



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2022.11.011  
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2022.11.011  
Chinese Journal of General Surgery, 2022, 31(11):1493-1500.

· 基础研究 ·

## WAVE2与替代型结直肠癌肝转移生长模式的相关性研究

裴雷<sup>1</sup>, 谭风波<sup>2</sup>, 裴谦<sup>2</sup>, 罗嘉<sup>3</sup>, 王志明<sup>2</sup>, 陶一明<sup>2</sup>

(1.中南大学湘雅二医院 普通外科, 湖南长沙 410011; 2.中南大学湘雅医院 普通外科, 湖南长沙 410008; 3.湖南省肿瘤医院 肝胆外科, 湖南长沙 410031)

### 摘要

**背景与目的:** 结直肠癌肝转移 (CLM) 存在不同的病理生长模式 (HGP), 其中替代型 HGP (RHGP) 与血管选定形成密切相关, 直接影响抗血管生成疗法效果, 导致不良临床预后。因此, 本研究初步探讨 HGP 的分子病理特征, 以期 CLM 分子机制研究提供基础。

**方法:** 收集 2010—2020 年中南大学湘雅医院普通外科行手术切除的 103 例 CLM 患者临床资料及石蜡标本, 其中, 58 例为促纤维组织增生型 HGP (DHGP)、45 例为 RHGP。根据 HGP 国际专家共识指南, 评估 RHGP 与 CLM 患者临床病理因素的相关性。通过免疫组化方法检测 WAVE2 和 CD31 的蛋白表达, 分析 RHGP 与血管选定和 WAVE2 的关系。TIMER2.0 数据库分析 WAVE2 与免疫浸润相关性。KEGG 数据库分析 WAVE2 相互作用分子。

**结果:** HGP 与肝转移瘤发生时间和淋巴结转移明显有关 (均  $P < 0.05$ )。DHGP 组和 RHGP 组 CD31 阳性率分别为 27.5% 和 37.0%, WAVE2 蛋白高表达率分别为 58.6% 和 82.2%, 差异有统计学意义 ( $P = 0.023$ ,  $P = 0.011$ )。WAVE2 表达与 B 细胞 ( $r = 0.258$ ,  $P = 1.41e-07$ )、CD4<sup>+</sup>T 细胞 ( $r = 0.467$ ,  $P = 3.67e-23$ )、CD8<sup>+</sup>T 细胞 ( $r = 0.318$ ,  $P = 5.47e-11$ )、中性粒细胞 ( $r = 0.407$ ,  $P = 2.02e-17$ )、巨噬细胞 ( $r = 0.301$ ,  $P = 6.63e-10$ ) 和树突状细胞 ( $r = 0.438$ ,  $P = 3.01e-20$ ) 免疫浸润明显相关。WAVE2 表达与 CTTN ( $r = 0.454$ ,  $P = 1.26e-24$ )、HDAC4 ( $r = 0.54$ ,  $P = 5.43e-36$ )、CYFIP1 ( $r = 0.39$ ,  $P = 4.24e-18$ )、CDC42 ( $r = 0.443$ ,  $P = 2.12e-23$ )、PDGFB ( $r = 0.316$ ,  $P = 4.25e-12$ )、PRKACA ( $r = 0.363$ ,  $P = 1.05e-15$ ) 等下游分子均呈明显正相关。

**结论:** WAVE2 表达可能通过促进结直肠癌细胞迁移运动, 调节血管选定和肿瘤免疫微环境, 参与 RHGP 的形成。

### 关键词

结直肠肿瘤; 肿瘤转移; Wiskott-Aldrich 综合征蛋白质家族; 新生血管化, 病理性

中图分类号: R735.3

## Correlation of WAVE2 expression with replacement histopathological growth pattern of colorectal liver metastases

PEI Lei<sup>1</sup>, TAN Fengbo<sup>2</sup>, PEI Qian<sup>2</sup>, LUO Jia<sup>3</sup>, WANG Zhiming<sup>2</sup>, TAO Yiming<sup>2</sup>

(1. Department of General Surgery, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China; 2. Department of General Surgery, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; 3. Department of Hepatobiliary Surgery, Hunan Cancer Hospital, Changsha 410031, China)

**基金项目:** 国家自然科学基金 (区域) 重点基金资助项目 (U20A20408), 国家自然科学基金青年科学基金资助项目 (8150111531); 湖南省自然科学基金资助项目 (2022JJ30961)。

**收稿日期:** 2022-07-31; **修订日期:** 2022-10-28。

**作者简介:** 裴雷, 中南大学湘雅二医院主治医师, 主要从事普通外科肿瘤临床与基础方面的研究。

**通信作者:** 陶一明, Email: yimingtao@csu.edu.cn

**Abstract**

**Background and Aims:** Colorectal cancer liver metastases (CLM) have different histopathological growth patterns (HGP), among which replacement HGP (RHGP) is closely associated with vessel co-option, which directly affects the effect of anti-angiogenic therapy and leads to poor prognosis. Therefore, this study was conducted to investigate the molecular pathological features of HGP, so as to provide a basis for the study of the molecular mechanism of CLM.

**Methods:** The clinical data and paraffin-embedded specimens of 103 patients with CLM undergoing surgical resection between 2010 to 2020 in the Department of General Surgery of Xiangya Hospital, Central South University were collected, in which 58 cases were desmoplastic HGP (DHGP) and 45 cases were RHGP. The correlation between RHGP and clinicopathologic factors of CLM patients was assessed based on the international HGP consensus guidelines. The associations of RHGP with vessel co-option and WAVE2 were analyzed through immunohistochemical staining for the protein expressions of WAVE2 and CD31. The correlation between WAVE2 and immune infiltration was analyzed using TIMER2.0 database. WAVE2 interaction signaling molecules were analyzed by KEGG database.

**Results:** HGP was significantly associated with the time to liver metastasis occurrence and lymph metastasis (both  $P < 0.05$ ). The CD31 positive rate was 27.5% and 37.0% in DHGP group and RHGP group, and high WAVE2 expression rate was 58.6% in DHGP group and 82.2% in RHGP group respectively, and the differences had statistical significance ( $P = 0.023$ ,  $P = 0.011$ ). WAVE2 expression was significantly correlated with B cells ( $r = 0.258$ ,  $P = 1.41e-07$ ), CD4<sup>+</sup> T cells ( $r = 0.467$ ,  $P = 3.67e-23$ ), CD8<sup>+</sup> T cells ( $r = 0.318$ ,  $P = 5.47e-11$ ), and neutrophils ( $r = 0.407$ ,  $P = 2.02e-17$ ), macrophages ( $r = 0.301$ ,  $P = 6.63e-10$ ) and dendritic cells ( $r = 0.438$ ,  $P = 3.01e-20$ ) immune infiltration. WAVE2 expression was significantly positively associated with CTTN ( $r = 0.454$ ,  $P = 1.26e-24$ ), HDAC4 ( $r = 0.54$ ,  $P = 5.43e-36$ ), CYFIP1 ( $r = 0.39$ ,  $P = 4.24e-18$ ), CDC42 ( $r = 0.443$ ,  $P = 2.12e-23$ ), PDGFB ( $r = 0.316$ ,  $P = 4.25e-12$ ), PRKACA ( $r = 0.363$ ,  $P = 1.05e-15$ ), and other downstream molecules.

**Conclusion:** WAVE2 expression may be involved in the formation of RHGP by promoting the migration of colorectal cancer cells and regulating vessel co-option and tumor immune microenvironment.

**Key words**

Colorectal Neoplasms; Neoplasm Metastasis; Wiskott-Aldrich Syndrome Protein Family; Neovascularization, Pathologic

**CLC number:** R735.3

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是全球一种导致癌症相关死亡的疾病<sup>[1]</sup>。肝脏是CRC转移的常见部位<sup>[2]</sup>, 大约50%的CRC患者出现肝转移 (colorectal cancer liver metastases, CLM), 手术后5年总生存率约为40%<sup>[3]</sup>。在CLM组织病理学检查中, 可以观察到CLM和临近肝组织之间的界面处会出现不同的组织病理学生长模式 (histopathological growth patterns, HGP)。肝转移HGP评估国际共识指南 (2017版)<sup>[4]</sup>界定了3种主要亚型: 促纤维组织增生型HGP (desmoplastic histopathological growth pattern, DHGP)、替代型HGP (replacement histopathological growth pattern, RHGP) 和膨胀型HGP (pushing desmoplastic histopathological growth pattern, PHGP)。新近研究<sup>[5]</sup>表明, HGP亚

型之间存在相当大的生物学差异。与DHGP的CLM患者相比, CLM中存在RHGP的患者预后较差, 可能和肝切除阳性切缘有一定内在关系, 容易复发转移<sup>[6]</sup>。DHGP的血管生成特征是肿瘤边缘肿瘤血管新生, 而RHGP则主要通过血管选定 (vessel co-option)。

值得关注的是, 血管选定是肿瘤一种新的血管生成方式, 在肝转移肿瘤生长及抵抗治疗中发挥重要功能<sup>[7]</sup>。然而, 在RHGP中驱动血管选定的分子病理机制尚不十分清楚<sup>[8]</sup>。因此, 探索血管选定的病理及潜在分子机制, 不仅可以拓宽对CLM的认识, 也为更好地控制CLM提供了新的治疗靶点。研究<sup>[9]</sup>报道, 细胞运动关键调控基因WAVE2表达与CLM的关系密切相关。此外, WAVE2在

CLM 组织中的高表达,与 CLM 微血管密度有关。笔者团队<sup>[10]</sup>发现 HSC 中 WAVE2 的表达与 TGF- $\beta$ 1 和 YAP1 信号通路的激活相关。本研究旨在通过 CLM 组织标本,采用免疫组化和生物信息分析的方法,研究 WAVE2 表达与 CLM 与 RHGP 的相关性。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

CLM 石蜡组织样本共 104 例,其中仅 1 例病理评估为 PHGP,因例数过少未纳入本研究。研究共纳入 2010—2020 年于中南大学湘雅医院普通外科行手术切除的 CLM 患者 103 例。男 63 例,女 40 例;右半结肠癌 24 例,左半结肠癌 45 例,直肠癌 34 例;术前接受化疗者 15 例,接受放疗者 2 例。本课题内容已报中南大学湘雅医院医学伦理委员会审批备案(批件编号:201103768),同意实施。

### 1.2 HGP 病理评估

HGP 病理评估根据 2017 年国际共识指南标准<sup>[4]</sup>进行:当 CLM 肿瘤周围有纤维化边缘并且癌细胞和肝细胞之间没有接触时,确定为 DHGP。在无瘤周纤维化边缘并且当癌细胞长入肝实质并与肝细胞密切接触时,确定为 RHGP。HGP 评估由 2 名独立的病理医生完成。

### 1.3 免疫组化染色和评估

CLM 石蜡切片置入 60 °C 烤箱,烤片 24 h。用二甲苯脱蜡,梯度酒精水化,然后 EDTA 抗原修复液微波炉进行抗原修复 10 min, PBS 缓冲液洗涤。其中 WAVE2 抗体(货号 ab204376)的工作浓度为 1:500。CD31 抗体(货号 DAKO22C3)工作浓度为 1:500。WAVE2 染色强度按文献<sup>[10]</sup>报道计算 H 评分计算,以 H 评分 87.5 (cut-off 值)界定 WAVE2 的高

低表达。肿瘤微血管染色,通过其平均数量来分析任何棕色染色的内皮细胞或与相邻微血管明显分离的内皮细胞簇。

### 1.4 Masson 染色

CLM 切片脱蜡步骤同上,0.5% 碘酒精作用 10 min。水洗后 5% 硫代硫酸钠作用 5 min,流水冲洗 10 min。Weiger 铁苏木素染色 5 min,流水洗涤。1% 盐酸酒精分化。丽春红酸性品红液染色 5 min,蒸馏水稍冲洗。1% 磷钼酸水溶液处理 5 min,用苯胺绿液复染 5 min。1% 冰醋酸处理 1 min。95% 乙醇及无水乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封固镜检。

### 1.5 生物信息学分析

使用 TIMER2.0 数据库 (<http://timer.cistrome.org>) 进行肿瘤免疫浸润的相关性分析<sup>[11]</sup>。WAVE2 的表达与 COAD 患者中 6 种浸润性免疫细胞(B 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞、CD4<sup>+</sup>T 细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞、树突状细胞)之间的关联进行了评估。

### 1.6 统计学处理

各组间半定量计数资料比较采用 Fisher 精确概率法分析,用 GraphPad Prism Version 9.02 软件分析制图。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 CLM 的 HGP 病理特征分析

CLM 组织切片 HE 染色后进行 HGP 评估(图 1A),可以观察到在 DHGP 中,纤维增生边缘(左上)和肿瘤细胞(右下)之间的直接接触;RHGP 肿瘤细胞(左下)和肝实质(右上)之间的直接接触。Masson 染色显示,DHGP 比 RHGP 具有更多致密的细胞外基质(图 1B)。

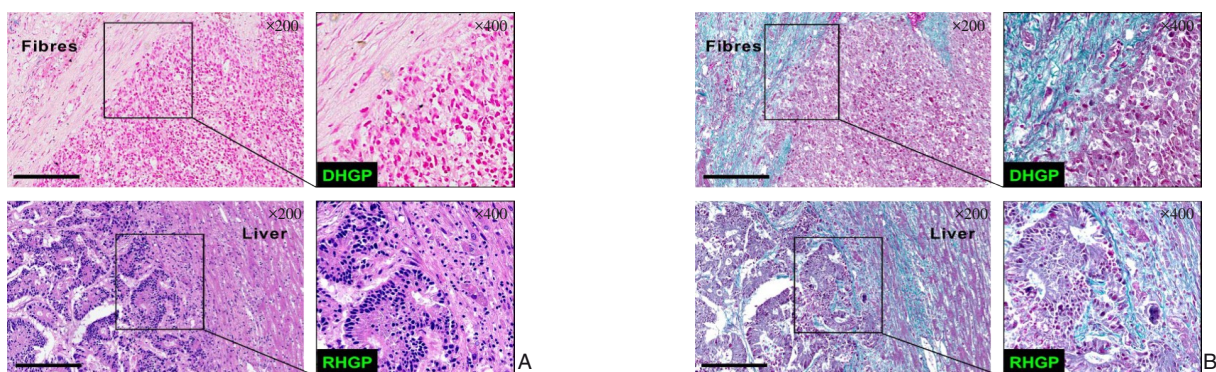


图 1 两种 HGP 病理特征比较 A: 组织切片 HE 染色; B: 组织切片 Masson 染色

Figure 1 Comparison of the pathological features between the two types of HGP A: HE staining; B: Masson staining



### 2.2 CLM的HGP临床病理特征分析

本组 56.3% (58/103) 病理检查确定为 DHGP, 46.6% (45/103) 病理检查确定为 RHGP。103 例 CLM 患者临床病理特征见表 1。通过比较分析两种 HGP 亚型与临床病理特征的关系, 结果显示, RHGP 与肝转移瘤发生时间 ( $P=0.023$ ) 及淋巴结转移 ( $P=0.009$ ) 明显有关。

### 2.3 CLM组织HGP与血管选定特征

CLM 配对组织进行 CD31 标记微血管密度 (图 2A), 结果发现, 在本组 58 例 DHGP 患者中, 16 例 (27.5%) 患者观察到血管选定; 45 例 RHGP 患者中, 17 例 (37%) 患者观察到血管选定; 两组比较差异有统计学意义 ( $P=0.023$ ) (图 2B)。

### 2.4 WAVE2表达与HGP的相关性

既往研究<sup>[12]</sup>发现 WAVE2 是调控细胞迁移运动的潜在关键分子。103 例 CLM 患者组织进行了 WAVE2 免疫组化染色分析 (图 3A)。结果发现, 在本组 58 例 DHGP 患者中, 34 例 (58.6%) 患者观察到高表达, 24 例 (41.4%) 患者观察到低表达; 45 例 RHGP 患者中, 37 例 (82.2%) 患者观察到高表达, 8 例 (17.8%) 患者观察到低表达; 两者比较差异有统计学意义 ( $P=0.011$ ) (图 3B)。

### 2.5 WAVE2表达与免疫浸润的相关性

新的研究<sup>[13]</sup>证据表明, WAVE2 在调节免疫细胞功能中至关重要。笔者通过 TIMER 2.0 数据库评估 COAD 中 WAVE2 表达和肿瘤免疫浸润之间的关联。结果表明, WAVE2 表达与肿瘤纯度无关, 但是 WAVE2 表达与 B 细胞 ( $r=0.258$ ,  $P=1.41e-07$ )、

CD4<sup>+</sup> T 细胞 ( $r=0.467$ ,  $P=3.67e-23$ )、CD8<sup>+</sup> T 细胞 ( $r=0.318$ ,  $P=5.47e-11$ )、中性粒细胞 ( $r=0.407$ ,  $P=2.02e-17$ )、巨噬细胞 ( $r=0.301$ ,  $P=6.63e-10$ ) 和树突状细胞 ( $r=0.438$ ,  $P=3.01e-20$ ) 的肿瘤免疫浸润水平呈明显正相关 (图 4), 提示 WAVE2 可能是肿瘤免疫微环境的新调节因子。

表 1 HGP 与 CLM 患者的临床特征的关系 [n (%)]  
Table 1 Relations of HGP with the clinical features of CLM patients [n (%)]

临床病理参数	DHGP组(n=58)	RHGP组(n=45)	P
性别			
女	22(37.9)	18(40.0)	0.841
男	36(62.1)	27(60.0)	
癌胚抗原(ng/mL)			
<200	55(94.8)	39(86.7)	0.174
>200	3(5.2)	6(13.3)	
肿瘤部位			
右半结肠	16(27.6)	8(17.8)	0.462
左半结肠	23(39.6)	22(48.9)	
直肠	19(32.8)	15(33.3)	
发生肝转移			
同时性	43(74.1)	23(51.1)	0.023
异时性	15(25.9)	22(48.9)	
肿瘤直径(cm)			
>5	9(15.5)	10(17.2)	0.447
≤5	49(84.5)	35(77.8)	
淋巴结转移			
阳性	47(81.0)	25(55.6)	0.009
阴性	11(19.0)	20(44.4)	
肿瘤大小			
T2	14(24.1)	16(35.6)	0.275
T3~T4	44(75.9)	29(64.6)	

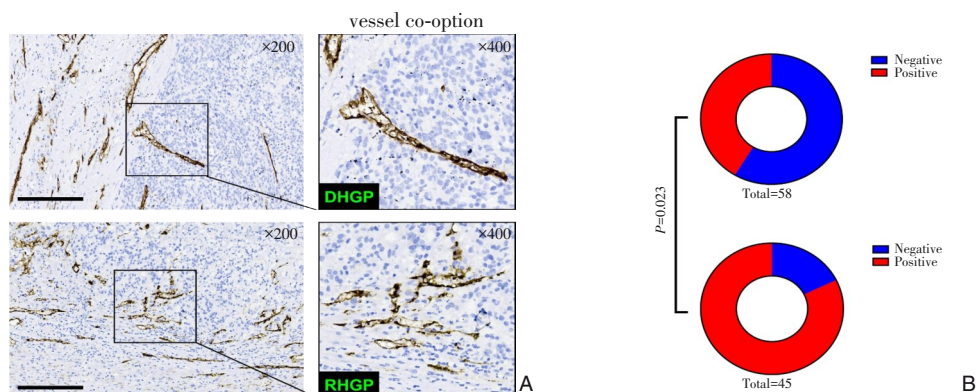


图 2 两组血管选定的比较结果 A: CD31 染色结果; B: 按 HGP 分层的血管选定表达的患者比例

Figure 2 Comparative results of vessel co-option between the two groups A: CD31 staining; B: Pie chart graph by proportion of vessel co-option stratified by HGP

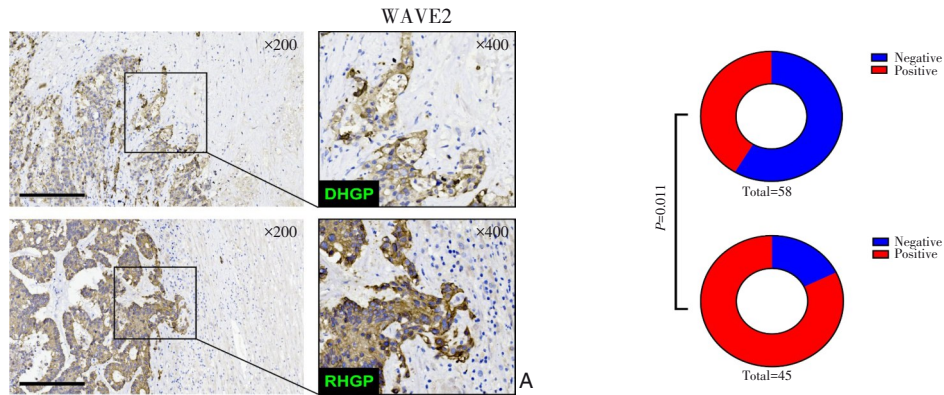


图3 WAVE2表达的免疫组化检测结果比较 A: WAVE2染色结果; B: 按HGP分层的WAVE2表达比例

Figure 3 Comparative results of WAVE2 expression between the two groups A: WAVE2 staining; B: Pie chart graph by proportion of WAVE2 stratified by HGP

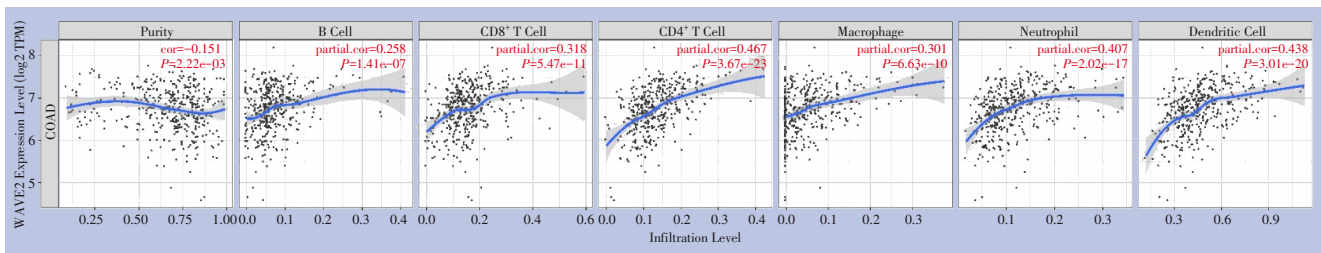


图4 结肠癌中WAVE2表达与免疫浸润的相关性

Figure 4 Correlation between WAVE2 expression and immune infiltration in colorectal cancer

### 2.6 WAVE2激活的信号传导分子分析

为初步探讨WAVE2信号传导及通路可能参与替代型HGP与血管选定形成的分子机制,根据KEGG数据库中的Pathway间的相互作用关系方法

分析,结果表明WAVE2信号激活下游分子,如Arp2/3复合物、TIMM50、CTTN、HDAC4、CYFIP1、CDC42、PDGFB、PRKACA等(图5)。表明WAVE2信号激活在癌症进展中极为重要。

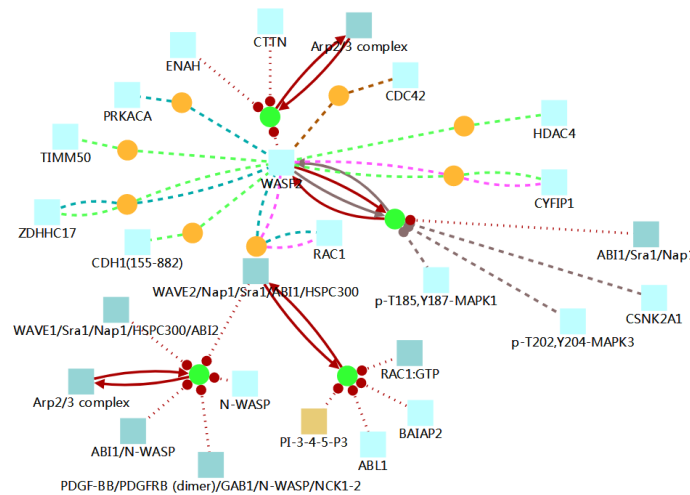


图5 WAVE2相互作用信号分子网络分析

Figure 5 Molecular network analysis of WAVE2 interaction signaling

### 2.7 WAVE2信号传导通路分子的相关性分析

利用TIMER2.0研究COAD中WAVE2信号通

路相关基因表达相关性。结果显示,WAVE2基因表达水平与CTTN( $r=0.454, P=1.26e-24$ )、

HDAC4 ( $r=0.54$ ,  $P=5.43e-36$ )、CYFIP1 ( $r=0.39$ ,  $P=4.24e-18$ )、CDC42 ( $r=0.443$ ,  $P=2.12e-23$ )、PDGFB ( $r=0.316$ ,  $P=4.25e-12$ )、PRKACA ( $r=0.363$ ,  $P=1.05e-15$ ) 等下游分子均呈明显正相

关 (图 6)。进一步提示 WAVE2 信号通路激活在 CLM 过程中起重要作用, 可能参与 RHGP 与血管选定形成。

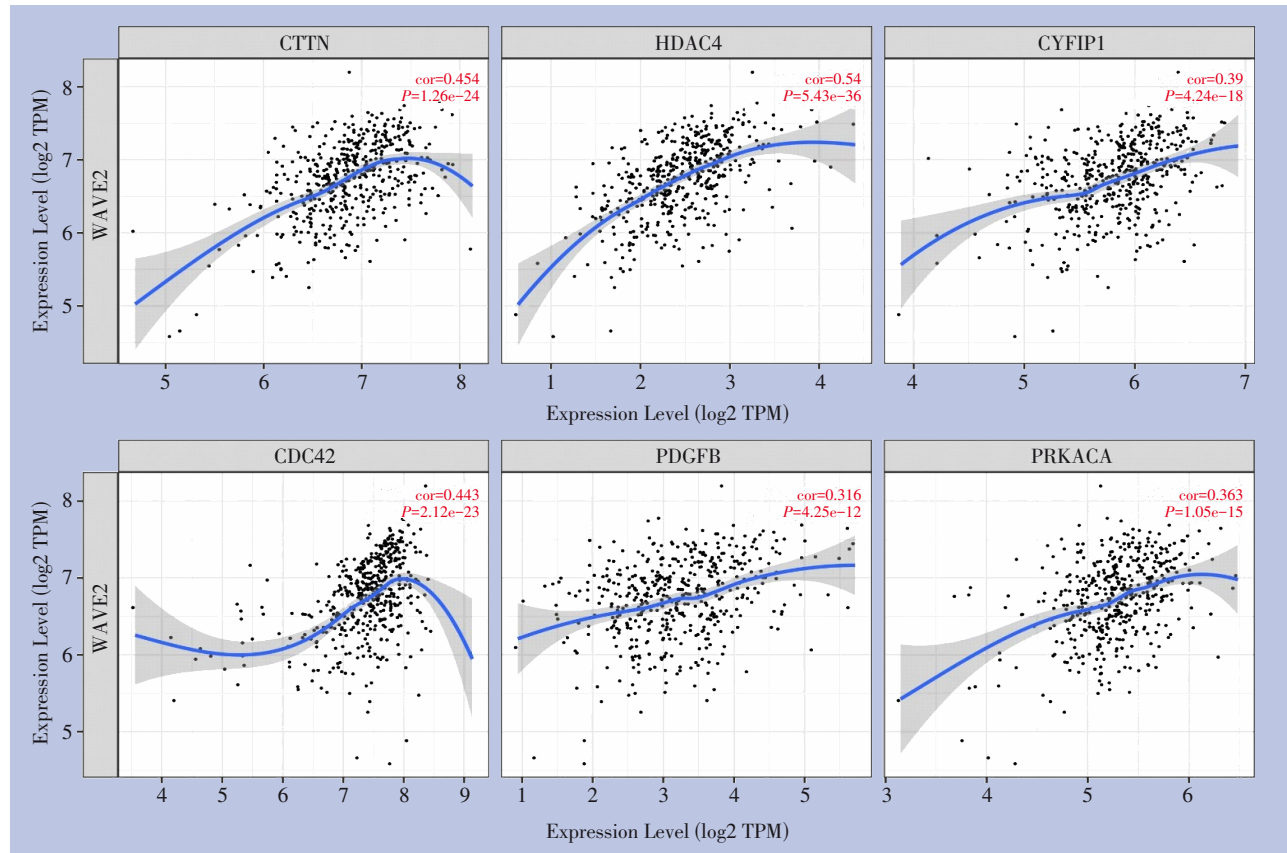


图 6 结肠癌中 WAVE2 信号传导分子相关性分析

Figure 6 Correlation analysis of WAVE2 and signaling pathway molecules in colorectal cancer

### 3 讨论

通过对特定生物标志物检测, 筛选分类患者, 对 CLM 的病理特征和分子机制深入研究, 有助于为患者制定最佳的治疗策略。2017 年颁布的肝转移 HGP 模式评分国际共识指南<sup>[4]</sup>提供了简单易行的预测指标判断肝转移瘤的肿瘤生物学行为并指导治疗。HGP 在可切除的 CLM 的苏木精和伊红染色切片上进行评估, 是一种可靠的、可重复的和强有力的预后生物标志物。评估 CLM 的 HGP 对预测预后具有重要意义<sup>[4]</sup>。本研究中, 在 103 例行手术切除的 CLM 患者中观察到 58 例 DHGP 和 45 例 RHGP, 证实了 DHGP 和 RHGP 为中国患者肝转移瘤的主要生长模式。同时, 笔者通过分析生长模式与临床

病理特征的相关性, 发现与肝转移瘤发生时间和淋巴结转移相关。考虑到术前化疗诱导改变 CLM 的 HGP 的组织病理学变化, 化疗与促纤维增生性 HGP 的增加独立相关<sup>[15]</sup>, 由于本研究纳入的术前化疗患者仅 15 例, 本研究未能观察到化疗与 HGP 的相关性。这一结果提示, DHGP 和 RHGP 可能具有不同的肿瘤生物学行为及作用机制。

众所周知, 血管生成在 CLM 发生发展中至关重要。尽管诱导新生血管生成的能力长期以来一直被认为是这一目的所必需的。但迄今为止, 抗血管生成疗法在患者中仅显示出部分有效的疗效。血管选定这一以往被忽视的新的血管化机制, 因其在抗血管生成疗法抗性中的作用以及在肿瘤休眠和侵袭期间癌细胞的血管周围定位和迁移模式



的报道,受到了新的关注<sup>[16]</sup>。新近研究<sup>[17]</sup>表明,肿瘤细胞可以通过增强迁移运动能力,劫持周围非恶性组织的已经存在的血管形成血管选定,而非新生成血管,促进转移和影响治疗反应。本研究在 103 例 CLM 交界组织中观察到微血管密度与 HGP 显著相关,提示 RHGP 和 DHGP 存在血管选定差异。DHGP 通过血管生成机制,对抗血管生成药物有反应,与之不同的是,RHGP 则通过血管选定机制,并且对抗血管生成药物治疗不敏感。这表明血管选定可能是对抗血管生成疗法重要耐药机制之一。

DHGP 与增加的血管生成能力和细胞毒性 T 细胞的浸润增加有关,而 RHGP 主要通过联合预先存在的肝窦血管来建立血管化<sup>[18]</sup>。此外,在这些肿瘤中观察到免疫细胞浸润减少和癌症运动性增加。当癌细胞窃取血管时可增加它们移动的能力,从而表明,靶向癌细胞的运动,可以用来阻止血管选定。因此,探索这些血管选定的潜在机制,不仅可以拓宽对肿瘤的认识血管生成,也为更好地控制癌症生长和转移提供了新的治疗靶点。为了探讨其可能机制,笔者关注到 WAVE2 这一调控细胞迁移运动的潜在关键分子。WAVE2 已被充分证明与包括结肠癌在内的多种人类癌症的发病机制有关<sup>[19]</sup>。本研究观察到 WAVE2 表达在 DHGP 和 RHGP 中的存在显著性差异。生物信息学分析提示 WAVE2 表达和结肠癌中肿瘤浸润免疫细胞关联。WAVE2 激活 CTTN、HDAC4、CYFIP1、CDC42、PDGFB、PRKACA 等下游分子,WAVE2 基因表达水平与其均呈显著性正相关。WAVE2 已被证明在小 GTPase 和肌动蛋白细胞骨架之间形成关键联系。通过激活 Arp2/3 复合物,已被证明在 CRC 细胞侵袭和转移中起关键作用<sup>[9]</sup>。此外,TGF- $\beta$ 1 介导 WAVE2 上调 HSC 活化,并在体外和体内促进 a-HSCs 转移,表明存在涉及 WAVE2 和 YAP1 驱动 CLM 的关键信号通路<sup>[10]</sup>。WAVE2 还可以通过抑制 mTOR 的激活,维持 T 细胞的平衡,参与调节免疫微环境<sup>[13]</sup>。本研究进一步证实 WAVE2 调控细胞迁移运动和参与肿瘤免疫微环境,并且 WAVE2 的高表达促进 RHGP 形成。

综上所述,WAVE2 在 CLM 中赋予血管选定和

HGP 模式的机制途径,需要进一步的研究来确定参与这种机制的其他分子。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

#### 参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, 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):209-249. doi: 10.3322/caac.21660.
- [2] Brodt P. Role of the Microenvironment in Liver Metastasis: From Pre- to Prometastatic Niches[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(24): 5971-5982. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0460.
- [3] Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, et al. Colorectal cancer[J]. *Lancet*, 2019, 394(10207): 1467-1480. doi: 10.1016/S0140-6736(19)32319-0.
- [4] Dam PJV, van der Stok EP, Teuwen LA, et al. International consensus guidelines for scoring the histopathological growth patterns of liver metastasis[J]. *Br J Cancer*, 2017, 117(10): 1427-1441. doi: 10.1038/bjc.2017.334.
- [5] Höppener DJ, Galjart B, Nierop PMH, et al. Histopathological growth patterns and survival after resection of colorectal liver metastasis: an external validation study[J]. *JNCI Cancer Spectr*, 2021, 5(3):pkab026. doi: 10.1093/jncics/pkab026.
- [6] Nierop PMH, Höppener DJ, van der Stok EP, et al. Histopathological growth patterns and positive margins after resection of colorectal liver metastases[J]. *HPB*, 2020, 22(6): 911-919. doi: 10.1016/j.hpb.2019.10.015.
- [7] Frentzas S, Simoneau E, Bridgeman VL, et al. Vessel co-option mediates resistance to anti-angiogenic therapy in liver metastases[J]. *Nat Med*, 2016, 22(11): 1294-1302. doi: 10.1038/nm.4197.
- [8] Rada M, Kapelanski-Lamoureux A, Petrillo S, et al. Runt related transcription factor-1 plays a central role in vessel co-option of colorectal cancer liver metastases[J]. *Commun Biol*, 2021, 4(1): 950. doi: 10.1038/s42003-021-02481-8.
- [9] Iwaya K, Oikawa K, Semba S, et al. Correlation between liver metastasis of the colocalization of actin-related protein 2 and 3 complex and WAVE2 in colorectal carcinoma[J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(7):992-999. doi: 10.1111/j.1349-7006.2007.00488.x.
- [10] Tan FB, He DR, Hu K, et al. WAVE2 enhanced hepatic stellate cells activity in colorectal liver metastases[J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12:7671-7680. doi: 10.2147/CMAR.S259125.
- [11] Li TW, Fu JX, Zeng ZX, et al. TIMER2.0 for analysis of tumor-infiltrating immune cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(W1):

- W509-514. doi: 10.1093/nar/gkaa407.
- [12] Yamazaki D, Suetsugu S, Miki H, et al. WAVE2 is required for directed cell migration and cardiovascular development[J]. Nature, 2003, 424(6947):452-456. doi: 10.1038/nature01770.
- [13] Liu M, Zhang JY, Pinder BD, et al. WAVE2 suppresses mTOR activation to maintain T cell homeostasis and prevent autoimmunity[J]. Science, 2021, 371(6536):eaaz4544. doi: 10.1126/science.aaz4544.
- [14] van den Eynden GG, Bird NC, Majeed AW, et al. The histological growth pattern of colorectal cancer liver metastases has prognostic value[J]. Clin Exp Metastasis, 2012, 29(6):541-549. doi: 10.1007/s10585-012-9469-1.
- [15] Nierop PM, Höppener DJ, Buisman FE, et al. Preoperative systemic chemotherapy alters the histopathological growth patterns of colorectal liver metastases[J]. J Pathol Clin Res, 2022, 8(1):48-64. doi: 10.1002/cjp2.235.
- [16] Zhang Y, Wang S, Dudley AC. Models and molecular mechanisms of blood vessel co-option by cancer cells[J]. Angiogenesis, 2020, 23(1):17-25. doi: 10.1007/s10456-019-09684-y.
- [17] Kuczynski EA, Vermeulen PB, Pezzella F, et al. Vessel co-option in cancer[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2019, 16(8):469-493. doi: 10.1038/s41571-019-0181-9.
- [18] Höppener DJ, Nierop PMH, Hof J, et al. Enrichment of the tumour immune microenvironment in patients with desmoplastic colorectal liver metastasis[J]. Br J Cancer, 2020, 123(2): 196-206. doi: 10.1038/s41416-020-0881-z.
- [19] Rana PS, Alkrekshi A, Wang W, et al. The role of WAVE2 signaling in cancer[J]. Biomedicine, 2021, 9(9): 1217. doi: 10.3390/biomedicine9091217.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式:裴雷, 谭风波, 裴谦, 等. WAVE2与替代型结直肠癌肝转移生长模式的相关性研究[J]. 中国普通外科杂志, 2022, 31(11): 1493-1500. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2022.11.011

Cite this article as: Pei L, Tan FB, Pei Q, et al. Correlation of WAVE2 expression with replacement histopathological growth pattern of colorectal liver metastases[J]. Chin J Gen Surg, 2022, 31(11): 1493-1500. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2022.11.011

## 本刊对来稿中统计学处理的有关要求

1. 统计研究设计: 应交代统计研究设计的名称和主要做法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性或横断面调查研究); 实验设计(应交代具体的设计类型, 如自身配对设计、成组设计、交叉设计、正交设计等); 临床试验设计(应交代属于第几期临床试验, 采用了何种盲法措施等)。主要做法应围绕4个基本原则(随机、对照、重复、均衡)概要说明, 尤其要交代如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

2. 资料的表达与描述: 用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料, 用 $M(IQR)$ 表达呈偏态分布的定量资料; 用统计表时, 要合理安排纵横标目, 并将数据的含义表达清楚; 用统计图时, 所用统计图的类型应与资料性质相匹配, 并使数轴上刻度值的标法符合数学原则; 用相对数时, 分母不宜小于20, 要注意区分百分率与百分比。

3. 统计分析方法的选择: 对于定量资料, 应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的, 选用合适的统计分析方法, 不应盲目套用 $t$ 检验和单因素方差分析; 对于定性资料, 应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备条件以分析目的, 选用合适的统计分析方法, 不应盲目套用 $\chi^2$ 检验。对于回归分析, 应结合专业知识和散布图, 选用合适的回归类型, 不应盲目套用简单直线回归分析, 对具有重复实验数据的回归分析资料, 不应简单化处理; 对于多因素、多指标资料, 要在一元分析的基础上, 尽可能运用多元统计分析方法, 以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系进行全面、合理地解释和评价。

4. 统计结果的解释和表达: 当 $P < 0.05$  (或 $P < 0.01$ )时, 应说明对比组之间的差异有统计学意义, 而不应说对比组之间具有显著性(或非常显著性)的差别; 应写明所用统计分析方法的具体名称(如: 成组设计资料的 $t$ 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 $q$ 检验等), 统计量的具体值(如 $t=3.45$ ,  $\chi^2=4.68$ ,  $F=6.79$ 等)应尽可能给出具体的 $P$ 值(如 $P=0.0238$ ); 当涉及到总体参数(如总体均数、总体率等)时, 在给出显著性检验结果的同时, 再给出95%置信区间。

中国普通外科杂志编辑部