

· 论 著 ·

肺癌组织中 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII mRNA 的表达及其与转移的关系沈 庆¹, 李 华¹, 兰四友², 蒋幼凡², 熊 刚³(1. 重庆市第三人民医院呼吸内科 400014; 2. 重庆医科大学第二附属医院呼吸内科 400010;
3. 第三军医大学西南医院心胸外科, 重庆 400038)

摘要:目的 探讨 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因 mRNA 在肺癌组织、癌旁正常肺组织中的表达及其与临床病理因素的关系。方法 应用逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)法检测 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因 mRNA 在 92 例肺癌组织、20 例癌旁正常肺组织中的表达。结果 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因 mRNA 在肺癌组织中表达量为(0.67±0.15),在癌旁正常肺组织表达量为(0.45±0.11),差异有统计学意义($P<0.05$)。其中在腺癌组织(0.79±0.19)中表达最强,小细胞肺癌组织(0.68±0.17)中表达次之,鳞癌组织(0.51±0.12)中表达最弱,差异有统计学意义($P<0.05$)。 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因 mRNA 表达与 TNM 分期、分化程度、淋巴结转移、组织学类型有关,与年龄、性别无关($P>0.05$)。结论 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因 mRNA 表达可能与肺癌的发生及转移相关。

关键词:肺癌; $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因

中图分类号:R734.1

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)11-1380-02

Expression of the $\alpha_{1,3}$ FUCT VII mRNA in lung cancer was detected and correlated to metastasisSHEN Qing¹, LI Hua¹, LAN Si-you², et al.(1. Department of Respiratory Medicine, the Third People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400014, China;
2. Department of Respiratory Medicine, Second Affiliated Hospital, Chongqing
University of Medical Science, Chongqing 400010, China; 3. Department of Cardiothoracic Surgery,
Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of the $\alpha_{1,3}$ FUCT VII mRNA in tumor tissue of lung cancer and lung tissues around tumor, and to discuss their relationship with clinicopathological factors. **Methods** RT-PCR method were used to detect the expression of the $\alpha_{1,3}$ FUCT VII mRNA in 92 cases of tumor tissue of lung cancer and 20 cases of lung tissues around tumor. **Results**

The level of $\alpha_{1,3}$ FUCT VII mRNA in 92 cases of tumor tissue of lung cancer was significantly higher than that of the expression in 20 cases of lung tissues around tumor(0.67±0.15 vs 0.45±0.11, $P<0.05$). The intensities of $\alpha_{1,3}$ FUCT VII mRNA in lung adenocarcinoma were highest(0.79±0.19), the second was in small cell lung cancer(0.68±0.17), and the lowest was in lung squamous cell carcinoma(0.51±0.12), The result was statistically significant ($P<0.05$). The expression of the $\alpha_{1,3}$ FUCT VII mRNA was associated with the TNM staging, tumor cell differentiation, the lymph node metastasis and pathological typing, but not with gender and age. **Conclusion** The expression of the $\alpha_{1,3}$ FUCT VII mRNA maybe correlated with occurrence and metastasis of lung cancer.

Key words: lung cancer; $\alpha_{1,3}$ FUCT VII

$\alpha_{1,3}$ FUCT VII 是一种糖链加工酶,能催化岩藻糖基转移到糖蛋白糖链底物,它是产生 Sle^x(又称为唾液酸化的路易斯-X)的重要物质,大量文献报道, Sle^x 在大肠癌、胃癌、膀胱癌等肿瘤组织中呈明显增强表达^[1-3],并与肿瘤的发生、发展、侵袭、转移和预后密切相关。但 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 与肿瘤转移的关系尚不十分清楚。本研究应用 RT-PCR 法检测 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因 mRNA 在肺癌组织、癌旁正常肺组织中的表达,探讨 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因 mRNA 的表达与临床病理因素的关系,以及其在肺癌发展过程中可能的作用。

1 材料与方

1.1 标本 收集本院及协作单位 2008 年 6 月至 2009 年 6 月期间手术切除肺癌新鲜标本 92 例(男 52 例,女 40 例),患者平均年龄(54±17)岁。其中腺癌 36 例,鳞癌 30 例,小细胞癌 26 例。癌旁正常肺组织选择远离癌组织(>5 cm)的正常支气管黏膜和肺组织 20 例作为对照观察。所有标本投入液氮速冻之后,3 h 内转移至-80℃低温冰箱冻存。

1.2 试剂 Rever Tre Ace-a 逆转录试剂盒购自 TOYOBO 公司,PCR System 9700 购自 Applied Biosy Stems 公司,PCR Mix Taq 购自天跟公司。

1.3 RT-PCR 法 取标本 20~100 mg,以 TRNzol 试剂提取

总 RNA。将 2 μ g RNA 置于 10 μ L 逆转录反应体系中逆转录为 cDNA,再行 PCR 扩增。根据已知 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因序列,由上海生物技术有限公司合成引物,上游:5'-CCC CGC AGC CAA GTC TAT GA-3',下游:5'-CCA CCC CTG CTT CCT GAC CT -3'(181 bp)。GAPDH(内参照)引物上游:5'-TG GGG TGA TGC TGG TGC TGA GT-3',下游:5'-AG GTT TCT CCA GGC GGC ATG TC-3'(500 bp)。PCR 反应条件:94℃预变性 10 min;94℃变性 45 s,63℃退火 1 min,72℃延伸 1 min。35 个循环;72℃终延伸 10 min。扩增产物 10 g/L TBE 琼脂糖凝胶电泳。溴化乙锭显影,凝胶成像系统(UVITec 公司)成像。Image-Pro Plus6.0 软件行半定量分析。目的基因的相对表达量以目的条带积分光密度(IOD)值与内参照条带 IOD 值的比值表示。

1.4 统计学方法 采用 SPSS12.0 统计学软件进行数据处理,所得数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组均数的比较采用 *t* 检验,两组以上均数的比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

$\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因 mRNA 在肺癌组织中的表达(表 1,图 1、2)。 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因 mRNA 在肺癌组织中表达量为

(0.67±0.15),在癌旁正常肺组织表达量为(0.45±0.11),差异有统计学意义($P<0.05$)。其中在腺癌组织(0.79±0.19)中表达最强,小细胞肺癌组织(0.68±0.17)中表达次之,鳞癌组织中表达(0.51±0.12)最弱,差异有统计学意义($P<0.05$)。实验中发现, $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因 mRNA 在鳞癌组织中表达与癌旁正常肺组织表达差异无统计学意义($P>0.05$)。此外, $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因 mRNA 表达与年龄、性别无关($P>0.05$)。与 TNM 分期、分化程度、淋巴结转移、组织学类型有关($P<0.05$)。

表 1 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII mRNA 的表达与肺癌临床和病理学特征的关系

临床病例特征	n	$\alpha_{1,3}$ FUCT VII mRNA	P
年龄(岁)			
<60	58	0.65±0.17	>0.05
≥60	34	0.68±0.14	
性别			
男	52	0.74±0.17	>0.05
女	40	0.70±0.22	
TNM 分期			
I~II	51	0.57±0.19	<0.05
IIIa	41	0.80±0.13	
淋巴结转移			
无	36	0.55±0.19	<0.05
有	56	0.78±0.11	
分化程度			
高分化	30	0.62±0.15	<0.05
低分化	62	0.76±0.27	
病理类型			
癌旁正常肺组织	20	0.45±0.11	
腺癌	36	0.79±0.19*#	
鳞癌	30	0.51±0.12*△	
小细胞癌	26	0.68±0.17*#	

表示各临床病例类型之间相互比较,*: $P<0.05$;与癌旁正常肺组织比较,#: $P<0.05$,△: $P>0.05$ 。

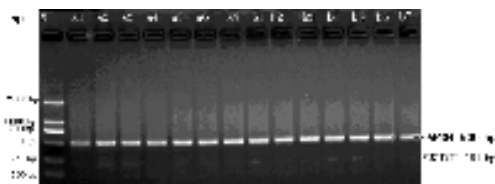


图 1 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII mRNA 在癌旁正常组织及鳞癌组织中的表达

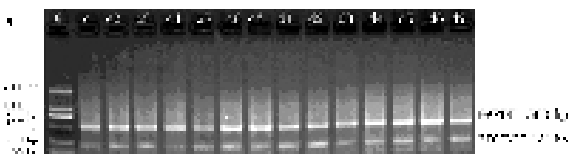


图 2 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII mRNA 在腺癌组织及小细胞肺癌组织中的表达

3 讨论

FUCT 是一类负责将 GDP 岩藻糖中的岩藻糖基(Fucose)转移至 N-乙酰氨基乳糖单链(GlcNAc)上并以 α -岩藻糖苷键

相连接的酶。其主要作用底物是糖蛋白的 O-糖或乳糖系、新乳糖系的糖脂,也可以是 N-糖链,产物主要是含有 α -岩藻糖基的血型抗原,如 A、B、O 血型抗原和 Lewis 糖链抗原(Le)。FUCT VII 是岩藻糖基转移酶(fucosyltransferase, FUCT)的一个亚型,它是 II 类跨膜拓扑结构,N 端有 14 个氨基酸位于细胞质,接着为 19 个氨基酸的疏水跨膜区以及位于高尔基体内的 309 个氨基酸催化结构域。1994 年 Sasaki 等^[4]在 THP-C 细胞 cDNA 文库中将其克隆出来。其 cDNA 全长为 1.7 kb,开放阅读框编码 342 个氨基酸,相对分子质量为 39.2×10^3 ,基因定位在染色体 9q34.3。目前的研究发现,岩藻糖基化参与多种生物学过程,包括组织生长、血管生成、细胞增殖、黏附、侵袭和肿瘤转移。至少有 18 种人基因疾病起因于 N-糖基化蛋白改变^[5-7]。Prorok 等^[8]的研究显示:高亲和力的选择素和其配体的相互作用需要 core2 基础的 O 聚糖,它的合成需要岩藻糖转移酶 VII (FUCT VII)和磺基转移酶,以 core1 为前提为底物进行修饰,最终形成侧链为 Sle^x 的 core2 基础的 O 聚糖。而 FUCT VII 及其产物 Sle^x 对肝癌细胞 H7721 的转移能力起至关重要的作用^[9]。

众所周知, α 岩藻糖转移酶大家族目前已发现有 9 种亚型,其中 FUCT-III (Lewis 血型, Le) 主要分布在肾、胆囊及乳汁中。FUCT-IV (类髓型) 产物为 Le^x 及 VI-M-2, 存在于 5~10 周胚胎各组织,在成人仅在髓系组织及大脑中表达。FUCT-VI (血浆型) 主要存在于肝脏和血浆,其产物为 Le^x 和 Sle^x。其中 FUCT-VI 催化合成 Sle^x 的能力可以是 FUCT VII 的 1.5 倍^[10]。FUCT VII (白细胞型) 在白细胞中表达,只能以唾液酸化的糖链为底物,合成 Sle^x^[11]。前期的研究发现,FUCT VII 的活性可以直接影响 Sle^x 的表达量并进而影响肝癌细胞的黏附、趋化性迁移和侵袭等转移表型^[12]。用佛波脂(TPA,一种促癌剂,也是 PKC 蛋白激酶激活剂)处理 Jurkat 细胞观察 FUCT VII 及其产物 Sle^x 表达的改变,结果发现处理后的细胞增加 FUCT VII 的转录及其产物 Sle^x 的表达,并能诱导合成 E-选择素配体合成^[13]。

本文研究发现, $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因 mRNA 在肺癌组织中表达量明显高于癌旁正常组织,其中在腺癌组织表现最强。而且 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因 mRNA 表达与 TNM 分期、分化程度、淋巴结转移、组织学类型有关,与年龄、性别无关。表明 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因 mRNA 表达可能与肺癌的发生及转移相关。

然而,本实验仅限于对肺癌组织标本中 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII 基因 mRNA 进行研究,验证其与临床病理因素的关系,至于 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII mRNA 在肺癌中的作用机制尚未涉及,肺癌组织中的 Lewis 抗原与 $\alpha_{1,3}$ FUCT VII mRNA 关系如何尚不清楚。因此,还需要进一步研究在肺癌组织中 Lewis 抗原与其合成酶 FUCT 之间的关系,并结合相关细胞系及临床结果来证实这种 Lewis 抗原及相关的糖链加工酶是否能成为肿瘤转移的新的生物学指标和防止肿瘤转移可能的治疗靶点。

参考文献:

[1] Paganuzzi M, Bobbio B, Marroni P, et al. Prognostic role of serum sialyl Lewisx (CD15s) in colorectal cancer[J]. Oncology, 2003, 65(1): 52.
 [2] Sumikura S, Ishigami S, Natsugoe S, et al. Disseminated cancer cells in the blood and expression of sialylated antigen in gastric cancer[J]. Cancer letters, 2003, 200(1): 77.
 [3] Numahata K, Satoh M, Handa K, et al. Sialosyl-Le(x) expression defines invasive and metastatic properties of bladder carcinoma[J]. Cancer, 2002, 94(3): 673. (下转第 1383 页)

表 1(续) 两组 OSAHS 患者临床资料及血清炎症因子水平 (n=40)

项目	OSAHS 组	OSAHS 合并高血压组
AHI(次/分)	36.40±18.1	42.90±21.1
hs-CRP	3.48±1.53	4.70±1.56*
TNF-α	1.21±0.31	1.58±0.26*

与单纯 OSAHS 组比较, * : P<0.05。

3 讨 论

近年来许多研究显示,OSAHS 患者的高血压发病率较普通人群明显增高,OSAHS 是高血压的独立危险因素。普通人群高血压发病率为 25%,而 OSAHS 人群高血压发病率可达 50%~60%。随着睡眠呼吸暂停程度加重,高血压病的发病率也越高。在高血压的发病机制研究中也发现高血压患者的血浆炎症标志物水平明显高于普通人群^[3],炎性细胞因子通过损伤血管内皮细胞、增加血管阻力以及损坏血管扩张功能等途径导致高血压的发生。而 OSAHS 患者特征性的夜间间歇低氧能诱导多种细胞因子,如白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)等的释放,并显著上调内皮细胞、白细胞表达 ICAM-1、VCAM-1 等炎性介质,介导白细胞与血管内皮细胞的炎症反应,从而导致血压升高。同时 OSAHS 患者的反复间歇低氧也可引起氧化应激反应及氧活性簇(ROS)的增加,ROS 的增加可以触发大量促炎基因的表达。

Chrysohoou 等^[3]的研究结果显示,高血压前期人群中,具有高 CRP 水平者占 31%,有较高的 TNF-α 水平者占 32%。而在本实验中也发现 OSAHS 合并高血压的患者较单纯 OSAHS 患者人群 TNF-α 及 hs-CRP 水平也有明显的增高。李风云等^[4]报道 OSAHS 患者外周血 IL-6、TNF-α 水平升高与其低

氧血症密切相关,通过有效的 CPAP 治疗以后,可显著改善 OSAHS 患者的缺氧状态,降低外周血 IL-6、TNF-α 水平,改善血压控制状态,充分说明炎症介质与高血压的产生、发展过程有密切关系。

总之,OSAHS 患者高血压发生率增高,其机制可能是通过睡眠呼吸暂停低通气引起的低氧血症导致一系列神经内分泌系统活动失调以及炎症反应加剧所致。OSAHS 是高血压发生和发展的独立危险因素,高血压发病机制与炎症反应因素密切相关。老年 OSAHS 人群具有合并症多、并发症重的特点,必须高度重视老年 OSAHS 患者合并高血压的防治工作。

参考文献:

- [1] Ferini, Strambi L, Fantinim ML. Epidemiology of obstructive sleep apnea syndrome[J]. *Minerva Med*, 2004, 95(3): 187.
- [2] 中华医学会呼吸病学分会睡眠呼吸疾病学组. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊治指南(草案)[J]. *中华结核呼吸杂志*, 2002, 25(4): 195.
- [3] Chrysohoou C, Pitsavos C, Panagiotakos DB, et al. Association between prehypertension status and inflammatory markers related to atherosclerotic disease: the ATTICA study[J]. *Am J Hypertens*, 2004, 17(7): 568.
- [4] 李风云, 薛玉文, 杜以明, 等. 睡眠呼吸暂停综合征患者外周血白细胞介素-6 和肿瘤坏死因子-α 水平的变化[J]. *山东大学学报: 医学版*, 2006, 44(4): 401.

(收稿日期: 2010-01-25)

(上接第 1381 页)

- [4] Sasaki K, Kurata K, Funayama K, et al. Expression cloning of a novel alpha_{1,3}-fucosyltransferase that is involved in biosynthesis of the sialyl lewis X carbohydrate determinants in leukocytes[J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(20): 14730.
- [5] Jacken J, Komrower L. Congenital disorder of glycosylation(CDG): it's all in it[J]. *J Inher Metab Dis*, 2003, 26(2): 99.
- [6] Marquardt T, Denecke J. Congenital disorder of glycosylation: review of their molecular bases. Clinical presentations and specific therapies[J]. *Eur J Pediatr*, 2003, 162(6): 359.
- [7] Freeze HH, Aebi M. Altered glycan structure: the molecular basis of congenital disorders of glycosylation[J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2005, 36(5): 490.
- [8] Prorok HM, Notel F, Mathiew S, et al. N-glycans of Core2β(1,6)-N-acetylglucosaminyl transferase-I (C2GnT-1) but not those of α(1,3)-fucosyltransferase-III (FUCTIII) are required for the synthesis of function P-Selectin Glycoprotein Ligand(PSGL-1) Effects on P-, L-, and E-selectin binding[J]. *Biochem J*, 2005, 391(Pt3): 491.
- [9] Hiraiwa N, Dohi T, Kawakami KN, et al. Suppression of

sialyl Lewis X expression and E-selectin-mediated cell adhesion in cultured human lymphoid cells by transfection of antisense cDNA of an alpha-3 fucosyl transferase (FUCT III)[J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(49): 31556.

- [10] Togayachi A, Kudo Y, Ikehara Y, et al. Up-regulation of Lewis enzyme(α1,3-FUCT III) and plasma-typeα1,3-fucosyl transferase (FUCT VI) expression of sialyl lewis X antigen in non-small cell lung cancer[J]. *Int J Cancer*, 1999, 35: 70.
- [11] Narimatsu H. Human fucosyl transferase: tissue distribution of blood group antigens, cancer-associated antigen and fucosyl transferase[J]. *Tanpakushitsu kakusan koso*, 1998, 43(16): 2394.
- [12] Liu F, Qi HL, Chen HL. Regulation of differentiation and proliferation induce on Lewis antigens, α fucosyl transferase and metastatic potential in hepatocarcinoma cell[J]. *Br J Cancer*, 2001, 84(11): 1556.
- [13] Knibbs RN, Craig RA, Natsuka S, et al. The fucosyltransferase FUCT VII regulates E-selectin ligand synthesis in human T cells[J]. *J Cell Biol*, 1996, 133(4): 911.

(收稿日期: 2010-01-25)