

## · 论 著 ·

# 大肠癌 Sp1 与 CEA 的表达情况及其相关性\*

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 探讨转录因子特化蛋白 1(Sp1)与癌胚抗原(CEA)在大肠癌发生、发展过程中的表达情况及其表达的相关性。**方法** 采用实时荧光定量 PCR 的方法分析 60 例大肠癌组织及正常组织中 Sp1 mRNA 及 CEA mRNA 表达差异, 分析其与患者临床资料、病理参数之间的关系, 分析 Sp1 mRNA 及 CEA mRNA 表达的相关性。**结果** 大肠癌组织 Sp1 与 CEA mRNA 相对表达值(RQ)均显著高于正常组织, 差异均具有统计学意义( $P < 0.01$ ); 大肠癌组织 Sp1 和 CEA mRNA 表达情况与性别、年龄、肿瘤部位差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ); 大肠癌的不同组织学分级及 Dukes 分期中, Sp1 与 CEA 呈现出过表达状态; Sp1 和 CEA 的表达具有相关性( $r = 0.706, P < 0.01$ ), 且呈正相关关系( $0 < r < 1$ )。**结论** 大肠癌组织中 Sp1 和 CEA 的表达均高, 且呈现一定的正相关关系, 提示 Sp1 和 CEA 可能作为肿瘤的诊断和治疗提供新的依据。

**关键词:**大肠癌; 转录因子特化蛋白 1; 癌胚抗原; 聚合酶链反应**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.15.028**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2015)15-2191-03

## The expression of Sp1 and CEA and the correlation between the two factors in colon cancer\*

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

(Department of Clinical Laboratory, the 264th Hospital of PLA, Taiyuan, Shanxi 030001, China)

**Abstract: Objective** To study the expression of transcription factor Sp1 and CEA and the correlation between the two transcription factors in colorectal cancer. **Methods** To detect expression Sp1 and CEA mRNA by Real-Time PCR in 60 colon cancer tissues and corresponding normal tissues and the results were compared with the clinical features and pathological characters. The relationship between the expression of Sp1 mRNA and CEA mRNA in 60 colon cancer tissues was determined. **Results** The expression rates of Sp1 and CEA mRNA was detectable to highly expressed rates in colon cancer tissues than the matched normal tissues ( $P < 0.01$ ). There was no significant correlation between Sp1 and CEA mRNA expression in age, sex, tumor location ( $P > 0.05$ ). Sp1 and CEA mRNA was detectable to highly expressed in the different histological grade and Dukes stages. In addition, a positive correlation was found between the expression of Sp1 mRNA and CEA mRNA ( $r = 0.706, P < 0.01$ ,  $0 < r < 1$ ). **Conclusion** Sp1 and CEA was detectable to highly expressed in colon cancer. Positively correlation occurred in Sp1 mRNA and CEA mRNA indicated that Sp1 and CEA provide the new clues of genetic diagnosis and treatment.

**Key words:**colon cancer; transcription specificity protein 1; carcinoembryonic antigen; polymerase chain reaction

国内外研究表明, 转录因子特化蛋白 1(Sp1)在大多数肿瘤中被认为是一种癌基因<sup>[1]</sup>, 在众多肿瘤中均呈现出异常表达和活化<sup>[2]</sup>。癌胚抗原(CEA)<sup>[3]</sup>最早分离于人结肠癌, 后研究发现在多种癌症时其水平均有明显升高, 是一种广谱肿瘤标志物, 已将其作为大肠癌的诊断、治疗和预后判断的监测指标。随着分子生物学研究的进展, 检测肿瘤相关 mRNA 的表达, 对肿瘤的诊断、监测等方面显示出了更高的特异度和敏感度。研究者联合检测癌组织中的 Sp1 和 CEA mRNA 水平, 旨在探讨其在大肠癌组织中表达情况及相关性, 为临床的治疗提供科学的依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 随机选取 60 例经病理确诊的大肠癌患者癌组织切除及相应的癌旁的正常组织。标本进行实验-对照研究。组织来源于 2009 年 6 月至 2014 年 7 月期间在中国人民解放军第二六四医院进行手术治疗的患者, 术前均未接受任何化疗、放疗及其他针对肿瘤的相关治疗等。正常大肠组织取自距肿瘤边缘至少 5 cm 以外部位, 均经病理确认为正常组织(正常组织组)。60 例大肠癌患者(大肠癌组)中男 37 例, 女 23 例, 年龄 41~85 岁, 平均年龄 60 岁。

**1.2 仪器与试剂** RT-PCR 试剂盒及 GAPDH 引物(Hs002)购自日本 TaKaRa 公司, Sp1 与 CEA 引物序列均由日本 TaKaRa 公司合成; Fast SYBR Green Master Mix 及 PCR 相关耗材购自美国 ABI 公司。美国 ABI 公司 StepOne™ Real-time PCR 仪。

## 1.3 方法

**1.3.1 组织总 RNA 提取** 所有溶液加 DEPC 至浓度为 0.1%, 振荡混匀 37 °C 过夜, 所有 EP 管、微量加样枪尖使用前用 0.1% DEPC 水浸泡室温过夜, 经高压( $1.034 \times 10^5$  Pa, 20 min)灭菌后使用。研钵清洗干净后, 250 °C 高温烘烤 6 h。超净工作台在使用前紫外灯消毒 20 min, 所有操作在超净工作台上操作。操作过程遵照说明书执行, 提取的总 RNA, 保存于 -70 °C 备用。

**1.3.2 荧光定量 PCR** 所有反应遵照说明书进行操作, 反应结束后, 使用 ABI 公司 Step One™ 软件中比较 CT( $\Delta\Delta CT$ )定量方法进行分析。通地 mRNA 表达水平经数值转换、GAPDH 内参照校正, 以正常组织组为对照样本, 含有水或缓冲液不含模板的样本作为阴性对照, 分别计算出各组 Sp1 与 CEA mRNA 相对表达量(Relative Quantitative, RQ)。

\* 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研究。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS11.5 软件对数据进行处理,两组间连续变量比较用 *t* 检验,以  $\bar{x} \pm s$  表示;不同临床、病理特征下肿瘤组织 Sp1 与 CEA mRNA 表达率的比较进行  $\chi^2$  检验,Sp1 与 CEA 的相关性采用 Spearman's rho test 方法,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 Sp1 与 CEA mRNA 的 RQ 比较** 大肠癌组中 Sp1 ( $13.621 \pm 2.433$ ) 与 CEA mRNA 的表达水平 ( $16.421 \pm 4.987$ ), 相对于正常组织组 Sp1 ( $6.464 \pm 1.757$ )、CEA mRNA 的表达水平 ( $2.219 \pm 1.313$ ) 均显著升高, 差异均具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。

**2.2 Sp1 与 CEA mRNA 的表达的相关性及与不同患者临床资料间的关系** 大肠癌组织中 Sp1 mRNA 高于相应癌旁正常组织, 则视为阳性(+), 反之为阴性(-), 本组 60 例大肠癌患者中 Sp1 的阳性表达率为 80.00%; 同样以 CEA mRNA 高于相应癌旁正常组织, 则视为阳性(+), 反之为阴性(-), 本组 60 例大肠癌患者中 CEA 的阳性表达率为 73.33%。如表 1 所示, 大肠癌组织中 Sp1 与 CEA mRNA 表达率在患者年龄、性别、肿瘤部位均差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表 1 Sp1 与 CEA mRNA 的表达与不同临床资料间的关系(*n*)

临床资料	n	Sp1		CEA	
		+	-	+	-
<b>年龄(岁)</b>					
<60	9	6	3	8	1
≥60	51	42	9	45	6
<b>性别</b>					
男性	37	30	7	33	4
女性	23	18	5	20	3
<b>肿瘤部位</b>					
结肠	38	32	6	34	4
直肠	22	16	6	19	3

表 2 Sp1 与 Sp1 mRNA 的表达与不同病理参数间的关系(*n*)

临床病理学参数	n	Sp1		CEA	
		+	-	+	-
<b>组织学分类</b>					
鳞癌	15	14	1	12	3
腺癌	45	34	11	32	13
高分化	9	3	6	3	6
中分化	23	19	4	18	5
低分化	13	12	1	11	2
<b>Dukes 分期</b>					
A、B	32	21	11	19	13
C、D	28	27	1	25	3
<b>淋巴转移</b>					
是	29	27	2	26	4
否	31	21	10	19	12

**2.3 Sp1 与 CEA mRNA 的表达的相关性及与不同患者病理参数间的关系** 如表 2 所示, 大肠癌组织 Sp1 和 CEA mRNA 表达率在组织学分类上差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 但在腺癌分级中的高分化、中分化、低分化三组间 Sp1 和 CEA 的表达率比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 且随着组织分化级别越低, Sp1 和 CEA 表达率逐渐增高; 在 Dukes A、B 期及 C、D 期患者中, Sp1 和 CEA mRNA 表达率逐渐增高。淋巴结有转移组中, Sp1 mRNA 及 CEA mRNA 表达要高于无转移组, 二者相比差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。60 例大肠癌中 Sp1 和 CEA 的表达具有相关性 ( $r = 0.706, P = 0.002$ ), 且呈正相关关系 ( $0 < r < 1$ )。结果表明, 在大肠癌中 Sp1 与 CEA 均呈现出过表达状态, 二者与大肠癌的组织学分级及 Dukes 分期密切相关。

## 3 讨 论

Sp1 是一个普遍存在于哺乳动物细胞中的转录调节因子, 它在保证持家基因、组织特异性表达基因和病毒基因正确表达过程中起重要作用<sup>[4-5]</sup>。Sp1 与许多靶基因的启动转录有关, 参与几乎所有的细胞功能, 在细胞增生、凋亡、分化和肿瘤形成等过程中起非常重要的作用<sup>[6-8]</sup>。

Zhou 等<sup>[9]</sup>研究发现, Sp1 在胃癌组织中表达活性明显升高, Sp1 可通过激活 MTA2 启动子区域 -1 043~ -843 bp 进促进胃癌细胞的迁移和侵袭, 并与患者生存期呈负相关, Cox 风险分析表明, Sp1 可作为胃癌患者生存时间的独立预测因素。Zannetti 等<sup>[10]</sup>发现用特异性 decoy 核酸抑制 Sp1 的活性可以抑制乳腺癌细胞的侵袭性。Maor 等<sup>[11]</sup>发现 Sp1 通过与雌激素受体 α 协同作用调控下游基因的表达促进人乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖。Sp1 介导的转录调节涉及许多与肿瘤有关的信号转录通路, 这直接会影响肿瘤的发生发展及预后。

CEA 是有代表性的肿瘤标志物早已用于临床<sup>[12]</sup>, 但因其敏感性较低, 在癌症的早期诊断及预后监测中的应用还有一定的局限性。本研究采用荧光定量 PCR 法检测 60 例散发性大肠癌组织、相应的正常组织 mRNA 表达发现, CEA mRNA 在 60 例癌旁正常组织中均有表达, 而 60 例大肠癌组织中有 44 例 (73.33%) CEA mRNA 表达异常升高, CEA mRNA 在大肠癌组织及正常组织的表达差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。

CEA 与 Sp1 mRNA 表达水平与大肠癌的分期、组织学类型等具体病理参数之间的关系通过统计学来分析, 结果表明在大肠癌组织中确实存在 Sp1 与 CEA mRNA 表达升高的现象, 在 Duke's 分期与病理分级患者癌组织中 Sp1 与 CEA 的表达随着分化级别的降低而升高, 说明 Sp1 与 CEA 表达上调可能在多种恶性肿瘤中存在, 是导致大肠癌等多种恶性肿瘤发生发展的重要因素之一。在 60 例大肠癌组织中, CEA 与 Sp1 的表达具有相关性, 且呈正相关, 说明 CEA 与 Sp1 的表达上调可能同时存在于大肠癌的发生发展过程中, 与大肠癌的发生密切相关, 可能是大肠癌发生过程中的早期事件, 预示大肠癌的发生并促进大肠癌的发生、发展, 同时可以作为大肠癌患者治疗和预后评价的潜在指标, 因此, CEA 与 Sp1 可能是肿瘤基因治疗一个新的靶点, 在肿瘤的防治研究中具有一定的应用前景。

## 参 考 文 献

- [1] 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.

(下转第 2196 页)

作为用来辅助诊断先天性甲状腺功能低下症的方法,对于血片中 hTSH 测定是在使用切值的基础上进行的,此方法可以区分甲状腺功能正常和先天性甲状腺功能低下症<sup>[10]</sup>。因此,筛查切值的确定是否适合,将直接影响筛查工作质量<sup>[11-12]</sup>,在上述比较符合作静脉血片常规筛查实验切值的3个切值中,若以夏季 hTSH P<sub>99</sub> 值 8.38 μU/mL 作为切值,虽然无漏筛现象,但其假阳性率高达 100.00%,诊断符合率太低,仅为 3.14%,假阳性增多,诊断符合率低,不仅会增加新筛中心的成本费用和工作人员工作量,而且会给婴儿家庭带来较大的经济和精神负担。因此,该切值在实际筛查工作中不宜选用。若用本中心足跟末稍血 hTSH 切值 8.50 μU/mL 进行静脉血片筛查,由于其值低于春季 hTSH P<sub>99</sub> 值 9.20 μU/mL,虽然其灵敏度为 100.00%,假阴性率为 0.00%,但其相对于春季 hTSH P<sub>99</sub> 值假阳性率增加 30%,且其特异度和诊断符率也相对低了许多,因此,认为本中心的末稍血片筛查切值虽然适用于静脉血片常规筛查实验切值,但不是理想切值。经权衡,本中心选择了灵敏度为 100.00%,特异度为 36.80%,诊断符合率为 38.96%,无漏诊现象的受环境因素影响较少的春季 hTSH P<sub>99</sub> 值 9.20 μU/mL,作为静脉血片常规筛查实验切值,采用此切值,经实践证明,能有效地避免漏筛,增加的假阳性数可以接受。

为优化服务流程,依据初筛阳性结果 hTSH 浓度 9~10 μU/mL 组段,10~20 μU/mL 组段,诊断率很低只有 0.22%,2.92%,当至 20~30 μU/mL 组段时,其诊断率明显升高,达 22.85%,随后的各组段诊断率更高的分布特点,进一步将 hTSH 浓度 9.20~20 μU/mL 设定为边界区,大于 20 μU/mL 设定为高危区,根据边界区和高危区,选择不同的召回方式,若 hTSH 检测结果在边界区,就通知家属带小孩到就近新生儿筛查采血医院采血,然后递送至新筛中心复查,若 hTSH 检测结果在高危区,直接召回可疑阳性儿至新筛中心抽静脉血进行实验诊断,这样给就医者提供方便、快捷、人性化的医疗服务,极大地提高了本筛查中心初筛阳性召回率,并有效地促进了本市

(上接第 2192 页)

- [2] Sachita K, Yu HJ, Yun JW, et al. YM155 induces apoptosis through downregulation of specificity protein 1 and myeloid cell leukemia-1 in human oral cancer cell lines[J]. *J Oral Pathol Med*, 2014, 20(1): 12299-13019.
- [3] Gold P, Freedman SO. Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system[J]. *J Exp Med*, 1965, 122(3): 467.
- [4] Yang X, Wang J, Liu S, et al. HSF1 and Sp1 regulate FUT4 gene expression and cell proliferation in breast cancer cell[J]. *J Cell Biochem*, 2014, 115(1): 168-178.
- [5] Luo J, Wang X, Xia Z, et al. Transcriptional factor specificity protein 1(SP1) promotes the proliferation of glioma cells by upregulating midkine(MDK)[J]. *Mol Biol Cell*, 2014, 22(1): 1443.
- [6] Lee RH, Shin JC, Kim KH, et al. Apoptotic effects of 7,8-dihydroxyflavone in human oral squamous cancer cells through suppression of Sp1[J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(2): 631-638.
- [7] Sachita K, Yu HJ, Yun JW, et al. YM155 induces apoptosis through downregulation of specificity protein 1 and myeloid cell leukemia-1 in human oral cancer cell lines[J]. *J Oral Pathol Med*, 2014, 20(1): 12299.

新筛工作地发展。

## 参考文献

- [1] 马妍丽,秦良谊,唐玉娣,等. 新生儿筛查 TSH 切值的应用研究 [J]. 中国妇儿保健, 2006, 21(15): 2099-2100.
- [2] 钟塑,王治国,王薇,等. 全国 2009 年新生儿遗传代谢病筛查项目切值分析[J]. 中国儿童保健杂志, 2010, 18(12): 982-984.
- [3] 中华医学会儿科分会内分泌遗传代谢学组,中华预防医学会儿童保健分会新生儿疾病筛查学组. 先天性甲状腺功能减低症诊疗共识[J]. 中华儿科杂志, 2011, 49(6): 421-424.
- [4] 黄志华,王枫,徐小兰,等. 江西地区季节变化对干血片促甲状腺素切值制定的影响[J]. 实验与检验医学, 2012, 30(3): 299-300.
- [5] 蒋翔,江剑辉,李蓓,等. 出生季节对新生儿筛查促甲状腺素水平及先天性甲状腺功能低下发病率的影响[J]. 广州医学, 2013, 34(5): 772-773.
- [6] 陈志红,李堂. 早产儿甲状腺功能检测及分析[J]. 中国实用儿科杂志, 2005, 20(7): 413-414.
- [7] 周素芽,陈清. 早产儿甲状腺功能检测及临床意义[J]. 中国现代医生, 2011, 49(33): 140-141.
- [8] 陈卫中,倪宗璇,潘晓平,等. 用 ROC 曲线确定最佳临界点和可疑值范围[J]. 现代预防医学, 2005, 32(7): 729-731.
- [9] 王枫,刘淮,杨莉莉,等. 新生儿先天性甲低筛查中 TSH 召回参考值制定方法的比较[J]. 中国优生与遗传杂志, 2005, 13(8): 78-80.
- [10] American Academy of Pediatrics. Newborn screening for congenital hypothyroidism: Recommended guideline[J]. *Pediatrics*, 1993, 91(6): 1203-1209.
- [11] 薛淑媛,唐静,刘宁,等. 新生儿先天性甲状腺功能低下症 TSH 切值的研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2012, 20(3): 75-76.
- [12] 范歆,陈少科,林彩娟,等. 广西先天性甲状腺功能减退症新生儿筛查分析及切值的探讨[J]. 中国儿童保健杂志, 2012, 20(3): 248-250.

(收稿日期:2015-05-11)

- [8] Choi ES, Nam JS, Jung JY, et al. Modulation of specificity protein 1 by mithramycin A as a novel therapeutic strategy for cervical cancer[J]. *Sci Rep*, 2014, 24(4): 7162.
- [9] Zhou C, Ji J, Cai Q, et al. MTA2 promotes gastric cancer cells invasion and is transcriptionally regulated by Sp1[J]. *Molecular Cancer*, 2013, 12(1): 102.
- [10] Zannetti A, Del Vecchio S, Romanelli A, et al. Inhibition of Sp1 activity by a decoy PNA-DNA chimera prevents urokinase receptor expression and migration of breast cancer cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2005, 70(9): 1277-1287.
- [11] Maor S, Mayer D, Yarden RI, et al. Estrogen receptor regulates insulin-like growth factor-I receptor gene expression in breast tumor cells; involvement of transcription factor Sp1[J]. *J Endocrinol*, 2006, 91(3): 605-612.
- [12] Vukobrat-Bijedic Z, Husic-Selimovic A, Sofic A, et al. Cancer antigens(CEA and CA 19-9) as markers of advanced stage of colorectal carcinoma[J]. *Med Arch*, 2013, 67(6): 397-401.

(收稿日期:2015-03-23)