

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.10.012

· 临床研究 ·

Galectin-3 在人乳腺癌组织中的表达及对 MCF-7 细胞恶性生物学行为的影响

邱鹏¹, 马立志¹, 汤肖肖¹, 刘晓丽¹, 窦艳¹, 刘月平² (1. 邢台市人民医院/河北医科大学附属医院 肿瘤内科, 河北邢台 054000; 2. 河北医科大学第四医院 病理科, 河北石家庄 050011)

[摘要] **目的:** 探讨半乳糖凝集素-3(galectin-3)蛋白在人乳腺癌组织中的表达规律及沉默 galectin-3 基因后对乳腺癌 MCF-7 细胞迁移、侵袭和凋亡的影响。**方法:** 收集 2014 年 2 月至 2018 年 2 月邢台市人民医院手术切除的 15 例乳腺癌患者癌组织及其癌旁组织, 另外采集该医院和河北医科大学附属第四医院组织石蜡切片 100 份, 利用 Western blotting 检测 15 例乳腺癌患者的癌组织及癌旁组织中 galectin-3 蛋白相对表达水平, 用免疫组织化学法检测 galectin-3 蛋白在 100 例乳腺癌石蜡标本切片中的表达水平, 并分析其表达与患者临床病理特征的关系。将 galectin-3 siRNA 转染至 MCF-7 细胞中, 用 qPCR 法和 Western blotting 分别检测 galectin-3 mRNA 和蛋白的表达水平; 用 Transwell 小室法和流式细胞术分别检测 galectin-3 基因沉默后对 MCF-7 细胞迁移、侵袭和凋亡的影响。**结果:** 在乳腺癌组织中 galectin-3 蛋白表达水平显著高于癌旁组织 ($P<0.05$); 乳腺癌组织中 galectin-3 蛋白阳性表达率为 67.00%, 其表达水平在淋巴结转移、激素受体(ER、PR)阴性组中显著升高 (均 $P<0.05$), 且随 TNM 分期和组织学分级的升高而升高 (均 $P<0.05$)。转染 galectin-3 siRNA 后, 能显著降低 MCF-7 细胞 galectin-3 mRNA 和蛋白的表达水平、迁移和侵袭能力 (均 $P<0.05$), 提高细胞的凋亡率 ($P<0.05$)。**结论:** Galectin-3 在乳腺癌组织中高表达, 沉默 galectin-3 表达后抑制 MCF-7 细胞的迁移和侵袭、诱导细胞凋亡, 可作为乳腺癌生物治疗的一个新靶点。

[关键词] 乳腺癌; MCF-7 细胞; 半乳糖凝集素-3; 迁移; 侵袭; 凋亡

[中图分类号] R737.9; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)10-1048-07

Expression of galectin-3 in human breast cancer tissues and its effect on malignant biological behavior of MCF-7 cells

QIU Peng¹, MA Lizhi¹, TANG Xiaoxiao¹, LIU Xiaoli¹, DOU Yan¹, LIU Yueping² (1. Department of Oncology, Xingtai People's Hospital & Affiliated Hospital of Hebei Medical University, Xingtai 054000, Hebei, China; 2. Department of Pathology, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of galectin-3 protein in human breast cancer tissues and the effect of silencing galectin-3 gene on the migration, invasion and apoptosis of human breast cancer MCF-7 cells. **Methods:** The relative expression of galectin-3 protein in 15 cases of breast cancer tissues and corresponding para-cancerous tissues were detected by Western blotting; The expression of galectin-3 protein in paraffin sections of 100 cases of breast cancer tissues were detected by immunohistochemistry, and the correlation between galectin-3 expression and the clinicopathological characteristics of breast cancer patients was also analyzed. Galectin-3 siRNA were transfected into human breast cancer MCF-7 cells by liposome, then Real-time PCR and Western blotting were used to detect the mRNA and protein expression of galectin-3. The effect of galectin-3 gene silencing on cell migration and invasion ability of MCF-7 cells were detected by Transwell method. The effect of galectin-3 gene silencing on apoptosis of MCF-7 cells were detected by flow cytometry. **Results:** Western blotting detection showed that the relative expression of galectin-3 protein in breast cancer tissues were significantly higher than that in para-cancerous tissues ($P<0.05$); Immunohistochemistry detection showed that the positive expression rate of galectin-3 protein in breast cancer tissues was 67.00%, the positive expression rates in the lymph node metastasis, hormone receptor (ER, PR) negative groups were significantly higher ($P<0.05$), and the positive expression rate of galectin-3 protein were increased with the increase of TNM stage and histological grade ($P<0.05$); Galectin-3 siRNA transfection could significantly reduce the

[基金项目] 河北省医药卫生科技发展支持项目(No. 2014JQE27031)。Project supported by the Medical and Health Science and Technology Development Support Project of Hebei Province(No. 2014JQE27031)

[作者简介] 邱鹏(1974-), 男, 硕士, 副主任医师, 主要从事乳腺甲状腺肿瘤诊治的研究, E-mail: songchuanwei1223@163.com

[通信作者] 刘月平(LIU Yueping, corresponding author), 博士, 主任医师, 博士生导师, 主要从事肿瘤病理学研究, E-mail: annama@163.com

mRNA and protein expression of galectin-3 in MCF-7 cells ($P<0.05$), and reduce the invasion and migration ability but significantly improve the rate of apoptosis of MCF-7 cells ($P<0.05$). **Conclusion:** Galectin-3 is highly expressed in breast cancer tissues, and its silence can inhibit the invasion and metastasis of MCF-7 cells and induce apoptosis of MCF-7 cells. Galectin-3 can be used as a new target for biological therapy of breast cancer.

[Key words] breast cancer; MCF-7 cell; galectin-3; migration; invasion; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(10): 1048-1054. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.10.012]

乳腺癌是女性最为常见的恶性肿瘤之一,其发病率占全身各种恶性肿瘤的7%~10%。近年来中国乳腺癌发病率呈逐年上升趋势,已位居女性恶性肿瘤的首位^[1]。乳腺癌的病因尚未明了,但研究^[2]发现,与乳腺癌相关基因或蛋白的异常表达是影响其发生发展的重要因素。半乳凝集素-3(galectin-3)是存在于多种生物体内的内源性凝集素,参与细胞增殖、分化、黏附、凋亡等重要生理活动^[3]。最新研究^[4]表明,galectin-3在肿瘤的发生、发展和转移中起重要的作用,其在卵巢癌、食管癌和肝癌中高表达,并促进肿瘤细胞增殖和侵袭。目前 galectin-3 在人乳腺癌组织中的表达规律及对乳腺癌细胞迁移、侵袭、凋亡等的研究尚未见报道。因此,本研究通过检测人乳腺癌组织中 galectin-3 蛋白的表达,并利用小干扰RNA技术(small interfering RNA, siRNA)沉默人乳腺癌细胞株 MCF-7 中 galectin-3 的表达,旨在探讨其表达与乳腺癌患者临床病理特征的关系,及其 galectin-3 沉默后对 MCF-7 细胞迁移、侵袭和凋亡的影响。

1 资料与方法

1.1 组织标本及细胞株

收集2014年2月至2017年2月在邢台市人民医院乳腺甲状腺肿瘤内科收治的15例女性乳腺癌患者手术切除的癌组织及相应的癌旁组织标本,年龄30~65岁,平均(45.5±10.8)岁,患者术前未进行放疗、内分泌治疗或其他生物治疗;100例临床资料完整的女性乳腺癌患者肿瘤组织石蜡切片来自邢台市人民医院病理科和河北医科大学第四医院病理科,年龄28~69岁,平均(43.3±14.5)岁。所有标本采集前征得患者同意并签署知情同意书。

人乳腺癌细胞株 MCF-7 购自中国科学院北京细胞资源中心。

1.2 主要试剂

DMEM 培养基、胎牛血清购自美国 Hyclone 公司,0.25% EDTA 胰酶购自 Gibco 公司, Lipofectamine 3000 脂质体购自 Invitrogen 公司, Total-RNA 提取试剂盒、cDNA 逆转录试剂盒、qPCR 试剂盒购自大连 TaKaRa 公司, Transwell 小室购自 Corning 公司, Matrigel 基质胶购自 Sigma 公司, 蛋白提取试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自北京碧云天公司,

SABC 免疫组织化学染色试剂盒购自北京博奥森生物公司,多克隆兔抗人 galectin-3、 β -actin 抗体购自 Abcam 公司, HRP 标记多克隆山羊抗兔 IgG 二抗、ECL 化学发光试剂盒购自北京中杉金桥公司。

1.3 细胞培养

乳腺癌 MCF-7 细胞在含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 细胞培养基中,于 37℃、5%CO₂ 的培养箱中培养。每隔 12 h 在倒置显微镜下观察细胞生长状态,当细胞汇合度达 80% 以上时,用含 0.25% EDTA 的胰酶消化进行传代。将生长状态良好的对数生长期细胞用于后续实验。

1.4 Western blotting 检测乳腺癌组织中 galectin-3 蛋白的表达

切取每例乳腺癌患者的肿瘤组织和癌旁组织各取约 5 mg,加入 500 μ l 的 RIPA 强蛋白提取液,使用玻璃匀浆器快速匀浆破裂组织细胞,离心法提取各组样品中总蛋白。使用 BCA 蛋白浓度测量试剂盒,测量各组提取总蛋白的浓度。每例样品分别取含 30 μ g 总蛋白量上样,进行 SDS-PAGE 凝胶电泳 1.5 h,后用半干法转 PVDF 膜,封闭 30 min 后,4℃分别孵育多克隆兔抗人 galectin-3、 β -actin 一抗(稀释比例 1:1 000)过夜, TBST 洗涤 3 次后室温孵育 HRP 标记的多克隆山羊抗兔 IgG 二抗(稀释比例 1:5 000)2 h, TBST 洗涤 3 次后, ECL 化学发光拍照,利用 Quantity One 软件分析各组样品中 galectin-3 蛋白相对表达量。

1.5 免疫组化法检测乳腺癌组织中 galectin-3 蛋白的表达并分析其与临床病理特征的关系

选取本院病理科临床资料数据齐全的 100 例乳腺癌患者石蜡标本,利用自动切片机分别制成 5 μ m 的石蜡切片,经常规脱蜡、梯度乙醇脱水,后用 0.01 mol/L 的枸橼酸缓冲液煮沸 20 min 进行抗原修复,用正常山羊血清封闭 30 min 后,4℃孵育 galectin-3 抗体(稀释比例 1:200)过夜后, PBS 冲洗 3 次各 5 min,后滴加生物素标记二抗(稀释比例 1:500),37℃孵育 30 min 后, PBS 冲洗 3 次各 5 min,在显微镜下用 DAB 显色,苏木精复染、脱水、封片。观察各乳腺癌患者肿瘤样品石蜡切片中 galectin-3 阳性表达情况,光镜下观察乳腺癌细胞质染色呈棕黄色即为 galectin-3 蛋白阳性表达细胞。每例患者切片随机选择 5 个高倍视野($\times 200$)观察,按照阳性细

胞数占同类细胞百分率大于20%时为galectin-3阳性。分析乳腺癌组织中galectin-3蛋白表达水平与临床病理特征之间的关系。

1.6 Galectin-3 siRNA 转染乳腺癌 MCF-7 细胞及分组

选取MCF-7细胞转染galectin-3 siRNA。转染前24 h,将对数生长期的MCF-7细胞按照 5×10^5 个/ml密度接种于6孔板中,等细胞贴壁生长至70%时,按照脂质体lipofectamine 3000转染方法分别将galectin-3 siRNA和control siRNA转染至MCF-7细胞组,同时设置未转染对照组(Un-transfection control组)。

1.7 qPCR 和 Western blotting 检测乳腺癌 MCF-7 细胞的转染效率

各组MCF-7细胞转染48 h后,用含0.25%EDTA的胰蛋白酶消化细胞,1 000×g离心5 min收集细胞,PBS洗涤1次。利用TRIzol法提取各组细胞中总RNA,并按照TaKaRa逆转录试剂盒说明书逆转录成cDNA为模板。根据人galectin-3基因cDNA序列和内参 β -actin基因设计qPCR引物(由上海生工公司合成,表1)。利用Bio-Rad公司的IQ5™ qPCR系统检测各组细胞转染后galectin-3 mRNA的相对表达水平。同时在各组细胞转染48 h后,相同方法消化收集细胞,以RAPI强裂解液提取各组细胞中总蛋白。BCA试剂盒测定总蛋白浓度后按照上述同样方法测定各组细胞转染后galectin-3蛋白相对表达水平。

表1 siRNA和PCR引物序列

Tab.1 The sequences of siRNA and PCR primers

Item	Primer sequence (5'-3')
Galectin-3 siRNA	F: AUAUGAAGCACGGGUGAGGUCU AUGTT
	R: CAUAGACCUCACCAGUGCUUCUA UUTT
Control siRNA	F: UUCUCCGAACGUGUCACGUTT
	R: ACGUGACACGUUCGGAGAATT
Galectin-3 PCR	F: GCCACTGATTGTGCCTTAT
	R: CTCATTGAAGCGTGCGTTA
β -actin PCR	F: CTCCATCCTGGCCTCGCTGT
	R: GCTGTCACCTTCACCGTTCC

1.8 Transwell 小室法检测乳腺癌 MCF-7 细胞的迁移和侵袭能力

收集galectin-3 siRNA和control siRNA转染培养48 h后的各组MCF-7细胞,用含2%胎牛血清的DMEM培养基调整细胞密度为 1×10^5 个/ml。分别在Transwell板上室膜上涂抹均匀的1 mg/ml的Matrigel胶50 μ l,置于37 °C培养箱中30 min,使其

形成基底膜结构。各取100 μ l上述稀释的MCF-7细胞加入到Transwell上室中,而下室中加入600 μ l含10%胎牛血清的DMEM培养基,同时设置未转染对照组,每组3个重复。将Transwell板置于37 °C、5%CO₂培养箱中继续培养48 h。后用4%多聚甲醛固定小室滤膜,并用棉签擦去上表面细胞。用1%结晶紫染色滤膜10 min后,PBS洗涤2遍,在光镜下观察各组穿膜细胞,拍照并计算各组MCF-7细胞侵袭率。侵袭率(%)=(各组平均穿膜细胞数/未处理对照组穿膜细胞数)×100%。细胞迁移实验即为上述实验步骤中在Transwell小室中不加入Matrigel胶,培养时间为24 h,其他步骤同侵袭实验。

1.9 流式细胞术检测乳腺癌 MCF-7 细胞的凋亡

收集galectin-3 siRNA和control siRNA转染培养48 h的MCF-7细胞,以及未转染处理的MCF-7细胞,稀释细胞密度为 1×10^6 个/ml,每组取100 μ l细胞悬液,先后分别加入5 μ l的FITC标记的Annexin V和10 μ l的PI细胞凋亡检测试剂,室温下避光孵育30 min后,PBS洗涤1次后,经BD canto II流式细胞仪检测各组细胞的凋亡率。实验重复6次。

1.10 统计学处理

采用SPSS13.0软件进行统计学分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用one-way ANOVA单因素方差分析,计数资料比较采用 χ^2 检验或 F 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 乳腺癌组织中 galectin-3 蛋白高表达

Western blotting检测结果(图1A)显示,15例乳腺癌组织中galectin-3蛋白的表达水平明显高于癌旁组织[(0.85±0.15) vs (0.33±0.08), $t=6.361$, $P < 0.05$]。

2.2 乳腺癌组织中 galectin-3 蛋白表达及其与临床病理特征的关系

免疫组化染色法对100例乳腺癌组织石蜡切片检测结果(图2)显示,galectin-3阳性表达率为67.00%(67例),阴性表达率为33.00%(33例)。对乳腺癌组织中galectin-3蛋白表达与患者临床病理特征进行分类分析结果(表2)发现,乳腺癌组织中galectin-3蛋白的表达与患者年龄、肿瘤大小及HER-2均不相关(均 $P > 0.05$),与TNM分期、淋巴结转移、组织学分级及激素受体(ER和PR)表达显著相关(均 $P < 0.05$)。Galectin-3蛋白表达阳性率在淋巴结转移组中显著升高,而ER、PR阴性组中显著高于阳性组(均 $P < 0.05$),且随着TNM分期和组织学分级的升高而升高(均 $P < 0.05$)。

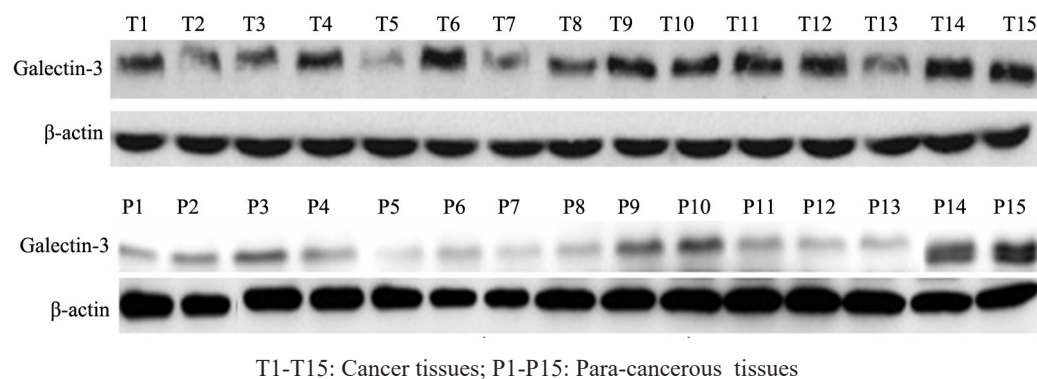
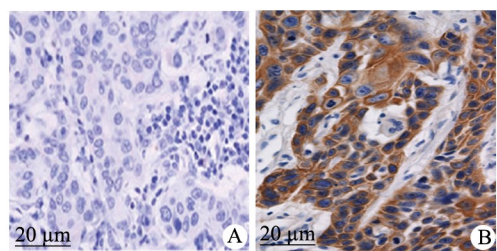


图1 乳腺癌组织和癌旁正常组织中 galectin-3 蛋白的表达($n=15$)

Fig.1 Expression of galectin-3 protein in breast cancer tissues and para-cancerous tissues ($n=15$)



A: Negative expression of galectin-3;
B: Positive expression of galectin-3
图2 Galectin-3 蛋白在乳腺癌石蜡切片中的表达
(免疫组化染色, $\times 200$)

Fig.2 Expression of galectin-3 protein in paraffin sections of breast cancer patients(Immunohistochemical staining, $\times 200$)

2.3 沉默 galectin-3 降低 MCF-7 细胞 galectin-3 mRNA 和蛋白的表达水平

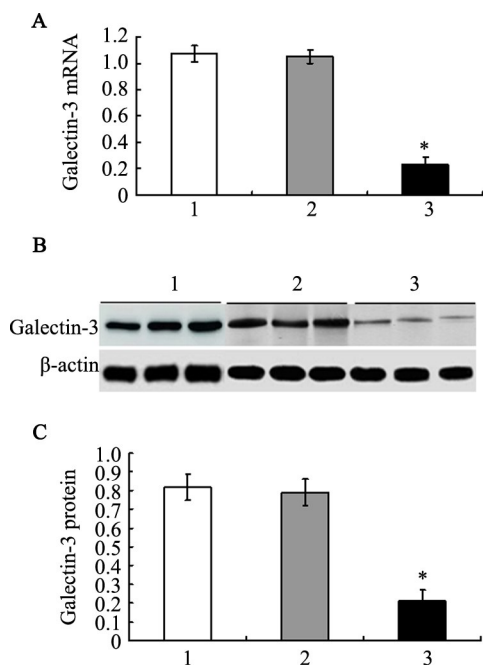
qPCR 检测结果(图 3A)显示,转染 galectin-3 siRNA 后,乳腺癌 MCF-7 细胞中 galectin-3 mRNA 表达水平均显著低于未转染对照组和 Control siRNA 组(均 $P<0.05$)。

Western blotting 检测结果(图 3B、C)显示,转染 galectin-3 siRNA 后,MCF-7 细胞中 galectin-3 蛋白相对表达水平也显著低于未转染对照组和 Control siRNA 组(均 $P<0.05$)。结果表明,galectin-3 siRNA 转染 MCF-7 细胞沉默 galectin-3 基因表达显著有效。

表 2 Galectin-3 蛋白表达与乳腺癌患者临床病理特征的关系 [$n(\%)$]

Tab.2 Relationship between expression of galectin-3 protein and clinicopathological features of breast cancer patients [$n(\%)$]

Clinicopathological feature	N	Galectin-3 ⁺	Galectin-3 ⁻	χ^2	P
Age(t/a)					
≤50	43	30(69.77)	13(30.23)	0.823	>0.05
>50	57	37(64.91)	20(35.09)		
Tumor size(d/cm)					
≤2	28	18(64.39)	10(35.61)	0.735	>0.05
2-5	56	38(67.86)	18(32.14)		
>5	16	11(68.75)	5(31.25)		
TNM stage					
0	36	11(30.56)	25(69.44)	6.378	<0.05
1-3	35	30(85.71)	15(42.86)		
≥4	29	26(89.66)	3(10.34)		
Lymph node metastasis					
Yes	46	37(80.43)	9(19.57)	8.249	<0.05
No	54	30(55.56)	24(44.44)		
Histological classification					
I(High)	23	5(11.90)	18(88.10)	10.024	<0.05
II(Moderately)	42	31(73.81)	11(26.19)		
III(Low)	35	31(88.57)	4(11.43)		
Estrogen receptor (ER)					
Positive	43	15(34.88)	28(65.12)	4.279	<0.05
Negative	57	42(73.68)	15(26.32)		
Progesterone receptor (PR)					
Positive	45	11(24.44)	34(75.56)	4.582	<0.05
Negative	55	36(65.45)	19(34.55)		
HER-2					
Positive	31	19(61.29)	12(38.71)	0.667	>0.05
Negative	69	48(69.57)	21(30.43)		



* $P < 0.05$ vs Control siRNA or Un-transfection control group

1: Un-transfection control; 2: Control siRNA; 3: Galectin-3 siRNA
图3 沉默 galectin-3 表达对 MCF-7 细胞 galectin-3 mRNA (A) 和蛋白 (B,C) 表达的影响 ($n=3$)

Fig.3 Effects of silencing galectin-3 expression on galectin-3 mRNA (A) and protein (B,C) expression in MCF-7 cells ($n=3$)

2.4 沉默 galectin-3 降低 MCF-7 细胞的侵袭和迁移能力

Transwell 小室法检测结果 (图4) 发现, 转染 galectin-3 siRNA 后, galectin-3 siRNA 组 MCF-7 细胞的侵袭率显著低于未转染对照组和 Control siRNA 转染组 [$(34.56 \pm 8.32)\%$ vs $(98.34 \pm 4.45)\%$ 、 $(92.52 \pm 4.76)\%$, 均 $P < 0.05$], 细胞的迁移率也显著低于未转染对照组和 Control siRNA 转染组 [$(39.84 \pm 6.38)\%$ vs $(97.68 \pm 3.94)\%$ 、 $(95.33 \pm 5.19)\%$, 均 $P < 0.05$]. 结果表明, 沉默 galectin-3 表达能显著降低乳腺癌 MCF-7 细胞侵袭和迁移能力。

2.5 沉默 galectin-3 表达促进 MCF-7 细胞的凋亡

流式细胞术检测结果 (图5) 发现, galectin-3 siRNA 转染组 MCF-7 细胞细胞凋亡率显著高于未转染对照组和 Control siRNA 转染组 [$(23.47 \pm 5.32)\%$ vs $(5.63 \pm 2.38)\%$ 、 $(6.93 \pm 2.76)\%$, 均 $P < 0.05$]. 结果说明, 沉默 galectin-3 表达促进乳腺癌 MCF-7 细胞的凋亡。

3 讨论

乳腺癌是世界范围内女性发病率最高的一种恶性肿瘤, 占女性恶性肿瘤死亡病例的 13.7%, 并以每年 3% 的速度增长, 乳腺癌患者人群亦呈现年轻化趋势。中国虽然是乳腺癌低发地区, 但其发病率呈逐年上升趋势, 尤其在京津沪及其沿海地区^[5]。Galectin-3 在细胞质中表达, 参与细胞增殖、分化、凋亡、黏附、侵袭和转移等^[6]。

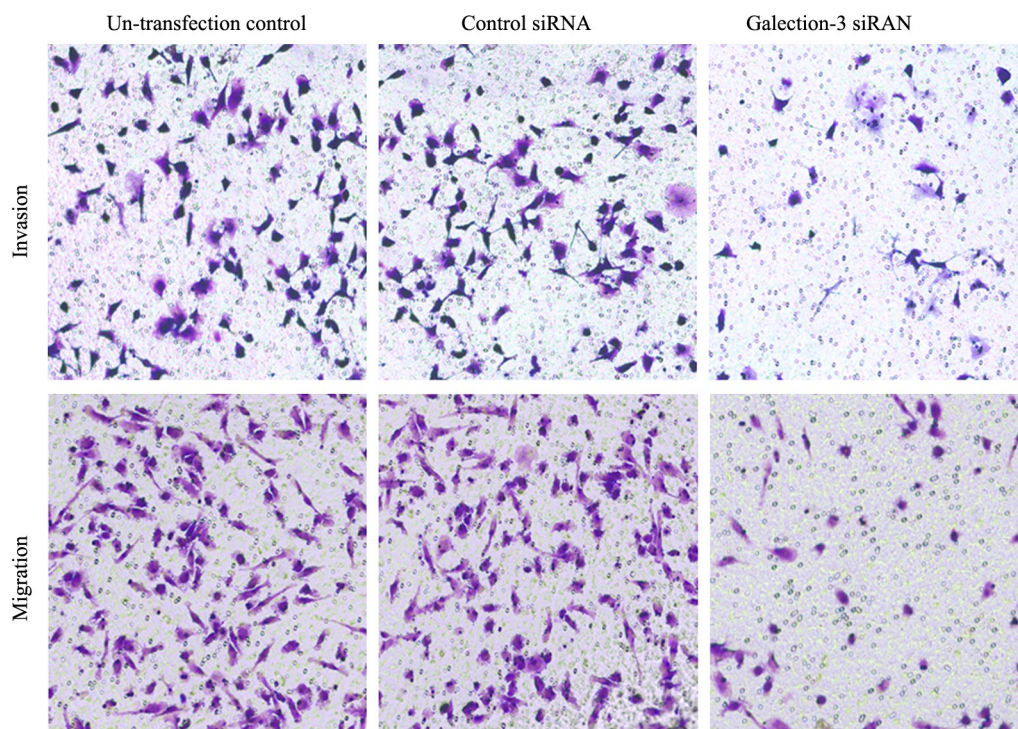
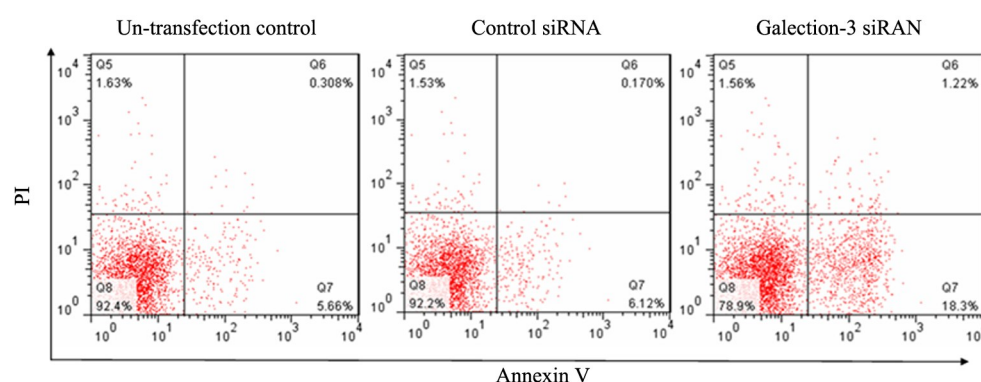


图4 Galectin-3 siRNA 转染后对 MCF-7 细胞对侵袭和迁移能力的影响 (×200)

Fig.4 Effect of galectin-3 siRNA transfection on the invasion and migration ability of MCF-7 cells (×200)

图5 Galectin-3 siRNA 转染后对 MCF-7 细胞凋亡的影响($n=6$)Fig. 5 Effect of galectin-3 siRNA transfection on the apoptosis of MCF-7 cells ($n=6$)

研究^[7]表明, galectin-3 在多种肿瘤(脑肿瘤、前列腺癌、肺癌及消化道肿瘤)组织中高表达, 与肿瘤的恶性程度和浸润、转移相关。BAPTISTE 等^[8]发现, galectin-3 高表达影响乳腺癌细胞的黏附和转移。MOISA 等^[9]研究发现, galectin-3 在细胞间质中的表达与乳腺癌患者的预后相关, 而在细胞质和细胞核中的表达与预后不相关。以上研究结果表明, galectin-3 与乳腺癌的进展、侵袭和转移等恶性生物学行为相关, galectin-3 有可能成为乳腺癌诊断和治疗的靶标。

为进一步揭示 galectin-3 蛋白表达与乳腺癌的关系, 本研究用 Western blotting 检测乳腺癌组织和癌旁组织中 galectin-3 蛋白的表达, 结果表明乳腺癌组织中 galectin-3 蛋白呈高表达趋势。KIM 等^[10]分析胃癌组织中 galectin-3 蛋白表达, 也发现其表达率显著高于癌旁组织。本研究结果显示, 乳腺癌组织中 galectin-3 蛋白高表达也有助于鉴别肿瘤良、恶性, 并可能成为乳腺癌新的分子标志物。同时本研究对 100 例乳腺癌石蜡切片用免疫组化方法检测发现, galectin-3 蛋白阳性表达率与患者的 TNM 分期、淋巴结转移、组织学分级及 ER 和 PR 表达相关, 其在淋巴结转移、ER 和 PR 阴性组中显著高于阳性组, 且随着 TNM 分期和组织学分级的升高而升高。廖紫琼等^[11]发现, 乳腺癌中 galectin-3 高表达, 通过 MMP-2 的高表达可能使 galectin-3 在乳腺癌转移和侵袭中发挥作用, 但认为乳腺癌组织和转移淋巴结中 galectin-3 表达的作用和意义仍需要进一步验证。因此, 通过本研究进一步证实 galectin-3 蛋白对于乳腺癌细胞转移、分化、ER 和 PR 表达具有重要作用, 其可成为乳腺癌浸润转移的检测指标之一, 对于肿瘤性质和临床分期判断也具有参考意义。

siRNA 技术在肿瘤治疗研究中具有广泛应用价值, 已用于恶性肿瘤的分子靶向治疗^[12]。本研究发现, galectin-3 蛋白高表达与乳腺癌患者肿瘤转移、分

化、ER 和 PR 相关, 因此选择 ER、PR 阳性的人乳腺癌 MCF-7 细胞为研究对象, 首次利用 siRNA 技术沉默 galectin-3 基因表达并检测对 MCF-7 细胞侵袭、迁移和凋亡的影响。研究中将 galectin-3 siRNA 转染至 MCF-7 细胞后, Real-time PCR 和 Western-blotting 方法检测到 galectin-3 mRNA 和蛋白表达水平均显著降低, 说明 siRNA 沉默 MCF-7 细胞中 galectin-3 基因表达效果较明显。在相关乳腺癌的研究^[13-14]中证实, 分解的 galectin-3 可通过激活 PKG 或依赖 GTP 酶诱导的 pFAK 途径, 促进肿瘤细胞的侵袭、转移和新血管形成。研究^[15-16]也表明, galectin-3 在卵巢癌、食管癌和肝癌中表达水平较高, 并减少肿瘤细胞凋亡而促进其增殖和侵袭。本研究沉默 galectin-3 表达后, MCF-7 细胞的侵袭和迁移能力显著下降、细胞凋亡率显著上升, 一方面在体外证实 galectin-3 高表达影响乳腺癌细胞的迁移和侵袭, 另一方面也说明 galectin-3 可作为乳腺癌治疗的新靶点, 干预 galectin-3 表达可能为乳腺癌治疗提供新的思路。

综上所述, 本研究证实在乳腺癌组织中 galectin-3 蛋白高表达, 并与乳腺癌患者临床病理中 TNM 分期、淋巴结转移、组织学分级及 ER 和 PR 表达相关。沉默 galectin-3 表达后, 显著抑制 MCF-7 细胞侵袭和迁移能力、诱导细胞凋亡。Galectin-3 可作为乳腺癌生物治疗的一个新靶标。

[参考文献]

- [1] 王乐, 张玥, 石菊芳, 等. 中国女性乳腺癌疾病负担分析[J]. 中华流行病学杂志, 2016, 37(7): 970-976. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.07.013.
- [2] BURRELL R A, MCGRANAHAN N, BARTEK J, et al. The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution[J]. Nature, 2013, 501(7467): 338-345. DOI: 10.1038/nature12625.
- [3] 梅虹, 李常恩, 杨梁, 等. 长链非编码 RNA LINC01001 在乳腺癌中的表达及其对 MCF-7 细胞增殖的影响[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2018, 25(2): 158-162. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.02.009.

- [4] KATO S, SEGUIN L, FRANOVIC A, et al. Targeting galectin-3 to reverse tumor stemness and drug resistance[J]. *Cancer Res*, 2014, 74 (19 Suppl): 4240-4240. DOI: 10.1158/1538-7445.AM2014-4240.
- [5] 刘贝贝, 张秀芬, 高丹凤, 等. Med19 基因敲减增加乳腺癌细胞化疗敏感性及其可能的机制[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(4): 380-388. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.04.008.
- [6] NAKAJIMA K, HEILBRUN L K, HOGAN V, et al. Positive associations between galectin-3 and PSA levels in prostate cancer patients: a prospective clinical study-I[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(50): 82266-82272. DOI: 10.18632/oncotarget.12619.
- [7] ARCOLIA V, JOURNE F, RENAUD F, et al. Combination of galectin-3, CK19 and HBME-1 immunostaining improves the diagnosis of thyroid cancer[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(4): 4183-4189. DOI: 10.3892/ol.2017.6719.
- [8] BAPTISTE T A, JAMES A, SARIA M, et al. Mechano-transduction mediated secretion and uptake of galectin-3 in breast carcinoma cells: implications in the extracellular functions of the lectin[J]. *Exp Cell Res*, 2007, 313(4): 652-664. DOI: 10.1016/j.yexcr.2006.11.005.
- [9] MOISA A, FRITZ P, ECK A, et al. Growth/adhesion-regulatory tissue lectin galectin-3: stromal presence but not cytoplasmic/nuclear expression in tumor cells as a negative prognostic factor in breast cancer[J]. *Anticancer Res*, 2007, 27(4B): 2131-2139. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2009.01.040.
- [10] KIM S J, SHIN J Y, LEE K D, et al. Galectin-3 facilitates cell motility in gastric cancer by up-regulating protease-activated receptor-1 (PAR-1) and matrix metalloproteinase-1 (MMP-1)[J/OL]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e25103[2018-05-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3178590/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0025103.
- [11] 廖紫琼, 朱润庆, 张锴, 等. Galectin-3 与 MMP-2 在乳腺癌中的表达及意义[J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2007, 28(2): 166-168. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8852.2007.02.010.
- [12] 李文鹏, 罗维远, 徐毅, 等. 下调 Oct4 基因表达对 MDA-MB-231 乳腺癌干细胞生物学特性的影响[J]. *中华肿瘤杂志*, 2015, 37(4): 251-257. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2015.04.003.
- [13] WANG Y, BALAN V, GAO X, et al. The significance of galectin-3 as a new basal cell marker in prostate cancer[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(8): e753[2018-05-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3763439/>. DOI: 10.1038/cddis.2013.277.
- [14] TSENG P C, CHEN C L, SHAN Y S, et al. An increase in galectin-3 causes cellular unresponsiveness to IFN- γ -induced signal transduction and growth inhibition in gastric cancer cells[J/OL]. *Oncotarget*, 2016, 7(12): 15150-15160[2018-05-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4924776/>. DOI: 10.18632/oncotarget.7750.
- [15] SHETTY P, BARGALE A, PATIL B R, et al. Cell surface interaction of annexin A2 and galectin-3 modulates epidermal growth factor receptor signaling in Her-2 negative breast cancer cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2016, 411(1/2): 1-13. DOI: 10.1007/s11010-015-2584-y.
- [16] WU K L, HUANG E Y, YEH W L, et al. Synergistic interaction between galectin-3 and carcinoembryonic antigen promotes colorectal cancer metastasis[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(37): 61935-61943[2018-05-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5617476/>. DOI: 10.18632/oncotarget.18721.

[收稿日期] 2018-05-12

[修回日期] 2018-07-17

[本文编辑] 党瑞山