

Mina53在结肠癌组织中的表达意义及与肿瘤增殖的关系

谭小平, 何长华, 朱燕妮, 张庆, 肖安华, 左绪艳, 周艳, 董卫国

谭小平, 何长华, 朱燕妮, 肖安华, 左绪艳, 周艳, 长江大学附属第一人民医院消化内科 湖北省荆州市 434000

张庆, 长江大学临床医学院 湖北省荆州市 434000

董卫国, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060

作者贡献分布: 董卫国与谭小平对此文所作贡献均等; 此课题由董卫国与谭小平设计; 研究过程由谭小平、何长华、朱燕妮、张庆、肖安华、左绪艳、周艳及董卫国操作完成; 数据分析由董卫国、张庆及谭小平完成; 本论文写作由董卫国与谭小平完成。

通讯作者: 董卫国, 教授, 430060, 湖北省武汉市, 武汉大学人民医院消化内科. dongwg66@yahoo.com.cn

收稿日期: 2010-10-19 修回日期: 2010-12-04

接受日期: 2010-12-21 在线出版日期: 2011-02-08

Significance of expression of Mina53 in colon cancer

Xiao-Ping Tan, Chang-Hua He, Yan-Ni Zhu, Qing Zhang, An-Hua Xiao, Xu-Yan Zuo, Yan Zhou, Wei-Guo Dong

Xiao-Ping Tan, Chang-Hua He, Yan-Ni Zhu, An-Hua Xiao, Xu-Yan Zuo, Yan Zhou, Department of Gastroenterology, Jingzhou First People's Hospital Affiliated to Yangtze University, Jingzhou 434000, Hubei Province, China

Qing Zhang, Clinical Medical College of Yangtze University, Jingzhou 434000, Hubei Province, China

Wei-Guo Dong, Wuhan Renmin Hospital, Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Correspondence to: Professor Wei-Guo Dong, Wuhan Renmin Hospital, Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China. dongwg66@yahoo.com.cn

Received: 2010-10-19 Revised: 2010-12-04

Accepted: 2010-12-21 Published online: 2011-02-08

Abstract

AIM: To detect the expression of Mina53 (myc-induced nuclear antigen with a molecular mass of 53 000 Da) and to analyze its clinical significance in colon cancer.

METHODS: The expression of Mina53 and Ki67 mRNAs was detected by real-time PCR in 51 colon cancer samples, 19 colon adenoma samples, and 20 normal colon tissue samples.

RESULTS: The expression level of Mina53 in colon cancer was significantly higher than those in colon adenoma and normal colon tissue (1.369 ± 0.874 vs 0.453 ± 0.233 , 0.347 ± 0.128 , both $P < 0.05$). Mina53 expression was significantly associated with tumor differentiation, Dukes stage, distant metastasis, and lymph node metastasis

in colon cancer (all $P < 0.05$). Mina53 expression was positively associated with Ki67 expression in colon cancer ($r = 0.727$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: Mina53 was overexpressed in colon cancer, which may be associated with tumor proliferation. Mina53 may play an important role in the carcinogenesis of colon carcinoma.

Key Words: Colon cancer; Mina53; Ki67; Real-time PCR

Tan XP, He CH, Zhu YN, Zhang Q, Xiao AH, Zuo XY, Zhou Y, Dong WG. Significance of expression of Mina53 in colon cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(4): 421-424

摘要

目的: 研究Mina53在结肠癌中的表达及与临床病理特征和肿瘤增殖活性的关系。

方法: 运用实时定量PCR分别检测51例结肠癌、19例结肠腺瘤和20例正常结肠组织Mina53 mRNA的表达, 及结肠癌组织中Ki67 mRNA的表达。

结果: 结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠组织中Mina53 mRNA的表达水平分别为 1.369 ± 0.874 、 0.453 ± 0.233 、 0.347 ± 0.128 , 结肠癌组织Mina53 mRNA的表达明显高于结肠腺瘤及正常结肠组织; 而与肿瘤的组织分化程度、临床分期、远处转移和淋巴结转移均相关(均 $P < 0.05$); 结肠癌中Ki67 mRNA表达水平为 1.117 ± 0.805 , 通过相关分析Mina53 mRNA的表达与Ki67 mRNA呈正相关($r = 0.727$, $P < 0.01$)。

结论: Mina53在结肠癌中高表达, 其表达与肿瘤的增殖活性相关, 在结肠癌发生发展中Mina53可能起着重要作用。

关键词: 结肠癌; Mina53; Ki67; 实时定量PCR

谭小平, 何长华, 朱燕妮, 张庆, 肖安华, 左绪艳, 周艳, 董卫国. Mina53在结肠癌组织中的表达意义及与肿瘤增殖的关系. *世界华人消化杂志* 2011; 19(4): 421-424

■背景资料

结肠癌的生长、分化及转移等生物学特性具有非常复杂的分子基础, 原癌基因的激活及抑癌基因失活, 细胞周期改变和细胞生长分化调控紊乱均与结肠癌发生有关。Myc是一种重要的原癌基因, 它具有促进细胞增殖和肿瘤血管生成的作用, 可降低基因组稳定性, 并且与细胞分化、凋亡及周期调控密切相关。

■同行评议者

黄培林, 教授, 东南大学

■应用要点

Mina53在结肠癌中高表达,其表达与肿瘤的增殖活性相关,在结肠癌发生发展中Mina53可能起着重要作用。

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/421.asp>

0 引言

结肠癌的生长、分化及转移等生物学特性具有非常复杂的分子基础,原癌基因的激活及抑癌基因失活,细胞周期改变和细胞生长分化调控紊乱均与结肠癌发生有关。Myc是一种重要的原癌基因,它具有促进细胞增殖和肿瘤血管生成的作用,可降低基因组稳定性,并且与细胞分化、凋亡及周期调控密切相关^[1,2]。Mina53为Myc诱导核抗原,相对分子质量为53 000 Da,是Myc的靶基因,参与细胞增殖^[3]。本研究采用定量PCR的方法检测Mina53和Ki67在结肠中的表达,并分析Mina53与各临床病理特征和肿瘤增殖活性的相关性,探讨Mina53在人类结肠癌发生发展中的作用以及对临床的指导意义。

1 材料和方法

1.1 材料 51例结肠癌组织均来自长江大学附属第一医院2009-06/2010-06手术切除标本,19例结肠腺瘤和20例正常结肠组织来自于结肠镜下活检,均经病理学检查证实,其中结肠癌中男28例,女23例;年龄34-67(52.9±10.6)岁;高分化12例,中分化16例,低分化23例;Dukes A 15例, Dukes B 12例, Dukes C 14例, Dukes D 10例。所有标本均先冻于液氮中1 h,快速取出后置于-80℃保存待测。实时定量PCR试剂盒(Toyobo),单链cDNA合成试剂盒(Invitrogen),RNA提取(TRIzol, Gibco BRL)DNA纯化试剂盒(北京博大),实时定量PCR仪(Rocher)。引物由上海申工生物有限公司合成, Mina53: 5'-TGACCATCAGCACCTACC-3', 3'-TCCTCCTCATTTCCCATC-5', 产物长度为192 bp; Ki67: 5'-GCTGTTGATGATGGGTTA-3', 3'-AATGGGTGGGTATTTGTT-5', 产物长度为165 bp; β -actin: 5'-GCTGTCACCTTCACCGTTCC-3', 3'-CTCCATCCTGGCCTCGCTGT-5', 产物长度为156 bp。

1.2 方法

1.2.1 总RNA抽提及cDNA合成: TRIzol提取组织总RNA。总RNA提取之后,测得各管内所提总RNA的浓度和纯度。各管均取2 μ g总RNA,逆转录总反应体系25 μ L,用M-MLV逆转录酶42℃逆转录1 h,合成cDNA。

1.2.2 检测Mina53、Ki67和 β -actin cDNA的扩增和纯化: 提取总RNA,扩增Mina53、Ki67和 β -actin的PCR产物,PCR反应体系和试剂除探针

表1 Mina53在结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠组织中的mRNA表达水平

组织类型	n	mRNA表达	P值
正常结肠组织	20	0.347±0.128	0.009
结肠腺瘤	19	0.453±0.233	0.014
结肠癌	51	1.369±0.874	

外同定量实时PCR反应,在9600 PCR扩增仪上完成。反应条件: 95℃变性后,进行40个循环。循环条件: 95℃变性30 s, 60℃退火30 s, 72℃延伸1 min。1.5%的琼脂糖电泳,切胶,用DNA纯化试剂盒纯化DNA,紫外分光光度计定量,作为标准品。

1.2.3 实时定量PCR反应: 实时定量PCR反应体系20 μ L: SYRB Green I MIX(Toyobo公司)10 μ L, 引物1 0.4 μ L, 引物2 0.4 μ L, cDNA 2 μ L, DEPC水 7.2 μ L。扩增过程: 95℃ 5 s, 58℃ 5 s, 72℃ 20 s循环40次,使用Roche lightcycler PCR扩增仪扩增。每组样本重复测量3次。为了精确定量,我们将Mina53、Ki67和 β -actin纯化的PCR产物定量后进行系列稀释,再用实时PCR仪扩增,建立了各种基因mRNA表达实时PCR检测的标准曲线。根据标准曲线,实时PCR仪计算机程序直接计算出检测基因表达量,按检测基因表达量/ β -actin基因表达量计算,得出检测基因的相对表达量。

统计学处理 数据应用SPSS11.0软件进行统计学处理,所有数据采取mean±SD表示,根据实验资料要求,选用t检验及直线相关分析进行数据分析,以P<0.05为差异具有显著性。

2 结果

2.1 Mina53在结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠组织中的表达 结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠组织中Mina53 mRNA的表达水平分别为1.369±0.874、0.453±0.233、0.347±0.128,由此结肠癌组织Mina53 mRNA的表达高于结肠腺瘤($t=2.968$, $P=0.014$)及正常结肠组织($t=3.062$, $P=0.009$),具有统计学差异(表1)。

2.2 Mina53在结肠癌组织中的表达与各临床特征的关系 Mina53表达与胃癌的临床病理特征的关系(表2): Mina53在胃癌中的表达与性别、年龄无关(均 $P>0.05$),而与肿瘤的组织分化程度、临床分期、远处转移和淋巴结转移均相关(均 $P<0.05$)。

2.3 Mina53在结肠癌中的表达与核增殖的关系 结肠癌中Ki67 mRNA表达水平为1.117±0.805,

表 2 Mina53在结肠癌中的表达与各临床病理特征的关系

临床特征	n	Mina53 mRNA表达水平	P值
所有病例	51		
性别			
男	28	1.137 ± 0.935	0.211
女	23	1.206 ± 0.885	
年龄(岁)			
≤60	32	1.210 ± 0.768	0.306
>60	19	1.244 ± 0.903	
分化程度			
高、中分化	28	0.993 ± 0.735	0.043
低分化	23	1.331 ± 0.994	
Dukes分期			
A/B	27	0.899 ± 0.637	0.037
C/D	24	1.356 ± 0.874	
淋巴结转移			
有	25	1.277 ± 0.909	0.015
无	26	0.944 ± 0.785	
远处转移			
有	15	1.305 ± 0.961	0.011
无	36	0.971 ± 0.847	

Mina53 mRNA的表达水平为 1.369 ± 0.874 , 通过相关分析Mina53 mRNA的表达与Ki67 mRNA呈正相关($r = 0.727$, $P < 0.01$).

3 讨论

细胞中由多种基因共同形成了一个增殖调控网络, 肿瘤的发生、发展与这个调控网络的失控密切相关, 因此研究肿瘤相关基因在肿瘤细胞中的作用以及相互关系, 对于揭示细胞癌变的机制, 寻找肿瘤治疗的有效途径, 成为广受关注的研究领域.

Mina53是由Tsuneoka等^[3]发现的新基因, 为Myc诱导核抗原, 位于核内, 部分蛋白聚集在核仁. *c-myc*则是一种重要的原癌基因, 它具有促进细胞增殖和肿瘤血管生成的作用, 可降低基因组稳定性, 并且与细胞分化、凋亡及周期调控密切相关^[1,2,4,5]. Mina53的表达直接由*c-myc*诱导, 在肿瘤组织和肿瘤细胞系中*c-myc*表达上调, 同时Mina53表达也上调, 通过RNA干扰技术特异性抑制Mina53从而抑制细胞增殖, 这些结论表明Mina53是myc一个直接靶基因, Mina53对细胞增殖有着重要作用. 在人胃癌和食管鳞状细胞癌组织和许多肿瘤细胞系中Mina53均高表达^[3,6-16]. 因此Mina53对细胞增殖有着重要作用, 在肿瘤的发生发展中起着重要作用.

我们从基因水平对Mina53在正常、结肠腺

瘤和结肠癌组织进行分析. 在结肠癌中Mina53表达, 明显高于正常和结肠腺瘤组织; 并且Mina53的表达在各临床分期中有着显著性差异, 随临床分期的进展, 表达增高, 还与组织分化程度、淋巴结转移和远处转移相关, 而与性别和年龄无关. 由此反映了Mina53在结肠癌中高表达, 说明Mina53在结肠癌发生发展上可能起着重要的作用, 在诊断上可作为一个新的肿瘤标志物.

在肿瘤诊断中, 肿瘤增殖活性是一个评价肿瘤进展的重要参数. Ki67是一种细胞增殖核抗原, 存在于G0期以外的所有细胞周期中, 在有丝分裂后迅速降解或失去抗原决定簇, 因此, 被认为是反映细胞增殖状态的理想标记物, 并且还于肿瘤预后密切相关^[17,18]. 在我们的实验中, 结肠癌Mina53的表达与Ki67呈正相关($r = 0.727$, $P < 0.01$). Mina53的表达通过*c-myc*诱导, 而*c-myc*表达于细胞分裂周期的各个期, 在肿瘤组织中Mina53要比Ki67更多的表达^[7,8,19,20], 故Mina53更能反映肿瘤增殖活性. 临床分期和组织分级系统最重要的功能是评价预后和指导治疗, 而在我们的实验中Mina53的表达与结肠癌临床分期相关. 此外有关食管鳞状细胞癌的表达与预后的研究发现^[7,8]: Mina53的表达与预后相关, Mina53高表达的生存率短. 因此Mina53不仅可反映结肠癌的增殖活性, 而且可能对预后判定有着重要意义.

根据Mina53在许多肿瘤中高表达, 与肿瘤细胞增殖和致癌性转化密切相关, 目前已经建立了针对Mina53 mRNA的小干扰RNA, 他们能特异性抑制Mina53的表达, 能有效抑制肿瘤细胞的增殖^[3,6-8]. 说明了Mina53可以作为肿瘤治疗的一个靶点, 在临床治疗中有着重要的指导作用.

总之, 我们的研究表明Mina53在结肠癌中表达明显高于正常和非典型增生组织, 其表达与临床分期、浸润深度、淋巴转移和肿瘤增殖活性密切相关, 在结肠癌的发生发展中可能起着重要作用, 在结肠癌诊断中可作为一种新的肿瘤标志物, 在临床治疗和预后判定中有一定的指导意义.

4 参考文献

- 1 Prendergast GC. Mechanisms of apoptosis by c-Myc. *Oncogene* 1999; 18: 2967-2987
- 2 Obaya AJ, Mateyak MK, Sedivy JM. Mysterious liaisons: the relationship between c-Myc and the cell

■同行评价

本文实用性较好, 为探讨Mina53在临床中的作用奠定了实验基础.

- cycle. *Oncogene* 1999; 18: 2934-2941
- 3 Tsuneoka M, Koda Y, Soejima M, Teye K, Kimura H. A novel myc target gene, mina53, that is involved in cell proliferation. *J Biol Chem* 2002; 277: 35450-35459
- 4 Henriksson M, Lüscher B. Proteins of the Myc network: essential regulators of cell growth and differentiation. *Adv Cancer Res* 1996; 68: 109-182
- 5 Boxer LM, Dang CV. Translocations involving c-myc and c-myc function. *Oncogene* 2001; 20: 5595-5610
- 6 Teye K, Tsuneoka M, Arima N, Koda Y, Nakamura Y, Ueta Y, Shirouzu K, Kimura H. Increased expression of a Myc target gene Mina53 in human colon cancer. *Am J Pathol* 2004; 164: 205-216
- 7 Tsuneoka M, Fujita H, Arima N, Teye K, Okamura T, Inutsuka H, Koda Y, Shirouzu K, Kimura H. Mina53 as a potential prognostic factor for esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 7347-7356
- 8 Tsuneoka M, Nishimune Y, Ohta K, Teye K, Tanaka H, Soejima M, Iida H, Inokuchi T, Kimura H, Koda Y. Expression of Mina53, a product of a Myc target gene in mouse testis. *Int J Androl* 2006; 29: 323-330
- 9 Zhang Q, Hu CM, Yuan YS, He CH, Zhao Q, Liu NZ. Expression of Mina53 and its significance in gastric carcinoma. *Int J Biol Markers* 2008; 23: 83-88
- 10 Ogasawara S, Komuta M, Nakashima O, Akiba J, Tsuneoka M, Yano H. Accelerated expression of a Myc target gene Mina53 in aggressive hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2010; 40: 330-336
- 11 Komiya K, Sueoka-Aragane N, Sato A, Hisatomi T, Sakuragi T, Mitsuoka M, Sato T, Hayashi S, Izumi H, Tsuneoka M, Sueoka E. Mina53, a novel c-Myc target gene, is frequently expressed in lung cancers and exerts oncogenic property in NIH/3T3 cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136: 465-473
- 12 Komiya K, Sueoka-Aragane N, Sato A, Hisatomi T, Sakuragi T, Mitsuoka M, Sato T, Hayashi S, Izumi H, Tsuneoka M, Sueoka E. Expression of Mina53, a novel c-Myc target gene, is a favorable prognostic marker in early stage lung cancer. *Lung Cancer* 2010; 69: 232-238
- 13 Fukahori S, Yano H, Tsuneoka M, Tanaka Y, Yagi M, Kuwano M, Tajiri T, Taguchi T, Tsuneyoshi M, Kojiro M. Immunohistochemical expressions of Cap43 and Mina53 proteins in neuroblastoma. *J Pediatr Surg* 2007; 42: 1831-1840
- 14 Ishizaki H, Yano H, Tsuneoka M, Ogasawara S, Akiba J, Nishida N, Kojiro S, Fukahori S, Moriya F, Matsuoka K, Kojiro M. Overexpression of the myc target gene Mina53 in advanced renal cell carcinoma. *Pathol Int* 2007; 57: 672-680
- 15 Teye K, Arima N, Nakamura Y, Sakamoto K, Sueoka E, Kimura H, Tsuneoka M. Expression of Myc target gene mina53 in subtypes of human lymphoma. *Oncol Rep* 2007; 18: 841-848
- 16 Kuratomi K, Yano H, Tsuneoka M, Sakamoto K, Kusukawa J, Kojiro M. Immunohistochemical expression of Mina53 and Ki67 proteins in human primary gingival squamous cell carcinoma. *Kurume Med J* 2006; 53: 71-78
- 17 van Oijen MG, Medema RH, Slootweg PJ, Rijksen G. Positivity of the proliferation marker Ki-67 in non-cycling cells. *Am J Clin Pathol* 1998; 110: 24-31
- 18 Brown DC, Gatter KC. Ki67 protein: the immaculate deception? *Histopathology* 2002; 40: 2-11
- 19 Rabbitts PH, Watson JV, Lamond A, Forster A, Stinson MA, Evan G, Fischer W, Atherton E, Sheppard R, Rabbitts TH. Metabolism of c-myc gene products: c-myc mRNA and protein expression in the cell cycle. *EMBO J* 1985; 4: 2009-2015
- 20 Waitz W, Loidl P. Cell cycle dependent association of c-myc protein with the nuclear matrix. *Oncogene* 1991; 6: 29-35

编辑 李军亮 电编 李薇

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和World Journal of Gastroenterology(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊:序号,作者(列出全体作者),文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页。