



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.12.023
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract4145.shtml

· 简要论著 ·

MAT2A 基因在胃癌中的表达及临床意义

张顺¹, 陈琦², 郭智彬³, 万仁华¹

(南昌大学附属第一医院 1. 普通外科 2. 妇产科, 江西南昌 330004; 3. 江西省儿童医院中心实验室, 江西南昌 330006)

摘要

目的: 探讨甲硫氨酸腺苷转移酶 2A (MAT2A) 在胃癌组织及癌旁组织中的表达及意义。

方法: 分别应用 real-time PCR 及 Western blot 技术检测 48 例胃癌组织和 30 例癌旁正常胃组织中 MAT2A mRNA 与蛋白的表达。

结果: real-time PCR 与 Western blot 结果显示, 胃癌组织中 MAT2A mRNA 相对表达量明显高于癌旁正常胃组织 (3.99 ± 2.52 vs. 1.17 ± 1.04); MAT2A 蛋白相对表达量明显高于癌旁正常胃组织 (0.62 ± 0.05 vs. 0.20 ± 0.02), 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

结论: MAT2A 在胃癌组织中表达上调, 提示其在胃癌发病机制中起了重要的作用, 其作用机制值得进一步研究。

[中国普通外科杂志, 2014, 23(12):1711-1713]

关键词

胃肿瘤; 甲硫氨酸腺苷转移酶; 肿瘤标记; 生物学

中图分类号: R735.2

胃癌是最常见的消化道恶性肿瘤之一, 其发生发展是多因素参与的极其复杂的过程。机体细胞增殖与凋亡的调控机制发生紊乱与胃癌的形成密切相关, 是胃癌形成过程中的一个重要机制。甲硫氨酸腺苷转移酶 2A (methionine adenosyltransferase, MAT2A) 调控细胞生长及分化, 其表达增高显著促进细胞增殖、抑制细胞凋亡, 目前报道参与肝癌、结肠癌、膀胱癌、前列腺癌等许多恶性肿瘤的发生发展^[1-4]。本研究应用 real-time PCR 及 Western blot 技术检测胃癌组织和癌旁正常组织中 MAT2A 表达, 初步分析 MAT2A 在胃癌发病机制中的作用。

1 材料与方法

1.1 标本收集

收集南昌大学第一附属医院普外科手术切除

的新鲜胃癌组织标本 48 例, 其中男 32 例, 女 16 例; 年龄 30~75 岁, 平均 58.5 岁。根据 1990 年 WHO 肿瘤分化程度判断标准, 高分化 3 例, 中分化 18 例, 低分化 27 例; 临床分期根据 1997 年 UICC 修订的第 5 版胃癌 TNM 分期标准 I 期 2 例, II 期 16 例, III 期 30 例; 伴淋巴结转移者 34 例, 无淋巴结转移者 14 例。取相对应的癌旁组织距癌灶 >5 cm, 且均经病理证实为正常组织标本 30 例作为对照。所有患者无其他恶性疾病、免疫性疾病、外科疾病及炎症疾病, 术前均未做放疗和化疗。术后获取组织后迅速放入液氮中速冻, 存储于 -80 °C 冰箱保存备用。

1.2 real-time PCR 检测 MAT2A mRNA 表达

选用 GAPDH 作为内参, Primer3 软件 (美国 PE Biosystems 公司) 设计引物并由上海英俊生物有限公司合成, 引物序列如下: MAT2A 上游引物和下游引物分别为: 5'-GGG CTT AAT GTT TGG CTA TG-3' 和 5'-CTG CTT TGA TGA CT TTC TCC-3'; GAPDH 上游引物和下游引物分别为: 5'-GCA CCG TCA AGG CTG AGA AC-3' 和 5'-ATG GTG GTG AAG ACG CCA GT-3'。采用 GIBCO BRL 公司的 TRIzolTM 试剂提取组织总 RNA。核酸紫外分析仪检测总 RNA 浓度及纯度, 1.5% 琼脂糖电泳检测 RNA 完整性。取 1 μg 总 RNA, 利用 SYBR[®]RRPrime ScriptTM RT-PCR kit 反转录

基金项目: 江西省教育厅科学技术研究资助项目 (2009225026)。

收稿日期: 2014-07-07; **修订日期:** 2014-09-08。

作者简介: 张顺, 南昌大学附属第一医院住院医师, 主要从事重症胰腺炎、胃癌及胆管癌发病机制方面的研究。

通信作者: 陈琦, Email: amy_225@126.com

成 cDNA, PCR 反应在 ABI 公司 7500 型荧光定量 PCR 仪上进行。每次反应设置 3 个重复孔和不加模板的空白对照。PCR 反应完后, 利用溶解曲线判断产物的特异性。结果统计参照文献^[5]。

1.3 Western blot 检测 MAT2A 蛋白表达

参照说明书提取组织总蛋白并测定蛋白浓度。取 30 μg 总蛋白经 10% SDS/PAGE 分离胶电泳分离后转膜, 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h, 分别经兔抗 MAT2A 抗体 (1:1 000)、兔抗 β -actin 抗体 (1:2 000) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, TBST 洗膜 6 次, 每次 5 min, 分别加入辣根酶标记羊抗兔 IgG (稀释), 室温孵育 60 min, TBST 洗二抗 10 min, 共 3 次, 滴加增强型化学发光显色液, 暗室压片, 显影, 定影。每次上样设置 2 个重复孔。方正 Z320 扫描仪扫描图像, Image J 软件进行灰度值分析, 将目的条带与 β -actin 的灰度比值作为目的蛋白的相对表达量。

2 结 果

2.1 MAT2A mRNA 相对表达水平

将癌旁正常组织 MAT2A mRNA 相对表达水平的平均值设为 1, 相对于此平均值, 胃癌组织 MAT2A mRNA 相对表达量为 3.99 ± 2.52 , 癌旁正常胃组织为 1.17 ± 1.04 , 胃癌组织 MAT2A mRNA 相对表达量明显高于癌旁组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 1)。

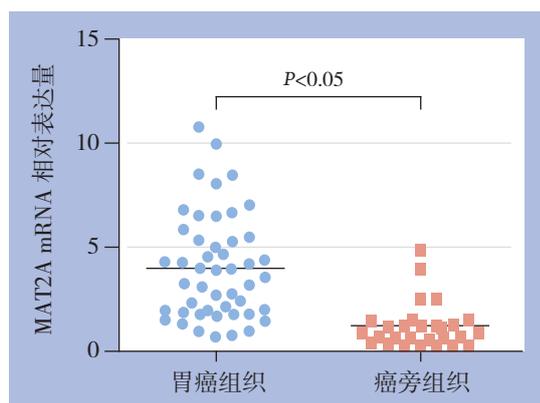


图 1 real-time PCR 检测 MAT2A mRNA 表达

2.2 MAT2A 蛋白相对表达水平

胃癌组织 MAT2A 蛋白相对表达量为 0.62 ± 0.05 , 癌旁正常胃组织为 0.20 ± 0.02 , 胃癌组织 MAT2A 蛋白相对表达量明显高于癌旁正常胃组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 2)。

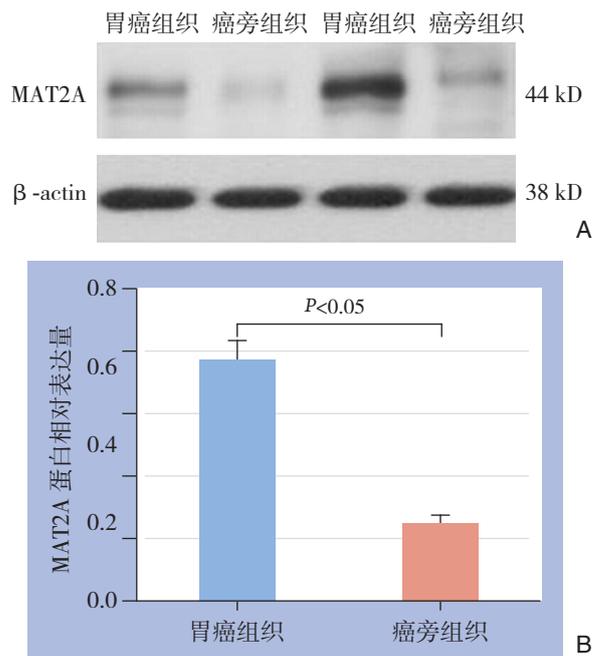


图 2 Western blot 检测 MAT2A 蛋白表达 A: 电泳条带; B: 胃癌组织及癌旁正常胃组织 MAT2A 蛋白相对表达量

3 讨 论

甲硫氨酸腺苷转移酶 (MAT) 是生物体内合成 S-腺苷甲硫氨酸 (SAM) 的关键酶, 而 SAM 是甲基供体和多胺合成的前体, 在所有细胞的体内代谢中发挥核心作用^[6]。哺乳动物组织中, 存在两种不同的基因 MAT1A 和 MAT2A, 分别编码两个同源性的 MAT 催化亚单位 $\alpha 1$ (形成二聚体的 MATIII 或四聚体的 MATI) 和 $\alpha 2$ (形成 MATII), 另外还存在 MAT2B, 编码调节亚单位 β , 主要功能是抑制 MATII 的活性^[7]。MAT1A 仅在成人肝组织中表达, MAT2A 在所有肝脏以外的组织中均表达^[8]。MAT2A 基因表达增高与细胞去分化密切相关, 广泛参与恶性肿瘤疾病的发生发展, 是近年研究的热点。本研究结果显示, 胃癌组织中 MAT2A mRNA 及蛋白相对表达水平显著高于癌旁正常胃组织, 提示 MAT2A 基因过表达与胃癌发病相关。然而, MAT2A 基因在胃癌发生发展中的具体作用机制并不清楚。

众所周知, 恶性肿瘤的基本生物学行为是细胞增殖活性增强、凋亡能力减弱。研究^[9]表明, T 细胞激活或恶变时, MAT2A 表达增高, SAM 合成增加, 促进多胺合成, 导致细胞增殖活性增加, 凋亡能力降低。MAT2A 在胃癌组织中表达增高, 很可能通过促进多胺合成, 促进胃癌细胞异常增殖。据报道, MAT2A 还是有丝分裂原活性细胞因

子如肝细胞生长因子(HGF)、瘦素等诱导肝癌及结肠癌细胞增殖的重要基因靶点^[2, 10-11]。沉默 MAT2A 表达能显著抑制促有丝分裂反应,抑制细胞增殖,促进细胞凋亡^[2, 10-11]。已有研究^[12-14]表明,胃癌组织中 HGF 和瘦素表达显著高于正常对照组织。HGF 和瘦素高表达在胃癌的发生发展、浸润、转移以及诱导血管生成中起重要作用^[15-17]。因此,笔者推测 HGF、瘦素等有丝分裂原活性细胞因子很可能是通过调节 MAT2A 基因的表达来影响胃癌细胞的生物学行为,靶向阻断 MAT2A 基因表达有望成为治疗胃癌的新途径。另外,细胞凋亡体系中,Fas/FasL 途径是属于胞外途径的一个通路。细胞膜表面的 Fas 抗原与 FasL 或抗 Fas 抗体结合后,可以启动胞内一系列酶,最终激活 caspase-3,促进细胞发生凋亡^[18]。T 细胞中研究发现,沉默 MAT2A 基因表达抑制 MATII 的活性,能诱导 FasL 表达,最终上调细胞内 caspase-3 水平,促进细胞凋亡^[19]。胃癌中 MAT2A 高表达可能促使 FasL 维持在较低的表达水平,降低细胞内 caspase-3 表达,从而抑制细胞凋亡。可见, MAT2A 基因可能通过多个途径影响胃癌细胞的增殖、侵袭、转移、凋亡等生物学特性,参与胃癌的发生发展。

综合上述,本研究表明 MAT2A 基因在胃癌组织中表达显著上调与胃癌发病密切相关。MAT2A 过表达可能通过促进胃癌细胞增殖、侵袭、转移,抑制细胞凋亡等途径参与胃癌的发生发展。MAT2A 基因作为控制细胞增殖、凋亡的重要基因靶点,深入研究 MAT2A 基因在胃癌发病机制中的作用将为寻找特异性胃癌诊断标志物及基因治疗靶点提供新的思路。

参考文献

- [1] Cai J, Mao Z, Hwang JJ, et al. Differential expression of methionine adenosyltransferase genes influences the rate of growth of human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Cancer Res*, 1998, 58(7):1444-1450.
- [2] Chen H, Xia M, Lin M, et al. Role of methionine adenosyltransferase 2A and S-adenosylmethionine in mitogen-induced growth of human colon cancer cells[J]. *Gastroenterology*, 2007, 133(1):207-218.
- [3] Coppin JF, Qu W, Waalkes MP. Interplay between cellular methyl metabolism and adaptive efflux during oncogenic transformation from chronic arsenic exposure in human cells[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(28):19342-19350.
- [4] Ci M, Mayumi Y, Andr e B, et al. Prostate-specific genes and their regulation by dihydrotestosterone[J]. *Prostate*, 2008, 68(3):241-254.
- [5] Xu YL, Wang DB, Liu QF, et al. Silencing of cofilin-1 gene attenuates biological behaviours of stromal cells derived from eutopic endometria of women with endometriosis[J]. *Hum Reprod*, 2010, 25(10):2480-2488.
- [6] Mato JM, Lu SC. Role of S-adenosyl-L-methionine in liver health and injury[J]. *Hepatology*, 2007, 45(5):1306-1312.
- [7] Katoh Y, Ikura T, Hoshikawa Y, et al. Methionine adenosyltransferase II serves as a transcriptional corepressor of Maf oncoprotein[J]. *Mol Cell*, 2011, 41(5):554-566.
- [8] Nordgren KK, Peng Y, Pelleymounter LL, et al. Methionine adenosyltransferase 2A/2B and methylation: gene sequence variation and functional genomics[J]. *Drug Metab Dispos*, 2011, 39(11):2135-2147.
- [9] Tob e a R, Horikawa S, Calvo V, et al. Interleukin-2 induces gamma-S-adenosyl-L-methionine synthetase gene expression during T-lymphocyte activation[J]. *Biochem J*, 1996, 319(Pt 3):929-933.
- [10] Pa e a C, Gorospe I, Herrera B, et al. Liver cell proliferation requires methionine adenosyltransferase 2A mRNA up-regulation[J]. *Hepatology*, 2002, 35(6):1381-1391.
- [11] Ramani K, Yang H, Xia M, et al. Leptin's mitogenic effect in human liver cancer cells requires induction of both methionine adenosyltransferase 2A and 2beta[J]. *Hepatology*, 2008, 47(2):521-531.
- [12] 陈俊忠, 赵勇, 徐嘉凤, 等. 肝细胞生长因子及其受体在胃癌组织中的表达[J]. *南方医科大学学报*, 2007, 27(11):1771-1773.
- [13] Zhang W, Chu YQ, Ye ZY, et al. Expression of hepatocyte growth factor and basic fibroblast growth factor as prognostic indicators in gastric cancer[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2009, 292(8):1114-1121.
- [14] Liang YZ, Fang TY, Xu HG, et al. Expression of CD44v6 and Livin in gastric cancer tissue[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2012, 125(17):3161-3165.
- [15] Hong SW, Jung KH, Park BH, et al. KRC-408, a novel c-Met inhibitor, suppresses cell proliferation and angiogenesis of gastric cancer[J]. *Cancer Lett*, 2013, 332(1):74-82.
- [16] Wu X, Chen X, Zhou Q, et al. Hepatocyte growth factor activates tumor stromal fibroblasts to promote tumorigenesis in gastric cancer[J]. *Cancer Lett*, 2013, 335(1):128-135.
- [17] Ou JM, Ye B, Qiu MK, et al. Knockdown of Livin inhibits growth and invasion of gastric cancer cells through blockade of the MAPK pathway in vitro and in vivo[J]. *Int J Oncol*, 2014, 44(1):276-284.
- [18] Wu MH, Chuang PC, Chen HM, et al. Increased leptin expression in endometriosis cells is associated with endometrial stromal cell proliferation and leptin gene up-regulation[J]. *Mol Hum Reprod*, 2002, 8(5):456-464.
- [19] Jani TS, Gobejishvili L, Hote PT, Barve AS, et al. Inhibition of methionine adenosyltransferase II induces FasL expression, Fas-DISC formation and caspase-8-dependent apoptotic death in T leukemic cells[J]. *Cell Res*, 2009, 19(3):358-369.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 张顺, 陈琦, 郭智彬, 等. MAT2A 基因在胃癌中的表达及临床意义[J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(12):1711-1713. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.12.023

Cite this article as: ZHANG S, CHEN Q, GUO ZB, et al. Expression of methionine adenosyltransferase 2A in gastric cancer and its clinical significance[J]. *Chin J Gen Surg*, 2014, 23(12):1711-1713. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.12.023