

校编码: 10384 分类号\_\_\_\_\_

学号: 24520121153174UDC\_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕士学位论文

**SATB2 在食管鳞癌组织中的表达  
及其临床意义研究**

**The expression and clinical significance of SATB2 in  
Esophageal Squamous Cell Carcinoma**

李 宁

指导教师姓名: 姜 杰 教授

专业名称: 外科学

论文提交日期: 2015 年月日

论文答辩时间: 2015 年月日

学位授予日期: 2015 年月日

答辩委员会主席:

评阅人:

2015 年 5 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

- (        ) 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于     年   月   日解密，解密后适用上述授权。
- (        ) 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年   月   日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 缩略词汇表

英文缩写	英文全称	中文全称
PBS	phosphate buffered saline	磷酸盐缓冲液
DMSO	dimethyl Sulfoxide	二甲亚砜
EB	ethidium bromide	溴乙锭
ESCC	Esophageal Squamous Cell Carcinoma	食管鳞癌
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白
CA	carbohydrate antigen	糖类抗原
CEA	Carcinoembryonic antigen	癌胚抗原
IHC	immunohistochemistry	免疫组织化学
IF	immunofluorescence	免疫荧光学
HRP	horseradish peroxidase	辣根过氧化物酶
ECL	enhanced chemiluminescence	增强型化学发光
ABCC	ATP-binding cassette superfamily C	三磷酸腺苷结合盒转 运体基因
NLS	nuclearlocalization sequence	核定位序列
NES	nuclearexport sequence	出核序列

## 目 录

缩略词汇表 .....	I
目录 .....	II
Table of Contents .....	IV
摘要 .....	VI
Abstract .....	VII
<b>第一章前言</b> .....	<b>1</b>
<b>1. 食管鳞癌临床研究概况</b> .....	<b>1</b>
1.1 食管解剖及生理及病理 .....	1
1.2 食管癌病理 .....	2
1.3 食管癌流行病学与危险因素 .....	4
1.4 食管癌临床诊断 .....	5
1.5 食管癌临床治疗 .....	7
<b>2. 食管癌分子生物学研究进展</b> .....	<b>8</b>
2.1 食管癌发生发展分子机制 .....	8
2.2 食管鳞癌转移分子机制 .....	9
<b>3. SATB 蛋白家族研究进展</b> .....	<b>10</b>
3.1 SATB 蛋白家族 .....	10
3.2 SATB2 生物学功能与肿瘤 .....	12
<b>4. 本研究的内容和科学意义</b> .....	<b>13</b>
4.1 研究内容 .....	13
4.2 科学意义 .....	13
<b>第二章材料与方法</b> .....	<b>14</b>
<b>1. 材料</b> .....	<b>14</b>
1.1 食管鳞癌组织标本 .....	14
1.2 试剂与配制 .....	14

2. 方法	18
2.1 组织细胞全蛋白抽提取	18
2.2 Western blot	18
2.3 实时荧光定量 PCR	19
2.4 免疫组织化学	20
2.5 统计分析	21
第三章结果与分析	22
1. SATB2 在食管鳞癌组织中的表达	22
2. SATB2 表达与临床病理特征的相关性	25
3. SATB2 与食管鳞癌病人预后的相关性	27
第四章讨论	29
第五章结论	32
参考文献	33
硕士生期间发表论文	39
参研基金	39
致谢	40

## Table of Contents

<b>Abstract</b> .....	<b>VII</b>
<b>Chapter One Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>1. General clinical research introduction of esophageal carcinoma</b> .....	<b>1</b>
1.1 Classification of esophageal carcinoma .....	1
1.2 Pathology of esophageal carcinoma .....	2
1.3 Epidemiology and risk factors of esophageal carcinoma .....	4
1.4 Clinical diagnosis of esophageal carcinoma .....	5
1.5 Clinical treatment of esophageal carcinoma .....	7
<b>2. Advances in molecular biology of esophageal carcinoma</b> .....	<b>8</b>
2.1 The molecular mechanism of esophageal carcinoma development .....	8
2.2 Molecular mechanisms of esophageal carcinoma metastasis .....	9
<b>3. SATB protein family research progress</b> .....	<b>10</b>
3.1 SATB protein family .....	10
3.2 SATB2 protein family biological function and tumor .....	12
<b>4. Content and meaning of the study</b> .....	<b>13</b>
4.1 Research content .....	13
4.2 Science meaning .....	13
<b>Chapter Two Materials and methods</b> .....	<b>14</b>
<b>1. Materials</b> .....	<b>14</b>
1.1 Esophageal carcinoma tissues .....	14
1.2 Reagent and configuration .....	14
1.2.1 List of all types of reagents .....	14
1.2.2 The main reagent configuration .....	17
<b>2. Methods</b> .....	<b>18</b>
2.1 Total protein of esophageal carcinoma tissues extraction .....	18
2.2 Western blot .....	18
2.3 Real time PCR .....	19
2.4 Immunohistochemistry .....	20
2.5 Statistical analysis .....	21
<b>Chapter Three Results and analysis</b> .....	<b>22</b>



1. The expression of SATB2 protein level in esophageal carcinoma tissues .....	22
2. The expression of SATB2 mRNA level in esophageal carcinoma tissues .....	25
3. Association of SATB2 and prognosis .....	27
<b>Chapter Four Discussion</b> .....	<b>29</b>
<b>Chapter Five Conclusion</b> .....	<b>32</b>
<b>References</b> .....	<b>33</b>

厦门大学博硕士论文摘要库

## 摘要

**研究目的:** 食管癌在中国是一种高发的消化系统恶性肿瘤。由于解剖位置深、临床症状隐匿、早期症状不明显、易以多种路径转移、高位癌手术残留、术后容易复发以及放化疗不敏感等特点, 食管癌预后较差。因此, 进一步深入研究食管癌发生发展、侵袭转移以及预后评估因素的内在机制具有重要的意义。SATB1 是富含 AT 序列结合蛋白的特殊家庭成员之一, 已被证明影响众多肿瘤致瘤性的过程。SATB2 与肿瘤的关系密切一直是研究的关注点, 然而, 其在食管鳞状细胞癌组织中的作用不清楚。本论文以食管鳞癌为研究对象, 以 SATB2 为切入点, 研究 SATB2 在食管鳞癌发生发展中的作用及其分子机制, 希望发现新的食管鳞癌评估标志。

**方法:** 本论文研究应用实时定量逆转录聚合酶链反应、免疫印迹法、食管鳞癌组织和癌旁非癌组织免疫组化等方法对 SATB2 在 mRNA 和蛋白质水平表达进行统计分析, 并结合临床病理因素和预后的关系得出结论。

**结果:** 免疫印迹法和实时荧光定量 PCR 表明, 癌组织 SATB2 基因转录水平和蛋白的表达水平均显著低于非癌组织。免疫组化分析表明, SATB2 表达与临床分期、组织分化显著相关。Kaplan-Meier 分析结果表明 SATB2 的表达水平低与食管鳞状细胞癌患者较差的预后相关。重要的是, 多变量分析显示, 低 SATB2 表达是食管鳞癌患者预后较差的独立因素。

**结论:** SATB2 在食管鳞癌的进展过程中起重要的作用, 食管鳞癌患者肿瘤组织中 SATB2 的低表达可作为一个潜在的预后标志。

**关键词:** 食管鳞癌; SATB2; 临床预后; 生物标志

## **Abstract**

### **Background and Purposes**

Esophageal cancer is a high incidence of digestive system malignant tumor in China. Anatomically it lies in deep mediastinum and rarely shows clinical manifestation. It is easily metastasize to various organs, high residual cancer after radical surgery, postoperative radiation and chemotherapy are not sensitive as well as it has an easily recurred and poor prognosis. Therefore, the further study of internal mechanism of and evaluation factors for esophageal cancer development, invasion, metastasis and prognosis has an important significance. SATB1 is a special family member AT rich sequence binding protein, has been shown to influence the process of many tumor tumorigenicity. SATB2 is another special family member of AT rich sequence binding protein has similar structures has been focused in various type of tumor studies, however, its role and organization in esophageal squamous cell carcinoma are still unclear. Esophageal squamous carcinoma is the research object, SATB2 as the breakthrough point in this paper, and to explore how SATB2 molecular mechanism during the development of esophageal cancer and find out the new biomarker for this cancer evaluations. The ultimate results of my study are to find a novel esophageal squamous cancer evaluation biomarker.

### **Methods**

These studies we have applied a real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (PCR) and western blot method. Esophageal squamous carcinoma tissues and adjacent non cancerous tissue were obtained and SATB2 protein and mRNA expression were determined by immunohistochemical staining, western blot and PCR method respectively. The relationship among protein level, clinic-pathological factors and prognosis of the patients were statistically analyzed.

### **Results**

Western blot method and the real-time fluorescent quantitative PCR showed that the cancer tissue SATB2 gene replication and protein expression levels were significantly lower than the cancer tissue. Immunohistochemical analysis showed that the expression of SATB2 is associated with significant clinical stage, tissue differentiation. Kaplan-Meier analysis results shows that the low expression level of SATB2 with esophageal squamous cell carcinoma the patient reveals a poor prognosis. It is important that multivariate analysis showed that low expression of SATB2 is the independent factors of prognosis of patients with esophageal cancer.

### **Conclusions**

In conclusion, our data suggest that SATB2 plays an important role in the process of the progress of the esophageal carcinoma and SATB2 low expression in tumor tissue in patients with esophageal cancer may be as a potential prognostic biomarker.

**Keywords:** esophageal carcinoma; SATB2; clinical prognosis; biomarker

## 第一章前言

### 1. 食管鳞癌临床研究概况

#### 1.1 食管解剖及生理及病理

##### 1.1-1 食管解剖

食管是连接口腔咽部与胃的肌性器官，左右径约 3cm，起于第六颈椎水平，终于第十胸椎水平，平均长 25-30cm，确切长度随个体身高而变化。食管有三个生理性狭窄，分别位于距门齿 15cm、25cm 和 40cm 处，分别是食管入口即环状软骨下缘、左主支气管压迫前壁处、食管穿过膈肌裂孔处（图 1）。

食管总体上在胸腔内直上直下，但上段及下段近膈肌处偏左，中段食管偏右侧，这个弯曲对临床食管癌手术中切口的选择有理论指导意义。食管矢状位上符合胸段脊柱的弯曲，仰卧位时此弯曲会加重胃食管反流患者的症状。[1]

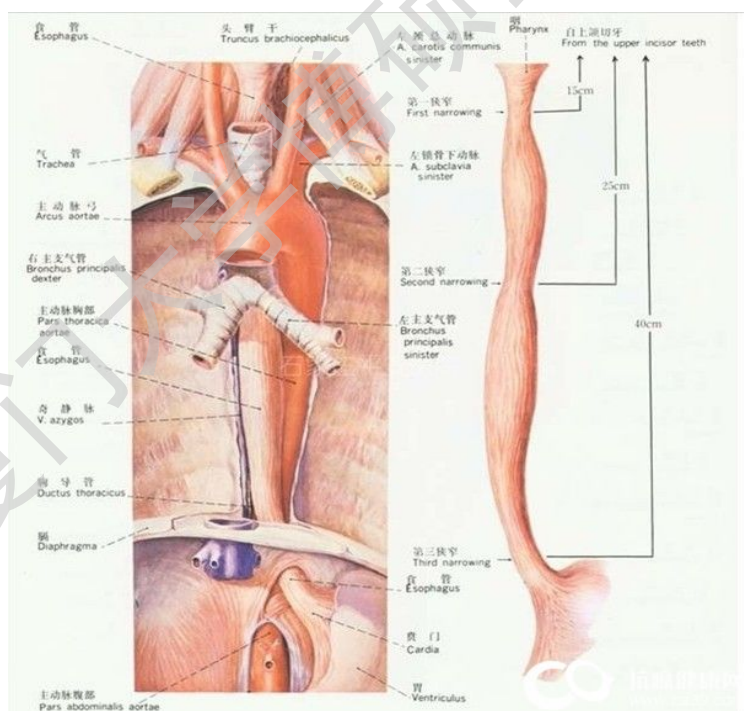


图 1 食管解剖

### 1.1-2 食管结构

食管壁厚 0.3-0.4cm，有黏膜层、粘膜下层、肌层及纤维及外膜四层构成。

黏膜层由非角化复层鳞状细胞上皮、固有膜和黏膜肌层组成。上皮受伤后恢复能力很强；固有层由疏松结缔组织构成，形成乳头伸向上皮层；黏膜肌层由细弹性纤维和纵行平滑肌组成，夹在固有层与粘膜下层中间。食管黏膜突向管腔形成纵形皱襞，食物通过时扩张消失。胃食管交界处，复层鳞状上皮突然连接单层柱状上皮，环形连接带构成食管与胃的分界。

黏膜下层由疏松结缔组织构成，内含较大的血管、淋巴管、黏液性腺体、神经分支及黏膜下神经丛。

肌层为外纵内环结构，此结构有利于食管蠕动收缩及把食团推向胃部。食管近端纵形肌纤维在后方分开绕至前方形成两条纵束，附着于环状软骨后方。食管上 1/3 部位为横纹肌，以下逐渐由平滑肌代替，远端 1/3 全为平滑肌组成。

外膜由富有弹力的结缔组织构成，腹腔内腹膜包绕腹部食管外膜。外膜含血管、淋巴管、神经和弹性纤维网。外层纤维穿入食管肌层并与周围组织相连，所以食管癌侵入外膜时易累及邻近器官（图 2）[2]。

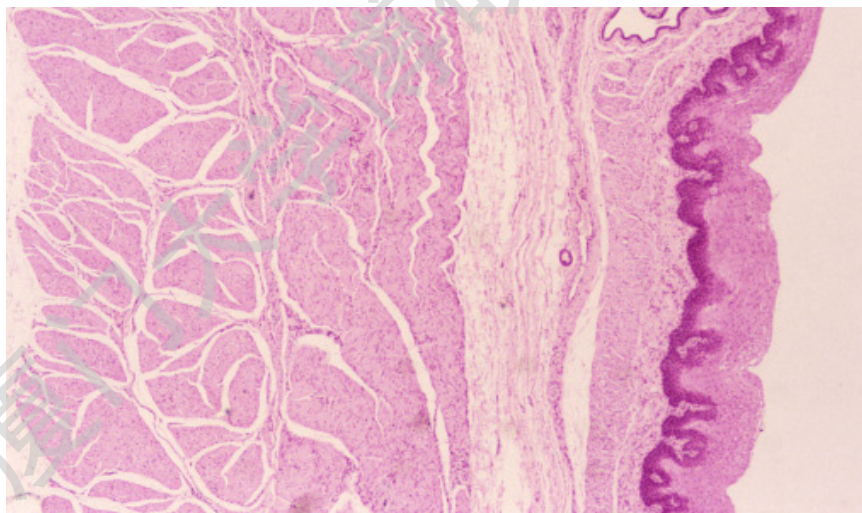


图 2 食管各层结构

## 1.2 食管癌病理

1.2-1 食管癌病理 食管癌鳞是起源于食管上皮细胞的恶性肿瘤，是人类最常

见的恶性肿瘤之一，以进行性吞咽困难、胸骨后疼痛为主要症状。目前认为食管鳞癌发生是食管上皮基底细胞在致癌和促癌因素的长期作用下，经过上皮的单纯性增生、不典型增生、原位癌至早期浸润癌，最终发展成浸润癌。并已明确了食管鳞癌多中心起源，即食管鳞癌往往起源于多个相邻的癌变小灶，外观上呈单一瘤体，实际上是小癌灶在发生发展中彼此融合，形成了单一瘤体。癌瘤形成后周围组织的癌变过程仍在进行，可与主体癌瘤融合在一起，也可以保持独立，形成“卫星灶”，如果距主瘤较远，则形成“双源发癌”或“多源发癌”。

1.单纯性增生是食管鳞状上皮厚度超过正常，但鳞状细胞形态排列正常。依据其形态学表现，可将单纯性增生分为棘细胞型、混合细胞型和基底细胞型等三种类型。

2.不典型增生是上皮细胞癌变前的形态学表现，病变区域的上皮细胞出现了不典型改变。而不典型增生是一种可逆性的病理改变，去除了局部致病因素之后可以恢复到原来的正常状态。但如果致病因素持续存在，不典型增生最终可演变为癌肿。根据严重程度和形态学改变，不典型增生分为三级：1级鳞状上皮的全层下1/3细胞层轻度异性，细胞形态较一致，核染色质分布均匀，偶见核分裂，但无肿瘤分裂象。2级鳞状上皮的全层下2/3细胞层异常，细胞大小及形态欠一致性，细胞极向不清核染色质颗粒明显，染色深，核分裂象不多见，无肿瘤性核分裂象。3级鳞状上层细胞全层异型性明显，细胞大小不一致，细胞极性稍有紊乱，核染色质呈团块状，染色深，可见核分裂象，均为非肿瘤性分裂象。

3.原位癌（上皮内癌）食管鳞状上皮全层恶化，细胞异型性显著，细胞极性紊乱，核分裂象多见，癌变未突破基底膜。具体可以细分为三种类型：棘细胞样形、多形细胞型和小细胞型。

4.最早浸润癌细胞位于食管上皮层内。

5.早期浸润癌细胞突破黏膜肌层，侵入黏膜下层。

在我国的食管癌组织学类型中，鳞癌最多见，约占90%，其次是腺癌，约占5-10%，其他罕见有肉瘤、小细胞未分化癌等。本研究以鳞癌为研究对象：

1级高分化，癌组织分化良好，恶性度低，形态学特征为癌巢中心形成显著的角化，称为癌珠，癌珠周围的癌细胞排列层次类似正常鳞状上皮。

2级中分化，分化较一级差，恶性程度稍高，形态特征是癌巢中心角化减

少，癌珠周围癌细胞排列层次与正常鳞状上皮有一定区别。

3 级低分化，癌细胞分化很差，恶性程度极高。形态特征是癌巢中心少有角化，癌细胞形态与正常细胞形态相比明显差异。[3]

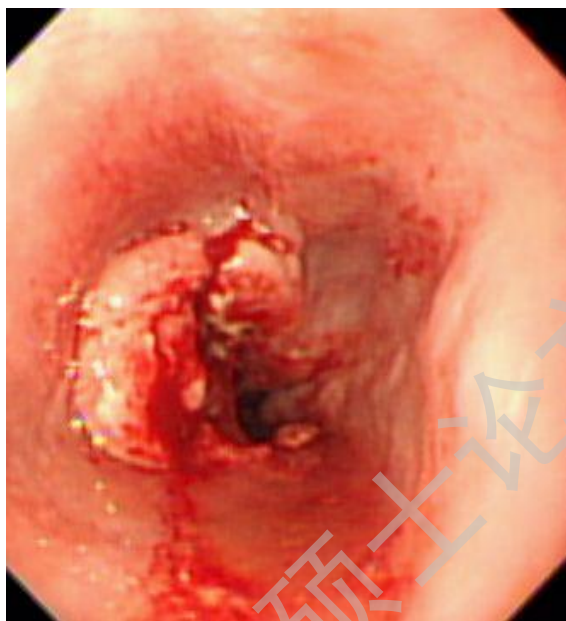


图3 食管胃镜显示

### 1.2-2 进展期食管癌分期:

第一期：食道癌局限于食道壁的最表层，未侵入食道壁的肌肉层，无血行及淋巴转移。第二期：食道癌侵入但没有穿透食道壁较深肌肉层，伴有附近的淋巴结侵犯；或者癌症侵入并穿透食道壁较深肌肉层，但没有淋巴结侵犯。身体其他部位也没有癌症转移。第三期：食道癌浸润食道外膜并伴有淋巴结侵犯；或者癌症已经侵入附近的其他正常组织。第四期：食道癌已经侵及邻近器官或转移到身体的其他器官。癌症有可能转移到身体的任何一个器官，但较常见的器官包括肺，脑以及肝脏[4]。

### 1.3 食管癌流行病学与危险因素

(1) 流行病学：食管癌（主要为鳞状细胞癌）是全球第九大恶性疾病[5]，在全球许多地区流行，特别是在发展中国家[6]。食管癌是发病率差异较大的疾病之



Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.