

· 论著 ·

(文章编号) 1007-0893(2021)21-0001-03

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2021.21.001

miR-612 抑制 CD151 基因过表达对胃癌细胞侵袭和迁移能力的影响

刘娜 刘彪 舒宏春

(上饶市人民医院, 江西 上饶 334000)

〔摘要〕 **目的:** 探讨微小核糖核酸(miR)-612抑制白细胞分化抗原151(CD151)基因过表达对胃癌细胞侵袭和迁移能力的影响。**方法:** 培养人胃癌细胞株SGC-7901, 对其转染miR-612模拟物(miR-612组)或pcDNA3.1-CD151过表达载体(CD151组)后, 实时荧光定量逆转录-聚合酶链反应(RT-qPCR)检测SGC-7901细胞中miR-612和CD151信使核糖核酸(mRNA)表达, 用噻唑蓝(MTT)法、流式细胞仪和Transwell小室分别检测SGC-7901细胞增殖凋亡、侵袭迁移。**结果:** 与miR-NC组比较, miR-612组细胞中miR-612表达水平明显升高, 而CD151 mRNA表达水平明显降低($P < 0.05$)。与CD151组比较, 在转染72 h后miR-612 + CD151组细胞增殖活力明显降低($P < 0.05$), miR-612 + CD151组细胞凋亡率明显高于CD151组($P < 0.05$)。Transwell小室检测结果显示, 与对照组比较, miR-612组中侵袭细胞数和迁移细胞数均明显减少, 而CD151组中侵袭细胞数和迁移细胞数均明显增多, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$); 与CD151组比较, miR-612 + CD151组中侵袭细胞数和迁移细胞数均明显减少, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:** miR-612可通过靶向调控CD151表达抑制胃癌细胞增殖、侵袭迁移并促进细胞凋亡。

〔关键词〕 胃癌; 微小核糖核酸-612; 白细胞分化抗原151; 细胞侵袭; 细胞迁移

〔中图分类号〕 R 735.2 **〔文献标识码〕** A

Effect of miR-612 on Invasion and Migration of Gastric Cancer Cells by Inhibiting CD151 Gene Overexpression

LIU Na, LIU Biao, SHU Hong-chun

(The People's Hospital of Shangrao, Jiangxi Shangrao 334000)

〔Abstract〕 **Objective** To investigate the effect of miR-612 on gastric cancer cells by inhibiting CD151 gene overexpression invasion and migration. **Methods** Human gastric cancer cell line SGC-7901 was cultured and transfected with miR-612 mimicry (miR-612 group) or pcDNA3.1 - CD151 overexpression vector (CD151 group). Then we detected the expression of miR-612 and CD151 mRNA in SGC-7901 cells by real-time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-qPCR). Proliferation, apoptosis, invasion and migration of SGC-7901 cells were detected by MTT method, flow cytometry and transwell chamber, respectively. **Results** Compared with the miR-NC group, the expression level of miR-612 in miR-612 group was significantly increased, while the expression level of CD151 mRNA was significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with CD151 group, the proliferation activity of miR-612 + CD151 group was significantly decreased after transfection 72 h ($P < 0.05$). The apoptosis rate of miR-612 + CD151 group was significantly higher than that of CD151 group ($P < 0.05$). Compared with the control group, the number of invading cells and migrating cells in Mir-612 group were decreased, while the number of invading cells and migrating cells in CD151 group increased significantly ($P < 0.05$). The number of invading cells and migrating cells in Mir-612 + CD151 group were decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** miR-612 can inhibit the proliferation, invasion, migration of SGC-7901 cells and promote apoptosis of gastric cancer cells by targeting CD151 expression.

〔Key Words〕 Gastric cancer; Micro ribonucleic acid-612; Cluster of differentiation 151; Cell invasion; Cell migration

胃癌是常见的消化系统恶性肿瘤, 靶向治疗已成为晚期胃癌的新治疗方法, 但由于胃癌环境复杂和基因不稳定性, 靶向药物治疗效果受限, 因此寻找新的有效的靶基因已迫在眉睫^[1]。有研究发现, 微小核糖核酸(micro ribonucleic

acid, miR)-612的表达增加具有抑制胃癌细胞生长和转移的作用^[2]。白细胞分化抗原151(cluster of differentiation 151, CD151)属四次穿膜蛋白家族成员, 在调控细胞生长、转移等过程中发挥着重要的作用, 与包括胃癌在内的多种

〔收稿日期〕 2021-08-22

〔基金项目〕 江西省卫生健康委科技计划项目资助课题(202140918)

〔作者简介〕 刘娜, 女, 主治医师, 主要研究方向是消化道恶性肿瘤的临床病理特征及相关分子机制。

肿瘤的发生发展密切相关^[3]。本研究以胃癌 SGC-7901 细胞为研究对象, 通过观察 miR-612 和 CD151 靶向关系以及对 SGC-7901 细胞侵袭、迁移能力的影响, 为临床提供胃癌候选靶基因, 详情报道如下。

1 材料与方法

1.1 主要材料

(1) 主要材料: ①人胃癌细胞株 SGC-7901: 来源于中科院上海生物化学与细胞生物学研究所, 以含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素双抗的 DMEM 培养基 (美国 Gibco, 货号: 26140-079, 15140-122, 10565018) 在 37 °C、5% CO₂ 培养箱内常规培养。② miR-612 模拟物和阴性对照 miR-NC 由广州瑞博生物公司合成。③ pcDNA3.1-CD151 过表达载体由上海汉恒生物公司构建合成。(2) 主要试剂: 膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素 (Annexin V-FITC)、碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 细胞凋亡检测试剂盒 (上海碧云天, 货号: C1062L), Transwell 小室、增强化学发光剂 (enhanced chemiluminescence, ECL) (美国 Milipore 公司, 货号: PIEP12R48, WBKLS0500), 脂质体 2000 (美国 Invitrogen, 货号: 11668027)、噻唑蓝 (thiazolyl blue tetrazolium bromide, MTT) (美国 Sigma, 货号: M2128-1G)。(3) 主要仪器: 荧光定量聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 仪、酶标仪。

1.2 方法

实验分为对照组 (未处理)、miR-NC 组 (转染 miR-NC)、miR-612 组 (转染 miR-612 模拟物)、CD151 组 (转染 pcDNA3.1-CD151 过表达载体) 和 miR-612 + CD151 组 (共转染 miR-612 模拟物和 pcDNA3.1-CD151 过表达载体)。将对数生长期的 SGC-7901 细胞以每孔 1×10^6 个接种至 6 孔细胞板上, 常规条件下培养至 70% 汇合度时, 参照脂质体 2000 说明书并根据实验分组将 miR-612 模拟物、miR-NC 和 pcDNA3.1-CD151 过表达载体转染至 SGC-7901 细胞中。转染 48 h 后, 收集各组细胞进行后续实验。实时荧光定量逆转录-聚合酶链反应 (quantitative reverse transcription PCR, RT-qPCR), 采用 2^{-ΔΔCt} 法检测 SGC-7901 细胞中 miR-612 和 CD151 信使核糖核酸 (messenger ribonucleic acid, mRNA) 表达。以流式细胞仪、Transwell 小室检测 SGC-7901 细胞增殖凋亡、侵袭迁移。

1.3 观察指标

比较实验分组中的 miR-612 和 CD151 mRNA 表达水平, 各组细胞的增殖活力和凋亡率、侵袭迁移能力。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 24.0 软件进行数据处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 *t* 检验, 多组间比较行单因素方差分析, 进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验, *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-612 对胃癌细胞中 CD151 mRNA 表达的影响

RT-qPCR 检测结果显示: 与 miR-NC 组比较, miR-612 组细胞中 miR-612 表达水平明显升高, 而 CD151 mRNA 表达水平明显降低, 差异具有统计学意义 (*P* < 0.05), 见表 1。

表 1 各组细胞 miR-612 和 CD151 mRNA 表达水平比较 ($n = 9, \bar{x} \pm s$)

组别	miR-612	CD151
miR-NC 组	0.98 ± 0.06	1.02 ± 0.11
miR-612 组	19.86 ± 3.15 ^a	0.22 ± 0.03 ^a

与 miR-NC 组比较, ^a*P* < 0.05

注: miR — 微小核糖核酸; CD151 — 白细胞分化抗原 151; mRNA — 信使核糖核酸

2.2 miR-612 靶向 CD151 对胃癌细胞增殖和凋亡的影响

MTT 检测结果显示, 在转染 72 h 后, 与对照组比较, miR-612 组细胞增殖活力明显降低, 而 CD151 组细胞增殖活力明显升高, 差异均具有统计学意义 (*P* < 0.05); 与 CD151 组比较, miR-612 + CD151 组细胞增殖活力明显降低, 差异具有统计学意义 (*P* < 0.05)。流式细胞仪检测结果显示, miR-612 组细胞凋亡率较对照组明显升高, 而 CD151 组细胞凋亡率较对照组明显降低, 且 miR-612 + CD151 组细胞凋亡率明显高于 CD151 组, 差异具有统计学意义 (*P* < 0.05), 见表 2、封三图 1。

表 2 各组细胞增殖活力和凋亡率比较 ($n = 9, \bar{x} \pm s$)

组别	细胞增殖活力 /A(OD) 值		细胞凋亡率 /%
	24 h	72 h	
对照组	0.23 ± 0.02	0.82 ± 0.06	8.36 ± 1.12
miR-612 组	0.21 ± 0.03	0.55 ± 0.03 ^b	24.55 ± 3.28 ^b
CD151 组	0.22 ± 0.03	1.26 ± 0.11 ^b	3.82 ± 0.46 ^b
miR-612 + CD151 组	0.23 ± 0.03	0.94 ± 0.06 ^c	20.03 ± 1.45 ^c

与对照组比较, ^b*P* < 0.05; 与 CD151 组比较, ^c*P* < 0.05

注: miR — 微小核糖核酸; CD151 — 白细胞分化抗原 151

2.3 miR-612 靶向 CD151 对胃癌细胞侵袭和迁移的影响

Transwell 小室检测结果显示, 与对照组比较, miR-612 组中侵袭细胞数和迁移细胞数均明显减少, 而 CD151 组中侵袭细胞数和迁移细胞数均明显增多, 差异均具有统计学意义 (*P* < 0.05); 与 CD151 组比较, miR-612 + CD151 组中侵袭细胞数和迁移细胞数均明显减少, 差异具有统计学意义 (*P* < 0.05), 见表 3、封三图 2。

表 3 各组中侵袭细胞数和迁移细胞数比较 ($n = 9, \bar{x} \pm s$, 个)

组别	侵袭细胞数	迁移细胞数
对照组	58.52 ± 6.75	119.85 ± 8.62
miR-612 组	23.36 ± 3.25 ^e	42.25 ± 2.13 ^e
CD151 组	166.28 ± 15.82 ^e	231.54 ± 19.05 ^e
miR-612 + CD151 组	81.45 ± 9.63 ^f	148.26 ± 7.23 ^f

与对照组比较, ^e*P* < 0.05; 与 CD151 组比较, ^f*P* < 0.05

注: miR — 微小核糖核酸; CD151 — 白细胞分化抗原 151

3 讨论

miRNAs 是一类长约 22 个核苷酸的内源性非编码 RNA, 可通过与靶基因 mRNA 3'UTR 结合, 使靶基因 mRNA 降解或阻碍其翻译导致靶基因 mRNA 沉默, 在胃癌细胞生长和转移等过程中起着重要的调控作用^[4]。随着研究的不断深入, 越来越多的 miRNAs 调控胃癌发生发展的分子机制被认识和了解, 但还有部分 miRNAs 调控胃癌的作用机制认识不够深入^[5]。

miR-612 是 miRNAs 家族成员, 被证实在膀胱癌、结直肠癌等多种肿瘤中呈现低表达, 且起着抑癌作用^[6]。本研究通过转染 miR-612 模拟物成功上调 miR-612 表达后发现, 胃癌 SGC-7901 细胞增殖、侵袭和迁移能力明显减弱。此外, 本研究还发现, miR-612 过表达可促进 SGC-7901 细胞凋亡。CD151 是一种与肿瘤发生发展密切相关的四次穿膜蛋白, 在多种肿瘤中起着致癌作用, 如乳腺癌、肺癌等^[7-8]。本研究发现 miR-612 过表达可使 SGC-7901 细胞中 CD151mRNA 表达水平明显降低。提示 miR-612 可通过靶向 CD151 抑制胃癌进展。

综上所述, miR-612 可通过靶向调控 CD151 表达抑制胃癌细胞增殖、侵袭和迁移。

[参考文献]

- (1) 潘思远, 房静远. 胃癌靶向治疗的研究进展 (J). 中华内科杂志, 2020, 59(2): 148-152.
- (2) Xiao J, Lin L, Luo D, et al. Long noncoding RNA TRPM2-AS acts as a microRNA sponge of miR-612 to promote gastric cancer progression and radioresistance (J). Oncogenesis, 2020, 9(3): 1-15.
- (3) 俞雷来, 曹利平. CD151 与肿瘤侵袭转移的关系研究进展 (J). 浙江医学, 2017, 39(8): 663-665.
- (4) 谢小缺, 王华. 胃癌中长链非编码 RNA 和微小 RNA 的相关研究进展 (J). 安徽医科大学学报, 2017, 52(2): 301-303.
- (5) Liu M, Chen Y, Huang B, et al. Tumor-suppressing effects of microRNA-612 in bladder cancer cells by targeting malic enzyme 1 expression (J). Int J Oncol, 2018, 52(6): 1923-1933.
- (6) Sheng L, He P, Yang X, et al. miR-612 negatively regulates colorectal cancer growth and metastasis by targeting AKT2 (J). Cell Death Dis, 2015, 6(7): e1808-e1815.
- (7) 李科, 汪鑫, 杨芳, 等. 干扰 CD151 基因表达对裸鼠宣威肺腺癌 XWLC-05 细胞肺转移的影响 (J). 肿瘤防治研究, 2018, 45(9): 623-628.
- (8) 王珣, 张鹏, 刘智明, 等. miR-22 靶向调控 CD151 促进胃癌血管新生的机制研究 (J). 中华全科医学, 2018, 16(12): 38-42.

(文章编号) 1007-0893(2021)21-0003-04

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2021.21.002

妊娠合并地中海贫血孕妇血红蛋白、铁蛋白变化及其临床意义

侯明敏 邢佳玲 张丽*

(广东省妇幼保健院, 广东 广州 511440)

[摘要] **目的:** 探讨妊娠合并地中海贫血孕妇血红蛋白 (Hb)、血清铁蛋白 (SF) 变化及其临床意义。**方法:** 选取广东省妇幼保健院 2019 年 3 月至 2020 年 10 月收治的妊娠合并地中海贫血孕妇 60 例为观察组, 同期在本院体检的健康妊娠期妇女 60 例为对照组。分别测定并比较两组孕妇不同孕期的 Hb、SF 水平变化及其下降幅度, 并比较两组孕妇的妊娠结局。**结果:** 观察组孕妇不同孕期的 Hb 水平均低于对照组, Hb 下降幅度高于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。观察组孕妇早期 SF 水平与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 观察组孕妇中期、晚期的 SF 水平均低于对照组, SF 的下降幅度高于对照组 ($P < 0.05$)。观察组孕妇产后出血量高于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组新生儿体质量低于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组孕妇羊水异常占比为 20.00%, 高于对照组的 8.33%, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组早产儿占比为 15.00%, 高于对照组的 5.00%, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组剖宫产占比为 48.33%, 高于对照组的 30.00%, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:** 妊娠合并地中海贫血孕妇各孕期的 Hb、SF 水平均较低, 对母婴结局产生严重不良影响, 临床上应时刻观察 Hb、SF 水平变化, 及时发现异常并给予治疗。

[关键词] 妊娠并发症; 地中海贫血; 血红蛋白; 铁蛋白

[中图分类号] R 714.2 **[文献标识码]** B

[收稿日期] 2021-08-05

[基金项目] 广东省中医药局面上项目资助课题 (20201036)

[作者简介] 侯明敏, 女, 主治医师, 主要研究方向是围生医学。

[*通信作者] 张丽 (E-mail: 413788598@qq.com; Tel: 18813221476)