

SIRT6 在结直肠癌组织中的表达及其临床意义

齐佳¹, 崔春晖¹, 陈日红¹, 翟端洋¹, 王利峰², 谢朗¹, 俞金龙¹

摘要 目的 探讨结直肠癌组织中去乙酰化酶 6 (SIRT6) 的表达及其临床意义。方法 采用 Western blot 和实时荧光定量 PCR 法分别检测 29 对结直肠癌及癌旁正常组织中 SIRT6 mRNA 和蛋白的表达水平。免疫组化 SP 法检测 SIRT6 蛋白在 113 例 (含前 29 例) 结直肠癌及癌旁正常组织切片中的表达, 分析 SIRT6 的表达与各临床参数之间的相关性。结果 结直肠癌组织中 SIRT6 mRNA 和蛋白水平的表达均明显低于正常组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); SIRT6 蛋白在不同的分化程度、浸润深度、淋巴结转移及 TNM 分期结直肠癌组织的表达差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 SIRT6 在结直肠癌中的低表达与结直肠肿瘤的发生发展有关, SIRT6 可能是结直肠癌的抗癌蛋白之一, 可成为结直肠癌诊断和治疗的新靶标。

关键词 SIRT6; 结直肠癌; Western blot; RT-qPCR; 免疫组化中图分类号 R 735.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)02-0281-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.02.030

结直肠癌是全球范围内第三大常见的高发肿瘤, 其致死率在所有癌症中也高居第 4 位。调查估计每年约有 1 361 000 例结直肠癌新增病例, 同时每年也有近 694 000 人死于结直肠癌^[1-2]。因此, 寻求更加有效的诊断和治疗方法是医疗科研工作的重要研究方向。研究^[3-4]显示, 去乙酰化酶 6 (Sirtuin 6, SIRT6) 蛋白可能通过 DNA 修复、调节基因转录、控制代谢等作用机制抑制肿瘤细胞的发生与发展, 是目前备受关注的潜在抗癌蛋白之一。然而关于 SIRT6 蛋白是否参与结直肠癌的临床进展, 以及 SIRT6 蛋白表达与结直肠癌各临床病理特征的关联性的研究尚未见报道。该研究采用 Western blot、免疫组化和实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 法分别在蛋白和 mRNA 水平检测结直肠癌及癌旁组织中 SIRT6 的表达水平, 并分析 SIRT6 蛋白表达与主要

临床病理参数的关系, 为进一步探究 SIRT6 对结直肠癌的具体作用机制和临床应用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本 收集 2016 年 1~4 月手术切除的 29 例患者结直肠癌组织及癌旁正常结直肠组织标本, 取下标本立即冻于液氮瓶, 后快速分装并贮存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱, 以备提取组织蛋白和 RNA。癌旁组织均取自于肿瘤切缘 $\geq 5\text{ cm}$ 处, 取材干净, 经病理检查确认无癌细胞浸润。

收集南方医科大学南方医院和珠江医院于 2010 年 1 月~2016 年 4 月经手术切除的结直肠癌和癌旁正常组织标本 113 例 (包括用于 Western blot 及 PCR 检测的 29 例), 其中男 65 例, 女 48 例; 年龄 30~91 岁, 中位年龄 64 岁。标本取下后均立即分装固定于 4% 的中性甲醛缓冲溶液中, 石蜡包埋, 切片行 HE 染色, 由两名具有多年临床诊断经验的临床病理医师根据染色进行常规病理诊断。按组织细胞分化程度判断, 组织切片中 18 例为高分化癌, 87 例为中分化, 另 8 例为低分化。根据其浸润及转移情况按国际 TNM 分期标准进行分期, 其中 I 期 36 例, II 期 30 例, III 期 29 例, IV 期 18 例。病例中存在淋巴结转移者 41 例, 无淋巴结转移者 72 例。

查阅病历病史, 核实所有纳入病例均为原发性结直肠肿瘤, 术前均未行放疗、化疗。实验取材均告知患者或患者家属并征得同意, 且经南方医科大学南方医院和珠江医院医学伦理委员会批准。

1.1.2 主要试剂 兔抗人 SIRT6 单克隆抗体 (美国 Cell Signaling Technology 公司); 兔抗人 GAPDH 多克隆抗体 (美国 Abcam 公司); ECL 发光试剂盒 (上海碧云天公司); 通用型 SP 法免疫检测试剂盒、DAB 显色盒 (北京中杉金桥公司); TRIzol 试剂盒、PCR 引物 (美国 Invitrogen 公司); PrimeScript[®] RT Master Mix Perfect Real Time 逆转录试剂盒、SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II (Tli RNaseH Plus) 荧光定量试剂盒 (日本 TaKaRa Bio 株式会社)。

1.2 方法

2016-09-18 接收

基金项目: 广东省自然科学基金 (编号: 2014A030313295)

作者单位: 南方医科大学珠江医院¹ 普外科、² 消化内科, 广州 510280

作者简介: 齐佳, 女, 硕士研究生;

俞金龙, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: yujinlong640506@163.com

1.2.1 Western blot 法检测 SIRT6 蛋白的表达 取出冻存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱的结直肠癌及癌旁正常组织样本,用组织剪将组织块剪碎至 $3\text{ mm} \times 3\text{ mm}$ 左右的小块,加入现配的冷裂解液后匀浆、离心提取总蛋白。采用二喹啉甲酸法检测蛋白浓度后,将组织蛋白与 $5 \times$ 上样缓冲液以 $4:1$ 的比例混合,煮沸 $5 \sim 10\text{ min}$ 致变性。根据所测蛋白分子量,配制并灌注 12% 的分离胶和 5% 的浓缩胶后,按 $30\text{ }\mu\text{g}/\text{孔}$ 蛋白量上样,进行常规 SDS-PAGE 电泳,经电泳后切胶,将条带转移至相应大小的硝酸纤维素膜上,进行电转膜,后将其浸泡在 5% BSA 封闭液中,室温下封闭 1 h 。将膜从封闭液分别转至抗 SIRT6 和 GAPDH 的一抗中,抗体稀释比分别为 $1:1\ 000$ 和 $1:2\ 000$,置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。室温下 TBST (0.05 mol/L Tris , 0.15 mol/L NaCl , $0.05\% \text{ Tween20}$) 摇床洗膜 3 次,每次 10 min ,后置入辣根过氧化物酶标记的二抗中室温孵育 1 h ,TBST 洗膜 3 次,每次 10 min 后,反复均匀滴加现配的 ECL 化学发光液后进行曝光显影。

1.2.2 RT-qPCR 法检测 SIRT6 mRNA 的表达 取出冻存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱的组织样本,使用 RNA[®] TRIzol 试剂分别提取癌及癌旁组织的总 RNA,测定浓度后,利用 PrimeScript[®] RT Master Mix Perfect Real Time 逆转录试剂盒进行反转录 cDNA 第一链合成,利用 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II 反应体系进行 PCR,反应条件如下: $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min , $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 40 s , $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s , $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s ,共 40 个循环。实时荧光使用 ABI PRISM 7500 Sequence Detector 检测。引导扩增的目的蛋白 SIRT6 上游引物序列: $5'-\text{CCCACGGAGTCTGGACCAT}-3'$,下游引物: $5'-\text{CTCTGCCAGTTTGTCCCTG}-3'$ 。以 GAPDH 蛋白为内参,上游引物: $5'-\text{GGAGCGAGATCCCTC}-\text{CAAAT}-3'$,下游引物: $5'-\text{GGCTGTTGTCATACT}-\text{TCTCATGG}-3'$ 。

1.2.3 免疫组化法检测分析 SIRT6 蛋白的表达与临床病理参数的关系 将术中取下固定于 4% 的中性缓冲甲醛溶液中的癌及癌旁组织,经石蜡包埋后切片,切片厚 $4\text{ }\mu\text{m}$ 。切片经二甲苯脱蜡及浓度梯度酒精复水后,浸没在 $\text{pH } 6.0$ 的枸橼酸盐中高压修复 3 min ,使组织中的抗原充分暴露,滴加 3% 过氧化氢室温湿盒孵育 10 min ,用以消除组织中内源性过氧化物酶活性,PBS 冲洗 3 次,每次 5 min ,滴加山羊血清室温湿盒封闭 10 min 后倾去,将现配的稀释浓度为 $1:50$ 的 SIRT6 单克隆抗体覆盖组织表面, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 湿盒孵育过夜。取出湿盒置于室温下复温 30 min ,

先后滴加生物素标记的二抗和辣根酶标记链酶卵白素室温孵育各 15 min ,滴加前均以 PBS 冲洗 3 次,每次 5 min ,现配 DAB 显色剂显色,苏木精复染,盐酸乙醇分化,水洗返蓝。经浓度梯度酒精脱水及二甲苯透明后,中性树胶封片待观察拍照及评分。实验以试剂公司提供的阳性对照片作阳性对照,以等量 PBS 缓冲液代替一抗同批次染色作为阴性对照。

免疫组化染色结果的判定:SIRT6 蛋白阳性信号主要定位于细胞核,参照阴性及阳性对照切片,将细胞核呈现棕黄色判别为阳性表达。每张切片随机取 8 个高倍镜视野 ($\times 200$),由两名具多年临床诊断经验的临床病理医师双盲计数,采用半定量积分法,对每张切片阳性细胞的染色强度和比例进行分级计分,之后根据两项之和进行表达水平的判定。先按胞核的着色强度计分, 0 分为无色, 1 分为淡黄色, 2 分为棕黄色, 3 分为棕褐色,着色强度需与切片的染色背景相对比。而后估算阳性细胞所占视野比例分级计分: 0 分为 $0 \sim 5\%$, 1 分为 $6\% \sim 25\%$, 2 分为 $26\% \sim 50\%$, 3 分为 $51\% \sim 75\%$, 4 分为 75% 以上。以上两项之和, $0 \sim 3$ 分为蛋白表达缺失或降低(阴性), $4 \sim 5$ 分为阳性, $6 \sim 7$ 分为强阳性表达,最终结果由两名病理医师共同评定。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 20.0 软件进行统计,组间均数的比较采用配对 t 检验,组间率的分析比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。组间 RT-qPCR 的结果利用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值的配对 t 检验比较。

2 结果

2.1 SIRT6 蛋白的表达情况 Western blot 法检测分析表明,SIRT6 蛋白在癌旁正常组织中的显影条带密度明显高于结直肠癌组织,而其内参蛋白 GAPDH 表达的显影是一致的,呈均一条带。SIRT6 及内参蛋白条带灰度值均用 Quantity One 图像处理软件进行定量灰度值分析,结果显示:肿瘤组织的 SIRT6 蛋白表达低于癌旁组织,肿瘤组织与癌旁组织相比,SIRT6 蛋白表达降低,差异有统计学意义 ($t = -20.878$, $P < 0.01$)。见图 1。免疫组化结果显示,SIRT6 蛋白主要表达于正常组织细胞核内(图 2),SIRT6 蛋白在结直肠癌组织及其癌旁组织的阳性表达率分别是 22.12% ($25/113$) 和 80.53% ($91/113$),SIRT6 在结直肠癌组织中的表达明显低于正常组织,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 95.052$, $P < 0.01$)。

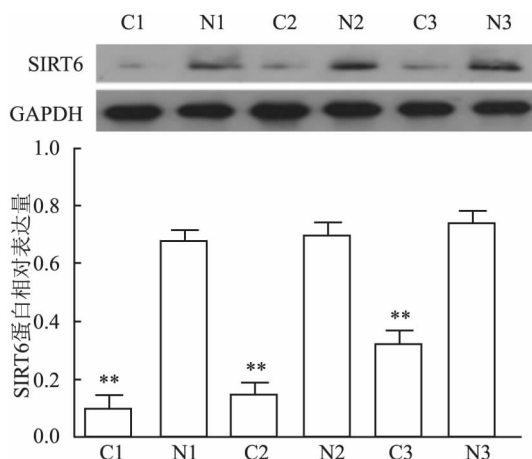


图1 Western blot 法检测 SIRT6 在结直肠癌及癌旁组织中的表达
C: 结直肠癌组织; N: 癌旁正常组织; C1 ~ C3: 3 个患者结直肠癌组织中 SIRT6 蛋白的相对表达; N1 ~ N3: 3 个患者癌旁正常组织中 SIRT6 蛋白的相对表达; 与癌旁正常组织比较: ** $P < 0.01$

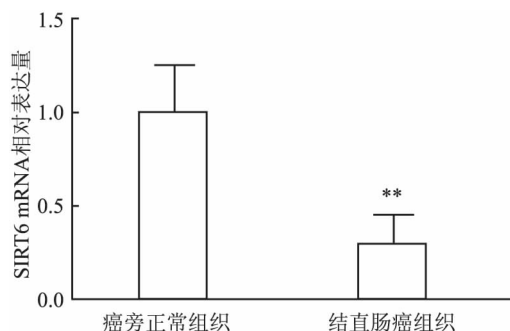


图3 RT-qPCR 法检测 SIRT6 mRNA 的表达
与癌旁正常组织比较: ** $P < 0.01$

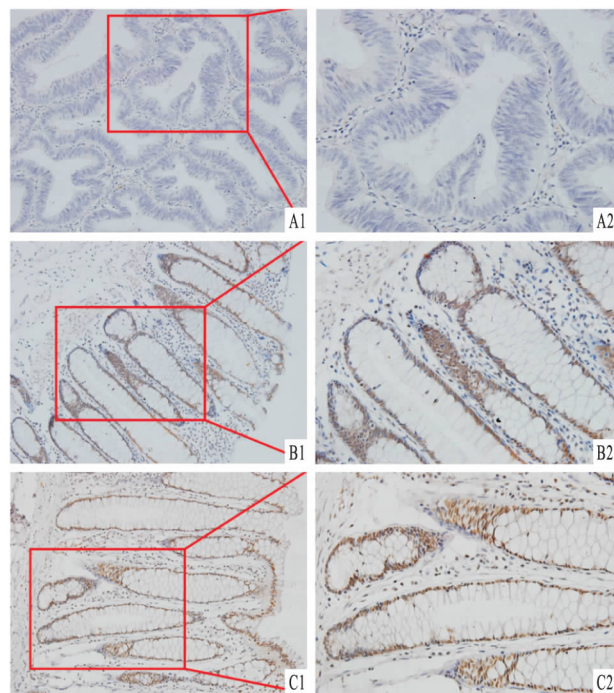


图2 免疫组化法检测 SIRT6 的定位和表达

A: SIRT6 在结直肠癌组织中呈阴性表达; B: SIRT6 在癌旁正常组织中呈阳性表达; C: SIRT6 在癌旁正常组织中呈强阳性表达; 1: $\times 200$; 2: $\times 400$

2.2 SIRT6 mRNA 的表达情况 统计 29 对结直肠癌与癌旁组织的 RT-qPCR 数据 结果显示结直肠癌组织的 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 均值为 (0.295 ± 0.161) , 癌旁正常对照组织的 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 均值为 (1.000 ± 0.252) 。结果表明与癌旁正常组织相比 , SIRT6 mRNA 在结直肠癌组织中的表达显著降低 , 差异有统计学意义 ($t = -28.992$ $P < 0.01$) 。见图 3。

2.3 结直肠癌组织中 SIRT6 的表达与临床病理参数的关系 SIRT6 蛋白在不同的分化程度、淋巴结转移及 TNM 分期的结直肠癌组织中呈差异表达 , 高分化、不存在淋巴结转移的结直肠癌组织中 SIRT6 蛋白阳性表达率较高 , 处于 TNM 分期早期的结直肠癌组织中 SIRT6 的阳性表达率也高于 TNM 晚期组织 , 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$) 。而在不同性别、年龄、肿瘤直径、发生部位结直肠癌组织则差异无统计学意义。见表 1。

表1 结直肠癌组织 SIRT6 阳性表达与各临床参数的关系征 [n(%)]

项目	n	阴性 (n=88)	阳性 (n=25)	χ^2 值	P 值
性别					
男	65	52 (80.00)	13 (20.00)	0.401	0.527
女	48	36 (75.00)	12 (25.00)		
年龄 (岁)					
≤ 64	57	43 (75.44)	14 (24.56)	0.397	0.529
> 64	56	45 (80.36)	11 (19.64)		
肿瘤直径 (cm)					
≤ 3	50	36 (72.00)	14 (28.00)	1.797	0.180
> 3	63	52 (82.54)	11 (17.46)		
分化程度					
高	18	10 (55.56)	8 (44.44)	6.447	0.040
中	87	72 (82.76)	15 (17.24)		
低	8	6 (75.00)	2 (25.00)		
浸润深度					
T1	7	5 (71.43)	2 (28.57)	8.321	0.040
T2	38	24 (63.16)	14 (36.84)		
T3	17	14 (82.35)	3 (17.65)		
T4	51	45 (88.24)	6 (11.76)		
淋巴结转移					
N0	72	51 (70.83)	21 (29.17)	5.713	0.017
N1 + N2	41	37 (90.24)	4 (9.76)		
远处转移					
M0	95	72 (75.79)	23 (24.21)	1.507	0.220
M1	18	16 (88.89)	2 (11.11)		
TNM 分期					
I	36	22 (61.11)	14 (38.89)	8.827	0.032
II	30	25 (83.33)	5 (16.67)		
III	29	25 (86.21)	4 (13.79)		
IV	18	16 (88.89)	2 (11.11)		

3 讨论

沉默配型信息调节蛋白家族 (silent mating type information regulation 2 homolog, Sirtuins) 为一高度的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性的组蛋白去乙酰化酶家族, 被证明参与维持细胞染色体稳定性、修复或重组细胞 DNA、调控细胞应激反应及代谢水平等多项肿瘤相关细胞生物学行为, 并可通过参与调控热量限制达到抗衰老的效应。Sirtuins 蛋白因可能成为治疗疾病和延长寿命的新靶点, 而受到国内外医疗工作者的广泛关注^[5-6]。Sirtuin 家族包括 7 个成员蛋白 (SIRT1~7), 每个蛋白在组织细胞内的定位和功能各不相同^[6], 其中 SIRT6 蛋白主要定位于细胞核, 同时拥有 ADP-核糖基转移酶和去乙酰化酶活性, 与炎症反应和多种代谢相关的疾病有关, 如糖尿病、肥胖和癌症, 研究^[7-8]显示其是与肿瘤生长调控关系最为密切的 Sirtuins 蛋白成员。

近年来相关研究显示, SIRT6 基因表达的变化参与了人类多种肿瘤的发生发展。Marquardt et al^[9]发现在经基因敲除 SIRT6 的肝细胞较正常肝细胞更易于发展成为肝细胞癌。Sebastián et al^[3]报道与只存在肿瘤抑制基因 APC 突变的小鼠相比, APC 基因突变联合肠细胞 SIRT6 基因敲除小鼠的肿瘤类型、肿瘤数目及侵袭性均增加。因此, 本实验推测 SIRT6 参与了结直肠癌的发生发展过程, 并通过 Western blot 和免疫组化法检测了 SIRT6 蛋白在结直肠癌组织中的表达, 结果显示 SIRT6 在结直肠癌组织中的表达水平显著低于癌旁正常组织。本实验还利用 RT-qPCR 在 mRNA 水平检测 SIRT6 的表达, 结果与蛋白水平的表达趋势一致, SIRT6 mRNA 在结直肠癌组织中的表达较癌旁正常组织相比显著降低, 说明 SIRT6 在基因转录阶段就已出现表达的缺失, 验证了关于结直肠癌的多基因改变中存在 SIRT6 基因突变的推测, 结直肠癌组织中 SIRT6 基因及蛋白表达的缺失参与了肿瘤的发生, 这为结直肠癌的基因靶向治疗供了新的研究靶点。

进一步对 SIRT6 蛋白表达与临床病理学参数的相关性分析显示, SIRT6 的表达与结直肠癌的分化程度、浸润深度、淋巴结转移及 TNM 分期相关, 低分化、存在淋巴结转移的结直肠癌组织中 SIRT6 蛋白阳性表达率较低, 而处于 TNM 分期晚期的结直肠癌组织中 SIRT6 的阳性表达率也低于 TNM 早期组织, 随着结直肠癌的发展, SIRT6 的表达水平呈现出了

递减的趋势, 验证了关于 SIRT6 表达的缺失可能促进了肿瘤的发展, 增强了结直肠癌侵袭、转移能力的推测。Marquardt et al^[9]研究也指出, SIRT6 的表达水平与肝癌的恶性程度及患者的预后情况相关。研究^[10]显示, 下调表达的 SIRT6 能增加乳腺癌的侵袭能力从而推进乳腺癌的恶化, 且与癌组织对于化疗的敏感性密切相关, 影响着患者的病程发展和预后。此外, SIRT6 表达缺失还被证实与卵巢肿瘤的不良预后相关^[11]。基于此, 本研究结果表明结直肠癌组织中 SIRT6 蛋白表达水平可能成为预测患者肿瘤进展阶段及预后情况的重要参考指标, 是诊断结直肠癌的潜在指标和治疗的研究靶点, 为提高结直肠癌的诊疗效果提供新的研究思路。

参考文献

- [1] Favoriti P, Carbone G, Greco M, et al. Worldwide burden of colorectal cancer: a review [J]. *Updates Surg*, 2016, 68(1): 7-11.
- [2] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2016 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(1): 7-30.
- [3] Sebastián C, Zwaans B M, Silberman D M, et al. The histone deacetylase SIRT6 is a tumor suppressor that controls cancer metabolism [J]. *Cell*, 2012, 151(6): 1185-99.
- [4] Lin Z, Yang H, Tan C, et al. USP10 antagonizes c-Myc transcriptional activation through SIRT6 stabilization to suppress tumor formation [J]. *Cell Rep*, 2013, 5(6): 1639-49.
- [5] Feldman J L, Dittenhafer-Reed K E, Denu J M. Sirtuin catalysis and regulation [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(51): 42419-27.
- [6] Bruzzone S, Parenti M D, Grozio A, et al. Rejuvenating sirtuins: the rise of a new family of cancer drug targets [J]. *Curr Pharm Des*, 2013, 19(4): 614-23.
- [7] Lerrer B, Gertler A A, Cohen H Y. The complex role of SIRT6 in carcinogenesis [J]. *Carcinogenesis*, 2016, 37(2): 108-18.
- [8] Michishita E, McCord R A, Berber E, et al. SIRT6 is a histone H3 lysine9 deacetylase that modulates telomeric chromatin [J]. *Nature*, 2008, 452(7186): 492-6.
- [9] Marquardt J U, Fischer K, Baus K, et al. Sirtuin-6-dependent genetic and epigenetic alterations are associated with poor clinical outcome in hepatocellular carcinoma patients [J]. *Hepatology*, 2013, 58(3): 1054-64.
- [10] Thirumurthi U, Shen J, Xia W, et al. MDM2-mediated degradation of SIRT6 phosphorylated by AKT1 promotes tumorigenesis and trastuzumab resistance in breast cancer [J]. *Sci Signal*, 2014, 7(336): ra71.
- [11] Zhang G, Liu Z, Qin S, et al. Decreased expression of SIRT6 promotes tumor cell growth correlates closely with poor prognosis of ovarian cancer [J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2015, 36(6): 629-32.

网络出版时间: 2017-1-20 11:13 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20170120.1113.064.html>

结直肠癌患者血清 TGF- β 1、Smad-3 和 Smad-7 的表达及意义

郑孝翔, 吴文涌, 余昌俊

摘要 目的 检测结直肠癌(CRC)患者外周血中转化生长因子(TGF)- β 1、信号传导蛋白 Smad-3 和 Smad-7 水平的变化,为上皮间质化(EMT)与 CRC 的关系提供临床依据。方法 通过 ELISA 法对 CRC 患者血清中 TGF- β 1、Smad-3 和 Smad-7 的水平进行检测,比较实验组与对照组患者血清中 TGF- β 1、Smad-3 和 Smad-7 的水平。结果 CRC 患者血清中 TGF- β 1 和 Smad-3 水平明显高于对照组($P < 0.01$),Smad-7 的水平显著低于对照组($P < 0.01$),且随着 Dukes 分期等级的增高,TGF- β 1 和 Smad-3 水平逐渐增高($P < 0.01$),Smad-7 水平则逐渐降低($P < 0.01$)。结论 TGF- β 1、Smad-3 和 Smad-7 在 CRC 患者的发病过程中具有重要作用。

关键词 结直肠癌;TGF- β 1;Smad;ELISA

中图分类号 R 604

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)02-0285-03

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.02.031

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是临床常见

的恶性肿瘤之一,患者往往预后差,死亡率增高。目前普遍认同 CRC 患者出现肿瘤转移与患者的预后不良密切相关,肿瘤转移相关的研究多有报道^[1]。在对 CRC 远处转移的研究^[2-3]中,上皮间质化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)可能是激活癌症转移发生的一个重要过程。转化生长因子- β 1(transforming growth factor-1, TGF- β 1)是 TGF- β 超家族成员之一,在多种疾病的 EMT 发生过程中发挥了重要的诱导作用。目前推测在 CRC 的 EMT 过程中,TGF- β 1 通过刺激上皮细胞膜形成“配体-受体复合物”并结合磷酸化的 Smad-3 与 Smad-4 结合并发生核转位,结合后的复合物参与了 EMT 相关基因的启动,从而调节 EMT 相关靶基因的表达,如基质金属蛋白酶-2、 α -平滑肌肌动蛋白、结缔组织生长因子等^[3-4]。TGF- β 分为 TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3 三类,以 TGF- β 1 分布最为广泛。学者们在肿瘤免疫、机制和临床方面都对其进行了广泛的研究^[5]。研究^[6]表明 TGF- β 1 具有促血管生成作用,结果显示血管内皮生长因子促进了 CRC 血管的形成。Smad-7 作为有效的拮抗分子在 EMT 过程中扮演负调节作用。因此 TGF- β /Smad 信号通路是研究 CRC 转移不可回避的关键问题。该研究通过对 CRC 患者

2016-10-17 接收

基金项目:安徽省科技厅公益性技术应用研究联动计划项目(编号:15011d04044)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院胃肠外科,合肥 230022

作者简介:郑孝翔,男,硕士研究生,主治医师;

吴文涌,男,副主任医师,副教授,硕士生导师,责任作者,

E-mail:13805694400@126.com

Expression and clinical significance of SIRT6 in colorectal cancer

Qi Jia, Cui Chunhui, Chen Rihong, et al

(Dept of General Surgery, Zhu Jiang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510280)

Abstract Objective To explore the expression and the clinical significance of SIRT6 in colorectal cancer (CRC). **Methods** The expression levels of SIRT6 protein and mRNA in 29 samples of CRC and paired adjacent normal tissues were tested by Western blot and RT-qPCR. 113 paraffin samples (including the former 29 samples) of CRC and adjacent tissues were detected by immunohistochemistry. The associated of expression levels of SIRT6 protein and clinical parameters were analyzed. **Results** The expression level of SIRT6 was significantly lower in CRC than in adjacent normal tissues ($P < 0.05$). The expression level of SIRT6 was associated with differentiated degree, depth of invasive lymphatic metastasis and TNM stage ($P < 0.05$), whereas was not with other clinical parameters. **Conclusion** The low expression of SIRT6 is involved in the tumorigenesis and progression of CRC. SIRT6 might play a role as tumor suppressor and can be regarded as a promising diagnostic and therapeutic target for CRC.

Key words SIRT6; colorectal cancer; Western blot; RT-qPCR; immunohistochemistry