论著

文章编号:1000-5404(2010)12-1290-03

脂质代谢相关基因在乳腺浸润性导管癌中的表达及其意义

吕 静[1],王 斌[1],糜漫天[1],张乾勇[1],朱俊东[1],王 建[2] (400038 重庆,第三军医大学军事预防医学院营养与食品卫生学教研室,营养与食品安全研究中心[1];400037 重庆,第三军医大学新桥医院营养科[2])

[摘要] **目的** 观察乳腺浸润性导管癌组织和癌旁正常乳腺组织中脂质代谢调控基因的表达,并探讨其与乳腺浸润性导管癌发生的关系。**方法** 收集30例乳腺浸润性导管癌患者手术切除的乳腺癌组织和癌旁乳腺组织,RT-PCR检测各组织中脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)、环氧合酶(cyclooxygenase-2, Cox-2)、5-脂氧合酶(5-lipoxygenase, 5-LOX)及过氧化物酶增殖活化受体γ(peroxisome proliferator-activated receptor γ, PPAR-γ)的基因表达。**结果** 乳腺浸润性导管癌组织中FAS mRNA的表达显著高于癌旁组织(3.265±0.913 *vs* 1.300±0.712, $P<0.01$),同时乳腺癌组织中Cox-2、5-LOX mRNA的表达显著高于癌旁组织(2.449±1.333 *vs* 1.027±0.596, $P<0.05$;2.766±1.193 *vs* 1.159±0.520, $P<0.05$),PPAR-γ mRNA的表达在乳腺癌组织和癌旁乳腺组织间差异无统计学意义(2.771±1.313 *vs* 2.235±1.383, $P>0.05$)。**结论** FAS、Cox-2及5-LOX基因的高表达与乳腺浸润性导管癌的发生有关,提示脂质代谢途径调控对乳腺癌的预防具有重要的意义。

[关键词] 癌,导管,乳腺;脂肪酸合成酶复合物;环氧化酶2;花生四烯酸盐5-脂氧合酶;过氧化物酶增殖活化受体γ
[中图法分类号] Q591.5; R349.3; R737.9 **[文献标志码]** A

Expression and significance of lipid metabolism-related genes in breast invasive ductal carcinoma

Lu Jing[1], Wang Bin[1], Mi Mantian[1], Zhang Qianyong[1], Zhu Jundong[1], Wang Jian[2] ([1]Department of Nutrition and Food Hygiene, College of Military Preventive Medical, Research Center for Nutrition and Food Safety, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; [2]Department of Nutrition, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expressions of lipid metabolism-related genes in breast invasive ductal carcinoma and adjacent non-cancerous tissues, and evaluate their roles in the occurrence of breast invasive ductal carcinoma. **Methods** Experimental samples were derived from our previous population study on breast cancer. Breast cancer tissues and adjacent non-cancerous tissues were spontaneously collected from 30 invasive ductal carcinoma patients. The expressions of fatty acid synthase (FAS), cyclooxygenase-2 (Cox-2), 5-lipoxygenase (5-LOX) and peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR-γ) mRNA were detected by RT-PCR. **Results** Expressions of FAS, Cox-2, and 5-LOX in breast cancer tissues were significantly higher than those in adjacent tissues (FAS: 3.265±0.913 *vs* 1.300±0.712, $P<0.01$; Cox-2 and 5-LOX: 2.449±1.333 *vs* 1.027±0.596, $P<0.05$; 2.766±1.193 *vs* 1.159±0.520, $P<0.05$). There was no significant difference of PPAR-γ expression between the 2 groups (2.771±1.313 *vs* 2.235±1.383, $P>0.05$). **Conclusion** Higher expressions of FAS, Cox-2, and 5-LOX are positively correlated with the occurrence of breast invasive ductal carcinoma.

[Key words] carcinoma, ductal, breast; fatty acid synthetase complex; cyclooxygenase 2; arachidonate 5-lipoxygenase; peroxisome proliferator-activated receptor γ

Supported by the National Nature Science Foundation of China (30901195) and the Grant of Diet Nutrition Research and Communication of Donone Institute (DIC2009-08). Corresponding author: Mi Mantian, Tel: 86-23-68752292, E-mail: mimt@sina.com

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤,严重威胁着女性的生命与健康[1]。为了降低乳腺癌的发病风险,国内外学者对乳腺癌的发病机制进行了广泛的研究。目前研究认为,乳腺癌的发生、发展是基因-膳食-环境等多因素共同参与的结果,其中脂质代谢水平及其调控可能发挥着重要的作用[2,3]。作为脂质代谢的关节调控基因,脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)、环氧合酶(cyclooxygenase-2, Cox-2)、5-脂氧合酶(5-lipoxygenase, 5-LOX)以及过氧化物酶增殖活化受体γ(peroxisome

[基金项目] 国家自然科学基金(30901195);达能膳食营养研究与宣教基金(DIC2009-08)
[通信作者] 糜漫天,电话:(023)68752292,E-mail:mimt@sina.com

proliferator-activated receptor γ, PPAR-γ)广泛参与体内能量转换、信息传递以及细胞增殖/凋亡调控,同时其表达易受到膳食及体内脂肪酸水平的影响。然而,以往针对脂质代谢基因表达与乳腺癌发生的人群研究较少,其相关的分子机制也不明确[4]。本研究在前期人群试验[5]的基础上,选取乳腺浸润性导管癌患者手术切除的乳腺癌组织和癌旁乳腺组织,观察脂质代谢调控基因在两类组织中的表达差异,并探讨其与乳腺浸润性导管癌发生的关系及可能的分子机制。

1　材料与方法

1.1　样本收集

研究样本来源于本教研室 2004 - 2006 年间在重庆地区开展的乳腺癌人群试验样本库,受试人群来源及选取标准参见前期研究[5]。手术切除的乳腺癌组织及癌旁正常乳腺组织(距癌组织 4 cm 以上)均经组织病理学验证,所取样本经 DEPC 水处理后立刻置于 -70 ℃保存备用。本研究选取的 30 对乳腺癌组织和癌旁组织样本均分别来自于同一例乳腺浸润性导管癌根治术患者。患者年龄为 39 ~ 61(47.43 ± 7.17)岁,在术前未经化疗或放疗。本课题经校(院)伦理道德委员会认定并同意进行相关研究。试验对象经课题组人员的解释和说明后,自愿参加本研究并签署知情同意书。

1.2　主要试剂与仪器

Tripure ™分离试剂、RT-PCR 试剂购自 Promega 公司。RT-PCR 引物由上海生物工程技术公司合成。Bio-Rad 图像分析系统和 PCR 仪由美国 Bio-Rad 公司生产,紫外分光光度计(640 型)购自美国 Beckman 公司。

1.3　RT-PCR 法检测基因表达

取待检组织 100 mg,按试剂盒方法用 Tripure™提取组织总 RNA,测定 RNA 浓度和纯度。将 mRNA 逆转录为 cDNA 后,根据 GenBank 设计的引物,进行 PCR。各引物序列和退火温度见表 1。PCR 产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳后,用 Bio-Rad 成像分析仪进行拍照和光密度扫描。以 β-actin 为内参照,以目的基因光密度值与 β-actin 光密度值的比值表示目的基因的表达丰度。

表 1　各基因的引物序列

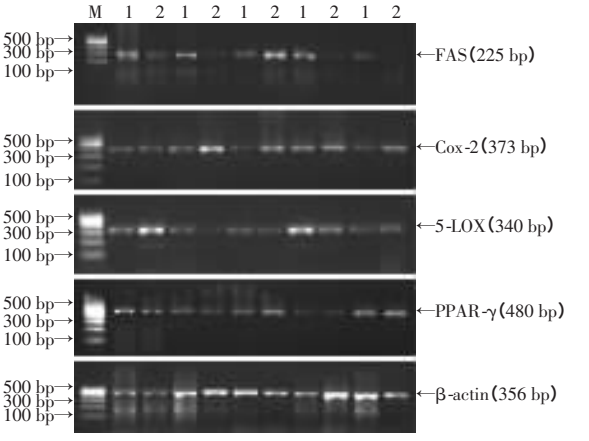
基因	序列(5′→3′)	退火温度(℃)	片段长度(bp)
FAS	上游引物 5′-CACCAAATGTGAACATGGAATC-3′ 下游引物 5′-GCCACTGTTTCAGGATTTAAGG-3′	56.4	225
Cox-2	上游引物 5′-TCTCAGTCTTGAAGCCAATTCA-3′ 下游引物 5′-TTTGCATCCATCTTGGTTACAG-3′	51.6	373
5-LOX	上游引物 5′-ACCGTGGTGATCTTCACCGCCT-3′ 下游引物 5′-GTTGCGCTCAGCAATCACGCTG-3′	58.2	340
PPAR-γ	上游引物 5′-AGGAGCAGAGCAAAGAGGTG-3′ 下游引物 5′-AGCTGTGAGGACTCAGGGTG-3′	54.3	480
β-actin	上游引物 5′-TTTGCATCCATCTTGGTTACAG-3′ 下游引物 5′-AGCACTGTGTTGGCGTACAG-3′	56.4	356

1.4　统计学分析

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件建立数据库,并用 t 检验比较乳腺癌组织和癌旁乳腺组织间脂质代谢调控基因表达水平的差异。

2　结果

与癌旁正常乳腺组织比较,乳腺浸润性导管癌组织中 FAS mRNA 的表达显著升高($P < 0.01$),同时乳腺癌组织中 Cox-2、5-LOX mRNA 的表达显著高于癌旁组织($P < 0.05$),PPAR-γ mRNA 的表达在 2 种组织间差异无统计学意义($P > 0.05$,图 1,表 2)。



M:DNA 标准;1:乳腺浸润性导管癌组织;2:癌旁乳腺组织

图 1　RT-PCR 检测脂质代谢关键基因 FAS、Cox-2、5-LOX 及 PPAR-γ 在乳腺浸润性导管癌组织和癌旁乳腺组织中的表达

表 2　FAS、Cox-2、5-LOX 及 PPAR-γ 基因在乳腺浸润性导管癌组织和癌旁正常乳腺组织中的表达($\bar{x} \pm s$)

基因	乳腺癌组织	癌旁乳腺组织
FAS	3.265 ± 0.913[a]	1.300 ± 0.712
Cox-2	2.449 ± 1.333[b]	1.027 ± 0.596
5-LOX	2.766 ± 1.193[b]	1.159 ± 0.520
PPAR-γ	2.771 ± 1.313	2.235 ± 1.383

a:$P < 0.01$,b:$P < 0.05$,与癌旁乳腺组织比较

3　讨论

在全球范围内乳腺癌以发病率逐年上升、死亡率居高不下的总体趋势,严重威胁着女性生命与健康[1]。2009 年,仅美国地区就有 19.2 万浸润性乳腺癌新发病例,并有近 4 万妇女死于乳腺癌[6]。我国以往属乳腺癌的低发区,但近年来随着居民膳食结构和生活方式的改变,我国乳腺癌的发病率也呈逐年上升趋势。然而,乳腺癌的发病机制目前仍不清楚,其治疗手段仍然很受局限。因此,如何有效开展乳腺癌的病因学研究和人群防治工作已成为医学界普遍关心的问题。

研究发现,不同种类脂肪酸的效应影响膳食脂肪与乳腺癌发生之间的关系,例如 n-6 多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)具有促癌效应,而 n-3 PUFA 则可抑制癌症的发生[7],然而分子机制尚不明确。随着脂质组学研究的不断深入,研究者对脂肪酸功能、脂质代谢调控及其影响疾病发生的分子机制有了较深入的认识[4]。研究认为这些不同效应,可能与

其改变机体组织的脂肪酸组成,继而影响体内脂质代谢水平和功能有关[8,9]。然而,以往研究多局限于动物实验和体外肿瘤细胞实验,因此在人群水平上探讨脂质代谢基因表达与乳腺癌发生的关系对于深入揭示脂质代谢调控在乳腺癌发生发展中的分子机制具有积极的意义。

FAS是机体内源性脂肪酸合成的关键酶。研究发现,正常情况下机体可依靠摄入外源性脂肪酸满足代谢需要,因此FAS的表达极低,但在多数恶性肿瘤中表达显著增高[10,11]。近期研究显示,FAS表达的增强不仅能满足肿瘤细胞对氧气和能量的需求,还能为肿瘤细胞提供增殖过程中所必需的磷脂和固醇类化合物,调控肿瘤的发生与发展[10]。本研究结果表明,与癌旁正常乳腺组织相比,乳腺浸润性导管癌的FAS mRNA表达显著上调,进一步证明了FAS基因表达水平的上升可能在乳腺浸润性导管癌发生中的重要作用。

Cox-2与5-LOX作为脂质代谢的关键酶,可特异性催化花生四烯酸(arachidonic acid, AA)生成前列腺素E_2(prostaglandin E_2, PGE_2),而后者具有促进细胞增殖和肿瘤发生的作用。研究[12]发现,Cox-2及5-LOX在多种癌细胞中均有高表达。本研究发现,乳腺浸润性导管癌组织中的Cox-2及5-LOX基因表达显著高于癌旁正常乳腺组织,提示该基因的表达上升可能与乳腺浸润性导管癌的发生密切相关,但具体机制还有待于深入研究。近期研究发现,在BALB/C小鼠乳腺癌移植模型中,Cox-2/5-LOX的联合抑制剂表现出稳定的肿瘤抑制效应,提示二者的促肿瘤效应可能具有协同作用[13]。

PPAR-γ是一类配体依赖性核受体,激活后能调控肿瘤细胞分化,抑制血管生成和降低肿瘤的侵袭能力,具有潜在的抗肿瘤作用。研究[14]认为该机制可能与其抑制PKB/AKT活性,调控肿瘤抑制基因PTEN表达有关,同时Cox-2在调节肿瘤细胞增殖和凋亡中亦可能通过PPAR-γ途径发挥效应。然而,亦有研究[15]报道在小鼠乳腺癌模型中激活PPAR-γ途径可促进乳腺癌的发生。以往有关PPAR-γ表达与人乳腺癌发生、发展之间关系的研究较少,本研究亦未发现PPAR-γ表达在乳腺浸润性导管癌组织与癌旁乳腺组织间的差异性。不同研究之间结果的不统一,可能与研究人群、检测方法等因素有关。因此,PPAR-γ及其他脂质代谢相关基因表达与乳腺癌发生风险相关性的确定,还有待于今后在不同人群间开展更大规模的研究来综合评价。

综上所述,脂质代谢在乳腺癌的发生中可能起着重要的作用。近年来,关于FAS、Cox-2与5-LOX的抑制剂以及PPAR-γ激动剂对乳腺癌等恶性肿瘤的调节已经成为研究的热点,并有望成为肿瘤治疗的新途径。然而,以上调节剂作用广泛,且脂质代谢在乳腺癌发生、发展过程中的具体机制尚不清楚。同时,目前关于脂质代谢相关基因对乳腺癌发生影响的人群资料还很有限。深入研究脂质代谢途径的调节机制,有助于进一步了解乳腺癌的发病机制,并为乳腺癌的诊断及治疗提供新的理论依据。

参考文献:

[1] Garcia M, Jemal A, Ward E M, *et al*. Global Cancer Facts & Figures 2007[M]. Atlanta: American Cancer Society, 2007.

[2] Meyer-zu-Heringdorf D, Jakobs K H. Lysophospholipid receptors: signalling, pharmacology and regulation by lysophospholipid metabolism [J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1768(4): 923-940.

[3] Brinkmann V. Sphingosine 1-phosphate receptors in health and disease: mechanistic insights from gene deletion studies and reverse pharmacology[J]. Pharmacol Ther, 2007, 115(1): 84-105.

[4] 蔡潭溪, 刘平生, 杨福全, 等. 脂质组学研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2010, 37(2):121-128.

[5] Wang B, Mi M, Wang J, *et al*. Does the increase of endogenous steroid hormone levels also affect breast cancer risk in Chinese women? A case-control study in Chongqing, China[J]. Int J Cancer, 2009, 124(8): 1892-1899.

[6] American Cancer Society. Breast Cancer Facts & Figures 2009-2010 [M]. Atlanta: American Cancer Society, 2009.

[7] Gerber M, Thiebaut A, Astorg P, *et al*. Dietary fat, fatty acid composition and risk of cancer[J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2005, 107(7/8): 540-559.

[8] 韦娜,糜漫天,张乾勇,等. 不同膳食脂肪酸对大鼠乳腺癌组织脂肪酸组成和脂代谢基因表达的影响[J]. 营养学报, 2007, 29(2): 122-126.

[9] 韦娜,糜漫天. n-6/n-3多不饱和脂肪酸不同比例对乳腺癌细胞脂代谢调控基因的影响[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(7): 652-655.

[10] Orita H, Coulter J, Lemmon C, *et al*. Selective inhibition of fatty acid synthase for lung cancer treatment[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(23): 7139-7145.

[11] Grunt T W, Wagner R, Grusch M, *et al*. Interaction between fatty acid synthase- and ErbB-systems in ovarian cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 385(3): 454-459.

[12] Goossens L, Pommery N, Henichart J P. COX-2/5-LOX dual acting anti-inflammatory drugs in cancer chemotherapy[J]. Curr Top Med Chem, 2007, 7 (3): 283-296.

[13] Barry M, Cahill R A, Roche-Nagle G, *et al*. Neoplasms escape selective COX-2 inhibition in an animal model of breast cancer[J]. Ir J Med Sci, 2009, 178 (2): 201-208.

[14] Ondrey F. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma pathway targeting in carcinogenesis: implications for chemoprevention [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(2): 2-8.

[15] Saez E, Rosenfeld J, Livolsi A, *et al*. PPAR gamma signaling exacerbates mammary gland tumor development[J]. Genes Dev, 2004, 18(5): 528-540.

(**收稿**:2010-03-18;**修回**:2010-04-19)

(编辑 张 维)