

清道夫受体 A 基因的表达与肠癌侵袭转移密切相关

丁清清¹, 薛绮萍¹, 邵 耘¹, 孙为豪¹, 陈 琪^{2*}

(¹南京医科大学第一附属医院老年消化科, 江苏 南京 210029; ²南京医科大学病理与生理学系, 江苏 南京 210009)

[摘要] 目的:研究清道夫受体 A(SR-A)在结直肠癌组织中的表达及其与结直肠癌侵袭、转移之间的关系。方法:采用实时荧光定量 PCR 法,检测 SR-A 基因在 33 例结直肠癌组织和相应切缘正常组织中的表达。结果:SR-A 基因在结直肠癌组织中的表达明显高于正常切缘组织。SR-A 基因的表达与结直肠癌患者的性别、肿瘤大小、浸润深度以及 TNM 分期有关(均 $P < 0.05$),而与患者的年龄、肠癌的部位、分化程度、淋巴结转移及病理组织学类型无关(均 $P > 0.05$)。结论:SR-A 基因的高表达与结直肠癌的侵袭、转移明显相关。

[关键词] 直肠癌;清道夫受体 A;肿瘤侵袭;肿瘤转移

[中图分类号] R735.37

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2013)11-1544-03

doi:10.7655/NYDXBNS20131112

近年来,结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的发病率逐年上升,已成为严重危害广大人民群众身体健康的疾病之一。目前,CRC 在我国的发病率位居第四,发病年龄也明显提前,青年人的发病率在不断上升。大规模人群普查资料表明,35 岁以上的人群中,结直肠癌的发病率为 24~32/10 万(不含香港和台湾地区)^[1]。现在认为炎症是肿瘤的重要特征^[2],然而肠道炎症导致肿瘤的机制尚不明确。肠癌的发生发展伴随着一系列的分子事件,包括基因突变等^[3-4]。在肠癌的发生发展中,巨噬细胞发挥了极其重要的作用,然而巨噬细胞参与肠癌的机制及其所发挥的作用仍不确定^[5]。因此,进一步阐明巨噬细胞和肿瘤细胞间的相互作用关系,找到其促癌和抑癌作用的平衡点,并促使其向抗肿瘤方向分化,将对癌症的治疗有重大意义。

A 类清道夫受体(class A scavenger receptor, SR-A),又名 CD204、巨噬细胞清道夫受体 1(macrophage scavenger receptor 1, MSR1),由 Goldstein 等在 1979 年首先发现^[6]。SR-A 作为巨噬细胞表面的一类模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR),对于巨噬细胞的多种生物学功能都起着重要的调控作用。本研究采用实时荧光定量 PCR

法,检测 SR-A mRNA 在肠癌的癌组织和相应正常组织中的表达,旨在探讨 SR-A mRNA 的表达与肠癌浸润和转移的关系,以期能进一步阐明 PRRs 参与调控肠癌分子机制,从而成为疾病防治的新靶点。

1 材料和方法

1.1 材料

收集南京医科大学第一附属医院胃肠外科 2011 年 2 月~2013 年 8 月结直肠癌患者癌组织及切缘正常组织(距离肉眼可见的癌组织 > 3 cm 以上取材)28 例,江苏省肿瘤医院 5 例,均经组织病理学确诊,病例均未经过放、化疗。33 例中,结肠 13 例,直肠 20 例。男 16 例,女 17 例。年龄 38~87 岁,中位年龄 60 岁。肿瘤直径 < 3 cm 者 9 例,3~5 cm 者 15 例,> 5 cm 者 9 例。有无淋巴结转移各为 14、19 例。高中低分化各为 1、24、8 例。腺癌 25 例,黏液腺癌 4 例,腺癌和黏液腺癌混合型等 4 例。TNM 分期 I、II、III、IV 期各为 6、13、9、5 例。

SR-A 引物:上游:5'-CTTTCACAATCAACAGG-AGGAC-3'; 下游:5'-ATTCTTCGTTTCCCACTTCAG-G-3'。β-actin 引物:上游:5'-CTACAATGAGCTGC-GTGTGG-3'; 下游:5'-ATAGCAACGTACATGGCTG-G-3'。引物均由美国 Invitrogen 公司合成。7500/7500 Fast 型荧光定量 PCR 仪(ABI 公司,美国),TRIzol Reagent(Invitrogen 公司,美国),反转录试剂盒(ToKoBo 公司,日本),荧光染料 Power SYBR Green PCR Master Mix(ABI 公司,美国)。

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(81230070);江苏省高校自然科学研究资助项目(13KJB320012);江苏省六大人才高峰资助项目(WSW-027)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: qichen@njmu.edu.cn

1.2 方法

所有结直肠癌组织和切缘正常组织均分别按照 TRIzol 试剂说明书提取总 RNA,然后根据反转录试剂说明书将总 RNA 逆转录成 cDNA。反应程序为 25°C 10 min,42°C 30 min,85°C 5 min,共 1 个循环。Realtime PCR 体系为 20 μl,PCR 循环参数为:起始 50°C 2 min,95 °C 10 min,1 个循环;94°C 15 s,60°C 1 min,并采集荧光信号,40 个循环;72°C 3 min,1 个循环结束。同时制作标准品曲线。每样本设置 3 个平行孔,以 β-actin 为内参,取拷贝数均值进行统计分析。

1.3 统计学方法

各组 realtime PCR 结果根据标准曲线读取,SR-A mRNA 表达量以 SR-A/actin mRNA 的比值表示,用 STATA11.0 统计软件进行统计学处理。计数资料采用 Chi-square test 法或 Fisher's 确切概率法,以 P≤0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

33 例结直肠癌患者正常切缘组织的 SR-A mRNA 拷贝数 1.06 ± 0.31,结肠癌组织 3.21 ± 0.77,结肠癌组织 SR-A mRNA 表达量明显高于正常切缘组织(P < 0.05,图 1)。其中肿瘤组织中表达高于切缘正常组织者定义为高表达,反之为低表达。分析表明男性 SR-A mRNA 高表达者(81.2%)较女性(47.1%)有统计学差异(P < 0.05)。≤60 岁高表达者(58.8%)较 > 60 岁者(68.7%),无统计学差异(P > 0.05)。SR-A mRNA 高表达者在高、中、低分化程度中所占比率分别为 0%、66.7%和 62.5%,差异无显著性(P > 0.05)。SR-A mRNA 高表达者在有淋巴结转移者(71.4%)与无淋巴结转移者(63.2%)之间的差异无显著性(P > 0.05)。TNM I~IV 期的 SR-A mRNA 高表达者分别为 16.7%、76.9%、55.6%和 100%,差异有显著性(P < 0.05,表 1)。

3 讨论

肿瘤的浸润转移包括肿瘤细胞脱离原发灶、侵犯周围组织、进入循环系统和外渗至靶器官等增殖过程。早在 19 世纪末,就有研究者提出炎症与肠癌密切相关。目前,许多研究已证实了这一假说。然而炎症导致肿瘤发生发展的机制仍不明确。SR-A 是巨噬细胞表面的重要模式受体,与炎症密切相关,与脑梗、动脉粥样硬化、肝炎等发生发展相关。近年来有研究表明,SR-A 与肿瘤密切相关,在前列腺癌、卵巢

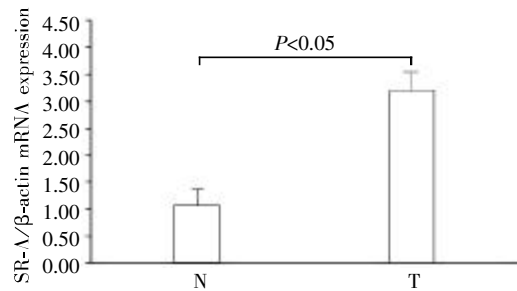


图 1 33 例结直肠癌患者癌组织和相应切缘正常组织 SR-A mRNA 的表达

表 1 结直肠癌患者临床病理特征与 SR-A mRNA 表达关系 (n)

临床病理特征	例数	SR-A mRNA		χ² 值	P 值
		低表达	高表达		
年龄(岁)					
≤60	17	7	10	0.351	0.554
> 60	16	5	11		
性别					
男	16	3	13	4.164	0.041
女	17	9	8		
肿瘤大小(cm)					
≤3	9	5	4		
3~5	15	7	8	7.2635	0.026
≥5	9	0	9		
分化程度					
高	1	1	0	1.850	0.397
中	24	8	16		
低	8	3	5		
浸润深度					
肌层	6	6	0	12.936	0.002
浆膜层	21	5	16		
浆膜外	6	1	5		
淋巴结转移					
有	14	4	10	0.638	0.424
无	19	8	11		
组织学类型					
腺癌	25	9	16	4.867	0.088
黏液腺癌	4	0	4		
混合型	4	3	1		
部位					
结肠	13	6	7	0.8885	0.346
直肠	20	6	14		
TNM 分期					
I 期	6	5	1	9.823	0.020
II 期	13	3	10		
III 期	9	4	5		
IV 期	5	0	5		

癌和肺癌等的形成中发挥了重要的作用。Xu 等^[7]研究表明,遗传性前列腺癌与 SR-A 的缺失密切相关。Hu 等^[8]研究表明 SR-A 在树突状细胞介导的睾丸癌

抗原呈递过程中发挥了至关重要的作用。Ben 等^[9]研究表明,SR-A 表达的缺失,是肺癌发生的独立危险因素。SR-A 的表达在肺癌组织中较相应的正常组织低,SR-A 基因敲除促进了小鼠肺癌移植瘤的生长和血管生成。Komohara 等^[10]研究表明 SR-A 敲除小鼠通过上调肿瘤微环境中的 NO 和 IFN- γ 延缓淋巴瘤的生长。本研究结果显示,SR-A 基因的表达与结肠癌患者的性别、肿瘤大小、浸润深度以及 TNM 分期有关,而与患者的年龄、肠癌的部位、分化程度、淋巴结转移及病理组织学类型无关。SR-A 在男性、肿瘤较大、浸润较深和 TNM 分期较晚者中 mRNA 表达较高,提示 SR-A 可能在肠癌的发生发展中起促进肿瘤微环境形成的作用,显然与上述学者的报告不同。本研究考虑 SR-A 在不同的肿瘤中表达不一,所发挥的作用也不尽相同,提示可能与不同的配体激活 SR-A 不同的下游信号通路相关。在本研究中 SR-A 促进肿瘤微环境的形成可能与其促进巨噬细胞向 M2 型分化相关,然而进一步的机制阐明仍需进一步的实验验证。

总之,本研究结果表明 SR-A 在肠癌中的表达与肠癌的侵袭、转移明显相关,其高表达提示 TNM 分期较晚,预后差。对其机制的进一步阐明,将有助于进一步了解炎症与肿瘤之间的关系,为抗肿瘤治疗提供新的靶点。

[参考文献]

- [1] 刘希永,郑 树. 结直肠癌筛检优化方案在高危人群中应用评价[J]. 肿瘤防治研究,1997,24(4):197-200
- [2] Mantovani A, Allavena P, Sica A, et al. Cancer-related inflammation[J]. Nature, 2008, 454(7203):436-444
- [3] Eschenhagen T, Jorgensen AL, Hughes DA, et al. Muta-

- tion screening for KRAS and BRAF in metastatic colorectal cancer proves costly in relation to benefits [J]. Pharmacogenomics, 2013, 14(2):124
- [4] Xu XM, Qian JC, Cai Z, et al. DNA alterations of microsatellite DNA, p53, APC and K-ras in Chinese colorectal cancer patients [J]. Eur J Clin Invest, 2012, 42(7):751-759
- [5] Kang JC, Chen JS, Lee CH, et al. Intratumoral macrophage counts correlate with tumor progression in colorectal cancer[J]. J Surg Oncol, 2010, 102(3):242-248
- [6] Goldstein JL, Ho YK, Basu SK, et al. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1979, 76(1):333-337
- [7] Xu J, Zheng SL, Komiya A, et al. Germline mutations and sequence variants of the macrophage scavenger receptor 1 gene are associated with prostate cancer risk [J]. Nat Genet, 2002, 32(2):321-325
- [8] Hu Y, Cheng SC, Chan KT, et al. Fucoidin enhances dendritic cell-mediated T-cell cytotoxicity against NY-ESO-1 expressing human cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 392(3):329-334
- [9] Ben J, Jin G, Zhang Y, et al. Class A scavenger receptor deficiency exacerbates lung tumorigenesis by cultivating a procarcinogenic microenvironment in humans and mice [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2012, 186(8):763-772
- [10] Komohara Y, Takemura K, Lei XF, et al. Delayed growth of EL4 lymphoma in SR-A-deficient mice is due to up-regulation of nitric oxide and interferon-gamma production by tumor-associated macrophages [J]. Cancer Sci, 2009, 100(11):2160-2166

[收稿日期] 2013-06-27