

## 研究论文

# Galectin-7对食管鳞癌细胞株Eca-109 迁移、侵袭的影响及其机制

赵基宇 何从文 汪 斌\*

(重庆医科大学附属第一医院心胸外科, 重庆 400016)

**摘要** 为了探讨半乳糖凝集素-7(Galectin-7)在食管癌Eca-109细胞发生发展中的细胞外功能及其机制, 该实验采用免疫印迹法检测浓缩细胞上清液中Galectin-7的表达, 并利用不同浓度的重组Galectin-7培养食管癌Eca-109细胞。使用免疫印迹、实时荧光定量PCR、细胞划痕实验、MTT实验检测在培养后细胞中基质金属酶-9(MMP-9)、p38、pp38表达水平的变化以及Eca-109细胞迁移和增殖能力的改变。结果显示, Galectin-7存在于Eca-109细胞细胞上清液中, 加入重组Galectin-7培养细胞后, MMP-9、pp38的表达水平明显上升, 并且细胞的迁移能力也得到了提高, 增殖能力无明显变化。由此说明, 在食管癌Eca-109细胞中, Galectin-7可以被细胞分泌至细胞外, 可能通过结合细胞外膜上特异性糖基配体激活p38 MAPK通路诱导MMP-9的表达, 从而在Eca-109细胞侵袭、迁移过程中发挥重要的作用。

**关键词** Galectin-7; 基质金属酶-9; 食管癌细胞株Eca-109; p38 MAPK; pp38 MAPK

## The Effect and Mechanism of Galectin-7 on Migration and Invasion of the Esophageal Squamous Carcinoma Cell Line Eca-109

Zhao Jiyu, He Congwen, Wang Bin\*

(Department of Cardiothoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**Abstract** To explore the extracellular function and mechanism of Galectin-7 in the development of esophageal Eca-109 cell line, Western blot was used to detect the expression of Galectin-7 in the concentrated cell culture supernatant, and Eca-109 cell line were incubated with human recombinant Galectin-7 in different concentrations. Western blot, Real-time quantitative PCR, scratch test and MTT were used to analyze the expressions of MMP-9, p38 and pp38 in Eca-109 cell and the impact of Galectin-7 on the invasion and the proliferation of Eca-109 cell. The result testified the existence of Galectin-7 in the cell culture supernatant, and the expressions of MMP-9 and pp38 were promoted by Galectin-7 and the ability of invading of Eca-109 was improved. Taken together, our results suggested that in Eca-109 cell line, Galectin-7 was secreted to the extracellular, and induced the expression of MMP-9 through activating the p38 MAPK pathway by binding the specificity glycosylated receptor in the cell membrane.

**Key words** Galectin-7; MMP-9; Eca-109 cell line; p38 MAPK; pp38 MAPK

收稿日期: 2014-03-25 接受日期: 2014-10-21

\*通讯作者。Tel: 023-89011132, E-mail: 18908399668@189.cn

Received: March 25, 2014 Accepted: October 21, 2014

\*Corresponding author. Tel: +86-23-89011132, E-mail: 18908399668@189.cn

网络出版时间: 2014-12-08 14:30 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20141208.1430.001.html>

食管癌是人类常见的恶性肿瘤之一。在中国大陆地区,食管癌的主要类型为鳞状细胞癌,发病率居全国恶性肿瘤第五位,死亡率居第四位<sup>[1]</sup>。食管鳞癌与大多数侵袭性和致死性肿瘤一样,对周围组织的浸润与转移是影响预后的主要因素,这一直是研究的热点。

Galectin-7属于半乳凝素族的一员,具有高度的组织特异性,其表达大多局限于复层上皮细胞中<sup>[2]</sup>。对于Galectin-7细胞特异性表达的分子调控机制仍缺乏了解,目前只知道Galectin-7的表达部分是由表观遗传机制如DNA甲基化控制的<sup>[3-4]</sup>。

大量的文献已经证实了半乳凝素在细胞凋亡中的作用。基于Galectin-7与其同族蛋白质具有共同功能的理论,大量的研究都集中在Galectin-7对于细胞凋亡的作用。Galectin-7在DLD-1细胞中的异位表达,使DLD-1细胞对许多不同的凋亡刺激更敏感,而过表达Galectin-7的转染组DLD-1细胞比空载体组细胞增殖显著降低<sup>[7]</sup>。

考虑到Galectin-7与细胞凋亡的联系以及抗增殖的作用,它应该对于肿瘤的发生发展起到抑制的作用。然而通过几种实验模型系统的观察发现,在肿瘤中Galectin-7表达增加,并且可能与肿瘤进展有关<sup>[8-9]</sup>。Park等<sup>[10]</sup>通过转染提高了在Hela细胞中Galectin-7的表达后,发现对比空载体组, Galectin-7转染组细胞侵袭能力明显上升。Demers等<sup>[15]</sup>发现, Galectin-7可通过诱导MMP-9的表达而增强淋巴瘤侵袭性。因此, Galectin-7在肿瘤中的确切作用仍有争议。

研究人员普遍认为,半乳凝素存在于细胞外及细胞内区室中。虽然它们不是分泌蛋白,但半乳凝素可通过非经典分泌途径或是富含半乳凝素的囊泡分泌到细胞外。因此,它们常在正常患者和肿瘤患者的血清中被发现。例如,正常人的血清里就能检测到Galectin-3的存在,而在患有恶性疾病的患者血清中能检测到显著高于正常水平的Galectin-3<sup>[12-13]</sup>。重组半乳凝素被广泛用于研究体外模型系统中的碳水化合物依赖性的细胞功能<sup>[14]</sup>。目前并没有研究证明Galectin-7参与形成了类似的结构,既往的研究主要集中在Galectin-7细胞内的作用。但Demers等<sup>[15]</sup>利用重组Galectin-7孵育淋巴瘤细胞发现, Galectin-7与细胞表面糖基受体依赖性结合,并能达到同转染相似的诱导MMP-9表达的作用。这说明在细胞表

面可能存在着与Galectin-7相结合的特异性糖基受体,而Galectin-7被细胞分泌到胞外也是有可能的。

本研究拟使用食管鳞癌细胞株Eca-109为研究对象,检测其细胞上清液中Galectin-7的表达,并通过重组Galectin-7培养细胞观察其在细胞外的具体作用及其可能的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验细胞和试剂

Eca-109由中国科学院生物化学与细胞生物学研究所提供。胎牛血清(FBS)购于四季青公司;改良型1640培养基购于Hyclone公司;重组人半乳凝素-7购于优尔生公司; $\beta$ -乳糖( $\beta$ -lactose)购于上海广锐生物科技有限公司;青霉素和链霉素购于碧云天生物公司;总RNA提取试剂盒购于Omega公司;逆转录试剂盒、SYBR GREEN I购于TaKaRa公司;兔抗人Galectin-7(Galectin-7)、基质金属酶-9(MMP-9)、p38、pp38抗体购于Proteintech公司;兔抗人 $\beta$ -actin抗体购于鼎国生物公司;HRP标记二抗(IgG)购于Proteintech公司;超滤离心管(molecular weight cutoff of 3 kDa)购于Millipore公司;一抗/二抗洗脱液购于碧云天公司;MTT购于Amresco公司。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

### 1.2 细胞培养及分组

Eca-109细胞株常规采用10%胎牛血清的RPMI1640培养基培养,在各组细胞的培养基中加入不同剂量的重组Galectin-7,培养条件为37 °C、饱和湿度及5% CO<sub>2</sub>。

对照组: NC组(无处理组);

浓度实验组<sup>[15]</sup>:

g<sup>1</sup>: 0.5  $\mu$ g/mL Galectin-7

g<sup>1</sup> $\beta$ <sup>1</sup>: 0.5  $\mu$ g/mL Galectin-7+0.5  $\mu$ g/mL  $\beta$ -lactose

g<sup>2</sup>: 1.0  $\mu$ g/mL Galectin-7

g<sup>2</sup> $\beta$ <sup>2</sup>: 1.0  $\mu$ g/mL Galectin-7+1.0  $\mu$ g/mL  $\beta$ -lactose

g<sup>3</sup>: 1.5  $\mu$ g/mL Galectin-7

g<sup>3</sup> $\beta$ <sup>3</sup>: 1.5  $\mu$ g/mL Galectin-7+1.5  $\mu$ g/mL  $\beta$ -lactose

时间实验组:

g<sup>8h</sup>: 0.5  $\mu$ g/mL Galectin-7, 8 h

g<sup>16h</sup>: 0.5  $\mu$ g/mL Galectin-7, 16 h

g<sup>24h</sup>: 0.5  $\mu$ g/mL Galectin-7, 24 h

对照组和浓度实验组培养细胞24 h, 时间实验组分别培养8, 16, 24 h。

### 1.3 细胞外上清液中Galectin-7的检测

1.3.1 细胞培养上清液浓缩 收集细胞培养上清液10 mL, 10 000 r/min离心5 min $\times$ 3, 以去除细胞碎片。将上清液加入内管, 14 520 r/min离心(4 °C预冷)30 min, 即得浓缩10倍的细胞上清液。离心结束, 将内管倒置在另一离心管中, 5 000 r/min离心5 min后, 收集浓缩液约1 000  $\mu$ L。取800  $\mu$ L按上述方式以14 520 r/min离心5 min, 浓缩成400 mL 20倍浓缩上清液。多次超速离心后可得到40倍、80倍的浓缩上清液。

1.3.2 对照组细胞蛋白提取 收集对照组细胞 $1\times 10^6$ , 加入碧云天IP裂解液80  $\mu$ L, 冰上裂解30 min, 于12 000 $\times$ g、4 °C离心15 min, 收集蛋白上清液。

1.3.3 Western blot 将40倍、80倍及NC组细胞蛋白液经过BCA法蛋白定量后, 取25  $\mu$ L加入5 $\times$ 上样缓冲液, 95 °C水浴5 min后上样。然后行12%的SDS-PAGE凝胶电泳, 再进行蛋白转膜, 电转完毕后将PVDF膜用5 g/L脱脂奶粉常温封闭2 h, 加入兔抗人Galectin-7多克隆抗体, 于4 °C孵育过夜(由于主要是检测细胞上清液中Galectin-7, 故未同时使用内参), TBST洗膜后, 加入羊抗兔二抗室温孵育2 h, 加入ECL显影剂, 放置于ChmiDoc XRS成像仪直接数码显色。

### 1.4 荧光实时定量PCR检测MMP-9 mRNA表达情况

1.4.1 RNA提取 按照OMEGA E.Z.N.A Total RNA Kit说明书, 将各实验组及对照组细胞分别提取总RNA, 紫外分光光度计定量并计算 $D_{260/280}$ 比值。

1.4.2 逆转录 采用TaKaRa公司的逆转录试剂盒PrimeScript RT Reagent Kit进行逆转录: 依次加入2  $\mu$ L 5 $\times$ PrimeScript Buffer、0.5  $\mu$ L Oligo dT Primer、0.5  $\mu$ L Random 6 mers、0.5  $\mu$ L PrimeScript RT Enzyme Mix I, 最后加入RNase Free dH<sub>2</sub>O至总体积为10  $\mu$ L。于PCR仪上采用37 °C 15 min、85 °C 5 s的条件进行反应, cDNA产物稀释20倍用作PCR模板。

1.4.3 PCR 参照TaKaRa公司的SYBR Premix Ex Taq II说明书, 以GAPDH为内参。MMP-9上游引物序列为: 5'-TCG AAC TTT GAC AGC GAC AAG-3'; 下游引物序列为: 5'-ACT GAG GAA TGA TCT AAG CCC-3'; 扩增片段长度为: 263 bp。GAPDH上游引物序列为: 5'-CCA CCC ATG GCA AAT TCC ATG GCA-3'; 下游引物序列为: 5'-TCT AGA GGG CAG GTC

AGG TCC ACC-3', 扩增片段长度为231 bp。使用美国Bio-Rad公司iCycler iQ荧光定量PCR分析仪进行PCR反应, 扩增条件为: 95 °C预变性2 min; 95 °C 10 s, 55 °C 15 s, 72 °C 15 s, 完成40个循环。扩增结束后, PCR仪自动绘制熔解曲线, 鉴定产物的特异性。通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算各组MMP-9 mRNA的相对表达量。

### 1.5 Western blot检测MMP-9、pp38、p38 MAPK表达情况

1.5.1 蛋白提取 收集各实验组细胞 $1\times 10^6$ , 分别加入碧云天IP裂解液80  $\mu$ L, 冰上裂解30 min, 于12 000 $\times$ g、4 °C离心15 min, 收集上清液。

1.5.2 Western blot 各组细胞蛋白液经过BCA法蛋白定量后, 取25  $\mu$ L加入5 $\times$ 上样缓冲液, 于95 °C水浴5 min后上样。然后行8%的SDS-PAGE凝胶电泳, 再进行蛋白转膜, 电转完毕后将PVDF膜用5 g/L脱脂奶粉常温封闭2 h, 加入兔抗人Galectin-7多克隆抗体及兔抗人 $\beta$ -actin多克隆抗体于4 °C孵育过夜。NC组及g<sup>1</sup>组加入兔抗人磷酸化p38多克隆抗体, TBST洗膜后, 加入羊抗兔二抗室温孵育2 h, 加入ECL显影剂, 放置ChmiDoc XRS成像仪数码显色。取NC组及g<sup>1</sup>组发光后pp38条带, 使用一抗/二抗洗脱液清洗后, 加入兔抗人p38多克隆抗体, TBST洗膜后, 加入羊抗兔二抗室温孵育2 h, 加入ECL显影剂, 放置ChmiDoc XRS成像仪数码显色。显色后再次洗去一抗/二抗, 加入兔抗人 $\beta$ -actin多克隆抗体于4 °C孵育过夜后, 加入二抗孵育, 数码显色。

### 1.6 细胞划痕实验检测细胞迁移能力

将对数期Eca-109细胞接种到六孔板中, 每孔细胞数为 $5\times 10^5$ , 常规培养过夜, 细胞贴壁长满后换液, 再分别加入重组Galectin-7浓度为g<sup>1</sup>、g<sup>2</sup>、g<sup>3</sup>、NC的无血清培养基, 采用细胞挂刀在孔中央作一宽度1.5 mm左右的划痕。沿划痕边缘等距离间隔作3个标记作为数据测定点, 测量时取平均值, 在培养0, 8, 16, 24 h后, 观察划痕距离并摄片。

### 1.7 MTT法测细胞增殖

取对数生长期Eca-109细胞, 用含0.02% EDTA的0.25%胰酶消化。10% RPMI1640培养基调整细胞密度为 $2\times 10^4$ /mL, 96孔板每孔加入200  $\mu$ L。培养过夜后, 实验组加入不同浓度的重组Galectin-7, 使重组Galectin-7浓度为0.5, 1, 1.5  $\mu$ g/mL, 对照组加入等量PBS, 每个浓度铺3个复孔, 同时设空白对照。经重组Galectin-7孵育1, 2, 3, 4, 5 d后, 每孔加入MTT

20  $\mu\text{L}$ , 培养箱中继续培养4 h, 去上清, 每孔加入DMSO(二甲基亚砜)150  $\mu\text{L}$ , 振荡, 使结晶充分溶解。选择490 nm波长, 测定各孔吸光度 $D$ 值, 记录结果。以时间为横坐标, 吸光值为纵坐标绘制细胞生长曲线。

### 1.8 数据分析和统计学处理

使用SPSS 17.0软件进行数据分析和处理, 比较各组间的差异有无显著性,  $P < 0.05$ 为有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 细胞上清液中Galectin-7的表达

Western blot检测超滤离心浓缩细胞上清液与对照组细胞中Galectin-7的表达, 结果显示(图1), 在浓缩80倍的上清中检测到了Galectin-7的表达, 明显低于对照组细胞内的表达(由于是检测细胞上清液

和细胞内的蛋白表达, 故没有内参的条带)。

### 2.2 不同Galectin-7浓度及时间培养条件下MMP-9在mRNA及蛋白水平的表达差异

为分析Galectin-7在Eca-109中诱导MMP-9表达与培养时间的关系, 我们通过实时荧光定量PCR检

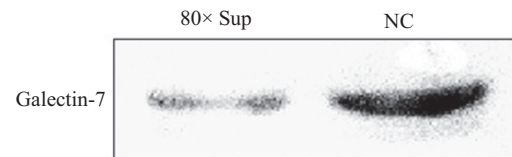
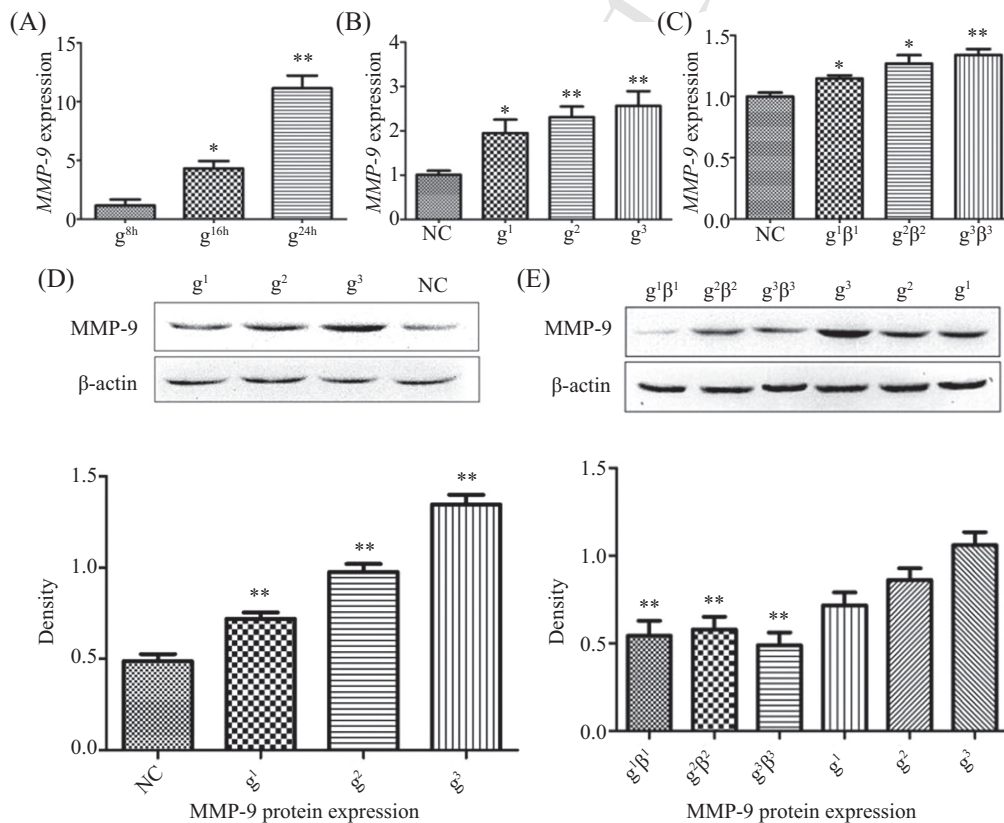


图1 Western blot检测80倍浓缩细胞上清液及对照组细胞中Galectin-7的表达

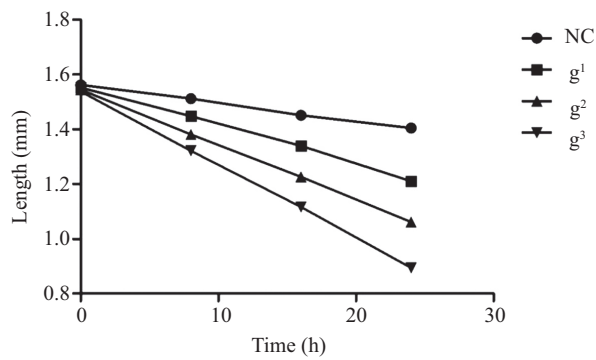
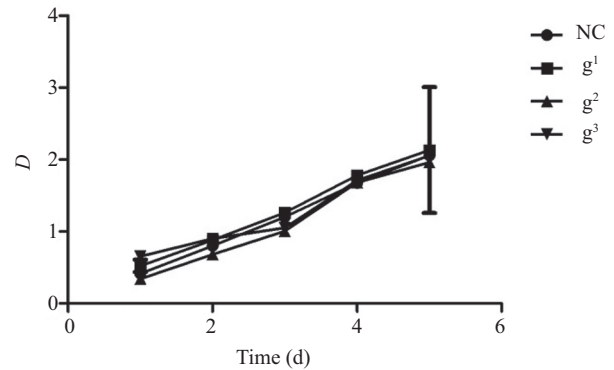
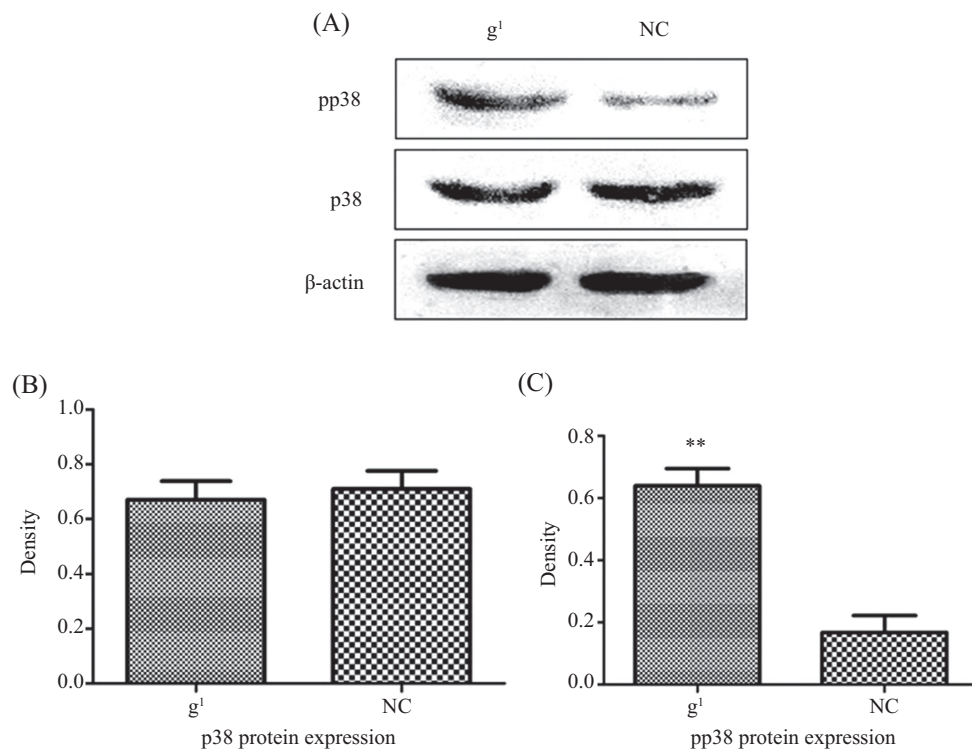
Fig.1 Determination of Galectin-7 protein level in cell culture supernatant concentrated in 80 times and in the cells of NC group by Western blot



A: 同一Galectin-7浓度组不同时间点,  $MMP-9$  mRNA表达水平。\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , 与 $g^{8h}$ 组相比较; B: 不同Galectin-7浓度组之间 $MMP-9$  mRNA表达水平; C: 加入 $\beta$ -lactose后, 不同培养浓度组之间 $MMP-9$  mRNA表达水平; D: 不同Galectin-7浓度组之间 $MMP-9$ 蛋白表达水平。B~D: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , 与NC组相比较; E: 加入 $\beta$ -lactose后, 不同培养浓度组之间 $MMP-9$ 蛋白水平的表达。\*\* $P < 0.01$ ,  $g^1\beta^1$ 与 $g^1$ 组、 $g^2\beta^2$ 与 $g^2$ 组、 $g^3\beta^3$ 与 $g^3$ 组分别相比较。

A: the expression of  $MMP-9$  in mRNA level in the same group at different times. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs  $g^{8h}$  group; B: the expression of  $MMP-9$  in mRNA level in the different concentration groups; C: the expression of  $MMP-9$  in mRNA level in the different concentration groups incubated with galectin and  $\beta$ -lactose; D: the expression of  $MMP-9$  in protein level in the different concentration groups. B~D: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs NC group; E: the expression of  $MMP-9$  in protein level in the different concentration groups incubated with Galectin and  $\beta$ -lactose. \*\* $P < 0.01$ ,  $g^1\beta^1$  group vs  $g^1$  group,  $g^2\beta^2$  group vs  $g^2$  group, and  $g^3\beta^3$  group vs  $g^3$  group.

图2 同浓度不同时间点之间、不同浓度组之间以及加入 $\beta$ -lactose后,  $MMP-9$  mRNA或蛋白水平的表达  
Fig.2 The expression of  $MMP-9$  in protein or mRNA level in the different Galectin-7 concentration groups, different Galectin-7+ $\beta$ -lactose concentration groups and the same concentration group at different times

图3 NC、g<sup>1</sup>、g<sup>2</sup>、g<sup>3</sup>组细胞迁移实验结果Fig.3 The cell scratch test of NC, g<sup>1</sup>, g<sup>2</sup> and g<sup>3</sup> groups图5 NC、g<sup>1</sup>、g<sup>2</sup>、g<sup>3</sup>组细胞生长曲线Fig.5 Cell growth curve of NC, g<sup>1</sup>, g<sup>2</sup> and g<sup>3</sup> groups

A: NC组与g<sup>1</sup>组中p38、pp38的蛋白水平的表达; B: g<sup>1</sup>组与NC组p38蛋白表达相比较, 无明显差异; C: \*\* $P < 0.01$ , g<sup>1</sup>组与NC组pp38蛋白表达相比较。  
A: the expression of p38 and pp38 in protein level in NC group and g<sup>1</sup> group; B: there is no difference of p38 protein level between g<sup>1</sup> group and NC group; C: \*\* $P < 0.01$ , the difference of pp38 protein level between g<sup>1</sup> group and NC group.

图4 NC组与g<sup>1</sup>组中p38、pp38在蛋白水平的表达Fig.4 The expression of p38 and pp38 in protein level between NC group and g<sup>1</sup> group

测g<sup>1</sup>组细胞在8, 16, 24 h三个时间点mRNA水平的表达差异。结果显示, 同一Galectin-7浓度条件下, MMP-9在mRNA水平的表达与时间成正相关(图2)。而不同Galectin-7浓度对MMP-9的诱导作用与Galectin-7浓度成正比(图2B)。加入Galectin-7的配体β-乳糖后抑制了Galectin-7对MMP-9表达的促进作用(图3)。这一结果与MMP-9在蛋白水平表达差异一致, 不同浓度Galectin-7对MMP-9的诱导作用与浓度成正相关, 而β-乳糖可抑制这种作用(图2D和图2E)。

### 2.3 加入Galectin-7培养细胞后, p38 MAPK通路蛋白变化

Western blot检测NC组细胞和g<sup>1</sup>组细胞中p38及pp38表达的变化, 结果显示, NC组与g<sup>1</sup>组中p38蛋白总量无明显变化, 但磷酸化p38在g<sup>1</sup>组中明显上升(图4)。

### 2.4 肿瘤细胞迁移能力改变

为观察Galectin-7对Eca-109细胞迁移能力的影响, 我们进行了细胞划痕实验, 实验结果显示, 不同Galectin-7浓度下Eca-109细胞迁移能力均有增强, 增

强幅度与浓度正相关(图3)。

## 2.5 不同浓度重组Galectin-7培养下肿瘤细胞生长

将NC、g<sup>1</sup>、g<sup>2</sup>、g<sup>3</sup>组细胞接种在96孔板中,保持各自Galectin-7浓度,每天测量3种细胞的D值,连续测量5 d。结果显示,各组细胞生长趋势没有明显差异(图5)。

## 3 讨论

在本研究中,为了了解Galectin-7是否存在于细胞外,我们使用超滤离心技术对Eca-109细胞培养上清液进行了浓缩,通过免疫印迹实验,在80倍浓缩的上清液中发现了Galectin-7的存在,从而证明了我们的猜想。这一结果也表明Galectin-7与其他半乳糖凝集素族蛋白一样都可以被细胞分泌到细胞外,从而拓展了研究的途径和方向。Galectin-7在细胞中的作用,不再局限于细胞内,其细胞外的作用更值得关注。

基底膜是阻挡肿瘤细胞转移的重要组织屏障之一,IV型胶原是构成基底膜的主要成分。在肿瘤细胞转移的过程中,细胞外基质的降解为肿瘤细胞的移动打开通道,肿瘤细胞可以释放各种蛋白水解酶降解在侵袭和转移中遇到的不同组织屏障。MMP-9是基质金属蛋白酶的一种,是IV型胶原的主要水解酶,因此,MMP-9可以通过水解IV型胶原,从而达到降解ECM及基底膜的目的,使肿瘤细胞沿着基底膜缺损和基质空隙侵入周围组织及血管。

在本研究中,我们观察到将重组人Galectin-7加入到培养基中培养细胞后,MMP-9无论在基因水平还是蛋白水平都出现了显著的相应的上升,表明细胞外的Galectin-7参与了MMP-9的表达调控。在加入 $\beta$ -lactose后对MMP-9的作用出现了抑制,提示Galectin-7诱导MMP-9的作用位点可能与细胞膜上的特异性糖基受体有关。而与对照组相比,实验组细胞中pp38表达水平上升明显,提示Galectin-7可能激活了p38 MAPK通路,从而提高了MMP-9的表达,这一发现与Park等<sup>[10]</sup>的研究一致。

为进一步研究Galectin-7在食管癌细胞侵袭转移过程中的作用,我们进行了细胞划痕实验。实验结果表明,Galectin-7使得实验组Eca-109细胞的体外迁移能力较对照组细胞出现了明显的上升,并且与Galectin-7的浓度正相关,从而进一步证实了Galectin-7在食管癌细胞侵袭和转移过程中的重要作用。而在MTT实验中我们发现,加入不同浓度的重组

Galectin-7培养细胞后,与对照组对比,在5 d内各实验组细胞的增殖情况几乎一致,说明Galectin-7在细胞外对于细胞增殖没有明显的作用。

我们的研究表明,Galectin-7在食管鳞癌细胞中通过非经典途径分泌到细胞外,通过结合细胞膜上的特异性糖基受体激活了p38 MAPK通路,从而提高了MMP-9的表达,增强了细胞的侵袭迁移能力。而对于食管鳞癌增殖能力并没有明显影响,这可能与蛋白存在的位置及细胞的恶性程度有关,在正常上皮细胞的表达中,Galectin-7定位于细胞内部,发挥着促进细胞分化,维持细胞稳态的作用。当上皮细胞出现癌变后,由于基因的改变,Galectin-7受体在细胞内表达降低,进而使其维持细胞稳态的功能缺失。Galectin-7被细胞分泌到胞外通过结合特异性糖基受体促进MMP-9的表达。

近年来,癌症相关的蛋白糖基化的改变已经引起了很多关注。因此,对糖蛋白上的糖类具有高度特异性的结合蛋白(凝集素)已经作为癌症和大量疾病的标志物,也可以作为治疗靶点,这对于半乳糖凝集素家族的成员尤其如此<sup>[16-18]</sup>。半乳糖凝集素在肿瘤侵袭转移中的角色已经有据可查。然而,大多数的注意力集中在Galectin-1和Galectin-3,对于Galectin-7的表达如何影响癌症的发展以及其独特的作用我们仍所知甚少。在本研究中,我们在细胞上清液中发现了Galectin-7的存在,并且与细胞迁移侵袭有关,但其在细胞膜上的具体作用位点还不清楚,而Galectin-7在正常及恶性细胞、不同类型肿瘤细胞中作用差异的原因和机制也有待进一步研究。但研究鳞状上皮癌患者血清中Galectin-7的表达、解决如何解放其促凋亡作用和抑制其促肿瘤侵袭迁移的作用,可作为下一步的研究方向,从而使其具有成为新的肿瘤标志物和治疗靶点的可能。

## 参考文献 (References)

- 赫捷,邵康. 中国食管癌流行病学现状、诊疗现状及未来对策. 中国癌症杂志(He Jie, Shao Kang. The epidemiology, current status of management, challenge and future strategy for esophageal cancer in China. *China Oncology*) 2011; 21(7): 501-4.
- Sato M, Nishi N, Shoji H, Kumagai M, Imaizumi T, Hata Y, *et al.* Quantification of Galectin-7 and its localization in adult mouse tissues. *J Biochem* 2002; 131(2): 255-60.
- Ruebel KH, Jin L, Qian X, Scheithauer BW, Kovacs K, Nakamura N, *et al.* Effects of DNA methylation on galectin-3 expression in pituitary tumors. *Cancer Res* 2005; 65(4): 1136-40.
- Demers M, Couillard J, Giglia-Mari G, Magnaldo T, St-Pierre Y.

- Increased Galectin-7 gene expression in lymphoma cells is under the control of DNA methylation. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 387(3): 425-9.
- 7 Ueda S, Kuwabara I, Liu FT. Suppression of tumor growth by Galectin-7 gene transfer. *Cancer Res* 2004; 64(16): 5672-6.
- 8 Zhu X, Ding M, Yu ML. Identification of Galectin-7 as a potential biomarker for esophageal squamous cell carcinoma by proteomic analysis. *BMC Cancer* 2012; 10: 290.
- 9 Saussez S, Decaestecker C, Lorfevre F. Increased expression and altered intracellular distribution of adhesion/growthregulatory lectins galectins-1 and -7 during tumour progression in hypopharyngeal and laryngeal squamous cell carcinomas. *Histopathology* 2008; 52(4): 483-93.
- 10 Park JE, Chang WY, Cho M. Induction of matrix metalloproteinase-9 by Galectin-7 through p38 MAPK signaling in HeLa human cervical epithelial adenocarcinoma cells. *Oncology Rep* 2009; 22(6): 1373-9.
- 11 St-Pierre Y, Campion CG, Grosset AA. A distinctive role for Galectin-7 in cancer? *Front Biosci (Landmark Ed)* 2012; 17: 438-50.
- 12 Saussez S, Glinier D, Chantrain G, Pattou F, Carnaille B, Andre S, *et al.* Serum galectin-1 and galectin-3 levels in benign and malignant nodular thyroid disease. *Thyroid* 2008; 18(7): 705-12.
- 13 Saussez S, Lorfevre F, Lequeux T, Laurent G, Chantrain G, Ver tongen F, *et al.* The determination of the levels of circulating galectin-1 and -3 in HNSCC patients could be used to monitor tumor progression and/or responses to therapy. *Oral Oncol* 2008; 44(1): 86-93.
- 14 Gieseke F, Bohringer J, Bussolari R, Dominici M, Handgretinger R, Muller I. Human multipotent mesenchymal stromal cells use galectin-1 to inhibit immune effector cells. *Blood* 2010; 116(19): 3770-9.
- 15 Demers M, Magnaldo T, St-Pierre Y. A novel function for Galectin-7: Promoting tumorigenesis by up-regulating MMP-9 gene expression. *Cancer Res* 2005; 65(12): 5205-10.
- 16 Zou J, Glinky VV, Landon LA, Matthews L, Deutscher SL. Peptides specific to the galectin-3 carbohydrate recognition domain inhibit metastasis-associated cancer cell adhesion. *Carcinogenesis* 2005; 26(2): 309-18.
- 17 Fortuna-Costa A, Gomes AM, Kozlowski EO, Stelling MP, Pavão MS. Extracellular galectin-3 in tumor progression and metastasis. *Front Oncol* 2014; 4: 138.
- 18 Cho SJ, Kook MC, Lee JH, Shin JY, Park J, Bae YK, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  up-regulates galectin-9 and predicts prognosis in intestinal-type gastric cancer. *Int J Cancer* 2014; doi: 10.1002/ijc.29056.