蛋白 -O- 岩藻糖基转移酶 1 在结直肠癌中的表达及临床意义

张年凤[1,2]，王若皎[1]，徐容[1]，张金宁[1]，郭琼[3*]，黄河[1,3*]

（[1] 中南大学基础医学院组织学与胚胎学系，长沙 410013；[2] 岳阳职业技术学院慢性病岳阳市重点实验室，岳阳 414000；[3] 新疆医科大学基础医学院组织学与胚胎学教研室，乌鲁木齐 830011）

〔**摘要**〕**目的** 观察蛋白 -O- 岩藻糖基转移酶 1（protein O-fucosyltransferase 1，POFUT1）在结直肠癌中的表达情况，研究其在结直肠癌早期诊断中的意义。**方法** 通过 Oncomine 与 UALCAN 数据库获取 TCGA 及非 TCGA 库中 POFUT1 的基因表达量数据，分析 POFUT1 在癌症中的表达情况；通过免疫组织化学技术（IHC）检测结直肠癌组织及其对应的癌旁组织与远癌组织中 POFUT1 的表达情况。**结果** 数据库资料分析结果表明，POFUT1 在多种癌症组织尤其是结直肠癌组织中高表达；IHC 结果显示，结直肠癌组织中 POFUT1 的阳性表达率明显高于其对应的癌旁组织与远癌组织。**结论** POFUT1 可能成为结直肠癌早期诊断的新型分子标志物之一。

〔**关键词**〕结直肠癌；蛋白 -O- 岩藻糖基转移酶 1；诊断

〔**中图分类号**〕R322 〔**文献标识码**〕A DOI：10.16705/ j. cnki. 1004-1850. 2020. 05. 008

Expression of protein O-fucosyltransferase 1 in colorectal cancer and its clinical significance

Zhang Nianfeng[1], Wang Ruojiao[1], Xu Rong[1], Zhang Jinning[1], Guo Qiong[3*], Huang He[1,3*]

(*[1]Department of Histology and Embryology, College of Basic Medicine, Central South University, ChangSha 410013; [2]Yueyang Key Laboratory of Chronic Noncommunicable Diseases, Yueyang Vocational and Technical College, Yueyang 414000; [3]Department of Histology and Embryology, College of Basic Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011*）

〔**Abstract**〕**Objective** To detect the expression level of protein O-fucosyltransferase 1 (POFUT1) in colorectal cancer and identify its significance for early diagnosis of colorectal cancer. **Methods** The gene expression data of POFUT1 in TCGA and non-TCGA library were obtained from Oncomine and UALCAN databases and used to analyze the expression of POFUT1 in various kinds of cancers. The expression of POFUT1 in colorectal cancer tissues, tumor-adjacent tissues and distal normal tissues was detected by immunohistochemistry (IHC). **Results** The database data analysis shows that POFUT1 is generally highly expressed in a variety of cancer tissues, especially in colorectal cancer. The results of IHC show that POFUT1 is highly expressed in colorectal cancer, compared with tumor-adjacent and distal normal tissues. **Conclusion** POFUT1 have potential as a new biological marker for the early diagnosis of colorectal cancer.

〔**Keywords**〕Colorectal cancer; protein O-fucosyltransferase 1; diagnose

结直肠癌（colorectal cancer, CRC）是常见的消化系统恶性肿瘤，严重威胁人类的健康。根据 2018 年《CA CANCER J CLIN》全球癌症统计报告，结直肠癌的发病率排名第 3 位、全世界每年有超过 180 万新发病例，死亡率排名第 2 位、死亡病例数高达 88.1 万 [1]。因此，对结直肠癌进行深入研究，寻找新的肿瘤标志物具有重要的临床意义和价值。

蛋白 -O- 岩藻糖基转移酶 1（protein O-fucosyltransferase 1，POFUT1）是一种重要的 O- 糖基转移酶。研究发现，POFUT1 通过激活 Notch1 信号促进结直肠癌的发展 [2]。然而 POFUT1 在结直肠癌中的表达情况，及具体作用机制还不十分清楚。因此，本研究通过应用 Oncomine 与 UALCAN 数据库分析，并结合免疫组织化学技术对结直肠癌患者组织标本中 POFUT1 的表达情况进行检测，从而探讨 POFUT1 与结直肠癌的关系。

〔收稿日期〕2020-07-12 〔修回日期〕2020-10-08

〔基金项目〕新疆维吾尔自治区“天山青年计划”（2018Q023）

〔作者简介〕张年凤，女（1981 年），汉族，讲师

* 通讯作者 (To whom correspondence should be addressed)：guoqiong926@163.com; huanghe@csu.edu.cn

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

材料和方法

1 数据资料收集

通过 Oncomine（https://www.oncomine.org）与 UALCAN（http://ualcan.path.uab.edu）数据库中获取 POFUT1 的基因表达量数据，包含源于 TCGA 及其他数据库中正常组织与肿瘤组织的数据 [3-7]。随后，使用 R 语言编程进行统计分析，以正常组织中 POFUT1 的基因表达量数据为对照组，计算并提取肿瘤组织数据库中 Fold change 大于 1 的基因表达数据。使用 Python 语言中的 Seaborn 包进行统计绘图分析。

2 临床组织标本收集

标本收集来自于 2018 年 11 月—2019 年 5 月在岳阳市第二人民医院诊治的 51 例结直肠癌手术切除治疗的结直肠癌患者。标本经病理组织学确诊为结直肠癌；术前未进行任何抗肿瘤治疗；接受规范性的结直肠癌手术切除治疗。合并其他肿瘤者、哺乳期或妊娠期患者排除在外。其中男 26 例，女 25 例；年龄 46-81 岁，平均（66.1）岁；结直肠癌 TNM 分期：Ⅱ期 30 例，Ⅲ期 20 例，Ⅳ期 1 例。每例标本包括结直肠癌组织及其对应的癌旁组织（距离癌肿组织 2cm 以内）与远癌组织（距离癌肿组织 5cm 以上），所选取的标本是在病人手术切除后迅速进行多点取材而获得，采用甲醛溶液固定并用石蜡包埋保存备用。本研究获得岳阳市二人民医院伦理委员会批准，并于标本收集时签署知情同意书。

3 材料

兔抗人 POFUT1 多克隆抗体（A8338）购自武汉爱博泰克生物科技有限公司、兔二抗购自 Abclone、兔 IgG 免疫组织化学试剂盒（SABC 即用型）和浓缩型 DAB 显色试剂盒均购自武汉博士德生物技术有限公司。

4 免疫组织化学染色与评分

石蜡组织标本制作成 5μm 切片，按试剂盒说明书进行免疫组织化学染色：石蜡切片放于恒温箱内烤片，松节油脱蜡 2 次，酒精梯度脱水、水浴抗原修复、H_2O_2 灭活内源性过氧化氢酶，5%BSA 封闭，加入 POFUT1 一抗（1:100，A8338，ABclonal）4℃ 孵育过夜；次日孵育二抗，DAB 染色，苏木精复染，梯度酒精脱水，松节油透明，中性树胶封片，光学显微镜下阅片和结果判定。实验中用 PBS 代替一抗进行阴性对照。

每张切片随机取 5 个高倍镜视野，请两名具有多年经验具有中级以上职称的临床病理医师双盲阅片。POFUT1 免疫组化评分 = 染色强度 × 阳性表达率，＞ 3 分为高表达。染色强度以 0~3 分进行评分，无着色计 0 分，轻度着色计 1 分，中度着色计 2 分，高度着色计 3 分；计算着色细胞所占比例（阳性表达率），以 1~3 分进行评分，阳性表达率 ≤ 25% 计 1 分；25% < 阳性表达率 < 75% 计 2 分；阳性表达率 ≥ 75% 计 3 分。

5 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件对相关数据进行统计学分析。计数资料采用卡方检验，计量资料采用 *t* 检验。以双侧 α=0.05 为检验水准，*P*<0.05 时认为有统计学意义。

结 果

1 POFUT1 在多种癌症组织中高表达

通过 Oncomine（https://www.oncomine.org）与 UALCAN（http://ualcan.path.uab.edu）数据库中获取 TCGA 及非 TCGA 数据库中 POFUT1 的基因表达量数据，结果表明，在 TCGA 数据库中，与正常组织相比，POFUT1 在结直肠癌、膀胱癌、脑癌、乳腺癌、宫颈癌、胃癌、肝癌、宫颈癌等多种癌症组织中高表达，其中结直肠癌中的表达尤为显著（图 1）；非 TCGA 库中，结直肠癌、肝癌、胃癌、脑癌等多种癌症组织中，POFUT1 呈高表达（图 2）。

2 POFUT1 在结直肠癌组织中高表达

通过分析 TCGA 肿瘤数据中 22 例正常结直肠组织和 215 例结直肠癌组织以及非 TCGA 肿瘤数据中 12 例正常结直肠组织和 70 例结直肠癌组织（Hong Colorectal）中 POFUT1 的表达水平发现，结直肠癌中 POFUT1 高表达，其 Fold change ＞ 2，这表明 POFUT1 表达量显著高于正常组织，且明显高于其他癌组织（图 3）。

免疫组织化学法检查结果显示 POFUT1 在Ⅱ、Ⅲ期结直肠癌组织中呈棕黄色至棕褐色颗粒样着色，在癌旁组织及远癌组织中表达较少，着色不明显（图 4）。POFUT1 在结直肠癌组织表达的阳性率为 74.50%（38/51）显著高于癌旁组织 47.06%（24/51）和远癌组织 33.3%（17/51）（c^2=17.95，*P*<0.01）。癌组织免疫组织化学评分显高于癌旁组织及远癌组织（图 5）。

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

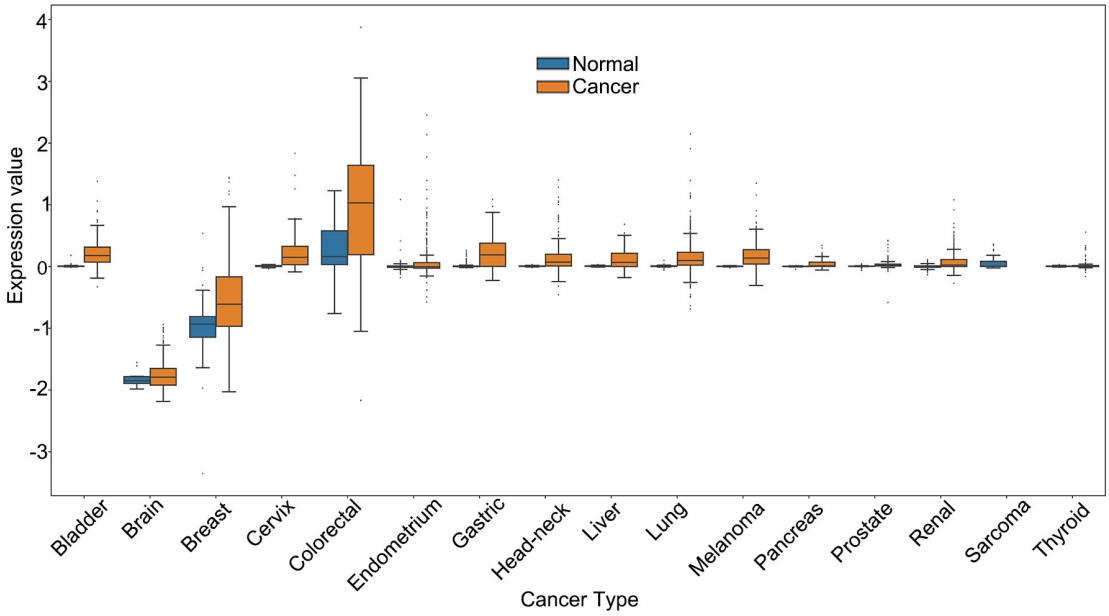


图 1　POFUT1 在多种癌组织中表达的 TCGA 数据库分析

Fig. 1 TCGA database analysis for the expression of POFUT1 in various kinds of cancer tissues

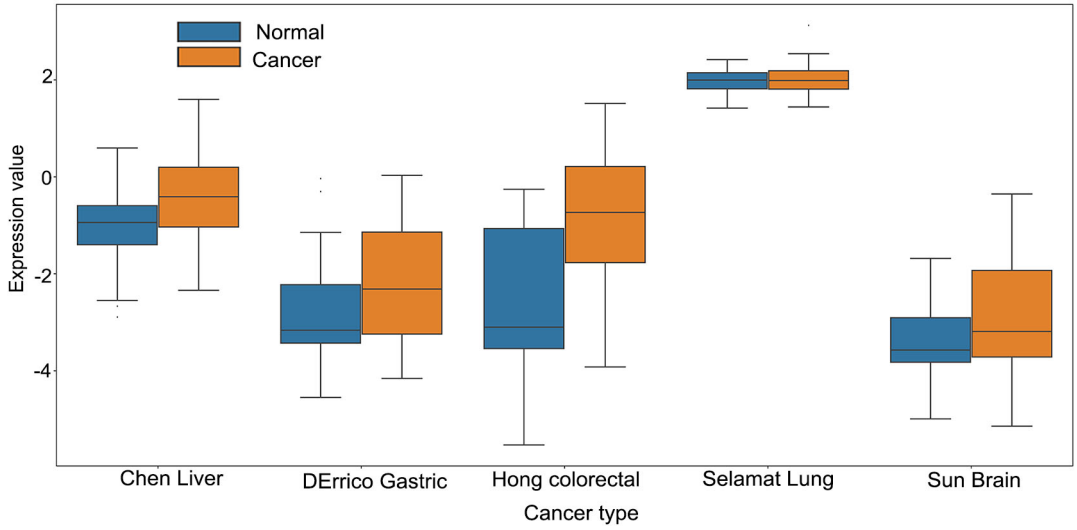


图 2　POFUT1 在多种癌组织中表达的非 TCGA 数据库分析

Fig. 2 Non-TCGA database analysis for the expression of POFUT1 in various kinds of cancer tissues

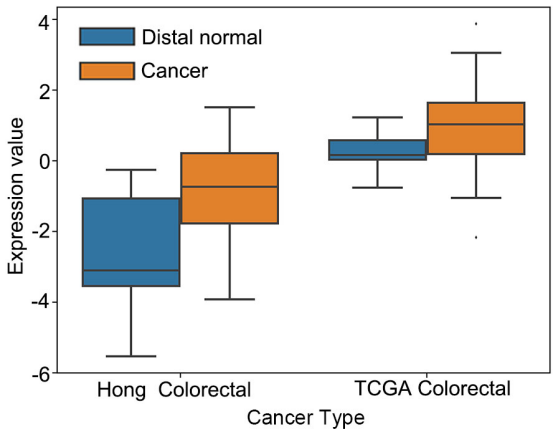


图 3 POFUT1 在结肠癌组织与正常结直肠组织表达水平比较

Fig. 3 Comparison of POFUT1 expression in colorectal cancer and normal colorectal tissues

讨　论

糖基化修饰和肿瘤发生之间存在联系 [8]。糖基化是蛋白质和脂类最常见的一种翻译后修饰，它对细胞的粘附、稳定性和细胞间的通讯起着至关重要的作用。糖基化参与蛋白质结构的形成，使其具有更多的生物学功能 [9]；蛋白质岩藻糖基化是蛋白质糖基化作用的一种重要形式。POFUT1 和 POFUT2 的结构十分相似，同属于 FUT 家族，以 GDP-Fuc 为糖基供体将 L-Fuc 转移到肽链 Ser/ Thr 的侧链羟基上，催化合成 O- 岩藻糖苷键 [10]。越来越多的证据证明，POFUT1 可以控制未分化和分化正常细胞之间的平

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

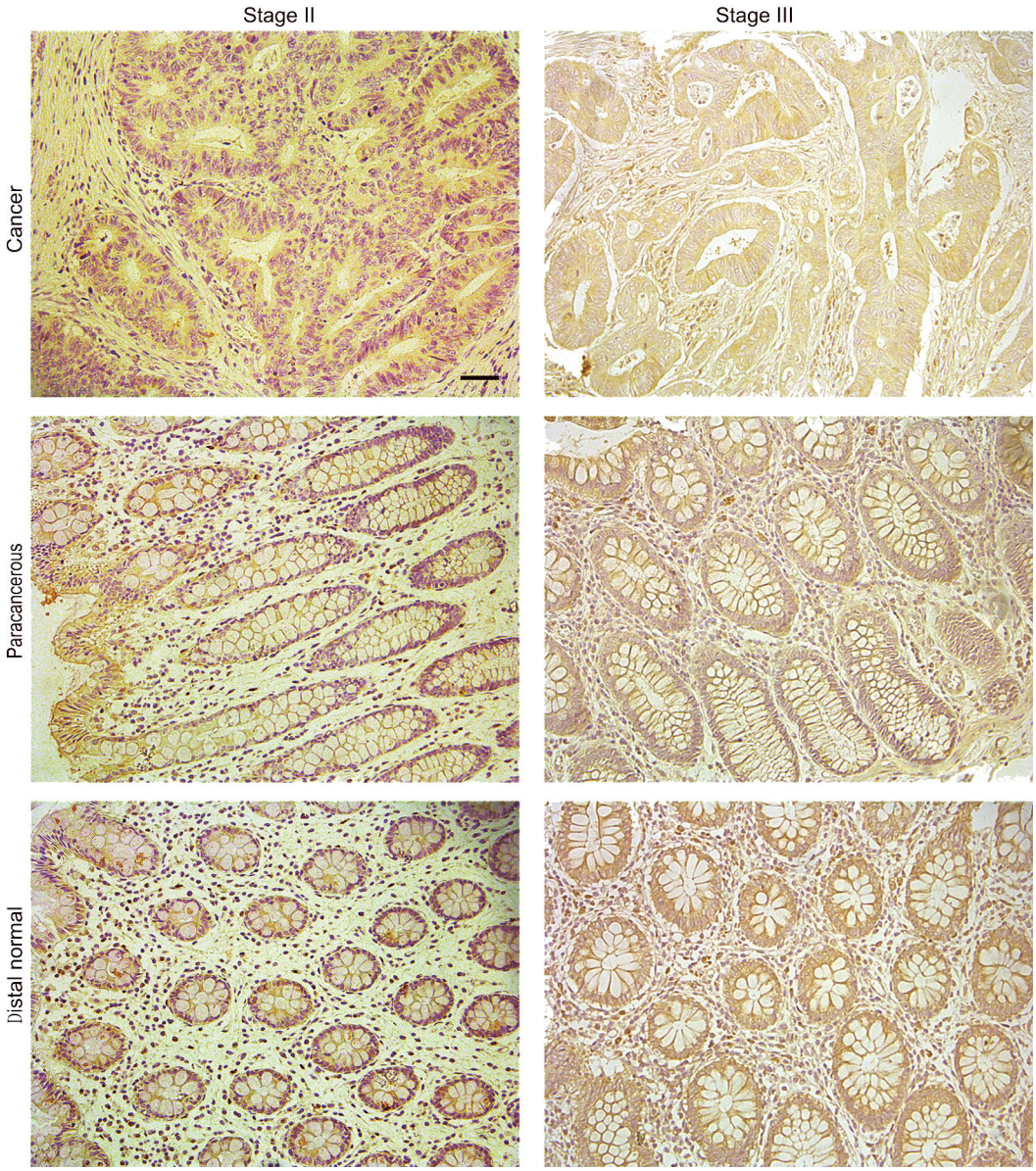


图 4 POFUT1 在Ⅱ、Ⅲ期结直肠癌组织及其对应的癌旁组织与远癌组织中表达的免疫组织化学检测。比例尺，40μm

Fig. 4 Immunohistochemical examination for expression of POFUT1 in Stage Ⅱ, Ⅲ colorectal cancer tissues, paracancerous tissues and distal normal tissues. Scale bar, 40μm

衡[11, 12]。人类 POFUT1 由 393 个氨基酸组成，它们由位于 20 号染色体长臂上的 PLAGL2 和 KIF3B 之间的一段基因编码，靠近着丝粒[13]。

以往的研究显示，通过分析 FireBrowse 数据库中 28 种癌症，发现 POFUT1 在 22 种癌症中的表达显著高于正常组织[14]。POFUT1 的过表达和异常激活的 Notch1 信号通路可能促进乳腺癌的恶化[15]，POFUT1 在口腔癌、肝癌和胃癌中呈明显过表达[16-18]。本研究通过 Oncomine 与 UALCAN 数据的分析得知：POFUT1 在多种癌症组织中普遍高表达，与上述研究一致。

结直肠癌是严重危害人类健康的疾病，根据 2017 年 CA Cancer J Clin 癌症统计数据显示，死亡率仍高居不下[19]；患者术后复发率高达 30%-50%[20]。结直肠癌在欧洲、大洋洲、北美地区和东亚的发病率较高，其发病率有明显的地区差异性，这可能与他们的生活方式有关。随着我国经济的快速发展，人们的饮食结构、生活方式的改变、人口老龄化及环境因素的影响，结直肠癌的发病率和死亡率，已呈逐年上升趋势[21]。目前临床上，针对结直肠癌治疗上主要以根治性手术为主，并辅以合理的放化疗：结直肠癌早期（Ⅰ期和Ⅱ期）患者可通过手术治愈，部

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

分Ⅲ期患者可通过手术联合化疗等综合手段治愈，但大部分晚期（Ⅳ期）患者，易复发，预后差 [22]。结直肠癌的早期诊断有利于临床的治疗，增加患者康复的机会。因此可见，新的潜在的癌症诊断标志物的研究，其临床意义重大。

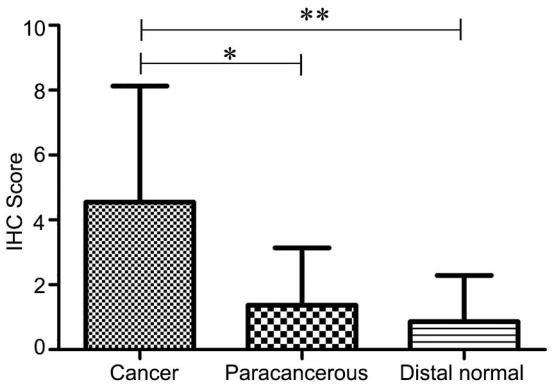


图 5 POFUT1 在结直肠癌组织及其对应的癌旁组织与远癌组织的免疫组织化学评分统计学分析。*，0.01<*P*<0.05；**，*P*<0.01

Fig. 5 Statistical analysis for IHC scores of POFUT1 in colorectal cancer tissues, paracancerous tissues and distal normal tissues. *, 0.01<*P*<0.05; **, *P*<0.01

已有研究证明，结直肠癌 TNM 分期（TNM I—IV 期）4 期中，POFUT1 都呈过表达 [14]，尤其在结直肠癌的 I 期中呈明显高表达。结直肠腺瘤的深入分子表征显示 POFUT1 和 Notch 信号是肿瘤进展的潜在驱动因素。此次通过 Oncomine 与 UALCAN 数据的分析得知：结直肠癌中 POFUT1 表达量，与正常组织相比有显著差异且结果较好，其表达量明显高于其他癌组织；免疫组化证实 POFUT1 在结直肠癌中强表达，癌旁组织和远癌组织中表达不明显。

综上所述，认为 POFUT1 可能成为结直肠癌早期诊断的生物学新型标志物之一，但是 POFUT1 的具体作用机制目前尚不清楚，仍需进一步的探究。

参 考 文 献

[1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.

[2] Du Y, Li D, Li N, et al. POFUT1 promotes colorectal cancer development through the activation of Notch1 signaling. Cell Death Dis, 2018, 9(10): 995.

[3] Chen X, Cheung ST, So S, et al. Gene expression patterns in human liver cancers. Mol Biol Cell, 2002, 13(6): 1929-1939.

[4] D'Errico M, de Rinaldis E, Blasi MF, et al. Genome-wide expression profile of sporadic gastric cancers with microsatellite instability. Eur J Cancer, 2009, 45(3): 461-469.

[5] Selamat SA, Chung BS, Girard L, et al. Genome-scale analysis of DNA methylation in lung adenocarcinoma and integration with mRNA expression. Genome Res, 2012, 22(7): 1197-1211.

[6] Sun L, Hui AM, Su Q, et al. Neuronal and glioma-derived stem cell factor induces angiogenesis within the brain. Cancer Cell, 2006, 9(4): 287-300.

[7] Hong Y, Downey T, Eu KW, et al. A 'metastasis-prone' signature for early-stage mismatch-repair proficient sporadic colorectal cancer patients and its implications for possible therapeutics. Clin Exp Metastasis, 2010, 27(2): 83-90.

[8] Dube DH, Bertozzi CR. Glycans in cancer and inflammation--potential for therapeutics and diagnostics. Nat Rev Drug Discov, 2005, 4(6): 477-488.

[9] Jayaprakash NG, Surolia A. Role of glycosylation in nucleating protein folding and stability. Biochem J, 2017, 474(14): 2333-2347.

[10] Chen CI, Keusch JJ, Klein D, et al. Structure of human POFUT2: insights into thrombospondin type 1 repeat fold and O-fucosylation. Embo J, 2012, 31(14): 3183-3197.

[11] Der Vartanian A, Audfray A, Al JB, et al. Protein O-fucosyltransferase 1 expression impacts myogenic C2C12 cell commitment via the Notch signaling pathway. Mol Cell Biol, 2015, 35(2): 391-405.

[12] Yao D, Huang Y, Huang X, et al. Protein O-fucosyltransferase 1 (Pofut1) regulates lymphoid and myeloid homeostasis through modulation of Notch receptor ligand interactions. Blood, 2011, 117(21): 5652-5662.

[13] Wang Y, Shao L, Shi S, et al. Modification of epidermal growth factor-like repeats with O-fucose. Molecular cloning and expression of a novel GDP-fucose protein O-fucosyltransferase. J Biol Chem, 2001, 276(43): 40338-40345.

[14] Chabanais J, Labrousse F, Chaunavel A, et al. POFUT1 as a promising novel biomarker of colorectal cancer. Cancers (Basel), 2018, 10(11): 411.

[15] Wan G, Tian L, Yu Y, et al. Overexpression of Pofut1 and activated Notch1 may be associated with poor prognosis in breast cancer. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 491(1): 104-111.

[16] Yokota S, Ogawara K, Kimura R, et al. Protein O-fucosyltransferase 1: a potential diagnostic marker and therapeutic target for human oral cancer. Int J Oncol, 2013, 43(6): 1864-1870.

（下转第 440 页）

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

of phosphoglycerate dehydrogenase attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis. Am J Respir Cell Mol Biol, 2018, 58(5): 585-593.

[6] Dong J, Ma Q. Macrophage polarization and activation at the interface of multi-walled carbon nanotube-induced pulmonary inflammation and fibrosis. Nanotoxicology, 2018, 12(2): 153-168.

[7] Kaminski N, Allard JD, Pittet JF, et al. Global analysis of gene expression in pulmonary fibrosis reveals distinct programs regulating lung inflammation and fibrosis. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(4): 1778-1783.

[8] Li Y, Li H, Liu S, et al. Pirfenidone ameliorates lipopolysaccharide-induced pulmonary inflammation and fibrosis by blocking NLRP3 inflammasome activation. Mol Immunol, 2018, 99: 134-144.

[9] Yamada M, Kubo H, Ota C, et al. The increase of microRNA-21 during lung fibrosis and its contribution to epithelial-mesenchymal transition in pulmonary epithelial cells. Respir Res, 2013, 14: 95.

[10] Burrello J, Erhardt EM, Saint-Hilary G, et al. Pharmacological treatment of arterial hypertension in children and adolescents: a network meta-analysis. Hypertension, 2018, 72(2): 306-313.

[11] Taylor-Zapata P, Baker-Smith CM, Burckart G, et al. Research Gaps in primary pediatric hypertension. Pediatrics, 2019, 143(5): e20183517.

[12] Tanaka KI, Niino T, Ishihara T, et al. Protective and therapeutic effect of felodipine against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. Sci Rep, 2017, 7(1): 3439.

[13] Burman A, Tanjore H, Blackwell TS. Blackwell, Endoplasmic reticulum stress in pulmonary fibrosis. Matrix Biol, 2018, 68-69: 355-365.

[14] Miura Y, Saito T, Tanaka T, et al. Reduced incidence of lung cancer in patients with idiopathic pulmonary fibrosis treated with pirfenidone. Respir Investig, 2018, 56(1): 72-79.

[15] Ashcroft T, Simpson JM, Timbrell V. Simple method of estimating severity of pulmonary fibrosis on a numerical scale. J Clin Pathol, 1988, 41(4): 467-470.

[16] Szapiel SV, Elson NA, Fulmer JD, et al. Bleomycin-induced interstitial pulmonary disease in the nude, athymic mouse. Am Rev Respir Dis, 1979, 120(4): 893-899.

[17] Qian W, Cai X, Qian Q, et al. Astragaloside IV modulates TGF-β1-dependent epithelial-mesenchymal transition in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. J Cell Mol Med, 2018, 22(9): 4354-4365.

[18] Zheng Q, Tong M, Ou B, et al. Isorhamnetin protects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis by inhibiting endoplasmic reticulum stress and epithelial-mesenchymal transition. Int J Mol Med, 2019, 43(1): 117-126.

（上接第 445 页）

[17] Ma L, Dong P, Liu L, et al. Overexpression of protein O-fucosyltransferase 1 accelerates hepatocellular carcinoma progression via the Notch signaling pathway. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 473(2): 503-510.

[18] 樊启林，王志荣 . POFUT1 对人胃腺癌裸鼠移植瘤微血管生成的抑制作用 . 同济大学学报（医学版），2018，39（2）：45-50.

[19] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30.

[20] Rodrigues RV, Pereira DSJ, Rosa I, et al. Intensive Follow-Up After Curative Surgery for Colorectal Cancer. Acta Med Port, 2017, 30(9): 633-641.

[21] 顾晋，汪建平，孙燕 . 中国结直肠癌诊疗规范（2017 年版）. 中华临床医师杂志，2018，12（1）：3-23.

[22] 曹毛毛，陈万青 . 中国恶性肿瘤流行情况及防控现状 . 中国肿瘤临床，2019，46（3）： 145-149.

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net