

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2012.01.010

岩藻糖转移酶 9 在子宫颈癌中的表达及临床分析

张珊珊

(济宁医学院附属济宁市第一人民医院, 山东 济宁 272011)

摘要 目的 探讨岩藻糖转移酶 9($\alpha(1,3)$ fucosyltransferase 9, FUT9)在宫颈癌组织中的表达及与转移之间的关系。**方法** 应用免疫组织化学 SP 法检测 60 例宫颈癌(其中 21 例合并转移淋巴结, 39 例无转移淋巴结)和 10 例子宫颈炎组织中 FUT9 的表达。**结果** FUT9 在子宫颈癌组织中的阳性表达率为 76.7%(46/60), 其中在转移的淋巴结中阳性表达率为 100%(21/21), 而在子宫颈炎组织中表达阳性率仅为 10%(1/10)。子宫颈癌组织中阳性表达率明显高于良性宫颈病变组织, 两组比较有显著性差异($P < 0.01$)。有淋巴结转移的宫颈癌组织中的阳性表达率为 85.7%(18/21), 明显高于无淋巴结转移组的阳性表达率 71.8%(28/39), 两组比较有显著性差异($P < 0.05$)。有淋巴结转移组的 FUT9 表达与 TNM 分期以及转移的淋巴结个数相关($P < 0.05$)。**结论** FUT9 在子宫颈癌组织的表达明显增高, FUT9 可能与子宫颈癌淋巴道转移有关。

关键词 子宫颈癌; 岩藻糖转移酶 9; 表达

中图分类号: R711.74 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-9760(2012)02-033-03

The expression of fucosyltransferase 9 and its clinical analysis in human cancer of cervix

ZHANG Shan-shan

(Affiliated Jining First People's Hospital of Jining Medical University, Jining 272011, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of the fucosyltransferase 9 and its metastasis in human cancer of cervix. **Methods** FUT9 expression was detected by SP immunohistochemistry in 60 specimens of human cancer of cervix (among these specimens 21 have lymph node metastasis and 39 have no metastasis) and 10 specimens of cervicitis tissue. **Results** The positive rate of FUT9 was 76.7% (46/60) in the human cancer of cervix specimens, and 100% (21/21) in the metastasis lymph node. The positive rate of FUT9 in 10 specimens of cervicitis tissue was only 9.1% (1/10). The differences of two sets have statistical significance ($P < 0.01$). Among the cancer of cervix specimens, the positive rate of FUT9 was 85.7% (18/21) in the lymph node metastasis set, and 71.8% (28/39) in the no lymph node metastasis. The differences of two sets have statistical significance ($P < 0.05$). The expression of FUT9 was correlated with TNM stage or the positive lymph nodes ($P < 0.05$) in the lymph node metastasis. **Conclusion** FUT9 is highly expressed in human cancer of cervix, and related to lymph node metastasis, the positive lymph nodes and TNM stage. FUT9 may be strongly correlated with the process of human cancer of cervix's lymphatic metastasis.

Key words: Breast neoplasm; Fucosyltransferase9; Expression

子宫颈癌是妇女最常见的恶性肿瘤, 每年全球约有 50 万新增子宫颈癌患者, 死亡率占妇科肿瘤第 1 位, 严重威胁着妇女身心健康^[1]。但目前与子宫颈癌有关的标志物的研究仍比较滞后, 其发病原因仍未明确。因此开展子宫颈癌浸润和转移分子机制的探讨, 对子宫颈癌的预防、诊断及治疗具有重要意义。人类 $\alpha-1,3$ 岩藻糖转移酶家族多个成

员如 FUT7、FUT8, 已证实与肿瘤的发生关系密切, 岩藻糖转移酶 9 (fucosyltransferase9, FUT9) 作为这个家族新成员, 近年来的研究多集中在血管生成、肿瘤生长、细胞凋亡^[2]、免疫应答的调节^[3]等方面。然而对于 FUT9 在子宫颈癌浸润及转移方面的研究, 国内外报道很少。本研究利用免疫组织化学法探讨 FUT9 在子宫颈癌的表达及其与转移

的关系,为阐述子宫颈癌的发生、发展、浸润和转移机制提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源

收集济宁市第一人民医院 2009 年 1 月至 2010 年 6 月期间 60 例子宫颈癌根治术切除的标本,其中伴有淋巴结转移者 21 例,无淋巴结转移者 39 例。患者年龄在 26~80 岁之间,中位年龄 46 岁;术后病理均确诊为宫颈鳞状上皮癌;所有患者术前均未行放疗、化疗及激素治疗。同时选取 10 例子宫颈炎性组织作对照。组织标本经 10% 的福尔马林固定,石蜡包埋,4 μ m 厚连续切片。

1.2 主要试剂

兔抗人岩藻糖转移酶 9 (FUT9) (catalog No. BA 2382) 购于 BOSTER 公司,免疫组织化学链霉素标记的抗兔二抗和辣根酶标记链霉卵白素工作液购于北京中杉金桥生物技术有限公司,显色试剂盒(DAB-kit)购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 方法

免疫组织化学步骤如下:石蜡切片,常规脱蜡脱水,枸橼酸盐抗原修复 15min,3% H₂O₂ 浸泡 10min,3% 正常羊血清封闭 20min,一抗 4℃ 过夜,生物素化标记的二抗 37℃ 孵育 15min,辣根酶标记链霉卵白素 37℃ 孵育 15min,DAB 显色,苏木精复染,脱水封片。以 0.01mol/L PBS 液代替一抗作为阴性对照。

1.4 阳性结果判断

结果判定采用 9 分制^[4];每个标本均在 Olympus 显微镜 10×20 倍下选取 FUT9 阳性癌细胞最密集区,随机观察 10 个视野,每个视野中计数肿瘤细胞的阳性细胞百分率,然后取其平均值,并计分,其标准为:阳性细胞率≤10% 为 0 分,<25% 为 1 分,25~50% 为 2 分,>50% 为 3 分;按染色程度:0 分为不显色或显色不清,1 分为淡黄色,2 分为中度黄色,3 分为棕黄色。根据“阳性细胞得分×染色程度得分”计算总分。总分<3 分为阴性,3 分≤总分<6 分为阳性(+),总分≥6 分为强阳性(++)。

1.5 统计学分析

各组数据间的比较采用 χ^2 检验,相关分析采用 Spearman's 法。所有统计资料均采用 SPSS15.0 for Windows 软件进行分析。以 $P=0.05$ 作为差异有显著性的标准。

2 结果

2.1 FUT9 在宫颈癌组织及转移的淋巴结和子宫颈炎组织中的表达

FUT9 主要在子宫颈癌原发灶和淋巴结转移灶的细胞膜着色,胞浆中少量着色,呈棕黄色颗粒,均一弥散分布。FUT9 在宫颈癌原发灶中阳性表达率为 76.7%(46/60),在淋巴结转移灶中阳性表达率为 100%(21/21),而在子宫颈炎组织中性表达率为 10%(1/10),子宫颈癌组织中表达率明显高于子宫颈良性病变,二者差异有显著性($\chi^2=17.358, P<0.01$)。子宫颈癌伴有淋巴结转移组中 FUT9 的阳性表达率为 85.7%(18/21),而无淋巴结转移组表达阳性率为 71.8%(28/39),子宫颈癌伴有淋巴结转移组表达率明显高于无淋巴结转移组,两组差异有显著性($\chi^2=3.632, P<0.05$),见表 1。

表 1 FUT9 在宫颈炎和宫颈癌组织中的表达

项目	n	FUT9 的表达			χ^2 值	P
		+	++	+++		
宫颈炎组织	10	9	1	0		
宫颈癌	60	14	30	16	17.358	<0.01
无转移	39	11	16	12		
有转移	21	3	14	4	3.632	>0.05
转移的淋巴结	21	0	7	14		
淋巴结阳性数	21					
≤3	9	5	3	1		
>3	11	2	6	3	3.117	>0.05
TNM 分期	21					
I	9	4	3	2		
II	8	3	3	2		
III	4	0	1	3	4.417	>0.05

2.2 FUT9 的表达与子宫颈癌转移的关系

选取的子宫颈癌标本中 FUT9 与转移的淋巴结个数($r=0.367, P<0.05$)以及 TNM 分期($r=0.389, P<0.05$)的表达成正相关。

3 讨论

在以往的研究发现,岩藻糖转移酶基因能催化核心岩藻糖基化,这是糖蛋白重要的翻译后修饰和功能调控的一种方式^[5],直接影响细胞表达的一系列生物学特性,而这种糖基化的异常改变又往往引发疾病。

FUT9^[6]是一种跨膜蛋白,已发现在染色体 6q16^[7]定位,在胚胎形成两个月就有很强的表

达^[8],它的 mRNA 长为 12815bp,蛋白由 359 个氨基酸组成。Shoko Nishihara 等的研究表明,FUT9 其可能是在脑中合成 Lewis X 最重要的酶之一^[9]。近年来,FUT9 的研究主要集中在脑和神经系统方面,而其对肿瘤的侵袭和转移方面的影响研究很少。本研究运用免疫组化初步探讨其与子宫颈癌之间的关系,并以子宫颈炎作为对照。

本文发现 FUT9 主要是在宫颈癌原发灶和转移淋巴结中癌细胞的细胞膜着色明显,胞浆中少量着色。宫颈癌组织中 FUT9 表达率明显高于子宫颈炎组织,且有转移组比无转移组表达强,差异有统计学意义($P < 0.05$)。并且在宫颈癌合并淋巴结转移组,FUT9 的表达与宫颈癌的 TNM 分期,淋巴结的转移个数呈正相关($P < 0.05$),即 TNM 分期越高,淋巴结转移数目越多,FUT9 表达越强,从以上结果可以提示 FUT9 的表达可能与宫颈癌的侵袭转移有密切关系。

根据以往研究,我们推测其可能发生的机制是 FUT9 决定了 Lewis X 的表达,其可能优先岩藻糖基化多克隆乳糖链的远端 GlcNAc^[10],从而合成 Lewis X 糖原表位,Lewis X 抗原可能与内皮细胞表面的清道夫受体 C 型凝集素(the scavenger receptor C-type lectin,SRCL)结合,导致溶细胞作用^[11],从而促进宫颈癌的淋巴转移。

综上所述,本研究表明 FUT9 的表达与宫颈癌的淋巴道转移存在密切关系,阻断其表达可能成为一种新的临床治疗靶点,这将有利于我们对该肿瘤的诊治。

参考文献:

- [1] 郝瑞凤,王培玉. 宫颈癌流行病学及高危因素探讨[J]. 医学综述,2009,15(10):1495-1498.
- [2] Yutaro A,Yoshikazu K,Hirohata S,et al. Increased Expression of Lewis X and Y Antigens on the Cell Surface and FUT

4 mRNA during Granzyme B-Induced Jurkat Cell Apoptosis [J]. Biol Pharm Bull,2007,30(4):655-660.

- [3] Valentina B,Andrea H,Birgit K,et al. CEACAM1,an adhesion molecule of human granulocytes,is fucosylated by fucosyltransferase IX and interacts with DC-SIGN of dendritic cells via Lewis x residues[J]. Glycobiology,2006,16(3):197-209.
- [4] Miyazaki T,Kato H,Fukuchi M,et al. EphA2 overexpression correlations with poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Int J Cancer,2003,103(5):657-663.
- [5] Ihara H,Ikeda Y,Taniguchi N. Reaction mechanism and substrate specificity for nucleotide sugar of mammalian α 1,6-fucosyltransferase—a large-scale preparation and characterization of recombinant human FUT8[J]. Glycobiology,2006,16:333-342.
- [6] 李红,孔英,严滨,等. 卵巢激素对入子宫内腺 FUT9 基因表达的调控[J]. 生物化学与生物物理学报,2002,34(6):775-779.
- [7] Kaneko M,Kudo T,Iwasaki H,et al. Assignment of the human α 1,3-fucosyltransferase IX gene(FUT9)to chromosome band 6q16 by in situ hybridization[J]. Cytogenet Cell Genet,1999,86(3-4):329-330.
- [8] Anne CT,Philippe C,Jean-Jacques C,et al. FUT4 and FUT9 genes are expressed early in human embryogenesis [J]. Glycobiology,2000,10(8):789-802.
- [9] Shoko N,Hiroko I,Kazuyuki N,et al. α 1,3-Fucosyltransferase IX(Fut9)determines Lewis X expression in brain[J]. Glycobiology,2003,13(6):445-455.
- [10] Shoko N,Hiroko I,Mika K,et al. α 1,3-Fucosyltransferase 9 (FUT9;Fuc-TIX)preferentially fucosylates the distal GlcNAc residue of polylactosamine chain while the other four α 1,3FUT members preferentially fucosylate the inner GlcNAc residue[J]. FEBS Letters,1999,462:289-294.
- [11] Maria T,Mariana M,Mariana I,et al. Lewis x antigen mediates adhesion of human breast carcinoma cells to activated endothelium. Possible involvement of the endothelial scavenger receptor C-type lectin[J]. Breast Cancer Res Treat,2007,101:161~174.

(收稿日期 2012-01-11)

(上接第 32 页)

- [2] Tse KP,Tsang NM,Chen KD,et al. MCP-1 promoter polymorphism at 2518 is associated with metastasis of nasopharyngeal carcinoma after treatment[J]. Clin Cancer Res,2007,13:6320-6324.
- [3] Campion L,Shi F,Kaiser E,et al. Neutralizing CCL2 inhibits breast tumor growth via impact on the tumor/stroma micro-environment. Cancer Res,2009,69:6095-6099.
- [4] Kogam,Kaih,Egamik,et al. Mutant MCP-1 therapy inhibits tumor angiogenesis and growth of malignant melanoma in mice[J]. Biochem biophys Res Commun,2008,365(2):279-

284.

- [5] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2007:103-121,130-131.
- [6] 陈琦,雷家琼,邹友琼,等. 恶性血液病及实体瘤患者 sIL-2R 的动态研究[J]. 贵州医药,2003,27(2):110-111.
- [7] G Mazur,T Wrobel,A Butrym. Increased monocyte chemoattractant protein (MCP-1/CCL-2) serum level in acute myeloid Leukemia[J]. NEOPLASMA,2007,54(4):285-289.
- [8] 张海国,叶翎. 急性白血病患者脑脊液中 MCP-1、sIL-2R 检测及临床意义[J]. 济宁医学院学报,2009,32(1):33-34.

(收稿日期 2011-12-23)