研究

结果显示,CLCA1 在 CRC 组织中表达下调,且与不良预后具有关联,这与相关研究结果相似^[22-23]。

3.2 本研究结果显示,与癌旁组织比较,CRC 组织中 CLCA1 mRNA 表达水平显著降低,提示 CLCA1 可能是 CRC 的潜在标志物。另外,结果显示 CLCA1 水平与临床分期、N 分期、M 分期存在关联,但与 T 分期关联性不显著,提示 CLCA1 下调可能会促进 CRC 转移,但与肿瘤的浸润相关性不显著。以上结果提示,CLCA1 可能是 CRC 的肿瘤抑制因子,但这与 Chen 等^[8]的研究结论相反,这可能是由于样本量、患者特征差异所导致。研究认为,CLCA1 通过抑制 Wnt/β-catenin 信号转导途径及上皮间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition,EMT)过程抑制 CRC 侵袭^[24],且 CLCA1 的转录与原癌基因 c-myc 的持续转录相关^[20],而 c-myc 基因的产物参与调控细胞的增殖与凋亡^[25]。本研究结果显示,CLCA1 高表达表型中显著富集的基因集有 19 个,且不局限于 Wnt/β-catenin 信号通路。因此,CLCA1 可能与其他原癌基因相互作用来调控肿瘤细胞的增殖与凋亡。

3.3 本研究基因集富集分析结果显示,人类丝氨酸/苏氨酸激酶 33 (serine/threonine kinase 33,STK33) 在 CLCA1 高表达表型中下调。STK33 属于钙/钙调蛋白依赖性激酶家族,位于 11p15.3 号染色体上,此位点为与多种疾病(包括癌症)相关的基因富集区域^[26]。STK33 通过 ERK2 信号通路促进 CRC 的发生^[26]。研究发现,STK33 通过激活磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol-3 kinase,PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B,AKT)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)通路促进人胰腺神经内分泌肿瘤的生长和进展^[27]。本研究结果显示,CLCA1 高表达可下调 CRC 组织的 STK33 表达水平,说明 CLCA1 可能是通过抑制 STK33 介导的信号通路来抑制肿瘤的发生发展。值得注意的是,基因集富集分析结果显示,在 CLCA1 高表达情况下 AKT 表达呈上升状态。而在多种肿瘤中,PI3K/AKT/mTOR 通路与癌症的发病机制相关,是肿瘤发生的促进因素^[28]。分析认为 CLCA1 与 AKT 可能存在某种特殊的结合方式,从而改变了 AKT 的功能^[5]。

综上所述,CLCA1 与 CRC 的发生、发展具有显著关联,其有望成为 CRC 诊断、治疗和预后预测的标志物。但 CLCA1 与其他基因共同影响 CRC 的恶性生物行为的具体分子机制还有待于进一步验证,还需要深入研究它们之间的结合位点及亚型。

参考文献

- [1] 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 Cancer J Clin*, 2018,68(6): 394–424.
- [2] 赵钢艳,熊将军,刘灵芝,等. 结直肠癌组织中 lncRNA FOXC2-AS1 与 EZH2 的表达及临床意义[J]. *国际检验医学杂志*,2021, 42(7):819–823.
- [3] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015,65(2):87–108.
- [4] Gruber AD, Elble RC, Ji HL, et al. Genomic cloning, molecular characterization, and functional analysis of human CLCA1, the first human member of the family of Ca^{2+} -activated Cl^{-} channel proteins [J]. *Genomics*, 1998,54(2):200–214.
- [5] Liu CL, Shi GP. Calcium-activated chloride channel regulator 1 (CLCA1): more than a regulator of chloride transport and mucus production[J]. *World Allergy Organ J*, 2019,12(11):100077.
- [6] Winpenny JP, Marsey LL, Sexton DW. The CLCA gene family: putative therapeutic target for respiratory diseases[J]. *Inflamm Allergy Drug Targets*, 2009,8(2):146–160.
- [7] Ostasiewicz B, Ostasiewicz P, Duś-Szachniewicz K, et al. Quantitative analysis of gene expression in fixed colorectal carcinoma samples as a method for biomarker validation[J]. *Mol Med Rep*, 2016,13(6):5084–5092.
- [8] Chen TJ, He HL, Shiue YL, et al. High chloride channel accessory 1 expression predicts poor prognoses in patients with rectal cancer receiving chemoradiotherapy[J]. *Int J Med Sci*, 2018, 15(11):1171–1178.
- [9] Subramanian A, Tamayo P, Mootha VK, et al. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005,102(43):15545–15550.
- [10] Liu SQ, Xu CY, Wu WH, et al. Sphingosine kinase 1 promotes the metastasis of colorectal cancer by inducing the epithelial mesenchymal transition mediated by the FAK/AKT/MMPs axis[J]. *Int J Oncol*, 2019,54(1):41–52.
- [11] Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, et al. NCCN guidelines insights: colon cancer, version 2. 2018 [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2018,16(4):359–369.
- [12] 赖浩,张杰,左红群,等. microRNA 与结直肠癌转移的相关性研究进展[J]. *中国临床新医学*,2019,12(11):1168–1171.
- [13] Lang F, Stournaras C. Ion channels in cancer: future perspectives and clinical potential[J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*,2014, 369(1638):20130108.
- [14] Stock C, Schwab A. Ion channels and transporters in metastasis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015,1848(10 Pt B):2638–2646.
- [15] Yurtsever Z, Sala-Rabanal M, Randolph DT, et al. Self-cleavage of human CLCA1 protein by a novel internal metalloprotease domain controls calcium-activated chloride channel activation[J]. *J Biol Chem*, 2012,287(50):42138–42149.
- [16] Yang B, Cao L, Liu B, et al. The transition from proliferation to differentiation in colorectal cancer is regulated by the calcium activated chloride channel A1[J]. *PLoS One*, 2013,8(4):e60861.
- [17] Frede J, Fraser SP, Oskay-Özcelik G, et al. Ovarian cancer: ion channel and aquaporin expression as novel targets of clinical potential[J]. *Eur J Cancer*, 2013,49(10):2331–2344.
- [18] Musrap N, Tuccitto A, Karagiannis GS, et al. Comparative proteomics of ovarian cancer aggregate formation reveals an increased expression of calcium-activated chloride channel regulator 1 (CLCA1) [J]. *J Biol Chem*, 2015,290(28):17218–17227.
- [19] Abdel-Ghany M, Cheng HC, Elble RC, et al. Focal adhesion kinase activated by β_4 integrin ligation to mCLCA1 mediates early metastatic growth[J]. *J Biol Chem*, 2002,277(37):34391–34400.
- [20] Hu D, Ansari D, Pawłowski K, et al. Proteomic analyses identify prognostic biomarkers for pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Oncotarget*, 2018,9(11):9789–9807.
- [21] Hu D, Ansari D, Zhou Q, et al. Calcium-activated chloride channel regulator 1 as a prognostic biomarker in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *BMC Cance*, 2018,18(1):1096.
- [22] Bustin SA, Li SR, Dorudi S. Expression of the Ca^{2+} -activated chloride channel genes CLCA1 and CLCA2 is downregulated in human colorectal cancer[J]. *DNA Cell Biol*, 2001,20(6):331–338.
- [23] Yang B, Cao L, Liu J, et al. Low expression of chloride channel accessory 1 predicts a poor prognosis in colorectal cancer[J]. *Cancer*, 2015,121(10):1570–1580.
- [24] Li X,Hu W,Zhou J,et al. CLCA1 suppresses colorectal cancer aggressiveness via inhibition of the Wnt/beta-catenin signaling pathway[J]. *Cell Commun Signal*, 2017,15(1):38.
- [25] Sipos F, Firmeisz G, Múzes G. Therapeutic aspects of c-MYC signaling in inflammatory and cancerous colonic diseases[J]. *World J Gastroenterol*, 2016,22(35):7938–7950.
- [26] Zhang S, Wu H, Wang K, et al. STK33/ERK2 signal pathway contribute the tumorigenesis of colorectal cancer HCT15 cells[J]. *Biosci Rep*, 2019,39(3):BSR20182351.
- [27] Zhou B, Xiang J, Zhan C, et al. STK33 promotes the growth and progression of human pancreatic neuroendocrine tumour via activation of the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. *Neuroendocrinology*, 2020,110(3–4):307–320.
- [28] Xia P, Xu XY. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in cancer stem cells: from basic research to clinical application[J]. *Am J Cancer Res*, 2015,5(5):1602–1609.

[收稿日期 2021-04-06][本文编辑 余军 吕文娟]

本文引用格式

罗世波,吴江妮,丘新泽,等. CLCA1 在结直肠癌中的表达及其基因集富集分析[J]. *中国临床新医学*,2021,14(7):675–679.