

ST6Gal I 在肾透明细胞癌中表达及其与病理特征的关系

李前进, 拜合提亚·阿扎提, 王文光, 刘强, 邢晨, 木拉提·热夏提, 王玉杰

(新疆医科大学第一附属医院泌尿外科, 新疆 乌鲁木齐 830054)

摘要:目的 探讨人 β 半乳糖苷 α -2,6-唾液酸转移酶 I (ST6Gal I) 在肾透明细胞癌(ccRCC)组织及正常肾组织中表达的差异及其与患者病理特征的关系。方法 选择2013年1月-2019年12月来院就诊的ccRCC患者127例作为研究对象,取ccRCC患者癌组织作为研究组,癌旁正常肾组织作为对照组。免疫组化法检测两组ST6Gal I的表达,分析其表达与年龄、性别、肿瘤大小、分期及肿瘤分级的关系。结果 免疫组化结果显示,研究组ST6Gal I表达水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);不同年龄、性别的ccRCC组织中ST6Gal I的表达比较,差异无统计学意义($P>0.05$);不同肿瘤分期、大小、分级的ccRCC组织中ST6Gal I的表达比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 ST6Gal I在ccRCC组织中的表达水平高于正常肾脏组织,且肿瘤大小 ≥ 7 cm,分期为2期,分级为中低分化的ccRCC患者ST6Gal I表达阳性率也较高。

关键词: ST6Gal I; 肾透明细胞癌; 肿瘤分期; 肿瘤分级

中图分类号: R737.11

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2021.06.022

文章编号: 1006-1959(2021)06-0087-03

The Expression of ST6Gal I in Renal Clear Cell Carcinoma and Its Relationship with Pathological Features

LI Qian-jin, Baihetia Azati, WANG Wen-guang, LIU Qiang, XING Chen, Murati Rexati, WANG Yu-jie

(Department of Urology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang, China)

Abstract: Objective To investigate the differences in the expression of human β -galactoside α -2,6-sialyltransferase I (ST6Gal I) in clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) tissues and normal renal tissues and its relationship with the pathological characteristics of patients. Methods 127 ccRCC patients who came to the hospital from January 2013 to December 2019 were selected as the research objects. The cancer tissue of ccRCC patients was selected as the research group, and the normal kidney tissue adjacent to the cancer was used as the control group. Immunohistochemical method was used to detect the expression of ST6Gal I in the two groups, and the relationship between its expression and age, gender, tumor size, stage and tumor grade was analyzed. Results The results of immunohistochemistry showed that the expression level of ST6Gal I in the study group was higher than that in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$); There was no statistically significant difference in the expression of ST6Gal I in ccRCC tissues of different ages and genders ($P>0.05$); There was a statistically significant difference in the expression of ST6Gal I in ccRCC tissues of different tumor stages, sizes and grades ($P<0.05$). Conclusion The expression level of ST6Gal I in ccRCC tissues is higher than that in normal kidney tissues, and the tumor size is ≥ 7 cm, and the stage is stage 2. The positive rate of ST6Gal I expression in ccRCC patients with moderate to poor differentiation is also higher.

Key words: ST6Gal I; Renal clear cell carcinoma; Tumor grade; Tumor stage

人 β 半乳糖苷 α -2,6-唾液酸转移酶 I (human β -galactoside α -2,6-sialyltransferase I, ST6Gal I) 是糖基转移酶的一种,催化部分唾液酸衍生物和糖蛋白低聚糖末端唾液酸残基,在细胞与细胞基质受体识别的过程中有重要作用^[1]。越来越多的研究表明,ST6Gal I水平在癌症中表达增加,而 α -2,6-唾液酸化程度也上调,尤其是ST6Gal I的升高常与肿瘤的高分级、转移和患者预后差有关。在前列腺癌和胰腺癌、卵巢癌等恶性肿瘤中ST6Gal I的表达水平增加,ST6Gal I的表达增高被认为更具侵袭性和转移性^[2-5],且其表达水平与无复发间隔和总生存率有关^[6]。基于此,本研究主要研究ST6Gal I在肾透明细胞癌(renal clear cell carcinoma, ccRCC)中表达,分析其与患者病理特征的关系,现报道如下。

基金项目: 1. 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(编号: 2017D01C294); 2. 吴阶平医学基金会临床科研专项资助基金项目(编号: 320.6750.19094-43)

作者简介: 李前进(1985.4-),男,河南商丘人,硕士,主治医师,主要从事泌尿系肿瘤的诊治研究

通讯作者: 王玉杰(1962.9-),男,新疆乌鲁木齐人,博士,主任医师,教授,博士生导师,主要从事泌尿系肿瘤的诊治研究

1 资料与方法

1.1 一般资料 ccRCC癌组织及肾脏正常组织标本来源于新疆医科大学第一附属医院2013年1月-2019年12月确诊为ccRCC并行手术切除患者。随机选取127例ccRCC患者石蜡包埋癌组织作为研究组,取同一患者癌旁正常肾脏组织作为对照组,患者年龄30~82岁,平均年龄(55.54 ± 10.99)岁,男性75例,女性52例, ≥ 60 岁者51例, <60 岁者76例;肿瘤直径 >7 cm者24例, ≤ 7 cm者103例;组织分化程度:中低分化64例,高分化63例;临床分期: I期患者109例, II期患者18例。

1.2 主要试剂 兔抗人ST6Gal I多克隆抗体浓缩型来自英国Abcam公司,免疫组织化学试剂盒、磷酸盐缓冲液(PBS),抗原修复液,柠檬酸抗原修复液来自北京中杉金桥生物技术有限公司生产。所有试验均严格按照试剂说明书进行。

1.3 方法 制片:将组织标本制成4 μ m厚石蜡切片,二甲苯脱蜡水化后,3% H_2O_2 ,灭活内源性酶,分别与一抗、二抗及辣根过氧化物酶标记的链霉素亲和素复合物孵育,苏木精复染10 min,水洗、分化、蓝化、

脱水、透明并固定于普通光学显微镜下于高倍镜($\times 400$)下随机观察5个视野,采用半定量积分法判定结果。结果判读及评分:用已知阳性片(结肠癌)为阳性对照,用PBS代替一抗作为阴性对照。由2位病理科医生根据染色强度进行双盲结果判定。出现明显的棕黄色颗粒为阳性细胞,无着色或与背景颜色一致为阴性细胞。在400倍光镜下随机选取5个视野,计数细胞总数和阳性细胞数,根据阳性细胞所占百分比分为4级。0分:无阳性细胞或阳性细胞 $< 5\%$;1分:阳性细胞占 $5\% \sim 24\%$;2分:阳性细胞占 $25\% \sim 50\%$;3分:阳性细胞 50% 以上。显色度按细胞着色深浅计分。阴性(无染色),0分;弱阳性(浅黄色),1分;中等阳性(棕黄色),2分;强阳性(棕褐色),3分。两种分值相加:0分为-,1~2分为+,3~4分为++,5~6分为+++,若两种积分之和 > 2 分为表达阳性;若 ≤ 2 分则为表达阴性。将阳性表达率评分和着色强度评分相乘, < 6 分为ST6Gal I低表达, ≥ 6 分为ST6Gal I高表达。

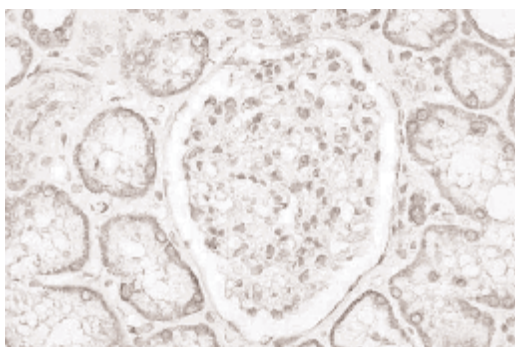


图1 正常肾组织ST6Gal I的表达(SP $\times 400$)

2.2 两组ST6Gal I阳性表达率比较 研究组中ST6Gal I阳性表达86例,阳性表达率为 67.72% ($86/127$);对照组中ST6Gal I阳性表达39例,阳性表达率为 30.71% ($39/127$);研究组高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=34.79, P<0.05$)。

2.3 ST6Gal I表达与临床病理特征的关系 不同年龄、性别的ccRCC组织中ST6Gal I的表达比较,差异无统计学意义($P>0.05$);不同肿瘤分期、大小、分级的ccRCC组织中ST6Gal I的表达比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表2。

3 讨论

研究表明,ST6Gal I通过介导肿瘤细胞表面 α -2,6唾液酸的表达影响肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭^[7-9]。越来越多的研究证实,ST6Gal I在乳腺癌、结肠癌、宫颈癌、肝癌中高表达,异常高表达的ST6Gal I可使肿瘤细胞发生免疫逃逸,削弱T细胞对肿瘤细胞的杀伤作用。目前认为,ST6Gal I可参与肿瘤发生发展的多种病理过程,其有望成为判断肿瘤预后的影响因素,但目前关于ST6Gal I在肾癌组织中的

1.4 统计学方法 应用SPSS 20.0软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行 t 检验;计数资料采用($n, \%$)表示,组间比较行 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组ST6Gal I表达比较 免疫组化结果显示,研究组ST6Gal I表达水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表1。ST6Gal I蛋白主要表达于肾癌组织细胞的细胞质/细胞膜,镜下表现为棕黄色或黄色颗粒,分布相对均匀,染色清晰,强度相对各异,其在正常肾组织及ccRCC组织中的表达见图1、图2。

表1 两组ST6Gal I表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	ST6Gal I表达量
研究组	4.58 ± 2.90
对照组	1.76 ± 2.03
t	8.980
P	0.000

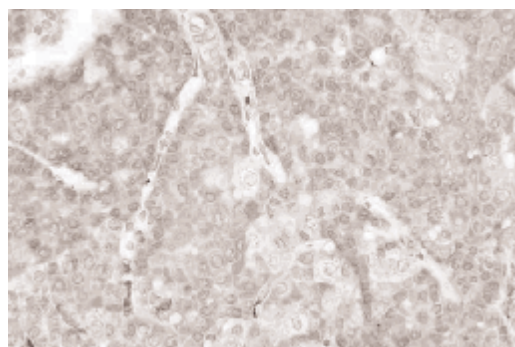


图2 ccRCC组织ST6Gal I的表达(SP $\times 400$)

表2 ST6Gal I表达与临床病理特征的关系[n(%)]

项目	n	阴性	阳性	χ^2	P
年龄(岁)				1.031	0.310
<50	33	13(39.39)	20(60.61)		
≥ 50	94	28(29.79)	66(70.21)		
性别				0.219	0.640
男	75	23(30.67)	52(69.33)		
女	52	18(34.62)	34(65.38)		
肿瘤大小(cm)				10.701	0.001
≤ 7	103	40(38.83)	63(61.17)		
> 7	24	1(4.17)	23(95.83)		
肿瘤分期				4.300	0.038
I	109	39(35.80)	70(64.20)		
II	18	2(11.11)	16(88.89)		
肿瘤分级				23.098	0.000
中低分化	64	8(12.50)	56(87.50)		
高分化	63	33(52.38)	30(47.62)		

表达水平及其对患者预后的影响研究较少,且尚存在争议。

有研究表明,在肾透明细胞癌患者手术前后蛋白质中质荷比为 8155 的蛋白质表达水平发生明显变化,利用 ExPASy 蛋白质数据库检索发现该蛋白质可能 ST6Gal I,但未进一步证实^[10]。既往研究发现,ST6Gal I 在 5 种肾透明细胞癌细胞株 (Caki-1、RLC-310、A498、T69-P、786-O) 中的表达水平均显著高于在 293T 细胞中的表达 (P 均 <0.01),且在 A498 中的表达中最高,在 Caki-1 中的表达水平最低^[11]。本研究对 ST6Gal I 在肾癌组织中的表达,及其与 ccRCC 患者的肿瘤大小、分期及肿瘤分级进行研究。结果显示,ST6Gal I 在肾癌组织中的表达高于正常肾癌组织,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。ST6Gal I 阳性患者中,患者肿瘤的分期分级更高,肿瘤体积更大,肿瘤体积 >7 cm、分期为 II 期、肿瘤分级为中低分化的 ST6Gal I 表达阳性率更高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。肿瘤的大小及分期分级代表了其更高的侵袭转移能力,而 ST6Gal I 可能是肾癌细胞侵袭转移能力的关键。近年来,研究显示,ST6Gal I 在癌症组织中的表达水平与肿瘤的侵袭性相关,在多种癌症(胰腺癌、前列腺癌和卵巢癌)中表达上调,可促进生长、生存和转移。癌细胞侵袭和扩散的能力是侵袭性恶性肿瘤发展的核心,这种促进局部侵袭和远处转移的发展是一个多步骤的过程,称为侵袭-转移级联反应。这一过程通过多种信号通路和转录因子之间进行复杂的调节,从而导致癌细胞的上皮-间充质转化(EMT)。EMT 是细胞表型转换的一个例子,其特征是上皮标记物的丢失有利于间充质细胞的迁移表型^[12,13]。体外 ST6GAL1 基因敲除和过表达实验表明,它能够调节多种细胞类型中癌细胞的侵袭和转移特性^[14]。转移性宫颈癌患者的 ST6GAL1 水平也升高,其水平与间质浸润、淋巴结转移和患者预后不良相关^[15]。同样,在三阴性乳腺癌中,ST6GAL1 水平与转移和生存时间减少有关,而卵巢癌中高 ST6GAL1 水平与淋巴血管浸润和远处转移有关^[16]。在乳腺癌细胞中,ST6GAL 的过度表达增加了细胞表面 E-钙粘蛋白的周转,促进了转化生长因子- β (TGF- β)诱导的 EMT,从而在 ST6GAL1 介导的唾液酸化转移之间提供了潜在的联系机制^[17]。

综上所述,ST6Gal I 在 ccRCC 中呈高表达,且肿瘤直径 ≥ 7 cm,分期为 II 期,分级为中低分化的 ST6Gal I 表达阳性率较高。ST6Gal I 可能可作为一种新的肿瘤标记物,为肾透明细胞癌的检测及预后判断提供依据。

参考文献:

- [1] Hsieh CC, Shyr YM, Liao WY, et al. Elevation of β -galactoside $\alpha 2,6$ -sialyltransferase 1 in a fructoseresponsivemanner promotes ancreatic cancermetastasis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (5): 7691 - 7709.
- [2] Wei A, Fan B, Zhao Y, et al. ST6Gal -I overexpression facili-

tates prostate cancer progression via the PI3K/Akt/GSK- 3β / β -catenin signaling pathway [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (40): 65374 - 65388.

- [3] Bassaganas S, Allende H, Cobler L, et al. Inflammatory cytokines regulate the expression of glycosyltransferases involved in the biosynthesis of tumor-associated sialylated glycans in pancreatic cancer cell lines [J]. *Cytokine*, 2015, 75 (1): 197 - 206.

- [4] Agrawal P, Fontanals -Cirera B, Sokolova E, et al. A Systems Biology Approach Identifies FUT8 as a Driver of Melanoma Metastasis [J]. *Cancer Cell*, 2017, 31 (6): 804 - 819.

- [5] Beatrice W, Karin ML, Vladimir G, et al. Prognostic role of the sialyltransferase ST6GAL1 in ovarian cancer [J]. *Glycobiology*, 2018, 28 (11): 898 - 903.

- [6] Munkley J. The glycosylation landscape of pancreatic cancer (Review) [J]. *Oncology letters*, 2019, 17 (3): 2569 - 2575.

- [7] Schult MJ, Holdbrooks AT, Chakraborty A, et al. The Tumor - Associated Glycosyltransferase ST6Gal -I Regulates Stem Cell Transcription Factors and Confers a Cancer Stem Cell Phenotype [J]. *Cancer Res*, 2016, 76 (13): 3978 - 3988.

- [8] Liu N, Zhu M, Lin HY, et al. Increasing HER2 $\alpha 2,6$ sialylation facilitates gastric cancer progression and resistance via the Akt and ERK pathways [J]. *Oncol Rep*, 2018, 40 (5): 2997 - 3005.

- [9] Jones RB, Dorsett KA, Hjelmeland AB, et al. The ST6Gal -I sialyltransferase protects tumor cells against hypoxia by enhancing HIF-1 α signaling [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293 (15): 5659 - 5667.

- [10] 张涛, 木拉提·热夏提, 威力江·赛买提, 等. 肾癌患者手术前后血清蛋白质指纹图谱的变化 [J]. *中华实验外科杂志*, 2012, 29 (12): 2413 - 2415.

- [11] 李前进, 王玉杰, 刘强, 等. ST6Gal I 抑制 TNFR1 的表达而调控肾透明细胞癌凋亡 [J]. *中国癌症防治杂志*, 2020, 12 (4): 415 - 420.

- [12] Montanari M, Rossetti S, Cavaliere C, et al. Epithelial - mesenchymal transition in prostate cancer: an overview [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (21): 35376 - 35389.

- [13] Goossens S, Vandamme N, Van Vlierberghe P, et al. EMT transcription factors in cancer development re-evaluated: Beyond EMT and MET [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2017, 1868 (2): 584 - 591.

- [14] Zhao Y, Li Y, Ma H, et al. Modification of sialylation mediates the invasive properties and chemosensitivity of human hepatocellular carcinoma [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2014, 13 (2): 520 - 536.

- [15] Wang PH, Lee WL, Lee YR, et al. Enhanced expression of $\alpha 2,6$ -sialyltransferase ST6Gal I in cervical squamous cell carcinoma [J]. *Gynecol Oncol*, 2003 (89): 395 - 401.

- [16] Hebban M, Krzewinski - Recchi MA, Hornez L, et al. Prognostic value of tumoral sialyltransferase expression and circulating E-selectin concentrations in node-negative breast cancer patients [J]. *Int J Biol Markers*, 2003, 18 (2): 116 - 122.

- [17] Lu J, Isaji T, Im S, et al. β -Galactoside $\alpha 2,6$ -sialyltransferase 1 promotes transforming growth factor- β -mediated epithelial - mesenchymal transition [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289 (50): 34627 - 34641.

收稿日期: 2021-01-22; 修回日期: 2021-02-01

编辑/钱洪飞