

## MACC1 表达与胸中段食管鳞癌侵袭、转移的关系

左 欣, 龚泽刚, 蒋国军, 周 健, 谈永飞\*

(江苏大学附属宜兴医院胸心外科, 江苏 宜兴 214200)

**[摘要]** 目的: 研究结肠癌转移相关基因(MACC1)在食管鳞癌中的表达及其与淋巴结转移的关系。方法: 采用 Western blot 方法检测食管鳞癌细胞株和 40 例胸中段食管鳞癌组织及配对癌旁组织中 MACC1 蛋白的表达情况。结果: KYSE510、EC109 两种食管鳞癌细胞株中 MACC1 蛋白相对表达量分别为  $0.413 \pm 0.175$ 、 $0.876 \pm 0.202$ , 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。40 例配对胸中段食管鳞癌组织中, MACC1 蛋白表达水平癌组织为  $0.513 \pm 0.228$ , 癌旁组织为  $0.248 \pm 0.179$ , 癌组织和配对癌旁组织表达差异有统计学意义, 且在伴有淋巴结转移的癌组织中表达量明显较高 ( $P < 0.05$ )。结论: MACC1 与食管鳞癌的发生、发展及转移密切相关。

**[关键词]** 结肠癌转移相关基因; 食管鳞癌; 淋巴结转移

**[中图分类号]** R735.1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2014)10-1352-03

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20141014

## Investigation of expression of MACC1 and its relationship to invasion, metastasis in squamous cell carcinoma of the esophagus after esophagectomy

Zuo Xin, Gong Zegang, Jiang Guojun, Zhou Jian, Tan Yongfei\*

(Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Affiliated Yixing Hospital of Jiangsu University, Yixing 214200, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the expression of colorectal carcinoma metastasis associated gene(MACC) in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC), and its relationship with lymphatic metastasis. **Methods:** Western-blot assays were performed to detect the expression of MACC1 protein in paired sample tissues from 40 ESCC patients and cell lines. **Results:** The expression levels of MACC1 protein in KYSE510 and EC109 were  $0.413 \pm 0.175$ ,  $0.876 \pm 0.202$ , respectively. There were significant differences in the two ESCC cell lines ( $P < 0.05$ ). In paired sample tissues from 40 ESCC cases, the expressions of MACC1 protein in tumor tissue specimens and peri-carcinoma tissues were  $0.513 \pm 0.228$  and  $0.248 \pm 0.179$ , respectively. There were significant differences in the two tissues, and MACC1 expression in positive lymph node metastasis specimens was higher than in other specimens ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** MACC1 may be closely correlated to the oncogenesis, development and metastasis of ESCC.

**[Key words]** MACC1; esophageal squamous cell carcinoma; lymph node metastasis

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(10): 1352-1354]

手术是治疗食管癌的重要方法, 但食管癌患者术后 5 年生存率仅为 20%~30%, 主要原因是术后复发和转移<sup>[1]</sup>。国内外文献报道结肠癌转移相关基因(MACC1)具有促进肿瘤细胞的化学趋向性和侵袭性, 促进肿瘤细胞迁移蠕动的能力<sup>[2-3]</sup>, 但有关 MACC1 表达与胸中段食管鳞癌侵袭、转移的关系少

有报道, 因此本研究应用 Western blot 法对胸中段食管鳞癌组织及细胞株中 MACC1 蛋白进行检测, 旨在初步研究其与胸中段食管鳞癌侵袭、转移的相关性。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

##### 1.1.1 组织标本

收集 2013 年 5 月~2013 年 12 月, 江苏大学附

**[基金项目]** 江苏大学医学临床科技发展基金(JYL20120069)

\*通讯作者(Corresponding author), E-mail: jianzhou1670@sina.com

属宜兴医院胸心外科经手术治疗的胸中段食管鳞癌患者组织标本 40 例, 标本选取为食管鳞癌组织及相应距瘤体 5 cm 以上的配对癌旁无瘤组织。其中男 19 例, 女 21 例, 年龄 50~75 岁, 中位年龄 67 岁。所有患者术前均未化疗或放疗, 有完整的临床病理资料和明确的术后病理诊断。其中有淋巴结转移的 22 例, 无淋巴结转移的 18 例。所有标本在提取蛋白质前均放入液氮快速冷冻后, 置于 -70℃ 低温冰箱保存。

### 1.1.2 细胞

食管鳞癌细胞株(EC109 和 KYSE510), 由本院实验中心保存。

### 1.1.3 试剂

大鼠抗人 MACC1 多克隆抗体 (Prosci 公司, 美国); 大鼠抗人单克隆  $\beta$ -actin 抗体(北京中山金桥生物技术有限公司); 蛋白定量试剂盒及 ECL 化学发光检测试剂盒 (Pierce 公司, 美国); Western blot 相关试剂为上海碧云天生物技术研究产品。

### 1.2 方法

用全细胞裂解液提取组织或细胞总蛋白, 用 BCA 法测定蛋白浓度。取 50  $\mu$ g 蛋白加入 5  $\times$  SDS 凝胶上样缓冲液, 沸水浴 5 min; 进行 12%SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转移至 PVDF 膜上, 5%脱脂奶粉封闭 2 h, 然后与 MACC1(1:200)及  $\beta$ -actin(1:500) 抗体 4℃ 孵育过夜, 洗膜, 分别与辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的二抗室温孵育 1 h, 最后用 ECL 显影, 曝光, LANE 1D 软件进行图像分析, 以 MACC1 蛋白灰度值与  $\beta$ -actin 蛋白灰度值的比值表示 MACC1 蛋白的相对表达量。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS16.0 统计学软件包进行统计分析。相对表达量以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 分别采用配对  $t$  检验, 两样本  $t$  检验及 One-way ANOVA, 以双侧  $\alpha = 0.05$  为检验水准,  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 胸中段食管鳞癌及配对癌旁组织中 MACC1 的表达差异

MACC1 蛋白在胸中段食管鳞癌组织及配对癌旁组织中相对表达量分别为  $0.513 \pm 0.228$ 、 $0.248 \pm 0.179$ , 癌组织中表达高于癌旁正常组织, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 图 1)。

### 2.2 MACC1 蛋白与食管鳞癌细胞侵袭、转移能力的关系

40 例食管鳞癌患者中, 有 22 例出现淋巴结转移, 18 例无淋巴结转移。MACC1 蛋白在淋巴结转移组中相对表达量为  $0.678 \pm 0.146$ , 在无淋巴结转移组为  $0.310 \pm 0.114$ , 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

MACC1 蛋白在食管鳞癌细胞 KYSE510 及 EC109 相对表达量分别为  $0.413 \pm 0.175$ 、 $0.876 \pm 0.202$ , 食管鳞癌细胞侵袭、转移能力越强, MACC1 蛋白表达越高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 图 2)。

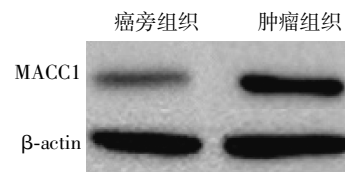


图 1 MACC1 蛋白在食管鳞癌及配对癌旁组织中的表达  
Figure 1 Expressions of MACC1 protein in tumor tissues and peri-carcinoma tissues

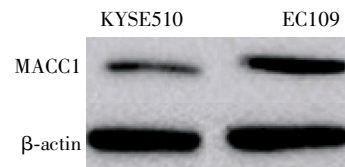


图 2 MACC1 蛋白在 KYSE510 和 EC109 细胞系中的表达  
Figure 2 Expressions of MACC1 protein protein in KYSE510 and EC109 cell lines

## 3 讨论

食管鳞癌预后差主要是由于肿瘤对周围组织的侵袭, 以及肿瘤早期就发生邻近组织和远处组织的转移<sup>[4]</sup>。在食管鳞状细胞癌中, 淋巴结转移普遍存在, 甚至在肿瘤刚侵袭到黏膜下层时就已经发生淋巴结转移。胸中段食管是食管鳞癌的好发部位, 该部位肿瘤尤其容易发生纵隔、腹腔及颈部淋巴结转移, 虽然手术是主要的治疗方式, 但其效果并不理想, 5 年生存率为 30%~50%<sup>[5-7]</sup>, 因此, 有效治疗食管鳞癌的关键是抑制肿瘤侵袭以及转移。

MACC1 基因是由 Stein 等<sup>[8]</sup>于 2009 年发现的一个新基因, 又名 SH3BP4L, 定位于人染色体 7p21.1, 有 7 个外显子, 编码一个由 852 个氨基酸组成的蛋白, MACC1 蛋白包含 4 个结构域: ZU5、SH3 和 2 个羟基末端死亡结构。近期的研究显示, MACC1 蛋白能够显著地上调结肠癌中 c-MET 的表达, 激活 HCG/c-MET 信号通路, 该通路在细胞生长、血管生成、上皮细胞间质化过程中起了重要作用, 其异常激活可以导致包括肝癌在内的多种肿瘤

的形成<sup>[9-10]</sup>。HGF/c-MET 信号通路能够诱导基质金属蛋白酶和血管内皮生长因子的表达,通过降解细胞外基质以及刺激肿瘤血管生成,从而增加肿瘤细胞的侵袭及转移能力<sup>[11-12]</sup>。鉴于 MACC1 在多种肿瘤细胞侵袭、转移过程中的重要生物学特性,本研究应用 Western blot 方法检测 40 例胸中段食管鳞癌组织及配对癌旁组织,结果发现,MACC1 在癌组织中的表达较配对癌旁组织上调,淋巴结转移者 MACC1 蛋白的表达显著高于无淋巴结转移者,这说明 MACC1 蛋白表达增高对淋巴结转移具有一定的促进作用。

为进一步证实 MACC1 对食管鳞癌侵袭、转移的促进作用,本研究还检测了肿瘤细胞恶性表型截然不同的 2 种食管鳞癌细胞 EC109 和 KYSE510 中 MACC1 蛋白的相对表达量。EC109 取材自中国食管癌患者<sup>[13]</sup>,KYSE510 取材自日本食管癌患者<sup>[14]</sup>,EC109 细胞是一种侵袭和转移能力高的细胞,而 KYSE510 细胞的侵袭和转移能力较弱<sup>[15]</sup>。研究结果发现,MACC1 蛋白在 EC109 细胞中表达量较 KYSE510 细胞高,与上述结果相符,提示 MACC1 可能激活 HGF/c-MET 信号通路促进恶性肿瘤的侵袭、转移,发挥着相似的作用。

综上所述,初步研究表明 MACC1 与食管鳞癌的侵袭、转移密切相关,扩大样本量进一步研究将有助于明确食管鳞癌侵袭、转移的分子机制,为其治疗提供新的依据。

#### [参考文献]

- [1] Hangan D, Morris VL, Boeters L, et al. An epitope on VLA-6( $\alpha$ 6 $\beta$ 1) integrin involved in migration but not adhesion is required for extravasation of murine melanoma B16F1 cells in liver[J]. *Cancer Res*, 1997, 57(17): 3812-3817
- [2] Arlt F, Stein U. Colon cancer metastasis: MACC1 and Met as metastatic pacemarkers[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2009, 41(12): 2356-2359
- [3] Stein U, Dahlmann M, Walther W. MACC1-more than metastasis? Facts and predictions about a novel gene[J]. *J Mol Med*, 2010, 88(1): 11-18
- [4] Furihata T, Sakai T, Kawamata H, et al. A new *in vivo* model for studying invasion and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Int J Oncol*, 2001, 19(5): 903-907
- [5] Tachibana M, Kinugasa S, Yoshimura H, et al. Extended esophagectomy with 3-field lymph node dissection for esophageal cancer[J]. *Arch Surg*, 2003, 138(12): 1383-1389
- [6] Altorki N, Kent M, Ferrara C, et al. Three-field lymph node dissection for squamous cell and adenocarcinoma of the esophagus[J]. *Ann Surg*, 2002, 236(2): 177-183
- [7] Park SJ, Nakai K. A regression analysis of gene expression in ES cells reveals two gene classes that are significantly different in epigenetic patterns[J]. *BMC Bioinformatics*, 2011, 12 (Suppl 1): S50
- [8] Stein U, Walther W, Arlt F, et al. MACC1, a newly identified key regulator of HGF-MET signaling, predicts colon cancer metastasis[J]. *Nat Med* 2009, 15(1): 59-67
- [9] Son G, Hirano T, Seki E, et al. Blockage of HGF/c-Met system by gene therapy(adenovirus-mediated NK4 gene) suppresses hepatocellular carcinoma in mice [J]. *Hepatology*, 2006, 45(5): 688-695
- [10] Lee KH, Choi EY, Hyun MS, et al. Role of hepatocyte growth factor/c-Met signaling in regulating urkinase plasminogen activator on invasiveness in human hepatocellular carcinoma: a potential therapeutic target [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2008, 25(1): 89-96
- [11] Ide T, Kitajima Y, Miyoshi A, et al. Tumor-stromal cell interaction under hypoxia increases the invasiveness of pancreatic cancer cells through the hepatocyte growth factor/c-Met pathway [J]. *Int J Cancer*, 2006, 119(12): 2750-2759
- [12] Wajih N, Sane DC. Angiostatin selectively inhibits signaling by hepatocyte growth factor in endothelial and smooth muscle cells [J]. *Blood*, 2003, 101(5): 1857-1863
- [13] Department of Cell Biology of PCAMS. Establishment of a cell line from human esophageal carcinoma [J]. *Chin Med J: Engl*, 1976, 2(5): 357-364
- [14] Shimada Y, Imamura M, Wagata T, et al. Characterization of twenty one newly established esophageal cancer cell line[J]. *Cancer*, 1992, 69(2): 277-284
- [15] 刘仰民,董辉,谢剑君. 两种食管鳞癌细胞系增殖和侵袭能力的比较研究[J]. *癌变 畸变 突变*, 2010, 22(4): 261-264

[收稿日期] 2014-04-29