

# ELF3mRNA 在淋巴结转移非小细胞肺癌中的表达及意义

费倩 张树玲 王颖\*

**摘要** 目的 ELF3 (E74-like factor 3, ESE-1) 是 ETS 家族的一员, 研究发现其与多种肿瘤的发生和发展存在密切关系。本文主要通过研究 ELF3mRNA 在非小细胞肺癌组织和淋巴结中的表达, 进而探讨 ELF3 与非小细胞肺癌组织及淋巴结转移之间的关系。方法 收集临床肺癌组织 30 例、对应淋巴结组织 60 例及 20 例正常肺组织和 40 例正常淋巴结组织, 通过 RT-PCR 的方法来检测 ELF3mRNA 在非小细胞肺癌组织和淋巴结中的表达。结果 与正常肺组织和正常淋巴结组织相比, ELF3mRNA 在非小细胞肺癌组织及对应淋巴结组织中表达均明显上调, 两者之间均差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论 ELF3 基因的激活参与到非小细胞肺癌的发展过程中, 并且其高表达与淋巴结转移存在一定关联性。

**关键词** ELF3; 淋巴结转移; 非小细胞肺癌

中图分类号 R734.2 文献标识码 B 文章编号 1007-9564(2015)06-0915-04

DOI 编码 10.11723/mtgyx 1007-9564 201506012

**THE EXPRESSION AND SIGNIFICANCE OF ELF3MRNA IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER WITH LYMPH NODE METASTASIS** Fei Qian, Zhang Shuling, Wang Ying. The Third Department of Medical Oncology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China

**Abstract Objective** To observe the expression level of ELF3 mRNA in the non-small cell lung cancer tissues and lymph nodes, and to discuss the relationship between ELF3 and them. **Methods** We collected 30 clinical cases of lung cancer tissues, the corresponding 60 cases of lymph node tissues and 20 cases of normal lung tissues and 40 cases of normal lymph node tissues, and then detected ELF3 mRNA expression in non-small cell lung cancer tissues and lymph nodes by RT-PCR. **Results** The results showed that, comparing with normal lung tissues and lymph node tissues, the expression level of ELF3 mRNA was significantly up-regulated, and there were significant differences between the two groups ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** It can be inferred that ELF3 gene's high level expression is related to the development of NSCLC and the metastasis of lymph nodes.

**Key words** ELF3; Lymph node; Non-small cell lung cancer

肺癌是我国目前增长最快的恶性肿瘤之一, 也是我国第三大恶性肿瘤, 其死亡率仅次于胃癌和食管癌<sup>[1]</sup>, 肺癌具有早期难于诊断, 晚期难于治疗的特点, 近年来, 发病率和死亡率也呈现明显上升的趋势。ETS 基因家族是转录因子家族中最大的家族之一, 也是十分重要的基因家族, ETS 家族成员在调节细胞分化、迁移、血管生成以及软骨和骨骼发育等生物过程中扮演重要角色<sup>[2,3]</sup>。研究发现 ETS 基因家族与肿瘤的发生发展也存在密切关系, 如 EST-1 在皮肤血管肉瘤和膀胱癌等组织中高表达<sup>[4,5]</sup>, ETS-2 的表达可减少前列腺癌细胞的转化等<sup>[6]</sup>。ELF3

(E74-like factor 3, ESE-1) 是 ETS 家族的一员<sup>[7,8]</sup>, 最早发现于对乳腺癌细胞的研究中, 用于检测乳腺癌淋巴结转移<sup>[9,10]</sup>, 对于其在乳腺癌中的研究也最为深入<sup>[11-14]</sup>。除此之外, 针对 ELF3 在其他肿瘤方面的研究发现 ELF3 作为上皮细胞特异性 ETS 转录因子, 其可调控肠道上皮细胞的分化, 在调控直肠癌中起到重要作用<sup>[15]</sup>。ELF3 还可抑制雄激素受体的表达, 在参与前列腺癌发生发展中有重要意义<sup>[16]</sup>, 但对于 ELF3 在肺癌中的研究鲜有报道, 本文主要通过 RT-PCR 的方法, 检测 ELF3mRNA 在非小细胞肺癌组织和淋巴结中的表达及意义。

基金项目: 辽宁省科技计划项目 (编号: 2013225021)

作者单位: 110004 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属盛京医院第三肿瘤科 (费倩、王颖); 中国医科大学附属盛京医院第一肿瘤科 (张树玲)

\* 通讯作者

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

本研究收集非小细胞癌患者样本来自我院 2011 年 6 月—2014 年 3 月行肺癌完全切除及系统淋巴结

清扫患者,选取肺癌组织 30 例及对应淋巴结 60 例。同时选取收集的 20 例肺良性病变的正常肺组织及对应 40 例正常淋巴结组织作为阴性对照。

## 1.2 试剂及引物设计

表 1 引物序列及 PCR 反应条件

引物名称	序列信息	长度(bp)	退火温度(°C)
ELF3	F: 5'-CTCATGCCAGGCACTGTGCTA-3'	120	61.0
	R: 5'-GAATCAAGGCACACCTGTGGAA-3'		
$\beta$ -actin	F: 5'-CTTAGTTGCGTTACACCTTTCTTG-3'	156	63.2
	R: 5'-CTGTCACCTTCACCGTTCCAGTTT-3'		

## 1.3 总 RNA 提取

使用天根总 RNA 提取试剂盒对样本 mRNA 进行提取。向样本中加入 1ml RZ 裂解液,加入 200 $\mu$ l 氯仿,涡旋振荡器充分振荡 15s,室温放置 3min 后 4 $^{\circ}$ C 12 000rpm 离心 10min,吸取水相到新管中,缓慢向管中加入 0.5 倍体积无水乙醇,混匀后将得到溶液和沉淀一起转入吸附柱中,同等条件下离 30s,弃掉废液,并依次向吸附柱中加入 500 $\mu$ l 去蛋白液和 500 $\mu$ l 漂洗液,弃掉废液后将吸附柱转入一个新的离心管中,加 40 $\mu$ l RNase-free ddH<sub>2</sub>O,室温放置 2min,4 $^{\circ}$ C 12 000rpm 离心 2min,所得到的即为样本总 RNA。

## 1.4 RNA 定量及反转录

使用 Nanodrop2000 测定提取的总 RNA 浓度,利用 TIANScript RT Kit(TIANScript cDNA 第一链合成试剂盒)对上步实验所得的 RNA 样本进行反转录以得到对应的 cDNA。

## 1.5 PCR 检测

PCR 反应体系为 20 $\mu$ l,包含 cDNA 模板 1 $\mu$ l;上下游引物各 1 $\mu$ l;2 $\times$ Taq PCR Master-mix 10 $\mu$ l,用 ddH<sub>2</sub>O 补足至 20 $\mu$ l。PCR 反应程序 95 $^{\circ}$ C 预变性 5min,35 循环,95 $^{\circ}$ C 20s;60 $^{\circ}$ C 20s;72 $^{\circ}$ C 30s。最后 72 $^{\circ}$ C 补延伸 10min,冰上冷却。

## 1.6 电泳分析

PCR 产物电泳用 1.5% 的琼脂糖凝胶。将混合的凝胶液置于微波炉中加热至沸腾,使胶完全融化,放置室温冷却。至 50~60 $^{\circ}$ C 时加入 Gold View 染料混匀,将得到凝胶液倒入制胶模板中,赶走气泡,立即插上梳子,置于室温冷却。将凝好的胶及制胶板放入电泳槽中,使电泳缓冲液刚刚浸过胶面,即可进行点样。接通电泳仪电泳,进行电泳。电泳过后利用凝胶成像系统对得到的凝胶进行拍照分析。

## 1.7 统计学方法

采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,用  $t$  检验,检验水准以  $\alpha=0.05$ 。

反转录酶购自 BioTake 公司,总 RNA 提取试剂盒及 Taq PCR MasterMix 购自天根,RNase 固相清除剂为天恩泽公司生产,琼脂糖为西班牙生产。引物使用 Primer5.0 软件进行设计,引物信息见表 1。

## 2 结果

肺癌组织和正常肺组织 RT-PCR 结果显示,在 20 例正常肺组织和 30 例肺癌组织中,ELF3 均扩增出清晰条带。灰度分析显示,经与内参  $\beta$ -actin 校正后,肺癌组织中 ELF3mRNA 平均值为  $0.29 \pm 0.05$ ,而正常肺组织中 ELF3mRNA 平均值为  $0.21 \pm 0.03$ ,肺癌组织 ELF3mRNA 的相对表达量为 1.39,与正常肺组织间比较有统计学意义( $P < 0.05$ ),参见图 1。

肺癌淋巴结组织和正常淋巴结组织 RT-PCR 结果显示,在所选的 40 例正常淋巴结组织和 60 例肺癌淋巴结组织中,ELF3 均扩增出清晰条带。灰度分析显示,肺癌淋巴结组织中 ELF3mRNA 的表达量明显上调,经与内参  $\beta$ -actin 校正后,肺癌淋巴结组织中 ELF3mRNA 平均值为  $0.39 \pm 0.07$ ,而在正常淋巴结组织中 ELF3mRNA 的平均值为  $0.28 \pm 0.04$ ,肺癌淋巴结组织 ELF3mRNA 的相对表达量为 1.43,二者间相比差异有统计学意义( $P < 0.05$ )参见图 1。

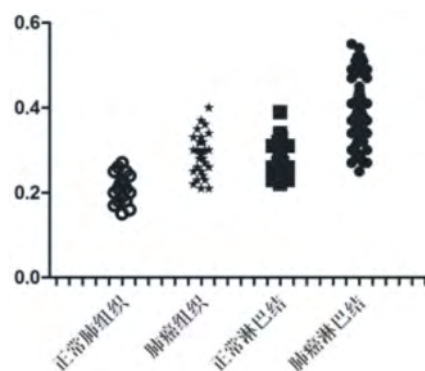


图 1 ELF3mRNA 在各组织中的表达

## 3 讨论

ELF3 作为 ETS 家族中重要一员,在调节细胞分化、迁移、血管生成以及软骨和骨骼发育等生物过

程中扮演重要角色。通过基因敲除研究发现 ELF3 在肾、肺、肝、胰腺、乳腺和前列腺等分泌上皮细胞的器官中表达。许多与炎症、细胞分化及肿瘤发生转移的基因均受到 ELF3 的调控。近年来对于 ELF3 在癌症中所扮演的角色及其作用也日益受到关注。

肺癌是典型源自上皮细胞分化而来的恶性肿瘤,在我国,肺癌发病率近年来呈现明显上升趋势。而在肺癌发生发展过程中,伴随的淋巴结转移是肺癌最为常见和重要的特征之一,研究发现在肺癌早期即可出现淋巴结转移,在中晚期更是可以发生远处器官转移,其更是严重影响患者治疗和预后,为治愈肺癌增加了难度。

根据前人对于 ELF3 的研究发现,ELF3 与淋巴结转移存在密切关联,ELF3 最早也是始于对乳腺癌淋巴结转移的研究。为此,本研究选取了正常肺组织、淋巴结和肺癌组织及对应淋巴结用于研究 ELF3mRNA 在非小细胞肺癌及淋巴结中的表达,结果显示:与正常肺组织和正常淋巴结组织相比,ELF3mRNA 在非小细胞肺癌组织及对应淋巴结组织中表达均明显上调。统计学分析显示,二组之间比较差异均有统计学意义。此外,通过与前人研究比较后发现,对淋巴结的研究结果显示,本结论与前人对 ELF3mRNA 在结肠癌和乳腺癌中表达所得结论相符,证实在非小细胞肺癌中,ELF3 基因激活可能参与到淋巴结转移过程,与之不同的是,CHIARI NAKARAI 等对结直肠癌的研究显示,ELF3mRNA 在癌组织、癌旁组织和正常组织中的表达无明显变化,三者间差异无统计学意义,而本实验的研究结果显示,与正常肺组织相比,在非小细胞肺癌组织中 ELF3mRNA 的表达显著上调。

综上所述,本研究发现 ELF3 在肺癌及其淋巴结转移的上调和前人研究证实 ELF3 在乳腺癌和前列腺癌等组织的上调表达,揭示了 ELF3 在肿瘤的发生和发展过程中所起到的重要作用,证实 ELF3 基因在细胞增殖和迁移过程中激活,且参与淋巴结转移过程。这为进一步研究 ELF3 的调控机制奠定了基础。

#### 4 参考文献

- [1] The Ministry of Health of the People's Republic of China. Third National retrospect spot-check of death causation[M]. Beijing: Peking Union Medical College Press, 2008; 10
- [2] Oliver JR, Kushwah R, Hu J. Multiple roles of the epithelium-specific ETS transcription factor, ESE-1, in development and disease[J]. Lab Invest, 2012,

92, 320-330

- [3] Maroulakou IG, Bowe DB. Expression and function of Ets transcription factors in mammalian development: a regulatory network[J]. Oncogene, 2000, 19(55), 6432-6442
- [4] Oikawa M, Abe M, Kurosawa H, et al. Hypoxia induces transcription factor Ets-1 via the activity of hypoxia-inducible factor-1[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 289(1), 39-43
- [5] Cuili Zhang, Mary M, Angela Lai, et al. Ets-1 protects vascular smooth muscle cells from undergoing apoptosis by activating gp21WAF1/Cip1 transcription via distinct CIS-acting elements in the p21WAF1/Cip1 promoter[J]. J Biol Chem, 2003, 10; 1074
- [6] Sementchenko VI, Schweinfest CW, Papas TS, et al. ETS2 function is required to maintain the transformed state of human prostate cancer cells[J]. Oncogene, 1998, 17(22):2883-2888
- [7] Tymms MJ, Ng AY, Thomas RS, et al. A novel epithelial-expressed ETS gene, ELF3: human and murine cDNA sequences, murine genomic organization, human mapping to 1q32.2 and expression in tissues and cancer[J]. Oncogene, 1997, 15: 2449-2462
- [8] Oettgen P, Alani RM, Barcinski MA, et al. Isolation and characterization of a novel epithelium-specific transcription factor, ESE-1, a member of the ets family[J]. Mol Cell Biol, 1997, 17:4419-4433
- [9] Chang CH, Scott GK, Kuo WL, et al. ESX: a structurally unique ETS overexpressed early during human breast tumorigenesis[J]. Oncogene, 2014; 1617-1622
- [10] Kaplan MH, Wang XP, Xu HP, et al. Partially unspliced and fully spliced ELF3mRNA, including a new Alu element in human breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat, 2004; 83: 171-187
- [11] Chang CH, Scott GK, Kuo WL, et al. ESX: a structurally unique Ets overexpressed early during human breast tumorigenesis[J]. Oncogene, 1997, 14:1617-1622
- [12] Chang J, Lee C, Hahm KB, et al. Over-expression of ERT(ESX/ESE-1/ELF3), an ets-related transcription factor, induces endogenous TGF-beta type II receptor expression and restores the TGF-beta signaling pathway in Hs578t human breast cancer cells[J]. Oncogene, 2000, 19:151-154
- [13] Eckel KL, Tentler JJ, Cappetta GJ, et al. The epithelial-specific ETS transcription factor ESX/ESE-1/Elf-3 modulates breast cancer-associated gene expression[J]. DNA Cell Biol, 2003, 22:79-94

# 不同方法给予垂体后叶素对子宫肌瘤切除术中循环系统的影响

蒋秋敏

**摘要** 目的 探讨不同方法给予垂体后叶素对子宫肌瘤切除术中患者循环系统的影响。方法 选取该科收治的选择行腹式子宫肌瘤切除术的患者 68 例,随机分为对照组和观察组,对照组 34 例,一次性给予垂体后叶素 6U 子宫肌层进行注射,观察组 34 例,将垂体后叶素 6U 分两次经子宫肌层进行注射,间隔 20min,分别记录二组患者注药前、后血压和心率的变化,以及术中出血量、手术时间等指标进行分析。结果 二组患者在用药后心率和血压在注射后 5min 均有明显升高,与注药前比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),并且,观察组与对照组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。但是,注射后 15min 后观察组心率和血压变化较小,与对照组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。术中出血量、手术时间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 分次给予垂体后叶素对子宫肌瘤切除术中患者循环系统的影响小,不影响止血效果、手术时间。值得在临床上推广。

**关键词** 垂体后叶素;子宫肌瘤;循环系统;妇科手术

中图分类号 R711.71 文献标识码 B 文章编号 1007-9564(2015)06-0918-03

DOI 编码 10.11723/mtgyx 1007-9564 201506013

**EFFECT OF DIFFERENT METHODS GIVE PITUITRIN ON UTERINE LEIOMYOMA RESECTION ON CIRCULATION SYSTEM IN OPERATION** Jiang Qiumin. *Department of Gynecology and Obstetrics, The Second Affiliated Hospital of Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545006, China*

**Abstract Objective** To investigate the different methods give pituitrin effect on uterine leiomyoma resection in patients with circulatory system in operation. **Methods** The 68 patients with abdominal uterine leiomyoma resection in author's department were selected cases, were randomly divided into control group and observation group, 34 cases in each group. The control group was disposable given pituitrin 6U myometrium injection, while the observation group was given the pituitrin 6U points two times after the myometrium injection, an interval of 20 minutes, the changes of two groups of patients were recorded before injection, blood pressure and heart rate, and the amount of bleeding during operation, operation time and other indicators were analyzed. **Results** Heart rate and blood pressure after treatment in two groups of patients in 5

作者单位:545006 广西柳州市,广西科技大学第二附属医院  
妇产科

- [14] Prescott JD, Koto KS, Singh M, et al. The ETS transcription factor ESE-1 transforms MCF-12A human mammary epithelial cells via a novel cytoplasmic mechanism[J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24:5548-5564
- [15] Kopp JL, Wilder PJ, Desler M, et al. Different domains of the transcription factor ELF3 are required in a promoter-specific manner and multiple domains

control its binding to DNA[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282: 3027-3041

- [16] A Shatnawi, J D Norris, C Chaveroux, et al. ELF3 is a Repressor of Androgen Receptor Action in Prostate Cancer Cells[J]. *Oncogene*, 2014, 2013, 33(7): 862-871

[2015-04-17 收稿 2015-04-27 修回]