



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2020.09.012

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2020.09.012

· 临床研究 ·

Survivin shRNA-APC 双基因对 HT-29 结肠癌细胞 hMLH1、hMSH2 表达的影响

袁喜先 王凤荣 陈月 孙元佳 吴雯婷 张玉健

[摘要] **目的** 探讨细胞增殖因子短截型核糖核酸-腺瘤性结肠息肉病(Survivin shRNA-APC)双基因共表达稳转株对 HT-29 结肠癌细胞裸鼠皮下转移瘤错配修复基因表达的影响。**方法** 将 40 只 SPF 级裸鼠随机分为 Survivin shRNA-APC 双基因组(双基因组)、Survivin shRNA 组、APC 组、空白对照组(空白组)和空载组,分别于裸鼠左前腋下注入 0.2 ml 已经构建成功的细胞悬液;Survivin shRNA-APC 双基因稳转株、Survivin shRNA 单基因稳转株、APC 单基因稳转株、HT-29 结肠癌细胞和空载稳转株,等待成瘤,观察裸鼠一般情况及移植瘤生长情况,4 周后处死裸鼠,测量瘤体体积和质量,检测移植瘤生长抑制率。采用实时荧光定量聚合酶链反应(real-time PCR)及免疫组化检测 HT-29 结肠癌细胞裸鼠皮下转移瘤组织细胞中 hMLH1、hMSH2 的表达。**结果** 与空白组和空载组比较,双基因组、APC 组、Survivin shRNA 组裸鼠移植瘤的平均体积和平均重量明显减少($P < 0.05$)。Real-time PCR 及免疫组化结果显示,与空白组和空载组比较,Survivin shRNA 组、APC 组、双基因组中 hMLH1 和 hMSH2 的蛋白表达量均明显升高,且双基因组较 Survivin shRNA 组、APC 组升高更明显($P < 0.05$),空白组与空载组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** Survivin shRNA-APC 双基因可以通过沉默 Survivin 上调 hMLH1、hMSH2 的表达,进而抑制裸鼠皮下移植瘤生长。

[关键词] 结肠癌; HT-29; DNA 错配修复; hMLH1; hMSH2

Effects of Survivin shRNA-APC double genes on the expression of hMLH1 and hMSH2 in HT-29 colon cancer cells Yuan Xixian*, Wang Fengrong, Chen Yue, Sun Yuanjia, Wu Wenting, Zhang Yujian.

* Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Jiamusi University, Jiamusi 154003, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of Survivin shRNA-APC co-expression-stable transfected strain in the expression of hMLH1 and hMSH2 mismatched repair genes in HT-29 colon cancer xenograft cells in nude mice. **Methods** Forty SPF nude mice were equally divided into double-gene Survivin shRNA group (double-gene group), Survivin shRNA group, APC group, empty vector group and blank control group (blank group). Inject 0.2 ml of the successfully constructed cell suspension through the left anterior armpit of nude mice, including Survivin shRNA-APC double gene stable transgenic strain, Survivin shRNA single gene stable transgenic strain, APC single gene stable transgenic strain, HT-29 colon cancer cell and empty stable transgenic strain. Wait for tumor formation and observe the general condition of nude mice and the growth of transplanted tumor. After 4 weeks, the nude mice were killed. Measure tumor volume and mass, and detect the growth inhibition rate of transplanted tumor. Real-time PCR and immunohistochemistry were conducted to detect the expression of hMLH1 and hMSH2 in subcutaneous metastatic tumor cells of nude mice of HT-29 colon cancer cells. **Results** The mean size and weight of the subcutaneous xenotransplanted tumor were significantly reduced in the double-gene group, Survivin shRNA group and APC group as compared with the blank group and empty vector group ($P < 0.05$). Real-time PCR and immunohistochemical results showed that the expression levels of hMLH1 and hMSH2 in the Survivin shRNA group, APC group and double-gene group were significantly higher than those in the blank group and empty vector group, and the expression levels of hMLH1 and hMSH2 in the double-gene group were significantly higher than those in the Survivin shRNA group and the empty vector group ($P < 0.05$), and the difference between the blank group and the empty vector group was not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusion** Survivin shRNA-APC double genes can up-regulate the expression of hMLH1 and hMSH2 by Survivin silencing, thus inhibiting the growth of subcutaneous transplanted tumor in nude mice.

[Key words] Colon cancer; HT-29; DNA mismatch repair; hMLH1; hMSH2

作者单位:154003 黑龙江佳木斯,佳木斯大学附属第一医院消化科(袁喜先、吴雯婷);佳木斯大学(王凤荣、陈月、孙元佳、张玉健)

通讯作者:张玉健, E-mail: wangfr7348@sina.com

结肠癌作为全球恶性疾病死亡的第四大原因,发病率位居胃肠道肿瘤的第三位。结肠癌的发生发展是一个多时段、多基因调控的复杂过程,涉及细胞增殖和凋亡的不平衡、原癌基因和抑癌基因的失衡、错配修复(MMR)功能障碍等多个因素,其中 MMR 对结肠癌的影响成为越来越多学者关注的热点。MMR 蛋白存在于原核生物、真核生物及人类细胞中,MMR 系统编码的一系列蛋白质在维持基因组稳定性中发挥重要作用,hMLH1 与 hMSH2 在人类 DNA MMR 中起重要作用。本课题组前期实验中成功构建细胞增殖因子短截型核糖核酸(Survivin shRNA)慢病毒载体、腺瘤性结肠息肉病(APC)有效片段慢病毒载体;成功构建 Survivin shRNA-APC 双基因共表达稳转株;HT-29 结肠癌细胞裸鼠皮下转移瘤造模成功;并且已经证明 Survivin shRNA-APC 双基因可以抑制 HT-29 结肠肿瘤的增殖,促进凋亡,降低 Survivin 的表达^[14]。但目前 Survivin shRNA-APC 双基因稳转株对 MMR 基因影响的相关研究尚未进一步深入,因此本实验选取 hMLH1 与 hMSH2 作为研究对象,观察双基因对 MMR 蛋白 hMLH1 和 hMSH2 表达的影响,探讨 Survivin shRNA-APC 对裸鼠皮下移植瘤的抑制情况。

材料与方法

1. 材料:选取 40 只无特定病原体(SPF)级雌性裸鼠,体质量为(20 ± 1.5)g,随机分为 5 组,每组 8 只。实验材料和试剂包括:Survivin shRNA-APC 双基因稳转细胞株、Survivin shRNA 单基因稳转株、APC 单基因稳转株、空载稳转株、人类 HT-29 结肠癌细胞均为本课题组前期实验获得;兔抗人 hMLH1、hMSH2 抗体、免疫组化所需试剂盒、RNA 快速提取试剂盒、聚合酶链反应(PCR)反转录试剂盒、PCR 扩增试剂盒 hMLH1 引物、hMSH2 引物、β-actin 引物均购自武汉博士德生物技术有限公司。主要仪器和设备包括:ABI PRISM 7300 型 PCR 扩增仪购自 Applied Biosystems 公司,Allegra 64R 高速冷冻离心机购自长沙湘仪离心机仪器有限公司,iQ5 型荧光定量 PCR 仪(biome)全自动石蜡包埋机(Leica)、连续切片机(Leica)购自德国 Leica 公司,光学显微镜购自日本 Olympus 公司。

2. 方法

(1)细胞培养:常规操作培养 HT-29 细胞。将 Survivin shRNA-APC 双基因载体稳转株、Survivin shRNA 单基因稳转株、APC 稳转细胞株、载稳转细胞株置于 20% 的胎牛血清 DMEM 培养基中重悬,标记后置 37 ℃、5% CO₂ 及湿度饱和的培养箱里繁育,选取处于指数期生长的细胞备用。

(2)动物分组及模型建立:将 40 只裸鼠按无菌及规范流程喂养 2 周后,随机分为 5 组:Survivin shRNA-APC 双基因组(双基因组)、Survivin shRNA 组、APC 组、空载组和空白对照组(空白组),每组 8 只。动物模型建立:取处于对数期的 5 组细胞株分别于显微镜下计数,后加入磷酸盐缓冲液(PBS)重悬使细胞浓度达到 2 × 10⁷ 个/ml,分别在对应的 5 组实验动物中注入 0.2 ml Survivin shRNA-APC 双基因载体稳转细胞株、Survivin shRNA 单基因载体稳转细胞株、APC 稳转株、HT-29 结肠癌细胞及空载稳转株,将 HT-29 结肠癌细胞接种于裸鼠左前腋下,在相同条件下饲养裸鼠并观察成瘤情况。待 4 周后各组裸鼠均已成瘤,采用颈椎脱臼法杀死裸鼠,剥取瘤块,多聚甲醛固定,石蜡包埋切片,用于后续免疫组化和实时荧光定量 PCR(real-time PCR)检测 hMLH1、hMSH2 的表达。

(3)移植瘤的生长抑制情况评估:每天观察裸鼠接种后的一般状况及移植瘤生长情况,以皮下结节体积 ≥ 0.10 cm³ 为成瘤标准。于皮下注射后第 7 d 开始,每隔 7 d 用游标卡尺测量 1 次移植瘤的长径和短径,并于注射后 7 d、14 d、21 d、28 d 统计各组裸鼠移植瘤的体积。移植瘤体积(cm³) = 0.5 × 移植瘤长径(cm) × [移植瘤短径(cm)]²。于皮下注射后的第 4 周处死裸鼠后剥离皮下移植瘤,测量计算移植瘤的体积、重量,分别计算移植瘤的生长抑制率,公式如下:体积抑制率(IRV,%) = [1 - V1(cm³)/V2(cm³)] × 100%,质量抑制率(IRW,%) = [1 - W1(cm³)/W2(cm³)] × 100%,其中,V1 为观察组移植瘤的平均体积,V2 为空载组移植瘤的平均体积,W1 为观察组移植瘤的平均质量,W2 为空载组移植瘤的平均质量。

(4)real-time PCR 检测 hMLH1 mRNA、hMSH2 mRNA 的表达:将 5 组裸鼠移植瘤组织用液氮研磨匀浆,严格遵循 RNA 快速提取试剂盒的操作步骤提取总 RNA。用反转录 PCR 试剂盒进行反转录获得模板 cDNA;将其中 2 μl 的 cDNA 严格按照 PCR 扩增试剂盒的步骤进行扩增。hMLH1 扩增引物:上游引物:5'-CAGAGGAAGATGGTCCCAAAG-3';下游引物:5'-GGCTAGTCGAAGAATGAAGATAGG-3'。hMSH2 扩增引物:上游引物:5'-TCATCACTGTCTGCGGTAATC-3';下游引物:5'-GGTATCTTCAACAGAACCCTGAA-3'。β-actin 引物:上游引物:5'-CACCCAGCCATGTACGTG-3';下游引物:5'-GTCACCGGAGTCCATCACGA-3',β-actin 作内参。通过每个反应管内的荧光信号到达设定的阈值时所经历的循环数(Ct 值)计算各组 hMLH1、hMSH2 mRNA 的相对含量,相对含量用 2^{-ΔΔCt} 表示,公式如下:ΔΔCt = (实验组目的基因平均 Ct 值

- 实验组 β -actin 平均 Ct 值) - (空载组目的基因平均 Ct 值 - 空载组 β -actin 平均 Ct 值)。

(5) 免疫组化检测 hMLH1、hMSH2 的表达: 严格按照免疫组化试剂盒操作说明步骤进行染色, 空白组用 PBS 缓冲液替代一抗。首先对组织切片行脱蜡复水处理, 然后对内源性过氧化物酶淬灭后行抗原表位修复, 再加入一抗与二抗后进行免疫反应, 随后行化学染色, 最后脱水封片进行结果观察。半定量分析操作如下: ①根据上色细胞占总细胞的百分比计分, 在载片里选择 5 个存在差异的视野, 每个视野选用 200 个结肠癌细胞进行计算, 阴性表达计 0 分, 阳性表达细胞数 $\leq 30\%$ 计 1 分, $31\% \sim 50\%$ 计 2 分, $51\% \sim 80\%$ 计 3 分, $> 81\%$ 计 4 分; ②根据癌细胞上色程度计分, 棕褐色计 3 分, 棕黄色计 2 分, 浅黄色计 1 分, 无上色计 0 分; ③两者相乘的积为表达强度, 结果 ≤ 3 分计为阴性; ≥ 4 分计为阳性。将组内每只裸鼠转移瘤组织切片的 hMLH1、hMSH2 蛋白表达程度的总平均数作为蛋白表达指数进行组间比较。

3. 统计学处理: 应用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 *LSD-t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 各组裸鼠生长情况及移植瘤体积比较: 实验期间无裸鼠死亡。随着时间推移裸鼠皮下均成瘤。空白组和空载组裸鼠体态逐渐消瘦, 灵敏性降低, 活动减少, 而 Survivin shRNA 组和双基因组裸鼠无明显异常改变。同一时间 APC 组、Survivin shRNA 组、双基因组的移植瘤体积明显小于空白组和空载组, 且双基因组明显小于 APC 组和 Survivin shRNA 组 ($P < 0.05$); 空载组和空白组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 不同时间点各组裸鼠移植瘤体积比较
[$n = 8, \text{cm}^3, (\bar{x} \pm s)$]

组别	7 d	14 d	21 d	28 d
空白组	0.061 3 \pm 0.005	0.151 \pm 0.003	2.460 \pm 0.024	4.856 \pm 0.095
空载组	0.060 \pm 0.002	0.150 \pm 0.001	2.474 \pm 0.014	4.786 \pm 0.102
APC 组	0.025 \pm 0.002 ^{ab}	0.054 \pm 0.003 ^{ab}	1.367 \pm 0.335 ^{ab}	2.856 \pm 0.056 ^{ab}
Survivin shRNA 组	0.023 \pm 0.003 ^{ab}	0.050 \pm 0.002 ^{ab}	1.245 \pm 0.025 ^{ab}	2.817 \pm 0.057 ^{ab}
双基因组	0.001 \pm 0.000 ^a	0.019 \pm 0.001 ^a	0.840 \pm 0.033 ^a	1.650 \pm 0.029 ^a

注: 与空白组比较, ^a $P < 0.05$; 与双基因组比较, ^b $P < 0.05$

2. 各组裸鼠移植瘤 IRV 及 IRW 比较: 与空载组比较, APC 组、Survivin shRNA 组、双基因组裸鼠的移植瘤 IRV 及 IRW 明显增加, 且双基因组较 APC 组和 Survivin shRNA 组增加更明显 ($P < 0.05$); 空载组和空

白组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 各组裸鼠移植瘤 IRV 及 IRW 比较 ($n = 8$)

组别	平均体积 [$\text{cm}^3, (\bar{x} \pm s)$]	平均质量 [$\text{g}, (\bar{x} \pm s)$]	IRV (%)	IRW (%)
空白组	4.856 \pm 0.095	4.182 \pm 0.416	-	-
空载组	4.786 \pm 0.102	4.206 \pm 0.234	0	0
APC 组	2.856 \pm 0.056 ^{ab}	2.721 \pm 0.054 ^{ab}	40.33 ^{ab}	35.31 ^{ab}
Survivin shRNA 组	2.817 \pm 0.057 ^{ab}	2.683 \pm 0.055 ^{ab}	41.14 ^{ab}	36.21 ^{ab}
双基因组	1.650 \pm 0.029 ^a	1.572 \pm 0.027 ^a	65.52 ^a	62.62 ^a

注: 与空白组比较, ^a $P < 0.05$; 与双基因组比较, ^b $P < 0.05$

3. 各组裸鼠移植瘤组织中 hMLH1 mRNA 和 hMSH2 mRNA 表达水平比较: Survivin shRNA 组、APC 组、双基因组裸鼠移植瘤组织中 hMLH1 mRNA 和 hMSH2 mRNA 相对含量较空载组明显升高, 且双基因组明显高于 Survivin shRNA 组和 APC 组 ($P < 0.05$); 空载组与空白组 hMLH1 mRNA 和 hMSH2 mRNA 相对含量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 各组裸鼠移植瘤组织中 hMLH1 mRNA 和 hMSH2 mRNA 表达水平比较 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	hMLH1 mRNA	hMSH2 mRNA
空白组	2.32 \pm 0.07	1.41 \pm 0.05
空载组	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00
APC 组	19.02 \pm 0.19 ^{ab}	11.42 \pm 0.12 ^{ab}
Survivin shRNA 组	22.14 \pm 0.51 ^{ab}	13.29 \pm 0.31 ^{ab}
双基因组	35.29 \pm 3.34 ^a	21.18 \pm 2.01 ^a

注: 与空白组比较, ^a $P < 0.05$; 与双基因组比较, ^b $P < 0.05$

4. 各组裸鼠移植瘤组织中 hMLH1 和 hMSH2 蛋白表达情况: hMLH1 和 hMSH2 蛋白均多位于移植瘤组织细胞核内, 空白组和空载组表现为少量的淡黄色或黄色颗粒, 双基因组中棕黄色或棕褐色颗粒相对多, Survivin shRNA 组染色程度介于两者之间, 见图 1、2。与空白组和空载组比较, APC 组、Survivin shRNA 组及双基因组的 hMLH1 和 hMSH2 蛋白表达明显增多, 且双基因组 hMLH1 和 hMSH2 蛋白含量明显高于 APC 组和 Survivin shRNA 组 ($P < 0.05$); 空白组和空载组 hMLH1 和 hMSH2 蛋白含量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

表 4 各组裸鼠移植瘤组织中 hMLH1 和 hMSH2 蛋白表达水平比较 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	hMLH1	hMSH2 蛋白
空白组	8.98 \pm 0.54	8.15 \pm 0.75
空载组	9.09 \pm 0.50	7.91 \pm 0.77
APC 组	12.31 \pm 0.52 ^{ab}	11.83 \pm 0.78 ^{ab}
Survivin shRNA 组	11.50 \pm 1.26 ^{ab}	12.16 \pm 1.33 ^{ab}
双基因组	14.44 \pm 0.61 ^a	15.60 \pm 0.83 ^a

注: 与空白组比较, ^a $P < 0.05$; 与双基因组比较, ^b $P < 0.05$

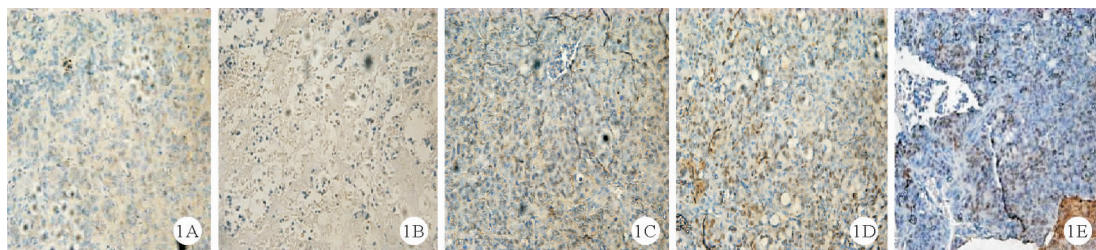


图 1 各组裸鼠移植瘤组织中 hMLH1 蛋白的表达 (A: 空白组; B: 空载组; C: APC 组; D: Survivin shRNA 组; E: 双基因组; 免疫组化染色, $\times 200$)

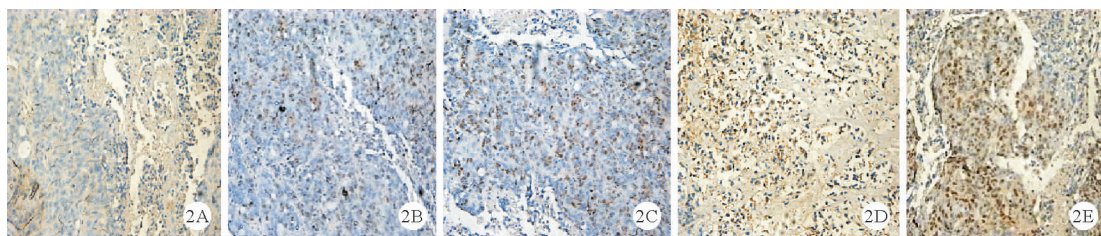


图 2 各组裸鼠移植瘤组织中 hMSH2 蛋白的表达 (A: 空白组; B: 空载组; C: APC 组; D: Survivin shRNA 组; E: 双基因组; 免疫组化染色, $\times 200$)

讨 论

DNA MMR 是一种可以辨别和修复 DNA 复制和重组过程中可能出现的核苷酸错误及修复某些形式 DNA 损伤的系统^[5]。MMR 功能异常不仅导致细胞异常增殖,且还会导致分化过程中细胞器的异常改变,尤其是影响正常细胞的结构和功能。因此,MMR 基因突变和功能异常会导致 DNA 复制精确率降低,发生复制错误和微卫星不稳定 (MSI)。MSI 是由于 MMR 基因功能异常改变或丧失,无法纠正在遗传复制过程中由于 DNA“链滑”或在有丝/减数分裂期染色体的不对称交换造成的复制错误,导致广泛存在于生物基因组中的微卫星重复序列长度易发生变化,产生遗传不稳定性^[6]。MMR 过程中必须参与的基因是 hMLH1、hMSH2,具有十分重要的作用,hMLH1、hMSH2 蛋白表达降低和功能缺失可引起基因组 MSI,MSI 使全部基因组稳定性降低、自身突变细胞增多,导致复制错误不断积累,使原本有序的细胞生长与凋亡发生紊乱,从而失去对异常增殖细胞的抑制作用,促进肿瘤发生。有研究显示,雌激素通过上调结肠细胞内源性错配修复基因的表达水平,增强结肠细胞 DNA 错配修复的能力,进一步防止 DNA 复制错误积累放大^[7]。

MMR 系统最早发现于原核生物中^[8],随后在真核生物和人类细胞中也发现了与 MMR 密切相关的同源基因。MMR 的可能发生机制如下:hMSH2 与 hMSH6 形成异源二聚体 hMutS α ,hMSH2 与 hMSH3 结合形成异源二聚体 hMutS β ,两个异源二聚体均可识别新合成的 DNA

核苷酸链上的碱基错配,并与错配位点结合。hMLH1 与 hPMS1 结合形成 hMutL α 异源二聚体,与 hMutS α 或 hMutS β 结合形成一种暂时的复合物,从而启动错配修复,并与错配修复有关的酶相互配合,切除错误碱基的 DNA 链,合成正确的 DNA 链,完成 DNA MMR。越来越多研究发现,在食管、胃、结肠、膀胱、宫颈、乳腺等恶性肿瘤中可见 hMLH1、hMSH2 基因低表达,推测 hMLH1 与 hMSH2 基因可能参与了肿瘤的发生发展^[9-10]。有文献表明,MMR 作用最敏感的组织是结肠上皮,其次是子宫内膜、胃黏膜、肾、卵巢和小肠,MMR 的丧失促进了结肠上皮细胞的异常增殖^[11]。hMLH1 蛋白和 hMSH2 蛋白生成的复合体可以有效并特异性与 DNA 链上一个错配基因结合,在 DNA 修补中起重要作用。hMLH1 能够纠正错误搭配的核苷酸,维持基因的稳定性,被誉为“DNA 损伤的传感器”,hMSH2 是最早发现也是研究 MMR 基因时关注的热点之一,是 MMR 系统中的“管家基因”,具有识别错配的功能。

APC 是一个多功能蛋白,其突变会导致细胞核中的 β -catenin 不能降解,进一步激活下游 Survivin 的表达^[12]。Survivin 是凋亡抑制家族中最小的一个因子,也是肿瘤发展的核心因子,其在健康生物体的不同组织中均未见表达,但在几乎所有类型的恶性肿瘤 (包括膀胱、乳腺、胃、食道、肝脏、子宫、卵巢和血液恶性肿瘤等) 中明显高表达。因此,Survivin 是一种众所周知的抗癌干预靶点,一些 Survivin 抑制剂和与 Survivin 相关的分子治疗正在趋向成熟。

有研究表明,在肺癌和直肠癌中 hMLH1 与 Survivin

基因表达存在显著负相关^[13]。国外研究证明, hMLH1 可以直接与 c-myc 结合, c-myc 可以受 Survivin 的调控^[14-15], 可能是 hMLH1 与 Survivin 相关的直接证据。以上研究与本实验结论一致。本实验结果显示, 单基因组 (Survivin shRNA 与 APC) 及双基因组中 hMLH1 和 hMSH2 蛋白及 mRNA 表达量均升高, 且双基因组中 hMLH1、hMSH2 蛋白及 mRNA 增加更明显。双基因组移植瘤的 IRV 及 IRW 也较单基因组明显增高, 进一步表明双基因组通过上调 hMLH1、hMSH2 表达对裸鼠移植瘤的生长起抑制作用, 并且与单基因组相比, 其对移植瘤的抑制效果更为明显。

综上所述, Survivin shRNA-APC 双基因共表达稳转株可以在核酸和蛋白水平通过沉默 Survivin 的表达来上调对 HT-29 结肠癌细胞中 hMLH1、hMSH2 表达, hMLH1 和 hMSH2 表达可以使错误的 DNA 链被降解和修复, 合成正确的 DNA 链, 可能通过提高结肠细胞 DNA MMR 的能力, 从而防止 DNA 复制错误积累放大, 进一步抑制肿瘤生长, 这为 Survivin shRNA-APC 双基因抑制结肠癌的治疗提供了新思路, hMLH1、hMSH2 有望成为临床治疗的新靶点, 但其具体作用机制尚不明确, 需要进一步探索。本研究仍存在一定的局限性, 如实验方法较单一, 可以继续监测 MSI, 未来还可用基因族谱等方法和技术去探究 Survivin shRNA-APC 双基因下游的相关靶点和具体发生机制。

参 考 文 献

[1] 袁禧先, 隋子奇, 孙理婷, 等. 慢病毒介导 Survivin shRNA 与结肠腺瘤癌肉易感基因片段联合对 HT-29 细胞的影响[J]. 世界华人消化

杂志, 2015, 23(14): 2250-2255.

- [2] 袁禧先, 段厚羽, 曹锋, 等. Survivin shRNA 和 APC 片段双基因的载体构建及其在 HT-29 细胞的表达[J]. 医学研究生学报, 2016, 29(4): 369-374.
- [3] 袁禧先, 温超, 曹雅, 等. Survivin shRNA-APC 双基因共表达慢病毒载体对 HT-29 结肠癌细胞裸鼠皮下移植瘤生长情况的影响[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(6): 584-590.
- [4] 袁禧先, 王凤荣, 袁晓岚, 等. Survivin shRNA-APC 双基因对结肠癌线粒体凋亡通路相关因子表达的影响[J]. 医学研究生学报, 2018, 31(6): 595-601.
- [5] Si W, Kang S, Sun H, et al. Genetic polymorphisms in hMSH2 and hMLH1 genes are associated with prognosis in epithelial ovarian cancer patients[J]. Int J Gynecol Cancer, 2019, 29(7): 1148-1155.
- [6] 李中辉, 董旺, 陈敏, 等. 大黄素下调 ILK/PI3K/Akt 信号通路抑制结肠癌 CACO-2 细胞增殖的机制研究[J]. 今日药学, 2020, 30(2): 116-120.
- [7] 卢俊宇. 雌激素上调错配修复基因 MLH1 抑制结肠癌细胞增殖的研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2016.
- [8] 刘卓, 吴建新. DNA 错配修复系统组成和功能的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(6): 1160-1165.
- [9] 彭芳, 王志, 王建, 等. 结直肠癌错配修复蛋白 MLH1, PMS2, MSH2 和 MSH6 及 P16 的表达及意义[J]. 实验与检验医学, 2018, 36(4): 617-618.
- [10] Sušac I, Ozretić P, Gregorić M, et al. Polymorphisms in Survivin (BIRC5 Gene) Are Associated with Age of Onset in Breast Cancer Patients[J]. J Oncol, 2019, 2019: 3483192.
- [11] Nørgaard K, Müller C, Christensen N, et al. Loss of mismatch repair signaling impairs the WNT-bone morphogenetic protein crosstalk and the colonic homeostasis[J]. J Mol Cell Biol, 2020, 12(6): 410-423.
- [12] 袁禧先, 张书娟, 张玉健. Survivin shRNA-APC 双基因对结肠癌裸鼠皮下移植瘤细胞内质网通路中 GRP78、Caspase-12 表达的影响[J]. 临床内科杂志, 2019, 36(6): 415-418.
- [13] 聂慧玲, 温瑶, 周晶珠, 等. hMLH1 在肺癌中表达及其与 Survivin 的相关性研究[J]. 实用肿瘤学杂志, 2011, 25(1): 57-61.
- [14] Adamkov M, Furjelová M, Horáček J, et al. Relationship of mismatch repair proteins and survivin in colon polyps and carcinomas[J]. Acta Histochemica, 2014, 116(6): 1007-1014.
- [15] Castrilli G, Piantelli M, Artese L, et al. Expression of hMSH2 and hMLH1 proteins of the human DNA mismatch repair system in ameloblastoma[J]. J Oral Pathol Med, 2001, 30(5): 305-308.

(收稿日期: 2020-01-10)

(本文编辑: 张一冰)



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2020.09.013

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2020.09.013

· 论著摘要 ·

涎液化糖链蛋白-6 在慢性阻塞性肺疾病患者血清中的表达及其与疾病严重程度的关系

陈实 李承红

[关键词] 慢性阻塞性肺疾病; 涎液化糖链蛋白-6; 炎症介质

慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 是一种慢性非特异性炎症性疾病, 反复炎症刺激和氧化应激反应可导致肺损伤^[1], 目前认为

有多种炎症介质参与 COPD 气道炎症发生发展的过程, 这些炎症因子破坏肺的结构并促进炎症反应和免疫应答, 最终引起肺泡壁破坏, 甚至导致肺纤维化。涎液化糖链蛋白 (KL)-6 主要表达于 II 型肺泡上皮细胞, 当肺泡上皮损伤时, II 型肺泡上皮细胞增生, KL-6 水平增加, 故认为该指标可能是一种可衡量肺组织损伤的特异性炎症介质。本研究通过检测 COPD 患者血清

基金项目: 武汉市卫生和计划生育委员会医学科研项目 (WX17D39)

作者单位: 430015 武汉, 江汉大学附属医院 武汉市第六医院呼吸与危重症医学科

通讯作者: 李承红, E-mail: 15827636399@163.com