

代谢综合征合并结直肠癌患者脂肪组织 IGF- I、ERK、GLUT4 mRNA 表达水平的变化及临床意义

冯燕 蔺萃 赵世华 王伟 王颜刚 王凤莲

【摘要】 分析代谢综合征合并结直肠癌患者大网膜脂肪组织中胰岛素样生长因子 I (IGF- I)、细胞外信号调节激酶(ERK)和葡萄糖转运蛋白 4 (GLUT4) mRNA 表达水平。采用 RT-PCR 技术检测患者大网膜脂肪组织中 IGF- I、ERK 和 GLUT4 的 mRNA 表达水平。结果显示:(1)代谢综合征组大网膜脂肪组织 IGF- I 和 ERK 的 mRNA 表达显著高于对照组($P < 0.01$),其中结直肠癌亚组高于非肿瘤亚组($P < 0.01$)。GLUT4 的 mRNA 表达显著低于对照组($P < 0.01$)。(2)ERK 与 IGF- I 的 mRNA 表达呈显著正相关($r = 0.608, P < 0.01$)。血清空腹胰岛素与 ERK、IGF- I 的 mRNA 表达呈显著正相关($r = 0.538, 0.439, P < 0.01$),与 GLUT4 呈显著负相关($r = -0.457, P < 0.01$)。IGF- I 和 ERK 联合与代谢综合征患者并发结直肠癌有关, GLUT4 在代谢综合征中的表达下调可能与代谢综合征脂肪组织发生胰岛素抵抗有关。

【关键词】 代谢综合征; 结直肠癌; 胰岛素样生长因子 I; 细胞外信号调节激酶; 葡萄糖转运蛋白 4

The significance of genetic expression of IGF- I, ERK, and GLUT4 in adipose tissue of patients with metabolic syndrome and colorectal cancer and its significance FENG Yan*, LIN Cui, ZHAO Shi-hua, WANG Wei, WANG Yan-gang, WANG Feng-lian. *Department of Paediatrics, Weifang Yidu Central Hospital, Weifang 262500, China

Corresponding author: WANG Yan-gang

【Summary】 To explore the mRNA expression of insulin-like growth factor- I (IGF- I), extracellular signal regulated kinase (ERK), and glucose transporter 4 (GLUT4) in greater omental adipose tissue of patients with metabolic syndrome and colorectal cancer. The mRNA expression of IGF- I, ERK, and GLUT4 in greater omental adipose tissue of the subjects was measured by RT-PCR. (1)The mRNA expression level of IGF- I and ERK in the metabolic syndrome group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.01$), while in colorectal cancer subgroup the expression was significantly higher than that in the non-colorectal cancer subgroup ($P < 0.01$). The expression of GLUT4 was obviously lowered ($P < 0.01$). (2)The expression of ERK was positively correlated with that of IGF- I ($r = 0.608, P < 0.01$). The fasting insulin was positively correlated with the expression of ERK and IGF- I ($r = 0.538, 0.439, P < 0.01$), and negatively with that of GLUT4 ($r = -0.457, P < 0.01$). There may be relationship between ERK plus IGF- I and metabolic syndrome complicated with colorectal cancer. The lowered GLUT4 expression may be related to insulin resistance in metabolic syndrome.

【Key words】 Metabolic syndrome; Colorectal cancer; Insulin-like growth factor- I; Extracellular signal regulated kinase; Glucose transporter 4

(Chin J Endocrinol Metab, 2013, 29: 876-878)

近年来,大量流行病学研究显示以胰岛素抵抗为核心发病机制的代谢综合征与结直肠癌发病密切相关^[1,2];但其发生机制尚未完全阐明。胰岛素抵抗下胰岛素促进细胞增殖在结直肠癌发病中的作用日益受到重视,代谢综合征可能通过体内的胰岛素/胰岛素样生长因子(IGF)轴对恶性肿瘤的发生起作用。因此,本研究通过测定胰岛素的受体后信号传导链中葡萄糖转运蛋白 4 (GLUT4)、IGF- I 以及细胞外信号调节激酶(ERK)表达水平以及相互间关系,探讨其在代谢综合征患者并发结直肠癌中的作用和临床意义。

一、对象和方法

1. 对象:选择 2011 年 1 月至 2012 年 1 月期间在青岛大学医学院附属医院普通外科及妇科择期手术的患者 65 例。(1)纳入标准:①手术前及术中未用降糖、胰岛素以及调脂药物。②近 3 个月未接受过节食及减肥药物。③对于术后确诊结直肠癌的患者,术前未经放疗、化疗或其他针对肿瘤的治疗,术后常规病理切片 HE 染色,证实结直肠癌,以保证所取标本合格。④所有患者均知情同意。(2)排除标准:①感染患者。②患多囊卵巢综合征、库欣综合征等内分泌疾病。③慢性肝肾功能损害者。④服用糖皮质激素、利尿药物及其他影响血糖和胰岛素作用的药物者。

2. 分组:根据 2005 年国际糖尿病联盟 (IDF) 代谢综合征诊断标准分为 2 组,即代谢综合征组和对照组。代谢综合征组 35 例,根据术后病理活检确诊分为 2 个亚组:非肿瘤组 15 例

DOI:10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2013.10.013

作者单位:262500 潍坊益都中心医院儿内科(冯燕、王凤莲、蔺萃);266003 青岛大学医学院附属医院内分泌科(赵世华、王伟、王颜刚)

通信作者:王颜刚

表 1 各组患者一般特征及 IGF- I、ERK 和 GLUT4 mRNA 表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数(男/女)	年龄(年)	身高(cm)	体重(kg)	腰围(cm)	臀围(cm)	体重指数(kg/m ²)
对照组	30(16/14)	60±9	168±6	69±5	85±3	98±6	24.57±2.25
代谢综合征组	35(15/20)	61±8	163±7 ^b	71±12	96±9 ^b	102±7 ^b	26.52±3.58 ^a
非肿瘤组	15(1/14)	63±11	161±7	72±11	93±10	101±8	27.70±3.48
肿瘤组	20(14/6)	60±5	164±8	69±13	98±8	103±6	25.64±3.49
组别	例数(男/女)	收缩压(mm Hg)	舒张压(mm Hg)	甘油三酯(mmol/L)	总胆固醇(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)
对照组	30(16/14)	133±11	77±8	1.38±0.33	4.12±0.70	2.26±1.20	2.60±0.90
代谢综合征组	35(15/20)	147±18 ^b	87±11 ^b	1.58±1.17	4.44±1.37	1.36±0.34 ^b	2.81±0.96
非肿瘤组	15(1/14)	142±11	86±9	1.95±1.60	4.97±1.09	1.43±0.30	3.05±0.80
肿瘤组	20(14/6)	152±21	87±13	1.31±0.62 ^c	4.04±1.45	1.30±0.36	2.63±1.04
组别	例数(男/女)	空腹血糖(mmol/L)	空腹胰岛素(mU/L)	ERK mRNA(ΔCt)	IGF- I mRNA(ΔCt)	GLUT4 mRNA(ΔCt)	
对照组	30(16/14)	4.84±0.59	8.47±0.67	8.81±1.97	8.07±1.60	4.54±1.48	
代谢综合征组	35(15/20)	7.13±2.13 ^b	11.38±1.72 ^b	4.44±1.51 ^b	4.33±1.31 ^b	6.97±2.23 ^b	
非肿瘤组	15(1/14)	6.15±1.37	10.54±1.69	5.28±1.06	5.20±1.27	5.09±1.61	
肿瘤组	20(14/6)	7.86±2.32 ^c	12.00±1.49 ^c	3.80±1.51 ^d	3.68±0.92 ^d	8.37±1.46 ^d	

注:1 mm Hg=0.133 kPa;HDL-C:高密度脂蛋白胆固醇;LDL-C:低密度脂蛋白胆固醇;ERK:细胞外信号调节激酶;IGF- I:胰岛素样生长因子 I;GLUT4:葡萄糖转运蛋白 4;与对照组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与非肿瘤组比较,^c $P<0.05$,^d $P<0.01$

(男性 1 例,女性 14 例),年龄(63±11)岁,肿瘤组 20 例(男性 14 例,女性 6 例),年龄(60±5)岁。对照组 30 名(男性 16 名,女性 14 名),年龄(60±9)岁。对照组及非肿瘤组患者中急诊外伤 5 例、子宫肌瘤 28 例、胆结石 10 例、消化性溃疡 2 例。结直肠癌的诊断参照张天泽、徐光炜主编《肿瘤学》的标准,手术或者肠镜下取标本常规行病理切片 HE 染色进行病理活体确诊,并且除外家族性腺瘤性息肉病、遗传性非息肉病性结直肠癌及肛管癌等病例。

3. 实验方法:(1)标本采集和保存:手术前当天抽取患者空腹血,测定空腹血糖、空腹胰岛素、甘油三酯、总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)。所有标本均为手术切除新鲜标本。手术中取大网膜脂肪组织约 200 mg,磷酸盐缓冲液冲洗后放入冷冻管迅速放入液氮,然后转-70℃冰箱保存,用于 RNA 提取。(2)RNA 提取并逆转录及基因表达的测定:应用 RNeasy spin 动物组织总 RNA 提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司)提取脂肪组织总 RNA,取总 RNA 200 ng、反应体系 20 μl,按照逆转录试剂盒说明操作(10XRT mix 2 μl,dNTP 混合液 2 μl,Oligo-dT Primer 2 μl,Quant Reverse Transcriptase 1 μl,Total RNA 5 μl,RNase-free H₂O 8 μl;37℃ 60 min)。逆转录产物-20℃保存。IGF- I、ERK 和 GLUT4 及作为内参照的三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)基因引物用软件 Primer Premier 5.0 设计,由上海桑尼生物科技有限公司合成。采用 SYBR 荧光实时定量 PCR 法。反应体系 20 μl,按试剂盒说明操作。(3)数据表达与分析:用 PCR 循环阈值(Ct 值)表示各基因 mRNA 的表达水平,相对表达量用比较 Ct 法(=2^{-ΔΔCt}法)^[3]进行计算,观察各组组织标本中的基因表达情况。对其结果取 0.5 为底数的指数转化,进行 mRNA 表达量与临床病理参数之间的关系分析。

4. 统计学处理:所有实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 *t* 检验分析代谢综合征和对照组以及代谢综合征肿瘤组和非肿瘤组各目的基因 mRNA 表达水平的差异,采用 Spearman 相关法,分析

各目的基因表达水平的相关性及其和各个临床病理特征之间的关系。数据处理采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学分析,以 $P<0.05$ 差异有统计学意义。

二、结果

1. 各组患者一般特性及大网膜脂肪组织 IGF- I、ERK 和 GLUT4 mRNA 表达的比较(表 1):代谢综合征组患者腰围、臀围、体重指数、收缩压、舒张压、HDL-C、空腹血糖和空腹胰岛素均显著高于对照组($P<0.05$),IGF- I 和 ERK 的 mRNA 表达与对照组相比差异有统计学意义(8.07±1.60 对 4.33±1.31,8.81±1.97 对 4.44±1.51, $P<0.01$),GLUT4 的 mRNA 表达显著下调(4.54±1.48 对 6.97±2.23, $P<0.01$)。肿瘤组空腹血糖、空腹胰岛素显著高于非肿瘤组($P<0.05$),IGF- I 和 ERK 的 mRNA 表达均显著上调($P<0.01$)。

2. IGF- I、ERK 和 GLUT4 mRNA 表达量相关性及其与临床病理参数之间的关系:ERK 与 IGF- I 的 mRNA 表达呈显著正相关($r=0.608,P<0.01$)。血清空腹胰岛素与 ERK 的 mRNA 表达呈显著正相关($r=0.538,P<0.01$),与 IGF- I 呈显著正相关($r=0.439,P<0.01$),与 GLUT4 呈显著负相关($r=-0.457,P<0.01$)。

三、讨论

代谢综合征与恶性肿瘤都是常见疾病,并且其发病率都在不断上升,成为危害人类健康的主要疾病。大量研究业已证实代谢紊乱与恶性肿瘤的发生发展密切相关^[46]。本研究显示,在正常对照组大网膜脂肪组织中 IGF- I 和 ERK 表达很少,在代谢综合征中表达明显增强,其中结直肠癌中则高表达。相反,GLUT4 在代谢综合征中表达下调,血清空腹胰岛素与 IGF- I、ERK 的 mRNA 表达呈显著正相关,与 GLUT4 呈显著负相关。这些结果提示 IGF- I 和 ERK 联合与代谢综合征患者并发结直肠癌有关,胰岛素抵抗和继发的高胰岛素血症可能通过 IGF- I 水平的高表达继而 Ras-Raf-MAP-ERK 有丝分裂通路的过度激活,对细胞的繁殖、增生、分化以及血管形成等的作用而

导致了肿瘤的发生, GLUT4 在代谢综合征中的表达下调可能与代谢综合征脂肪组织胰岛素抵抗有关。

研究发现, 在恶性肿瘤细胞膜上胰岛素受体表达增高, 胰岛素信号通路某些环节的改变、过度表达或者基因突变都有可能引起细胞增殖、凋亡异常, 导致肿瘤的发生^[7,8]。大量研究发现 IGF 家族参与了恶性肿瘤的发生。胰岛素与 IGF 的相似性使得胰岛素和 IGF- I 可以分别激活胰岛素受体、IGF- I 受体和 IGF- I /胰岛素混合受体的酪氨酸激酶生长受体通路, 进一步引起下游的活性有丝分裂原蛋白激酶通路的激活^[9]。

已证实, 丝裂原活化蛋白激酶级联细胞内信号传导通路激活后, ERK 是其中的重要一环。有报道显示结直肠癌中 ERK 蛋白及其上游激酶 MAPK 蛋白的表达和活性以及此信号传导通路与结直肠癌发生、发展和治疗密切相关^[10-12]。本研究结果提示代谢综合征患者长期存在的胰岛素抵抗最终使包括结肠上皮细胞在内的所有细胞均暴露在高浓度的胰岛素和能量代谢物中^[13], 胰岛素本身可作为一种促生长的因素促进细胞增殖和突变, 上调 Ras-Raf-MAP-ERK 信号通路, 尤其可促进有缺陷的腺体和细胞的增殖而导致癌症的发生, 影响结肠上皮细胞的生长、发育和稳态, 刺激结肠上皮细胞增殖, 最终促进大肠癌的发生。

代谢综合征发病的中心环节是胰岛素抵抗, 主要是脂肪细胞和骨骼肌细胞内胰岛素信号通路障碍致 GLUT4 转位障碍。GLUT4 被认为是胰岛素抵抗的一个重要的信号因子, GLUT4 分子的表达下调将直接影响机体对葡萄糖的利用。有研究显示, 3T3-L1 脂肪细胞在胰岛素长期作用下, 导致细胞内 GLUT4 含量下降^[14]。本组前期研究显示代谢综合征患者大网膜脂肪组织 GLUT4 mRNA 表达明显降低^[15], 在本组研究中也显示, 与正常大网膜脂肪组织比较, GLUT4 在代谢综合征中表达下调, 可能与胰岛素抵抗有关。

恶性肿瘤的发生机制是十分复杂而微妙的, 是否还存在其他方面的机制, 尚需作深入的研究。总而言之, 在代谢紊乱患者中筛查恶性肿瘤患者对于早期发现恶性肿瘤有重要意义, 积极防治 2 型糖尿病以及肥胖患者通过减轻体重都可以有效降低恶性肿瘤的发生风险。因此, 在现阶段, 积极开展和深入研究代谢综合征与恶性肿瘤发生发展的分子机制, 对代谢综合征与恶性肿瘤的防治有重大的现实意义。

参 考 文 献

[1] Seow A, Yuan JM, Koh WP, et al. Diabetes mellitus and risk of

colorectal cancer in the Singapore Chinese Health Study. *J Natl Cancer Inst*, 2006, 98:135-138.

- [2] Stumerr T, Burning JE, Lee IM, et al. Metabolic abnormalities and risk for colorectal cancer in the physicians' health study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006, 15:2391-2397.
- [3] 唐永凯, 贾永义. 光定量 PCR 数据处理方法的探讨. *生物技术*, 2008, 18:89-91.
- [4] Cowey S, Hardy RW. The metabolic syndrome: a high-risk state for cancer? *Am J Pathol*, 2006, 169:1505-1522.
- [5] Larsson SC, Orsini N, Wolk A. Diabetes mellitus and risk of colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97:1679-1687.
- [6] Draznin B. Mitogenic action of insulin: Friend, foe or 'Frenemy'? *Diabetologia*, 2010, 53:229-233.
- [7] Nunez NP, Oh WJ, Rozenberg J, et al. Accelerated tumor formation in a fatless mouse with type 2 diabetes and inflammation. *Cancer Res*, 2006, 66:5469-5476.
- [8] Martelli AM, Cocco L, Capitani S, et al. Nuclear phosphatidylinositol 3, 4, 5-trisphosphate, phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, and PTen: emerging key regulators of anti-apoptotic signaling and carcinogenesis. *Eur J Histochem*, 2007, 51:125-131.
- [9] Pandini G, Frasca F, Mineo R, et al. Insulin/insulin-like growth factor I hybrid receptors have different biological characteristics depending on the insulin receptor isoform involved. *J Biol Chem*, 2002, 277:39684-39695.
- [10] Schiel R, Muller UA, Braun A, et al. Risk of malignancies in patients with insulin-treated diabetes mellitus: results of a population-based trial with 10-year follow-up (JEVIN). *Eur J Med Res*, 2005, 10:339-344.
- [11] Shen ZL, Wang B, Ye YJ, et al. Study on clinicopathological correlations between metabolic syndrome and colorectal carcinoma. *Chin J Surg*, 2008, 46:537-539.
- [12] Ahmed RL, Schmitz KH, Anderson KE, et al. The metabolic syndrome and risk of incident colorectal cancer. *Cancer*, 2006, 107:28-36.
- [13] Somasundar P, McFadden DW, Hileman SM, et al. Leptin is a growth factor in cancer. *J Surg Res*, 2004, 116:337-349.
- [14] Furuyashiki T, Nagayasu H, Aoki Y, et al. Tea catechin suppresses adipocyte differentiation accompanied by down-regulation of PPAR gamma2 and C/EBP alpha in 3T3-L1 cells. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2004, 68:2353-2359.
- [15] 赵文娟, 杨亚超, 王伟, 等. 大网膜脂肪组织中胰岛素受体底物 1、葡萄糖转运蛋白 4 和抵抗素 mRNA 表达水平与代谢综合征的关系. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11:1497-1501.

(收稿日期:2013-04-04)

(本文编辑:朱梅华)