

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.09.006

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.09.006>

## TRPM7 在胃癌组织的表达及其临床意义

陈宝珍<sup>1</sup>, 王晓江<sup>1</sup>, 何银珠<sup>1</sup>, 许春伟<sup>1</sup>, 林贤东<sup>2</sup>

(1. 福建省肿瘤医院, 福建医科大学附属肿瘤医院, 福建省肿瘤医院分子病理室, 福州 350014;  
2. 福建省肿瘤医院放射生物学实验室, 福州 350014)

**[摘要]** 目的: 探讨瞬时受体电位M型-7(transient receptor potential melastatin 7, TRPM7)在胃癌组织中的表达及临床意义。方法: 收集福建省肿瘤医院2012年6月至2015年12月间进行外科手术并有完整随访信息的胃癌病例48例, 应用实时荧光定量PCR验证上述病例癌组织和癌旁组织中TRPM7的表达, 并分析其与临床病理的关系; 应用Kaplan-Meier法行生存分析, 采用Log-rank检验比较生存率。结果: TRPM7 mRNA在胃正常组织和胃癌组织中都有表达; 与癌旁胃正常组织相比, TRPM7在肿瘤组织的表达比癌旁组织上调1.38倍( $P=0.0140$ ); TRPM7的表达水平与患者性别、年龄、肿瘤大小和组织分型、TNM分期及是否感染EB病毒无显著的相关性; 生存分析提示: 与癌旁组织相比, TRPM7正表达的胃癌患者生存时间显著短于负表达组( $P=0.0442$ )。结论: TRPM7可能作为一个原癌基因, 参与胃癌的发生和发展; TRPM7表达情况有明显的预后意义。

**[关键词]** TRPM7; 肿瘤; 胃癌

## Expression of TRPM7 in gastric cancer and its clinical significance

CHEN Baozhen<sup>1</sup>, WANG Xiaojiang<sup>1</sup>, HE Yinzhū<sup>1</sup>, XU Chunwei<sup>1</sup>, LIN Xiandong<sup>2</sup>

(1. Department of Molecular Pathology, Fujian Cancer Hospital and Fujian Medical University Cancer Hospital, Fuzhou 350014; 2. Laboratory of Radiation Oncology and Radiobiology, Fujian Cancer Hospital and Fujian Medical University Cancer Hospital, Fuzhou 350014, China)

**Abstract** **Objective:** To investigate the expression and clinical significance of TRPM7 in gastric cancer. **Methods:** A total 48 cases of gastric cancer undergoing surgery in Fujian cancer hospital from June 2012 to December 2015 were collected. The expression of TRPM7 in above cases and adjacent tissues was verified by real-time fluorescence quantitative PCR. The association between TRPM7 expression and clinicopathological features was analyzed by  $\chi^2$  test. Kaplan-Meier analysis and log-rank test were used for the survival analysis. **Results:** TRPM7 mRNA was expressed in both normal and gastric cancer tissues. The expression of TRPM7 in tumor tissues was up-regulated by 1.38 ( $P=0.0140$ ) compared with normal tissues. There was no significant correlation between the expression of TRPM7 and patients' gender, age, size, tissue type, TNM and Epstein-Barr virus infection. Survival analysis

收稿日期 (Date of reception): 2019-11-24

通信作者 (Corresponding author): 林贤东, Email: [linxdon91970@yeah.net](mailto:linxdon91970@yeah.net)

基金项目 (Foundation item): 福建省卫生健康委员会计划课题 (2017-1-16, 2018-ZQN-15); 福建省科技支撑计划项目 (2018Y2003, 2019YZ016006)。This work was supported by the Fujian Provincial Health Technology Project (2017-1-16, 2018-ZQN-15) and Science and Technology Program of Fujian Province (2018Y2003, 2019YZ016006), China.

indicated that, the survival time of gastric cancer patients with positive expression of TRPM7 was significantly lower than the group with negative expression. **Conclusion:** TRPM7 may be involved in the development of gastric cancer as a proto-oncogene. TRPM7 has prognostic significance in gastric cancer.

**Keywords** transient receptor potential melastatin 7; tumor; gastric cancer

胃癌(gastric cancer, GC)是我国常见的恶性肿瘤之一,具有较高的发病率和病死率。早期胃癌症状不明显,确诊常为中晚期,临床治疗效果不佳,因此研究其发病机制,探索其潜在治疗靶点意义重大。瞬时受体电位M型-7(transient receptor potential melastatin 7, TRPM7)是一类具有阳离子通道和蛋白激酶双重结构的独特膜蛋白,又被称为通道酶。近年来,越来越多的研究<sup>[1]</sup>表明TRPM7与肿瘤的增殖、分化、细胞凋亡、血管生成、迁移和侵袭密切相关,其在卵巢癌、乳腺癌、胰腺癌、鼻咽癌等患者中异常表达,并且与肿瘤的转移、临床分期等相关,是肿瘤预后的独立预测因子。TRPM7可能是重要的诊断或预后标志物,因此探索其在胃癌中的作用意义重大,然而目前国内关于TRPM7在胃癌组织中表达的研究报道相对较少。本研究通过检测胃癌以及对应癌旁正常组织TRPM7 mRNA的表达水平,分析TRPM7与胃癌的临床病理关系及预后,以了解TRPM7在胃癌发生发展中的作用,为胃癌的诊断、治疗及预后提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 组织标本

选取2012年6月至2015年12月于福建省肿瘤医院进行外科手术,并有完整随访信息的48例病例(癌组织和癌旁组织),其中男38例,女10例,年龄22~79(平均56.4)岁,随访截止时间2017年12月。所有患者术前未接受过任何治疗,手术切除标本立即放入液氮保存,随后转入-80℃冰箱保存,整个收集过程及保存过程均按照无酶原则操作。所有病例经病理确诊。本研究经过福建省肿瘤医院医学伦理委员会批准,所有纳入患者在手术前签署知情同意书。

### 1.2 试剂和仪器

TRIzol, TRPM7, B-actin购自Invitrogen上海公司。PrimeScript RT reagent kit, PCR扩增仪购自日本TaKaRa公司。SYBR Green购自瑞士罗氏公司。3000p购自美国安捷伦公司。所有病例经EBER原位杂交检测,确定EB病毒感染状态,实验方法及相

关试剂盒参照课题组之前发表的文章<sup>[2]</sup>。

### 1.3 RT-PCR

取100 mg的冻存新鲜组织磨成粉末状,加入1 mL TRIzol,静置10 min后抽提mRNA。使用分光光度计测定RNA浓度。按照反转录试剂盒操作说明书将提取RNA反转成cDNA,于-80℃保存备用。荧光定量PCR按照SYBR Green说明书配制反应体系,反应条件如下:90℃ 10 min, 95℃ 15 s, 55℃ 30 s, 72℃ 30 s, 40个循环,每个样本3个重复,并进行熔解曲线检测。PCR引物序列为:TRPM7正向引物5'-TACACCTGTGCCTCCAAGAG-3',反向引物5'-ACCTCCTCCCATCTCCTCTT;  $\beta$ -actin正向引物5'-GCGTGACATTAAGGAGAAGC-3',反向引物5'-CCACGTCACACTTCATGATGG-3'。

### 1.4 数据分析和修正

以 $\beta$ -actin为内参基因对各基因表达进行标准化,同时以T-035癌组织表达为准(calibrator),即它的表达量设为1,量化其他样本的表达量;在调整基线循环(baseline)和计算阈值(Threshold Position)后,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法比较TRPM7的相对表达量,仪器自动根据得出的Ct值(Threshold cycle),所得的Ct值运用相对定量的计算公式, $\Delta Ct_{patient} = Ct_{TRPM7} - Ct_{\beta-actin}$ , $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{patient} - \Delta Ct_{T-035}$ , $RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$ ,计算得出代表相对表达量的RQ值。

### 1.5 统计学处理

采用SPSS 13.0统计软件进行数据分析,配对资料的比较采用配对t检验,两组间的比较先进行正态性检验及方差齐性分析,后进行两独立样本t检验。使用Kaplan-Meier法评估胃癌患者生存率,采用Log-rank检验对组间生存率曲线进行比较。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 TRPM7在胃癌组织中的表达水平

应用RT-PCR检测48例胃癌及癌旁组织中TRPM7表达水平,胃癌组织中TRPM7表达水平为

12.52±1.296, 而相应的癌旁组织为9.11±0.953, 上调1.38倍, 差异具有统计学意义( $P=0.014$ , 图1)。

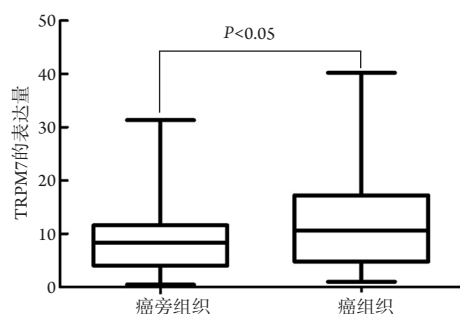


图1 TRPM7在癌旁组织及肿瘤组织的表达水平

Figure 1 Expression of TRPM7 in paracancer and tumor tissues

## 2.2 TRPM7 表达与胃癌的临床病理特征的关系

48例胃癌患者的癌组织中TRPM7表达水平与临床病理特征关系的分析结果显示: TRPM7的表达水平与患者性别、年龄、部位、大小、组织分型及TNM无显著的相关性( $P>0.05$ , 表1)。同时, TRPM7表达水平与是否感染EB病毒也无显著相关性( $P>0.05$ , 表1)。

表1 TRPM7与胃癌临床病理特征的关系

Table 1 Relationship between TRPM7 and clinicopathological features of gastric cancer

| 特征       | n  | TRPM7表达量      | P     |
|----------|----|---------------|-------|
| 性别       |    |               | 0.505 |
| 男        | 38 | 12.97 ± 9.53  |       |
| 女        | 10 | 10.81 ± 6.58  |       |
| 年龄/岁     |    |               | 0.590 |
| <60      | 26 | 13.17 ± 8.11  |       |
| ≥60      | 22 | 11.74 ± 10.05 |       |
| 大小/cm    |    |               | 0.786 |
| <5       | 24 | 12.15 ± 10.29 |       |
| ≥5       | 24 | 12.87 ± 7.65  |       |
| Lauren分型 |    |               | 0.979 |
| 肠型       | 36 | 12.53 ± 8.99  |       |
| 弥漫型      | 12 | 12.45 ± 9.34  |       |
| TNM分期    |    |               | 0.850 |
| I~II     | 19 | 12.82 ± 11.65 |       |
| III~IV   | 29 | 12.31 ± 6.92  |       |
| EB病毒感染   |    |               | 0.418 |
| 否        | 21 | 13.72 ± 9.35  |       |
| 是        | 27 | 11.58 ± 8.74  |       |

## 2.3 TRPM7 表达与胃癌患者预后关系

48例胃癌患者生存时间为4~84(中位数45)个月。与癌旁组织相比, 胃癌组织中TRPM7表达上调(正表达)的患者中位生存期为53个月, 表达下调(负表达)的患者中位生存期为67个月, 经log-rank检验分析显示两组生存率之间的差异具有统计学意义( $\chi^2=4.049$ ,  $P=0.044$ , 图2)。

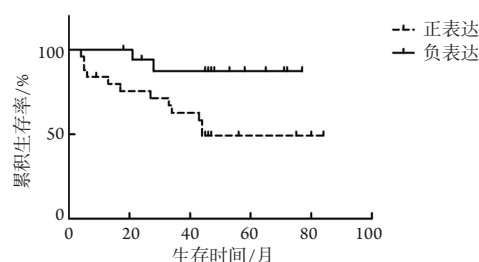


图2 TRPM7表达与胃癌患者预后的关系

Figure 2 Relationship between the expression of TRPM7 and the prognosis of gastric cancer

## 3 讨论

研究<sup>[3]</sup>表明: 离子通道对肿瘤的发展和癌细胞生长至关重要, 在恶性肿瘤的发病过程中起着致癌或抑癌作用。瞬态受体电位(transient receptor potential, TRP)是一类非电压依赖的阳离子通道, 根据其编码氨基酸序列不同, 可将其分为7个亚家族: TRPC (Canonical), TRPV (Vanilloid), TRPM (Melastatin), TRPP (Polycystin), TRPML (Mucolipin), TRPA (Ankyrin), TRPN (NOMPC)<sup>[4]</sup>。激活TRP通道, 导致Ca<sup>2+</sup>和Mg<sup>2+</sup>等阳离子的跨膜流动, 从而调节相关的信号通路。TRP通道扮演着细胞传感器的角色, 并介导多种生理反应, 包括细胞增殖、细胞分化、血管生成、细胞凋亡及基因转录等<sup>[5]</sup>。在7个亚家族中, TRPM具有独特的结构基序, 并与其他亚家族具有相同的结构域<sup>[6]</sup>。TRPM7是TRPM蛋白家族成员之一, 具有阳离子通道和蛋白激酶双重结构。越来越多的证据<sup>[1,7-8]</sup>表明: TRPM7在细胞生长、胚胎发育和人类疾病特别是癌症中起至关重要的作用, 在多种恶性肿瘤中扮演着原癌基因或抑癌基因的角色, 可作为分子标志物及恶性肿瘤的治疗靶点。

本研究报道了TRPM7在胃癌组织中的表达情况, 与癌旁组织相比, TRPM7在胃肿瘤组织中显著高表达。目前, 国外仍未见TRPM7在胃癌组织中的报道, 仅见其在胃癌细胞系中的报道。Kim

等<sup>[9]</sup>的研究表明TRPM7在多种胃癌细胞系中表达均上调,此外,利用药物和si-RNA抑制AGS, MKN45, SNU1和SNU484等细胞系中TRPM7的表达均可抑制细胞增殖,诱导细胞凋亡,提示TRPM7可能扮演着原癌基因的作用,TRPM7的表达能够促进胃癌的发生和发展。而国内仅见1篇相关报道,在李翔等<sup>[10]</sup>的研究中,TRPM7在胃癌组织中表达下调,但TRPM7在淋巴结转移的胃癌组织中表达高于未发生淋巴结转移的胃癌组织;与正常组织相比,TRPM7在胰腺癌组织中高表达,并与肿瘤大小、临床分期正相关<sup>[11]</sup>。此外,Guilber等<sup>[12]</sup>的研究发现TRPM7在乳腺癌细胞及组织中也异常高表达,肿瘤组织中的表达水平与Ki-67及肿瘤大小密切相关。同时,TRPM7可作为肾癌的一个独立预后因子,高表达TRPM7的肾癌患者的OS和PFS更短<sup>[13]</sup>;TRPM7在卵巢癌中高表达,其表达与卵巢癌无病生存期和总生存期显著相关<sup>[14]</sup>。以上文献均表明TRPM7的表达可能与肿瘤的生长和转移相关,提示较差的预后。本研究结果显示:TRPM7正表达的患者生存率显著低于负表达的患者,而TRPM7与胃癌临床病理特征关系分析并未发现TRPM7的表达水平与肿瘤大小、TNM分期有显著的相关性,因此TRPM7与胃癌生长转移及预后的机制需要更深入的研究。

本研究还分析了TRPM7表达与胃癌组织中EB病毒感染情况的关系,EB病毒感染胃癌组织中(EBV阳性胃癌组织)TRPM7表达量为 $11.58 \pm 8.74$ ,EBV阴性胃癌组织TRPM7表达量为 $13.72 \pm 9.35$ ,两者差异并不显著。Huang等<sup>[15]</sup>的研究发现:在EBV阳性胃癌组织中,TRPM7为EBV的靶基因,在EBV阳性胃癌组织表达高于EBV阴性胃癌组织。但上述研究仅仅是生物信息推测,且研究也指出TRPM7的表达受EBV和lncRNA SNHG8的共同调控,SNHG8在EBV阳性胃癌组织表达高于EBV阴性胃癌组织<sup>[2]</sup>,推测在EBV阳性胃癌组织中SNHG8抑制TRPM7表达,导致其在EBV阳性/EBV阴性胃癌组织中表达一致,当然这一机制还需要后续的细胞系验证。

TRPM7在多种肿瘤中异常表达,参与肿瘤细胞的生存、增殖、生长、迁移、侵袭,提示其可作为分子标志物来诊断肿瘤和评估其预后。目前,关于TRPM7离子通道的阻滞剂研究也比较热门,表明其在靶向治疗方面的潜力。因此,研究TRPM7在胃癌的表达,为了解胃癌的发生机制及

胃癌靶向治疗的发展提供了一个新思路。

## 参考文献

1. Yee NS, Kazi AA, Yee RK. Cellular and developmental biology of TRPM7 channel-kinase: implicated roles in cancer[J]. *Cells*, 2014, 3(3): 751-777.
2. 陈宝珍, 林贤东, 陈刚, 等. 长链非编码 RNA SNHG8在EB病毒相关胃癌中的表达及其临床意义[J]. *中华病理学杂志*, 2017, 46(2): 89-92.  
CHEN Baozhen, LIN Xiangdong, CHEN Gang, et al. Expression of long non-coding RNA SNHG8 in Epstein-Barr virus-related gastric cancer and clinical outcome[J]. *Chinese Journal of Pathology*, 2017, 46(2): 89-92.
3. Yee NS. Role of TRPM7 in cancer: potential as molecular biomarker and therapeutic target[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2017, 10(2): 1-15.
4. Pedersen SF, Owsianik G, Nilius B. TRP channels: an overview[J]. *Cell Calcium*, 2005, 38(3/4): 233-252.
5. Owsianik G, D'Hoedt D, Voets T, et al. Structure-function relationship of the TRP channel superfamily[J]. *Rev PhysiolBiochem Pharmacol*, 2006, 156: 61-90.
6. Fleig A, Penner R. The TRPM ion channel subfamily: molecular, biophysical and functional features[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2004, 25(12): 633-639.
7. Gautier M, Perriere M, Monet M, et al. Recent advances in oncogenic roles of the TRPM7 chanzyme[J]. *Curr Med Chem*, 2016, 23(36): 4092-4107.
8. Yee NS, Chan AS, Yee JD, et al. TRPM7 and TRPM8 ion channels in pancreatic adeno-carcinoma: potential roles as cancer biomarkers and targets[J]. *Scientifica (Cairo)*, 2012, 2012: 415158.
9. Kim BJ, Park EJ, Lee JH, et al. Suppression of transient receptor potential melastatin 7 channel induces cell death in gastric cancer[J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(12): 2502-2509.
10. 李翔. TRPM7 mRNA在胃癌组织中的表达及临床意义[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2010.  
LI Xiang. Expression and clinical significance of TRPM7 mRNA in gastric cancer[D]. Shenyang: China Medical University, 2010.
11. Yee NS, Kazi AA, Li Q, et al. Aberrant over-expression of TRPM7 ion channels in pan-creatic cancer: required for cancer cell invasion and implicated in tumor growth and metastasis[J]. *Biol Open*, 2015, 4(4): 507-514.
12. Guilbert A, Gautier M, Dhennin-Duthille I, et al. Evidence that TRPM7 is required for breast cancer cell proliferation[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2009, 297(3): C493-C502.

13. Zhao Z, Zhang M, Duan X, et al. TRPM7 Regulates AKT/FOXO1-dependent tumor growth and is an independent prognostic indicator in renal cell carcinoma[J]. *Mol Cancer Res*, 2018, 16(6): 1013-1023.
14. Wang J, Xiao L, Luo C H, et al. Overexpression of TRPM7 is associated with poor prognosis in human ovarian carcinoma[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(9): 3955-3958.
15. Huang T, Ji Y, Hu D, et al. SNHG8 is identified as a key regulator of epstein-barr virus (EBV)-associated gastric cancer by an integrative analysis of lncRNA and mRNA ex-pression[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(49): 80990-81002.

**本文引用:** 陈宝珍, 王晓江, 何银珠, 许春伟, 林贤东. TRPM7在胃癌组织的表达及其临床意义[J]. *临床与病理杂志*, 2020, 40(9): 2259-2263. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.09.006

**Cite this article as:** CHEN Baozhen, WANG Xiaojiang, HE Yinzhu, XU Chunwei, LIN Xiandong. Expression of TRPM7 in gastric cancer and its clinical significance[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2020, 40(9): 2259-2263. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.09.006