

中文題目：轉錄抑制子-slug 促進肺癌轉移且與病患預後有關

英文題目：The slug zinc-finger transcription repressor promoting carcinoma invasion and correlated with poor survival

作者 施金元、余忠仁、袁昂*、張逸良**、陳健尉***、李元麒***、楊泮池

服務單位：國立台灣大學醫學院附設醫院內科部、急診部*、病理部**、臨床研究部***、外科部****

前言：目前肺癌已是台灣以及世界各國最嚴重的癌症死亡原因，而癌轉移是各種治療方法失敗的主要原因。由於癌轉移的機制並不是很清楚，因此我們希望研究癌轉移機制，尋找與肺癌轉移有關的基因，來改善治療的方法。癌症發展過程中，腫瘤的某些癌細胞會表現出促進癌轉移的基因，或者失去抑制癌轉移的基因，因而容易轉移到其他的器官。本實驗即藉由比較高轉移能力與低轉移能力癌細胞之間基因表現量的差異，發現轉錄抑制子-slug 會促進肺癌轉移且與病患預後有關。

材料方法及結果：

1. 細胞株及 cDNA 微陣列：CL 1-0, CL 1-1, CL 1-5 及 CL 1-5-F4 是一系列經篩選所得，越來越會轉移之肺癌細胞株。以這些細胞株之 mRNA 進行 cDNA 微陣列實驗，尋找與癌轉移相關的基因。發現 slug 在 CL 1-0 不表現，在 CL1-5 及 CL1-5-F4 表現量高。
2. Northern hybridization 及即時定量 RT-PCR 證實以 cDNA 微陣列所看到 slug 在 CL 系列細胞中，表現量之差異確實存在。
3. 以反轉錄酶，將 slug cDNA 全長 932 個鹼基選殖出來，並轉換至 pCIneo 載體（具有 CMV 起動子），將含有 slug cDNA 之質體（pCIneo-slug）transfect 到不表現 slug 之 CL1-0 細胞，使其表現大量之 slug。經即時定量 RT-PCR 及 Western hybridization 證實 slug 表現。選取 slug4 及 slug6 為 slug 高表現細胞株。同時也選殖由 pCIneo（空載體）轉殖之對照組細胞 mock。
4. 以 MTT assay 評估細胞增生速度，發現 slug4, slug6 及 mock 增生速度相同。
5. 以 Matrigel invasion assay 測量發現，slug4 及 slug6 比對照組 mock 細胞對 Matrigel 之侵襲能力增加 3~7 倍。
6. 侵襲能力包括細胞移動能力及對細胞外基質之分解能力。於是以 scratch wound assay 測量細胞移動能力發現 slug4, slug6 及 mock 細

胞並無差異。而以 zymography 測定細胞對細胞外基質分解能力，發現 slug4 及 slug6 比 mock 細胞有較強之 metalloproteinase-2 (MMP-2) 酵素活性，能將 gelatin 分解。進一步以 ELISA 方法，也發現 slug4 及 slug6 細胞培養液中，有比 mock 細胞較多量之 MMP-2 蛋白質。而且以即時定量 RT-PCR 也證實 slug4 及 slug6 細胞之 MMP-2 mRNA 有較多量之表現。

7. 將 slug4 細胞及 mock 細胞打入免疫不全之小鼠 (SCID) 皮下，測量腫瘤長大的速度，可發現 slug4 可長成腫瘤，而 mock 細胞形成的腫瘤很小。而所形成腫瘤切除後經免疫組織切片染色，也進一步證實，slug4 細胞所形成之腫瘤含有較多量之 MMP-2。
8. 以即時定量 RT-PCR，測定於台大醫院開刀之 54 位肺腺癌病患之腫瘤內 slug mRNA 表現量，並以 TBP mRNA 做 internal control。發現肺腺癌組織中 slug mRNA 的表現量與病患存活有關。slug mRNA 表現量較高之病患，其復發及存活時間之中位數各別為 11 個月及 15 個月。而 slug mRNA 表現量較低之病患，其復發及存活時間之中位數各別為 27 個月及 42 個月，有顯著之差異 (P 值分別為 0.03 及 <0.001)。進一步以多變數分析，證明 slug mRNA 表現量之高低，仍是肺腺癌病患手術切除後是否復發及存活時間之獨立因素。

結論：

在此研究中我們以 cDNA 微陣列技術，利用以建立之不同轉移及侵襲能力之細胞株，找到 slug 是一個促進癌細胞轉移的基因，並經由一系列之實驗，證實 slug 除了可以經由抑制 E-cadherin 之表現外，也能增加 MMP-2 之表現量及其活性，使得癌細胞容易形成腫瘤，且增強其轉移及侵襲能力。並且在肺腺癌病患之肺癌組織，證實 slug mRNA 表現量是病人術後復發及存活之重要獨立因子。我們希望能經由對 slug 之抑制，能改善肺癌病患之存活。