·论著·

PPIB 成为新型下一代测序技术在食管癌中应用的可行性研究*

杨苗苗[1,2]　孙建[2]　陆辉[1]　沈建江[1]　周军[3]　严枫[1]

(1. 南京医科大学附属肿瘤医院·江苏省肿瘤医院·江苏省肿瘤防治研究所检验科，江苏 南京 210009；
2. 宿迁市第一人民医院医学检验科，江苏 宿迁 223800；3. 南京医科大学第一附属医院检验学部，江苏 南京 210009)

【摘要】 目的 探讨肽基脯氨酰顺反异构酶 B(PPIB)在食管癌中的表达水平及其与肿瘤侵袭转移的关系，明确 PPIB 对食管癌细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响，并通过机制研究分析其成为下一代测序技术(NGS)应用于食管癌的潜在可行性。**方法** 利用癌症基因组图谱(TCGA)数据库分析 PPIB 在食管癌组织中的表达，并收集食管癌临床手术标本，通过免疫组织化学检测 PPIB 蛋白表达水平，评估其与临床病理参数(尤其是淋巴结转移)的相关性。选取食管癌细胞系，在高表达 PPIB 的细胞中采用 shRNA 敲低 PPIB。通过 MTT 法评估 PPIB 基因沉默对细胞增殖的影响，采用 Transwell小室检测细胞迁移和侵袭能力的变化，并用 Western blot 验证 PPIB 表达的改变及相关蛋白水平。建立皮下移植瘤模型评价体内肿瘤生长情况，并进行 H&E 染色及上皮-间质转化相关标志物(E-cadherin、Vimentin)的免疫组化分析。数据采用 t 检验或方差分析进行统计学处理。**结果** TCGA 数据库分析显示，PPIB 在食管癌组织中的 mRNA 表达显著高于正常食管组织($P<0.01$)。免疫组织化学结果进一步证实，PPIB 在食管癌癌组织中的阳性表达率明显高于配对癌旁组织($P<0.05$)。临床相关性分析发现，PPIB 高表达与食管癌患者淋巴结转移密切相关：有淋巴结转移患者的肿瘤中 PPIB 高表达比例显著高于无转移患者($P<0.05$)。在细胞实验中，成功构建了 PPIB 敲低的食管癌细胞株。增殖实验显示，与对照组相比，PPIB 敲低后细胞增殖速率明显下降 $P<0.05$)。Transwell 迁移与侵袭实验结果表明，下调 PPIB 显著抑制食管癌细胞的迁移和侵袭能力。体内实验显示，PPIB 敲低减缓移植瘤生长、降低终末瘤量，并伴随 E-cadherin 表达上调、Vimentin 表达下调的表型变化。**结论** PPIB 在食管癌组织中高表达，与肿瘤的侵袭转移密切相关。体外功能实验及体内实验证实 PPIB 可促进食管癌细胞的增殖和迁移侵袭能力。PPIB 可能通过诱导上皮间质转化(EMT)等机制在食管癌进展中发挥促肿瘤作用，初步显示其作为食管癌新型分子检测标志物和治疗靶点的潜在价值。

【关键词】 食管癌；PPIB；增殖；迁移；侵袭；上皮-间质转化

【中图分类号】 R735.1　**【文献标志码】** A　**DOI**：10.3969/j.issn.1672-3511.2026.09.004

Assessing PPIB as a novel biomarker for next-generation sequencing-based applications in esophageal carcinoma

YANG Miaomiao[1,2], SUN Jian[2], LU Hui[1], SHEN Jianjiangi[1], ZHOU Jun[3], YAN Feng[1]

(1. *Department of Clinical Laboratory, The Affiliated Cancer Hospital of Nanjing Medical University, Jiangsu Cancer Hospital, Jiangsu Institute of Cancer Research, Nanjing* 210009, *China*;
2. *Department of Clinical Laboratory, Suqian First Hospital, Suqian* 223800, *Jiangsu, China*;
3. *Department of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing* 210009, *China*)

【Abstract】 Objective To investigate the expression level of peptidyl-prolyl isomerase B (PPIB) in esophageal cancer and its relationship with tumor invasion and metastasis, determine the effects of PPIB on the proliferation, migration, and invasion abilities of esophageal cancer cells, and through mechanistic studies analyze its potential feasibility as a novel next-generation sequencing (NGS) technology for application in esophageal cancer. **Methods** The expression of PPIB in esophageal cancer tissues was analyzed using The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. Clinical surgical specimens

基金项目：江苏省前沿技术研发计划项目(BF2024055)

通信作者：严枫，研究员，博士研究生导师，E-mail：yangfeng@jszlyy.com.cn

引用本文：杨苗苗，孙建，陆辉，等. PPIB 成为新型下一代测序技术在食管癌中应用的可行性研究[J]. 西部医学，2026，38(9)：1270-1276. DOI：10.3969/j.issn.1672-3511.2026.09.004

were collected, and the protein expression level of PPIB was detected by immunohistochemistry to assess its correlation with clinicopathological parameters, particularly lymph node metastasis. Esophageal cancer cell lines with high PPIB expression were selected, and PPIB was knocked down using shRNA. The effect of PPIB silencing on cell proliferation was evaluated by the MTT assay. Changes in cell migration and invasion abilities were examined using Transwell chamber assay, and alterations in PPIB expression and related protein levels were verified by Western blot. A subcutaneous xenograft tumor model was established to evaluate in vivo tumor growth. Hematoxylin and eosin (H&E) staining and immunohistochemical analysis of epithelial-mesenchymal transition-related markers (E-cadherin and Vimentin) were conducted. Data were statistically analyzed using t-tests or analysis of variance (ANOVA). **Results** Analysis of the TCGA database revealed that the mRNA expression of PPIB in esophageal cancer tissues was significantly higher than that in normal esophageal tissues ($P<0.01$). Immunohistochemical results further confirmed that the positive expression rate of PPIB in esophageal cancer tissues was significantly higher than that in paired adjacent normal tissues ($P<0.05$). Clinical correlation analysis indicated that high PPIB expression was closely associated with lymph node metastasis in esophageal cancer patients: the proportion of PPIB high expression was significantly higher in patients with lymph node metastasis than in those without metastasis ($P<0.05$). In cell experiments, PPIB-knockdown esophageal cancer cell lines were successfully constructed. MTT assays revealed that compared with the control group, the proliferation rate of cells was significantly decreased after PPIB knockdown ($P<0.05$). Transwell migration and invasion assays showed that silencing PPIB markedly suppressed the migratory and invasive capacities of esophageal cancer cells. In vivo experiments showed that PPIB knockdown slowed tumor growth, reduced final tumor weight, and was accompanied by phenotypic changes including upregulation of E-cadherin and downregulation of Vimentin. **Conclusion** PPIB is highly expressed in esophageal cancer tissues and is closely associated with tumor invasion and metastasis. Both in vitro functional experiments and in vivo studies confirm that PPIB promotes the proliferation, migration, and invasion of esophageal cancer cells. PPIB may exert a tumor-promoting role in esophageal cancer progression through mechanisms such as inducing epithelial-mesenchymal transition (EMT), preliminarily indicating its potential value as a novel molecular detection biomarker and therapeutic target for esophageal cancer.

【Key words】 Esophageal cancer; PPIB; Proliferation; Migration; Invasion; EMT

肽酰脯氨酰顺反异构酶 B(Peptidyl-prolyl isomerase B, PPIB)三维结构特征是一个高度保守的桶状结构,中心形成一个疏水裂隙,这个裂隙正是其催化活性位点以及与其最著名的配体——免疫抑制药物环孢素 A 的结合位点[1]。基于这一结构,PPIB 的核心生化功能是发挥其肽酰脯氨酰顺反异构酶活性,特异性催化蛋白质中脯氨酸亚氨基肽键的顺式与反式构象转换,这一过程是许多蛋白质在体内实现正确折叠和功能成熟的限速步骤,因此 PPIB 扮演着至关重要的分子伴侣角色[2-3]。除了这一基本功能,PPIB 作为内质网腔中的驻留蛋白,是胶原蛋白生物合成复合体的关键组分,它直接协助新合成的胶原链进行折叠和三螺旋结构的组装,从而在维持细胞外基质稳态中发挥核心作用[4]。此外,PPIB 还能被分泌到细胞外,通过与细胞表面受体如 CD147 的相互作用,调控细胞信号转导、促进炎症反应,并在多种病理状态如肿瘤进展相关[4-5]。已有研究表明,PPIB 在多种肿瘤中高表达,并与肿瘤进展和化疗抗性密切相关[6-7]。在非小细胞肺癌等癌症中,PPIB 的过表达促进了肿瘤细胞的增殖、克隆形成和迁移能力[8]。临床分析也发现,高水平的 PPIB 与患者淋巴结转移、晚期分期和较差的生存率显著相关[9]。研究背景提示 PPIB 在食管癌中呈上调表达,因此推测 PPIB 可能通过促进癌细胞增殖、迁移侵袭并抑制凋亡,在食管癌的发生发展中发挥促肿瘤作用。鉴于此,本研究旨在全面验证 PPIB 在食管癌组织及细胞系中的表达水平;阐明 PPIB 对食管癌细胞增殖、细胞周期进程、凋亡以及迁移和侵袭能力的影响;通过体内外实验明确 PPIB 对肿瘤生长的作用;评估 PPIB 作为食管癌诊断或治疗靶点的潜力。通过系统的实验研究,期望揭示 PPIB 在食管癌中的功能作用及机制,为食管癌的分子诊断和靶向治疗提供新的思路和依据。

1 材料与方法

1.1 PPIB 在食管癌组织及细胞系中的表达验证

利用 TCGA 食管癌(Esophageal carcinoma, ESCA)数据集分析 PPIB 的 mRNA 表达差异[10],比较食管癌肿瘤组织与正常食管组织中 PPIB 转录水平,统计分析其上调幅度及显著性。收集食管鳞状细胞癌(Esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)或腺癌(Esopha geal ade nocarcinoma, EAC)患者的肿瘤组织及配对的邻近正常组织,提取总 RNA 和蛋白,分别用于 qRT-PCR 和 Western Blot 检测。采用 HiScript® II Q RT SuperMix for qRT-PCR (+gDNA wiper)试剂盒将提取的总 RNA 反转录为 cDNA,随后

使用 HiScript® II Q RT SuperMix 预混液，在 Bio-Rad C1000 Touch Thermal Cycler(美国伯乐公司)荧光定量 PCR 系统上进行扩增反应。实验以 GAPDH 作为内参基因，采用比较 Ct 法($2^{-\Delta\Delta Ct}$)计算 PPIB mRNA 的相对表达量。PPIB 的特异性扩增引物序列为：正向 5′-AACGGCTCCCAGTTCTTCATCAC-3′，反向 5′-GGCTGTCTGTCTTGGTGCTCTC-3′。细胞裂解后提取蛋白，经 SDS-PAGE 电泳分离并转印至 PVDF 膜，随后使用特异性抗 PPIB 一抗及对应的辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗进行孵育，以 β-Actin作为内参蛋白进行标准化。

1.2　PPIB 对食管癌细胞体外功能的影响

1.2.1　食管癌细胞系选取　选取常用的人食管癌细胞系(如 EC109、KYSE150、TE-1 等)以及正常食管上皮细胞(如 HEEC)作为对照。提取各细胞系 RNA 和蛋白，用 qRT-PCR 和 Western Blot 检测 PPIB 的基础表达。筛选出 PPIB 高表达的细胞系用于后续功能实验。

1.2.2　PPIB 过表达细胞系构建　为获得稳定过表达 PPIB 的细胞模型，我们构建了携带人源 PPIB 全长编码序列的慢病毒过表达载体，并使用该病毒感染目标食管癌细胞系。通过嘌呤霉素筛选获得稳定转导的细胞株，记作 OE 组。同时，以仅携带空载慢病毒的转染细胞作为阴性对照(Vector 组)。通过 qRT-PCR 和 Western Blot 分别在 mRNA 和蛋白水平验证 PPIB 的过表达效率。

1.2.3　PPIB 敲低细胞系构建　为抑制 PPIB 的内源性表达，我们设计并构建了靶向 PPIB 特异性序列的短发夹 RNA(shRNA)慢病毒敲低载体。将病毒液感染食管癌细胞系后，经嘌呤霉素筛选建立稳定敲低细胞株，记作 shPPIB 组，并以感染非靶向乱序 shRNA 载体的细胞作为对照(shNC 组)。采用 qRT-PCR 和 Western Blot 验证 PPIB 在 shPPIB 组细胞中的表达被有效下调。

1.2.4　细胞增殖活力检测(MTT 法)　为评估 PPIB 对细胞增殖的影响，将阴性对照组(sh-NC 组)、shPPIB 组及 Untreated 组细胞以每孔约 3×10^3 个细胞的密度接种于 96 孔板，在培养的第 0、24、48 和 72 h，分别向各孔加入 MTT 溶液(终浓度 0.5 mg/mL)，并于 37 ℃孵育 4 h。随后，吸弃上清，加入二甲基亚砜(DMSO)溶解生成的甲瓒结晶。利用酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔的光密度值。实验独立重复至少 3 次，并以时间为横轴、光密度平均值为纵轴绘制细胞生长曲线。

1.2.5　细胞迁移实验(划痕愈合实验)　采用划痕愈合实验评估细胞迁移能力。在 6 孔板中培养细胞至完全汇合，使用 200 μL 无菌移液器枪头在单层细胞上垂直划出均匀“伤口”。用 PBS 轻柔漂洗去除脱落的细胞后，更换为含 1%胎牛血清的低血清培养基继续培养。于划痕后 0 h 及 24 h，在倒置显微镜下固定位置拍照记录。使用 ImageJ 软件定量分析划痕面积的相对闭合率，以此评估细胞迁移速度。

1.2.6　细胞侵袭能力实验(Transwell 实验)　使用 Transwell 小室(孔径 8 μm)进行细胞迁移与侵袭实验评估。对于侵袭实验，小室上室膜预先包被稀释的 Matrigel 基质胶以模拟基底膜屏障；迁移实验则不进行包被处理。收集对数生长期的对照组及 PPIB 操作组细胞，重悬于无血清培养基中，以每孔 1×10^5 个细胞的密度接种于上室。下室加入含 10%胎牛血清的完全培养基作为趋化诱导。在 37 ℃、5% CO_2 条件下孵育 24～48 h 后，用棉签拭去上室未穿膜的细胞，将穿过膜并附着于下表面的细胞用 4%多聚甲醛固定，0.1%结晶紫染色。于光学显微镜下随机选取至少五个视野进行拍照并计数穿膜细胞数，实验独立重复 3 次。

1.3　裸鼠体内移植瘤实验　BALB/c-nu 裸鼠(4～6 周龄)由江苏集萃药康生物科技股份有限公司提供。取处于对数生长期的 EC109 细胞，经收集、重悬后调整细胞密度至 1.2×106 个/毫升。每只裸鼠于腋下皮下注射 200 μL 细胞悬液，建立皮下移植瘤模型。根据细胞处理方式的不同，将小鼠随机分为 3 组：Untreated 组、sh-PPIB 组及对照组，每组 8 只。实验结束后，所有小鼠均按照动物伦理准则实施安乐死。于预设时间点测量肿瘤长径与短径，按公式 0.5×长度×宽度^2 计算肿瘤体积；实验终点剥离肿瘤并称重。肿瘤组织经 4%多聚甲醛固定、石蜡包埋及切片后，分别进行 H&E 染色与免疫组织化学(E-cadherin、Vimentin)检测。IHC 染色采用标准二步法，DAB 显色，苏木素复染。定量分析于随机高倍视野下进行，以阳性染色面积或 H-score 表示。

1.4　统计学分析　本研究采用 SPSS 26.0 与 GraphPad Prism 9.0.0 软件进行统计分析及图形绘制。应用 Wald 检验分析食管癌组织中 PPIB 表达水平与临床病理参数之间的相关性。计量结果以[$M(P_{25}, P_{75})$]表示，组间比较采用双侧 t 检验或方差分析(ANOVA)。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　PPIB 在多种肿瘤组织中表达上调　基于 TCGA 数据库，分析了 PPIB 在多种肿瘤及其对应癌旁组织中的表达差异。结果显示，PPIB 在食管癌、乳腺

癌、肾透明细胞癌中的表达水平显著高于正常组织，见图 1A。进一步配对分析显示，PPIB 在肿瘤组织中的表达也显著高于相应的癌旁组织，差异有统计学意义（$P<0.001$），见图 1B。

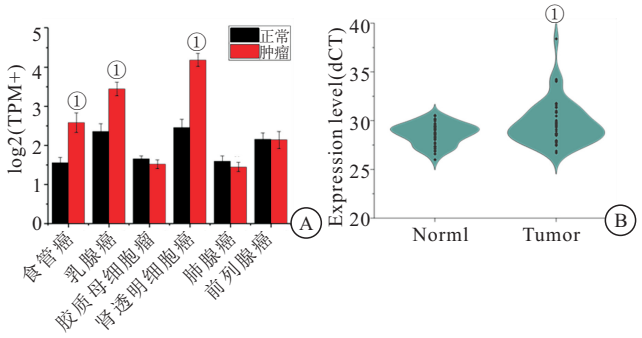

图 1　TCGA 数据库分析揭示 PPIB 在多种癌症中的差异表达

Figure 1　TCGA database analysis reveals differential expression of PPIB in multiple cancers

注：A. 多癌种表达谱对比显示，PPIB 在食管癌、乳腺癌、肾透明细胞癌的组织中表达显著高于对应正常组织；B. 食管癌（TCGA-ESCA 队列）肿瘤组织与正常/癌旁组织的差异表达分析结果进一步证实 PPIB 在食管癌中特异性高表达。与正常组织比较，①$P<0.001$。

2.2　PPIB 在食管癌临床样本及细胞系中的表达特征　为了进一步验证 PPIB 在食管癌中的表达情况，我们对 92 例临床样本进行了分析。58/92 个肿瘤样本为 PPIB 阳性（63.0%），显著高于癌旁组织的 24/92（26.1%），差异有统计学意义（$P<0.01$）。这表明 PPIB 在肿瘤组织中普遍更高表达，支持其与肿瘤发生相关的可能性。本研究进一步分析了 PPIB 与肿瘤发展进程的关系。使用卡方检验评估 PPIB 阳性率与各临床病理因素（年龄、性别、TNM 分期、淋巴结转移）的关联。结果所示，年龄、性别均未达显著差异（$P>0.05$），而“TNM 分期以及有无淋巴结转移”与 PPIB 阳性显著相关（分期：$Z=-4.575$，$P<0.001$；淋巴结转移：$Z=-3.773$，$P<0.001$），提示 PPIB 高表达与肿瘤侵袭及转移进程密切相关，见表 1。本研究同时还检测了不同食管癌细胞系中 PPIB 的表达水平。挑选 5 种不同食管癌细胞系，分别提取细胞的 RNA 及总蛋白，利用实时定量 PCR（qPCR）和蛋白印迹实验（Western Blot）方法检测这 5 种食管癌细胞系中 PPIB 的 mRNA 和蛋白表达水平。结果所示，5 种细胞系均呈现较高的 PPIB 表达，其中在 EC109 细胞中表达水平最高，在 OE19 细胞中表达量相对较低，见图 2。

2.3　PPIB 对食管癌细胞增殖能力的影响　为明确 PPIB 在食管癌中的功能作用，本研究进一步探究了其对肿瘤细胞恶性表型的调控。通过设计三个细胞组别，分别是Untreated组，为未处理对照组，该组细胞不进行任何外源核酸转染或药物处理，保持天然生长状态；shPPIB 组，*PPIB* 基因敲减实验组，向细胞中转染靶向 *PPIB* 基因的短发夹 RNA（short hairpin RNA，shRNA）载体，shRNA 会在细胞内被加工为 siRNA，特异性结合 PPIB 的 mRNA 并使其降解，从而降低 *PPIB* 基因的转录和蛋白表达水平；以及 sh-NC 组（阴性对照组），该组细胞转染无靶向性的阴性对照 shRNA。qRT-PCR 结果显示，这三组细胞被成功构建（图 3A）。MTT 法检测三组细胞增殖能力，结果显示，在 KYSE-150 细胞中敲低 PPIB 可显著抑制细胞增殖。在多个检测时间点，sh-PPIB 组的吸光度均低于未处理组及 sh-NC 对照组（图 3B）。以 72 h 为例，未处理组、sh-NC 组和 sh-PPIB 组的 OD 值分别为（1.11±0.21）、（1.02±0.22）和（0.35±0.05），sh-PPIB 组与两对照组相比均表现出显著的增殖抑制（$P<0.05$）。以上结果提示，PPIB 高表达可能促进食管癌细胞周期进程与增殖，而抑制其表达则显著削弱细胞的增殖能力。

表 1　PPIB 的表达与临床病理特征之间的关系［$M(P_{25}, P_{75})$］

Table 1　Association between PPIB expression and clinicopathological characteristics

临床病理特征	总数	PPIB 表达情况	Z	P
年龄（岁）			−1.423	0.155
<65	19	5.48(4.58,7.54)		
≥65	73	6.97(4.15,20.04)		
性别			−0.082	0.934
男	70	6.70(4.65,18.25)		
女	22	8.47(3.83,22.59)		
TNM 分期			−4.575	<0.001
Ⅰ～Ⅱ期	24	3.65(2.40,5.53)		
Ⅲ～Ⅳ期	68	7.40(4,89.21.80)		
淋巴结转移			−3.773	<0.001
有	62	9.67(5.29,26.52)		
无	30	5.24(3.30,8.93)		

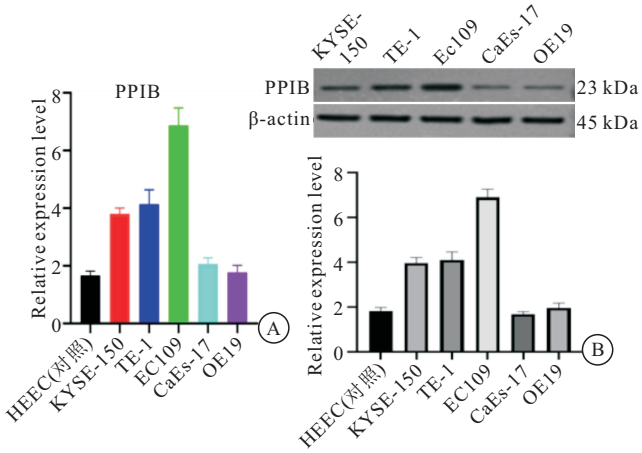

图 2　PPIB 在食管癌细胞系中的表达情况

Figure 2　Expression of PPIB in esophageal cancer cell lines

注：A. 多种食管癌细胞系中 PPIB mRNA 的 qRT-PCR 检测（相对表达量以内参归一化）；B. 多种食管癌细胞系中 PPIB 蛋白的 Western blot 检测（以内参蛋白校正）；条带强度与转录水平趋势一致。

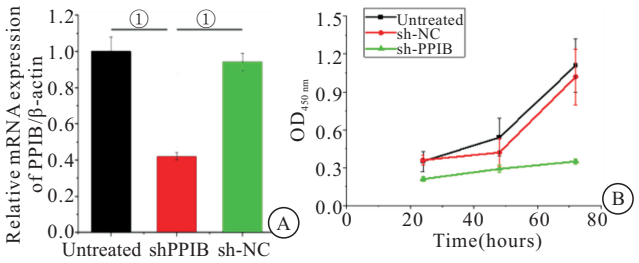

图 3　PPIB 对食管癌细胞增殖的影响

Figure 3　Effect of PPIB on the proliferation of esophageal cancer cells

注：A. 三个组别间 PPIB 的差异表达；B. MTT 曲线显示，PPIB 敲低组在各时间点 OD 值降低，提示增殖受抑制。两组比较，①$P<0.001$。

2.4　PPIB 对食管癌细胞迁移与侵袭能力的影响　在划痕愈合实验中，sh-PPIB 组伤口闭合速度显著减缓，24 h 后仍保留较大未闭合面积。Tran-swell 实验同样显示，敲低 PPIB 后穿膜细胞数明显减少。两组实验数据均表明，sh-PPIB 组的迁移与侵袭能力较 sh-NC 对照组显著降低（$P<0.05$），见图 4。上述结果提示，PPIB 高表达可促进食管癌细胞的运动与侵袭能力，而抑制其表达则可有效减弱肿瘤细胞的恶性行为。这些结果表明，可能成为食管癌干预的潜在治疗靶点。

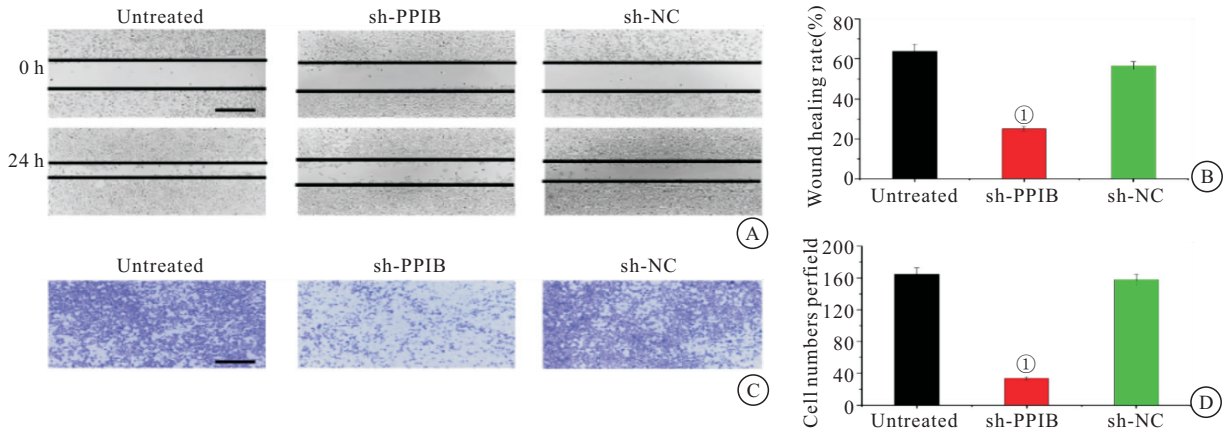

图 4　PPIB 对迁移与侵袭的调控

Figure 4　Regulation of migration and invasion by PPIB

注：A. 划痕愈合实验：敲低 PPIB 显著减慢伤口闭合；B. Transwell 侵袭（Matrigel）实验：敲低 PPIB 显著减少穿膜细胞数。代表性显微图附定量柱状图；比例尺为 50 μm。与 sh-NC 组比较，①$P<0.001$。

2.5　裸鼠移植瘤实验　在裸鼠皮下移植瘤模型中，本研究进一步评估了 PPIB 对食管癌体内生长的影响。结果显示，sh-PPIB 组与对照组相比，肿瘤生长趋势出现显著差异。自接种后第 8 天起，sh-PPIB 组肿瘤体积增长明显减缓，生长曲线显著低于对照组，见图 5A。至实验结束时（第 16 天），sh-PPIB 组的最终肿瘤体积与重量均较对照组显著降低（图 5B，$P<0.05$），见图 5B。为进一步探究其潜在机制，本研究对移植瘤组织进行了免疫组化分析。结果表明，sh-PPIB 组中上皮标志物 E-cadherin 的表达水平明显上调，而间质标志物 Vimentin 的表达则显著下调，见图 5C-D。这种 E-cadherin/Vimentin 表达模式的逆转，提示 PPIB 敲低可能通过抑制上皮-间质转化（Epithelial-mesenchmal transition，EMT）进程来减弱肿瘤的侵袭性，与体外实验中观察到的细胞迁移与侵袭能力下降的表型相一致。这些体内实验数据进一步证实，PPIB 在食管癌进展中发挥重要作用，不仅影响肿瘤生长，还可能通过调控 EMT 相关通路参与肿瘤侵袭转移过程。

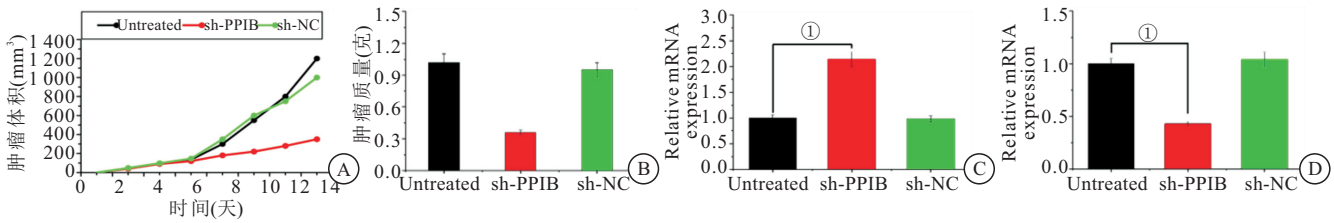

图 5　裸鼠移植瘤模型评估 PPIB 的体内作用

Figure 5　Evaluation of the in vivo function of PPIB using a xenograft tumor model in nude mice

注：A. 肿瘤体积生长曲线；B. 终末肿瘤重量；C. 代表性肿瘤 E-cadherin 表达情况；D. 代表性肿瘤 Vimentin 表达情况。两组比较，①$P<0.05$。

3 讨论

本研究从临床样本、体外功能与体内模型三个层面，系统评估了 PPIB 在食管癌中的表达特征及其对恶性表型的影响。在临床样本层面，对 92 例食管癌患者的分析显示，PPIB 在肿瘤组织中的阳性率显著高于配对癌旁组织，提示其可能与食管癌的发生相关。进一步分析发现，PPIB 高表达与淋巴结转移及 TNM 分期显著相关（$Z=-4.575$，$P<0.001$，$Z=-3.773$，$P<0.001$），提示其可能参与肿瘤转移相关过程。

在细胞水平上，多种食管癌细胞系中均检测到 PPIB 的较高表达，且不同细胞系间存在异质性，这为筛选代表性细胞株用于后续功能验证提供了依据[11]。功能实验结果显示，抑制 PPIB 表达可显著降低食管癌细胞的增殖活性，并抑制其迁移与侵袭能力，表明 PPIB 对细胞的增殖及运动能力具有正向调控作用。关于 PPIB 促进食管癌细胞增殖、迁移及侵袭的潜在机制，目前尚未完全阐明，推测其可能影响细胞表型转换过程：敲低 PPIB 使食管癌细胞维持更多的上皮特性（E-cadherin 上调）、减少间质特性（Vimentin 下调）；而 PPIB 过表达则可能推动上皮细胞向间质表型转化[12-14]。EMT 在肿瘤侵袭转移中发挥关键作用，使上皮来源的肿瘤细胞获得更强的迁移与侵袭能力。已有研究表明，亲环蛋白 B（CypB/PPIB）可能通过调控 EMT 相关转录因子（如 Snail、TWIST 等）影响下游分子，进而增强肿瘤细胞的侵袭能力[15]。例如，在结肠癌研究中，敲低 CypB 可导致 Snail 转录水平下降、E-cadherin 表达上调、细胞迁移侵袭能力减弱，提示 CypB 可能通过 Snail 介导的 EMT 途径促进转移[16]。本研究在食管癌中观察到的现象与此一致，支持 PPIB 通过介导 EMT 增强肿瘤细胞侵袭性的观点。

在体内水平，敲低 PPIB 可显著减缓裸鼠移植瘤的生长（肿瘤体积与重量均降低），并伴随肿瘤组织中上皮-间质标志物的方向性改变（E-cadherin 上调、Vimentin下调），这与“侵袭性降低”的体外表型一致，增强了研究证据的内部一致性与合理性[17]。从生物学可解释性角度，PPIB 作为胞内亲环素家族成员，参与蛋白折叠与分泌等过程。结合本研究中观察到的迁移/侵袭能力下降及 EMT 相关标志物变化（E-cadherin↑/Vimentin↓），提示 PPIB 可能与细胞表型可塑性及细胞骨架/黏附调控相关。然而，免疫组织化学层面的标志物变化仍属于关联性证据，尚不足以单独证明完整的 EMT 程序被逆转。未来可结合转录组学、蛋白组学及功能救援实验（如在敲低背景下回补 PPIB 或下游关键分子），进一步验证因果链条及关键通路节点[18]。根据既往文献线索，STAT3、PI3K/AKT、MAPK/ERK 等信号轴与细胞增殖及迁移密切相关，但本研究尚未系统开展磷酸化信号通路的全面验证，相关机制推断应谨慎表述，留待后续实验进一步确认。

在临床层面，PPIB 高表达与淋巴结转移相关，提示其具备作为分层标志物的潜在价值，可用于辅助识别高转移风险人群，为个体化随访及治疗策略提供参考[19-20]。此外，结合体外与体内功能证据，PPIB 亦具备成为治疗靶点的潜力。但在进入临床转化之前，仍需：①扩大样本量并开展多中心研究，校正混杂因素，验证其独立于现有临床分层因子的附加价值。②采用前瞻性队列或在术后辅助治疗情境中评估其对复发/转移结局的预测效能。③探索其可药性，并积累抑制剂的安全性与有效性证据[21-23]。

本研究围绕 PPIB 生物标志物开展系统性验证，各层面获得的关键表型结论高度一致，显著提升了研究结果的可信度。但还存在一定局限性，包括：①研究样本来源于单中心，样本量相对有限，尚未纳入生存随访数据及独立验证队列。②对“PPIB—下游通路—表型”的因果调控链条尚未进行系统的机制学验证，后续需通过救援实验加以证实。③体内实验中未采用 TUNEL 或 Cleaved-caspase-3 染色等方法对凋亡进行专门检测，因此有关“细胞死亡方式”的讨论目前仅基于体外证据或间接表型指标。

4 结论

本研究明确了 PPIB 在食管癌中异常高表达的临床意义及其对肿瘤增殖、迁移和侵袭的正向调控作用，初步揭示了其与 EMT 进程的关联。通过构建“临床—体外—体内”多层次证据链条，研究为 PPIB 作为食管癌恶性进展的关键调控分子提供了系统性实验依据，充分支持 PPIB 具备作为食管癌转移风险分层标志物及潜在治疗靶点的应用前景。未来需在更大规模、多中心队列中验证其独立预后价值，并结合深入的功能机制研究推动其向临床转化。

【参考文献】

[1] 刘文博，王志远，刘庆伟，等. 胃癌组织中磷脂酰肌醇-3-激酶-蛋白激酶 B 相关基因 CXC 基序受体 4 的表达及功能分析[J]. 中国肿瘤临床与康复，2024，31(1)：30-38.

[2] 李萍，张月晓，符皓，等. LncRNA SNHG3/miR-339-5p/PPIB 轴对结直肠癌细胞恶性生物学行为的影响[J]. 中国老年学杂志，2024，44(16)：4044-4049.

[3] Zong X，Tudi X，Yang Q，*et al*. Cyclophilin B deficiency enhances myocardial energy synthesis and protects against heart failure in preclinical models[J]. BMC Med，2025，24(1)：22.

doi：10.1186/s12916-025-04563-4.

[4] Li W G，Peng J J，Yao D Q，*et al*. The structural basis for the collagen processing by human P3H1/CRTAP/PPIB ternary complex[J]. Nat Commun，2024，15：7844. doi：10.1038/s41467-024-52321-6.

[5] Perez-Stable C，de Las Pozas A，Wangpaichitr M，*et al*. Cyclophilin inhibitor rencofilstat combined with proteasome inhibitor ixazomib increases proteotoxic cell death in advanced prostate cancer cells with minimal effects on non-cancer cells[J]. Biomedicines，2025，13（10）：2442. doi：10.3390/biomedicines13102442. PMID：41153724.

[6] 王厥，欧阳能太. PPIB 蛋白在甲状腺乳头状癌中的表达及与预后的相关性[J]. 岭南现代临床外科，2018，18(1)：27-31.

[7] 金美，巴桑，次仁. Circ_DOCK1 调节 miR-122-5p/PPIB 轴对结直肠癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响[J]. 西部医学，2023，35(9)：1298-1303.

[8] 严玉萍，肖金宝，美力班·吐尔逊，等. 下调 Pin1 通过 Akt/SREBP-1 轴抑制宫颈癌细胞增殖[J]. 山西医科大学学报，2025，56(5)：516-523.

[9] 名毕佳琦. KAZN 基因在肝细胞癌中的作用与机制研究[D]. 桂林：桂林医学院，2024.

[10] Liu S C，Wu J，Xia Q，*et al*. Finding new cancer epigenetic and genetic biomarkers from cell-free DNA by combining SALP-seq and machine learning[J]. Comput Struct Biotechnol J，2020，18：1891-1903.

[11] 乐飞，李健文，冯波，等. PPIB 蛋白对结肠癌成瘤的影响和低氧机制[J]. 外科理论与实践，2015，20(6)：505-509.

[12] Xin W，Zhao C R，Jiang L Y，*et al*. Identification of a novel epithelial-mesenchymal transition gene signature predicting survival in patients with HNSCC[J]. Pathol Oncol Res，2021，27：585192. doi：10.3389/pore.2021.585192. PMID：34257533.

[13] Rui B J，Yang Y F，Geng D B，*et al*. LINC02888 promotes HGSOC progression and immune evasion via PPIB-mediated stabilization of LAPTM5 mRNA and inhibition of RIG-I-like receptor signaling[J]. J Transl Med，2025，23(1)：640. doi：10.1186/s12967-025-06650-9. PMID：40495222.

[14] Wu H T，Xie D W，Yang Y X，*et al*. Ultrasound-targeted microbubble destruction-mediated miR-206 overexpression promotes apoptosis and inhibits metastasis of hepatocellular carcinoma cells via targeting PPIB[J]. Technol Cancer Res Treat，2020，19：1533033820959355. doi：10.1177/1533033820959355. PMID：33111654.

[15] Wu J W，Zhang W T，Xia L，*et al*. Characterization of PPIB interaction in the P3H1 ternary complex and implications for its pathological mutations[J]. Cell Mol Life Sci，2019，76(19)：3899-3914.

[16] Wu S，Liu C，Wei X，*et al*. High expression of fibronectin 1 predicts a poor prognosis in glioblastoma[J]. Curr Med Sci，2022，42(5)：1055-1065.

[17] 李雷，陈军，李贺，等. 姜黄素干预的人结肠癌耐药细胞蛋白质组学分析[J]. 山东医药，2018，58(26)：18-22.

[18] 周典蓉，李薇，高佳佳，等. 建立基于循环肿瘤细胞上的 RNA 原位杂交技术[J]. 世界华人消化杂志，2016，24(9)：1349-1356.

[19] Thankam F G，Agrawal D K. Hypoxia-driven secretion of extracellular matrix proteins in the exosomes reflects the asymptomatic pathology of rotator cuff tendinopathies[J]. Can J Physiol Pharmacol，2021，99(2)：224-230.

[20] Rush E T，Caldwell K S，Kreikemeier R M，*et al*. Osteogenesis imperfecta caused by PPIB mutation with severe phenotype and congenital hearing loss[J]. J Pediatr Genet，2014，3(1)：29-34.

[21] 朱一林，刘繁荣，刘雷，等. 六价铬的慢性暴露可通过激活 Notch 信号通路诱导食管肿瘤发生(英文)[J]. Journal of Zhejiang University-Science B（Biomedicine & Biotechnology），2025，26(1)：76-107.

[22] Cai J Y，Qiao Y J，Chen L B，*et al*. Regulation of the Notch signaling pathway by natural products for cancer therapy[J]. J Nutr Biochem，2024，123：109483. doi：10.1016/j.jnutbio.2023.109483.

[23] 欧小田，陈巧玲，彭晓琴，等. 食管癌新辅助免疫治疗的进展及挑战[J]. 西部医学，2025，37(6)：932-936.

（收稿日期：2015-12-11；修回日期：2026-04-16；编辑：张翰林）