

• 临床检验研究论著 •

# 转录因子特化蛋白 1 在大肠癌组织中的表达及意义<sup>\*</sup>

苗晋华, 杜叶平, 尹莉莉, 武春梅, 徐丽萍

(中国人民解放军第二六四医院检验科, 山西太原 030001)

**摘要:**目的 研究转录因子特化蛋白 1(Sp1)在大肠癌组织中的表达情况及意义。方法 取 60 例大肠癌患者的癌组织和癌旁正常组织, 分别采用实时定量 PCR 法检测大肠癌和癌旁正常组织中 Sp1 mRNA 表达情况。按  $\Delta\Delta\text{CT}$  法对目的基因进行相对定量。比较 Sp1 mRNA 的表达情况与不同临床资料、病理参数之间的关系。结果 大肠癌组织中 Sp1 mRNA 表达水平明显高于癌旁正常组织( $P<0.01$ ); 大肠癌组织中 Sp1 mRNA 阳性表达率与患者的年龄、性别、肿瘤部位无关( $P>0.05$ ), 而与大肠癌的组织学分级、Duke's 分期、淋巴结转移有关( $P<0.05$ )。结论 Sp1 在大肠癌组织中呈现高表达状态, 提示 Sp1 在大肠癌的发生、发展过程中可能起重要作用。

**关键词:** 转录因子特化蛋白 1; 大肠癌; 淋巴结转移

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.19.010

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)19-2597-02

## Expression and clinical significance of transcription factor special protein 1 in colorectal cancer<sup>\*</sup>

Miao Jinhua, Du Yeping, Yin Lili, Wu Chunmei, Xu Liping

(Department of Clinical Laboratory, No. 264 Hospital of PLA, Taiyuan, Shanxi 030001, China)

**Abstract:** Objective To study the expression of transcription factor special protein 1(Sp1) in colorectal cancer tissues and the relationship with the biological behavior. **Methods** The Sp1 mRNA expressions of 60 colon cancer tissues and their corresponding normal tissues were detected by real-time PCR, and the level of target gene was calculated by  $\Delta\Delta\text{CT}$  method. The relationships between the expression of Sp1 mRNA and the different clinical features and pathological characters were determined. **Results** Compared with the matched normal tissues, Sp1 mRNA was significantly up-regulated in the colon cancer tissues( $P<0.01$ ). Sp1 mRNA positive expression rate in colon cancer tissues had no significant different with sex, age and tumors area( $P>0.05$ ), but had significant different with histological grade, Duke's stages and lymph node metastasis( $P<0.05$ ). **Conclusion** Sp1 plays an important role in the process of occurrence and development in colon cancer.

**Key words:** transcription factor special protein 1; colon cancer; lymph node metastasis

目前发现, 转录因子特化蛋白(special protein, Sp)家族有很多成员<sup>[1]</sup>, 在进化上高度相似, 其中 Sp1 被认为是该家族中功能最强的转录激活因子<sup>[2]</sup>。目前为止, Sp1 在众多肿瘤(如胃癌、胰腺癌、肝癌、肺癌、乳腺癌)中呈现出异常表达和活化, 通过调控肿瘤相关生长因子或血管生成基因的表达等机制, 营造适宜肿瘤生长的微环境, 可正向调节肿瘤增殖、转移及侵袭等<sup>[3-6]</sup>。本研究应用实时定量 PCR 法检测 Sp1 基因的表达, 分析其与大肠癌的临床病理资料之间的关系。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 随机选取 2009 年 6 月至 2012 年 7 月在本院进行手术治疗的大肠癌患者 60 例, 男性 37 例, 女性 23 例; 年龄 41~85 岁, 平均 60 岁。60 例患者经病理确诊为大肠癌, 术前均未接受任何化疗、放疗, 以及其他针对肿瘤的相关治疗, 具有完整的临床资料。分别取 60 例大肠癌患者的癌组织和癌旁正常组织进行研究, 癌旁正常组织取自距肿瘤边缘大于 5 cm 处。

**1.2 仪器与试剂** Sp1 引物序列、总 RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒及管家基因引物均购自日本 TaKaRa 公司; 采用美国 ABI 公司 Step One TM real-time PCR 仪进行实时定量 PCR 检测, 检测试剂盒亦为美国 ABI 公司产品。

#### 1.3 方法

**1.3.1 组织总 RNA 提取** 所有玻璃器皿均需用 0.1% 焦碳

酸二乙酯(DEPC)水溶液在 37 ℃ 下处理 12 h, 然后在 120 ℃ 下高压灭菌 30 min, 以去除残余的 DEPC。无菌水用 0.1% DEPC 处理后, 再进行高温、高压灭菌。大肠癌组织及癌旁正常组织的总 RNA 提取按照试剂盒说明书进行操作。

**1.3.2 实时定量 PCR 检测** 取 3  $\mu\text{g}$  提取的总 RNA 进行实时定量 PCR 检测, 按说明书进行操作。PCR 反应条件为 95 ℃ 30 s, 52 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s, 循环 30 次; 72 ℃ 10 min, 4 ℃ 5 min。Sp1 引物序列: 5'-CGG ATG AGC TAC AGA GGC ACA A-3'(上游), 5'-TCC TCA TGA AGC GCT TAG GAC AC-3'(下游), 扩增片段长度为 84 bp。反应结束后, 通过 Step One TM PCR 软件分析, 按  $\Delta\Delta\text{CT}$  法对目的基因进行相对定量, 大肠癌组织中的 Sp1 mRNA 表达高于相应癌旁正常组织, 则视为阳性; 反之则视为阴性。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS11.5 软件进行统计学处理, 计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示, 组间比较采用  $t$  检验; 计数资料以百分率表述, 采用  $\chi^2$  检验。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 Sp1 mRNA 在大肠癌组织和癌旁正常组织中的表达水平** 大肠癌组织 Sp1 mRNA 相对表达量较癌旁正常组织明显升高, 差异有统计学意义( $P<0.01$ )。见表 1。

**2.2 大肠癌组织中 Sp1 mRNA 的表达与患者临床资料间的关系** 大肠癌组织中 Sp1 mRNA 阳性表达率与患者的年龄

<sup>\*</sup> 基金项目: 山西省自然科学基金资助项目(2013011043-4)。 作者简介: 苗晋华, 女, 主任技师, 主要从事肿瘤分子生物学研究工作。

( $\chi^2=1.176,P=0.252$ )、性别( $\chi^2=0.071,P=0.520$ )、肿瘤部位( $\chi^2=0.148,P=0.229$ )无关,见表 2。

| 表 1 Sp1 mRNA 在不同组织中的表达水平( $\bar{x}\pm s$ ) |          |                |
|--------------------------------------------|----------|----------------|
| 组织类型                                       | <i>n</i> | Sp1 mRNA 相对表达量 |
| 大肠癌组织                                      | 60       | 13.621±2.433*  |
| 癌旁正常组织                                     | 60       | 6.464±1.757    |

\* : $P<0.01$ ,与癌旁正常组织比较。

| 表 2      大肠癌组织中 Sp1 mRNA 的表达与患者<br>临床资料间的关系 |          |                             |           |          |          |
|---------------------------------------------|----------|-----------------------------|-----------|----------|----------|
| 临床资料                                        | <i>n</i> | Sp1 mRNA 表达率[ <i>n</i> (%)] |           | $\chi^2$ | <i>P</i> |
|                                             |          | 阴性                          | 阳性        |          |          |
| 年龄(岁)                                       |          |                             |           |          |          |
| <60                                         | 9        | 3(33.33)                    | 6(66.67)  | 1.176    | 0.252    |
| ≥60                                         | 51       | 9(17.65)                    | 42(82.35) |          |          |
| 性别                                          |          |                             |           |          |          |
| 男性                                          | 37       | 7(18.92)                    | 30(81.08) | 0.071    | 0.520    |
| 女性                                          | 23       | 5(21.74)                    | 18(78.26) |          |          |
| 肿瘤部位                                        |          |                             |           |          |          |
| 结肠                                          | 38       | 6(15.79)                    | 32(84.21) | 1.148    | 0.229    |
| 直肠                                          | 22       | 6(27.27)                    | 16(72.73) |          |          |

2.3 大肠癌组织中 Sp1 mRNA 的表达与患者病理参数的关系 大肠癌组织 Sp1 mRNA 阳性表达率与大肠癌的组织学分级、Duke's 分期、淋巴结转移有关( $P<0.05$ ),见表 3。

| 表 3      大肠癌组织中 Sp1 mRNA 的表达与患者病理参数的关系 |          |                             |           |          |          |
|----------------------------------------|----------|-----------------------------|-----------|----------|----------|
| 临床病理特征                                 | <i>n</i> | Sp1 mRNA 表达率[ <i>n</i> (%)] |           | $\chi^2$ | <i>P</i> |
|                                        |          | 阴性                          | 阳性        |          |          |
| 组织学分类与分级                               |          |                             |           |          |          |
| 鳞癌                                     | 15       | 1(6.67)                     | 14(93.33) | 2.222    | 0.129    |
| 腺癌                                     | 45       | 11(24.44)                   | 34(75.56) |          |          |
| 高分化                                    | 9        | 6(66.67)                    | 3(33.33)  | 11.282   | 0.003    |
| 中分化                                    | 23       | 4(17.39)                    | 19(82.61) |          |          |
| 低分化                                    | 13       | 1(7.69)                     | 12(92.31) |          |          |
| Duke's 分期                              |          |                             |           |          |          |
| A、B 期                                  | 32       | 11(34.37)                   | 21(65.63) | 8.856    | 0.004    |
| C、D 期                                  | 28       | 1(3.57)                     | 27(96.43) |          |          |
| 淋巴结转移                                  |          |                             |           |          |          |
| 有                                      | 29       | 2(6.90)                     | 27(93.10) | 6.023    | 0.014    |
| 无                                      | 31       | 10(32.26)                   | 21(67.74) |          |          |

### 3 讨 论

Sp1 是 Sp 家族中功能活性最强的一种核转录激活因子,具有 DNA 结合区、核定位信号区和转录调控区,其中 DNA 结合区是最保守的区域,其 C 端的锌指结构可特异性识别基因调控区的 GC 及 GT 盒,进而启动转录许多靶基因及其他蛋白质,在肿瘤细胞增殖、分化、侵袭及凋亡等过程中发挥着非常重

要的作用<sup>[7-8]</sup>。在许多肿瘤中已经证实,一些致癌基因能通过 P42/P44 有丝分裂原激活蛋白激酶通路增强 Sp1 的 DNA 结合活性,进而调控下游肿瘤相关基因的异常表达,造成肿瘤细胞增殖、血管生成等恶性表型,最终导致恶性肿瘤的发生、发展<sup>[9-10]</sup>。此外,Sp1 还可与 Bcl-1、Bax 等相关蛋白的启动子结合,通过调控细胞凋亡,造成细胞周期紊乱<sup>[11-12]</sup>。

本研究采用荧光定量 PCR 法,检测 60 例大肠癌患者的癌组织和癌旁正常组织中 Sp1 mRNA 表达,发现大肠癌组织 Sp1 mRNA 相对表达量较癌旁正常组织明显升高,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。

通过分析大肠癌组织 Sp1 mRNA 阳性表达率与不同临床病理资料之间的关系得出,在 Duke's 分期与病理分级较高的癌组织中 Sp1 mRNA 阳性表达率增高,29 例淋巴结转移病例有 27 例存在 Sp1 mRNA 阳性表达,结果表明大肠癌组织 Sp1 mRNA 阳性表达率与大肠癌的组织学分级、Duke's 分期、淋巴结转移有关。

综上所述,Sp1 与大肠癌的发生、发展过程密切相关,可以作为大肠癌患者治疗和预后评价的潜在指标。因此,Sp1 很可能为今后大肠癌治疗和评价预后提供一种新的策略。

### 参考文献

[1] Suske G. The Sp-family of transcription factors[J]. Gene,1999,238(2):291-300.

[2] Kaczynski J,Cook T,Urrutia R. Sp1 and krüppel-like transcription factors[J]. Genome Biol,2003,4(2):206.

[3] Zhou C, Ji J, Cai Q, et al. MTA2 promotes gastric cancer cells invasion and transcriptionally regulated by Sp1[J]. Mol Cancer, 2013,12(1):102-107.

[4] Banerjee S,Sangwan V,Mcginn O, et al. Triptolide-induced cell death in pancreatic cancer is mediated by O-GlcNAc modification of transcription factor Sp1[J]. J Biol Chem,2013,288(47):33927-33938.

[5] Xu H, Ni P, Chen C, et al. SP1 suppresses phorbol 12-myristate 13-acetate induced up-regulation of human regucalcin expression in liver cancer cells[J]. Mol Cell Biochem,2011,355(1/2):9-15.

[6] Yang X,Wang J,Liu S, et al. HSF1 and Sp1 regulate FUT4 gene expression and cell proliferation in breast cancer cells[J]. J Cell Biochem,2014,115(1):168-178.

[7] 梁自文,吴惠玲,罗敏,等. 转录因子 Sp1 在人内皮细胞高表达脂多糖相关因子 1 基因转录中的作用[J]. 第三军医大学学报, 2011,33(21):2249-2251.

[8] French SW,Malone CS,Shen RR, et al. Sp1 transactivation of the TCL1 oncogene[J]. J Biol Chem,2003,278(2):948-955.

[9] Milanini-Mongiat J, Pouyssegur J, Pagès G. Identification of two Sp1 phosphorylation sites for P42/P44 mitogen-activated protein kinases; their implication in vascular endothelial growth factor gene transcription[J]. J Biol Chem,2002,277(23):20631-20639.

[10] Seyed M,Dimario JX. Sp1 is required for transcriptional activation of the fibroblast growth factor receptor 1 gene in neonatal cardiomyocytes[J]. Gene,2007,400(1/2):150-157.

[11] Safe S,Abdelrahim M. Sp transcription factor family and its role in cancer[J]. Eur J Cancer,2005,41(16):2438-2448.

[12] Li L, He S, Sun JM, et al. Gene regulation by Sp1 and Sp3[J]. Biochem Cell Biol,2004,82(4):460-471.