



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2024.05.014

<http://www.lenkz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2024.05.014>

· 临床基础研究 ·

# 长链非编码 RNA GC1 靶向微小 RNA-551b-3p 抑制食管癌的作用及分子机制研究

冯潇 张江浩 王博 惠双

**[摘要]** **目的** 探讨长链非编码 RNA(LncRNA)鸟苷酸环化酶 1(GC1)对食管癌的影响,并探讨其靶向微小 RNA-551b-3p(miR-551b-3p)的分子机制。**方法** 建立食管癌荷瘤裸小鼠模型,随机分为 GC1、miR-551b-3p 上、下调组及其对应对照组与模型组共 9 组,每组 8 只。末次给药次日处死裸小鼠,称取瘤体质量,计算抑瘤率;取肿瘤组织检测 LncRNA GC1、miR-551b-3p 基因表达水平和细胞周期因子(CyclinD1)、p21、B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 x(Bax)基因与蛋白表达水平;观察肿瘤组织病理改变;采用流式细胞术检测肿瘤细胞凋亡率;采用双荧光素酶报告基因实验验证 LncRNA GC1 与 miR-551b-3p 的调控关系。另取人食管癌细胞株 Eca109 分为 9 组,每组 3 个复孔,其中基因干扰组命名同上,另设置空白组,培养 48h 后观察细胞 LncRNA GC1、miR-551b-3p 基因表达水平、形态学改变、凋亡率、CyclinD1、p21、Bcl-2、Bax 基因与蛋白表达水平。**结果** 动物实验:与模型组和相应对照组比较,GC1 上调组与 miR-551b-3p 下调组瘤体质量、CyclinD1 和 Bcl-2 基因与蛋白表达水平均上升,抑瘤率、细胞凋亡率、miR-551b-3p 基因、p21 和 Bax 基因与蛋白表达水平均下降;GC1 下调组与 miR-551b-3p 上调组瘤体质量、CyclinD1 和 Bcl-2 基因与蛋白表达水平均下降,抑瘤率和细胞凋亡率、miR-551b-3p 基因、p21 和 Bax 基因与蛋白表达水平均上升;GC1 上调组 LncRNA GC1 基因表达水平上升,GC1 下调组 LncRNA GC1 基因表达水平下降( $P < 0.05$ )。与转染野生型 GC1 的腺病毒载体相比,转染突变型 GC1 的腺病毒载体的 miR-551b-3p 荧光素酶相对活性上升( $P < 0.05$ )。细胞实验:LncRNA GC1 和 miR-551b-3p 基因表达水平、细胞形态学改变与凋亡率、CyclinD1、p21、Bcl-2、Bax 基因与蛋白表达水平变化趋势均与动物实验相同。**结论** 下调 LncRNA GC1、上调 miR-551b-3p 表达水平均可抑制食管癌进展,且下调 LncRNA GC1 可靶向上调 miR-551b-3p,并降低 CyclinD1 和 Bcl-2 活性、上升 p21 和 Bax 活性。

**[关键词]** 食管癌;长链非编码 RNA;鸟苷酸环化酶 1;微小 RNA;抑瘤率;凋亡

**[中图分类号]** R364.3+3;R735.1

**[文献标识码]** A

**Effect and molecular mechanism study of long chain non-coding RNA guanylate cyclase 1 targeting microRNA 551b-3p on esophageal cancer** Feng Xiao, Zhang Jianghao, Wang Bo, Hui Shuang. Department of Gastrointestinal Oncology, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473000, China

**[Abstract]** **Objective** To explore the effect of long chain non-coding RNA(LncRNA) guanylate cyclase 1(GC1) in esophageal cancer, and to explore its molecular mechanism of targeting microRNA 551b-3p(miR-551b-3p). **Methods** A nude mouse model of esophageal cancer bearing tumor was established and randomly divided into 9 groups with 8 mice in each group, including GC1, miR-551b-3p up-regulated and down-regulated groups, corresponding control groups and model group. Naked mice were executed on the day after the last administration, the weight of the tumor was measured and the tumor inhibition rate was calculated. The expression levels of LncRNA GC1, miR-551b-3p gene, cell cycle factor (CyclinD1), p21, B lymphoblastoma-2 (Bcl-2), Bcl-2-related x (Bax) gene and protein were detected in tumor tissues. The pathological changes of tumor were observed. The apoptosis rate of tumor cells was detected by flow cytometry. Dual luciferase reporter gene assay was used to verify the regulatory relationship between LncRNA GC1 and miR-551b-3p. Human esophageal cancer cell line Eca109 was divided into 9 groups with 3 compound pores in each group. The gene interference group was named as above, and a blank group was set. The expression levels of LncRNA GC1, miR-551b-3p gene, morphological changes, apoptosis rate, CyclinD1, p21, Bcl-2, Bax gene and protein were observed after 48h

基金项目:吴阶平医学基金会科研专项资助基金(320.6750.2020-12-42)

作者单位:473000 河南省南阳市中心医院消化道肿瘤科

通讯作者:冯潇, E-mail:ycwik8@163.com

culture. **Results** In the animal experiment, compared with the model group and the corresponding control group, tumor weight, CyclinD1 and Bcl-2 gene with protein expression levels were increased in GC1 up-regulated group and miR-551b-3p down-regulated group, tumor inhibition rate, apoptosis rate, miR-551b-3p gene, p21 and Bax gene with protein expression levels were decreased. Tumor weight, CyclinD1 and Bcl-2 gene with protein expression levels were decreased, while the tumor inhibition rate, apoptosis rate, miR-551b-3p gene, p21 and Bax gene with protein expression levels were increased in GC1 down-regulation group and miR-551b-3p up-regulation group. The expression level of LncRNA GC1 gene in GC1 up-regulated group was increased, and the expression level of LncRNA GC1 gene in GC1 down-regulated group was decreased ( $P < 0.05$ ). The relative activity of miR-551b-3p was increased in the adenovirus vector transfected with mutant GC1 as compared with the adenovirus vector transfected with wild type GC1 ( $P < 0.05$ ). In the cell experiment, the expression levels of LncRNA GC1 and miR-551b-3p, the morphological changes and apoptosis rate of the cells, and the expression levels of CyclinD1, p21, Bcl-2 and Bax were the same as those in the animal experiment. **Conclusion** Down-regulation of LncRNA GC1 and up-regulation of miR-551b-3p could inhibit the progression of esophageal cancer. Down-regulation of LncRNA GC1 could target up-regulate miR-551b-3p, reduce the activities of CyclinD1 and Bcl-2, and increase the activities of p21 and Bax.

[**Key words**] Esophageal cancer; Long chain non coding RNA; Guanylate cyclase 1; MicroRNA; Tumor inhibition rates; Apoptosis

食管癌特发于食管上皮,是常见的消化道恶性肿瘤。靶向治疗是指在细胞分子水平针对致癌位点设计相应药物,使药物特异性作用于致癌基因,并引起肿瘤细胞死亡<sup>[1-2]</sup>。目前食管癌的致癌基因及发病机制尚不完全明确。长链非编码 RNA(LncRNAs)可通过多种途径参与细胞生物活动,包括直接调控下游分子、海绵吸附微小 RNA(miRs)等<sup>[3]</sup>。LncRNA 鸟苷酸环化酶 1(GC1)被证实是一种新型的胃癌分子标志物,在循环外泌体里过表达<sup>[4]</sup>,另有研究证实其可靶向抑制 miR-551b-3p,提高胃癌化疗耐药性<sup>[5]</sup>。而 miR-551b-3p 在癌组织中低表达,且上调其表达与调节细胞周期因子(CyclinD1)、p21、B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 x(Bax)表达有关<sup>[6-7]</sup>,推测 LncRNA GC1 很可能通过靶向 miR-551b-3p 影响食管癌发生与发展。基于此,本研究对食管癌荷瘤裸小鼠和体外细胞进行实验,以期对食管癌靶向治疗研究提供新思路。

## 对象与方法

1. 材料:清级级 BALB/c-nude 裸小鼠 72 只(成都生物制品研究所有限责任公司);人食管癌细胞株 EC9706(ATCC 公司)、Eca109(北京拜尔迪生物技术有限公司)。pcDNA-GC1、pcDNA、si-GC1、si-DNA、miR-551b-3p mimic、miR mimic-NC、miR-551b-3p inhibitor、miR inhibitor-NC 质粒(上海泽叶生物科技有限公司);腺病毒(上海士锋生物科技有限公司);LncRNA GC1、miR-551b-3p、CyclinD1、p21、Bcl-2、Bax 引物(南京金斯瑞生物公司);CyclinD1、p21、Bcl-2、Bax 兔抗及 CyclinD1、p21、Bcl-2、Bax 羊抗(瑞士 Roche 公司);野生型、突变型 GC1 荧光素酶载体(北京信诺金达生物科技有限公司);双荧光素酶报告基因实验试剂盒(北京百奥莱博科技有限公司)。

## 2. 方法

(1)食管癌荷瘤裸小鼠模型的构建与分组干预:取人食管癌细胞株 EC9706,在 CO<sub>2</sub> 培养箱(37 ℃、5% 饱和湿度、CO<sub>2</sub> 体积分数 5%)中培养至对数生长期。取上述细胞制成细胞悬液( $2 \times 10^6$  个/ml),接种至裸小鼠右侧腋皮下,0.2 ml/只。1 周后观察,肿瘤体积 > 150 mm<sup>3</sup> 认为建模成功。将建模成功裸小鼠随机分为 GC1、miR-551b-3p 上、下调组及其对应对照组与模型组共 9 组,每组 8 只(若有建模不成功或死亡及时补齐)。GC1 上调组携带 pcDNA-GC1 的重组腺病毒,其对照组携带 pcDNA 的重组腺病毒;GC1 下调组携带 si-GC1 的重组腺病毒,其对照组携带 si-DNA 的重组腺病毒;miR-551b-3p 上调组携带 miR-551b-3p mimic 的重组腺病毒,其对照组携带 miR mimic-NC 的重组腺病毒;miR-551b-3p 下调组携带 miR-551b-3p inhibitor 的重组腺病毒,其对照组携带 miR inhibitor-NC 的重组腺病毒;模型组添加等体积无菌生理盐水,;上述处理均为每周 1 次,每次 200 μl 瘤体内注射,共 4 次。

(2)细胞处理:取人食管癌细胞株 Eca109,在 CO<sub>2</sub> 培养箱(37 ℃、5% 饱和湿度、CO<sub>2</sub> 体积分数 5%)中培养至对数期,制成细胞悬液( $1.0 \times 10^5$  个/ml)。将细胞接种于 96 孔板,分为 9 组,每组 3 个复孔。其中基因干扰组命名同上,另设置空白组。GC1 上调组转染 pcDNA3.1-GC1,其对照组转染 pcDNA3.1-control;GC1 下调组转染 si-GC1,其对照组转染 si-NC;miR-551b-3p 上调组转染 miR-551b-3p mimics,其对照组转染 miR mimics-NC;miR-551b-3p 下调组转染 miR-551b-3p inhibitor,其对照组转染 miR inhibitor-NC;空白组添加等体积无菌生理盐水;均培养 48h,环境同前。

(3)动物实验:末次给药次日处死方法(1)中裸小鼠,电子天平称取瘤体质量,抑瘤率(%)=(模型组瘤体

质量-干预组瘤体质量)/模型组瘤体质量 × 100%。采用实时逆转录 PCR (RT-qPCR) 检测肿瘤组织 LncRNA GC1、miR-551b-3p 与 CyclinD1、p21、Bcl-2、Bax 基因表达水平。采用 HE 染色试剂盒处理肿瘤组织切片并在高倍光镜下观察其病理表现。采用流式细胞术检测肿瘤细胞凋亡率。采用 Western blot 检测肿瘤组织 p21、CyclinD1、Bcl-2、Bax 蛋白表达水平。采用脂质体转染法将野生型、突变型 GC1 荧光素酶载体、miR-551b-3p、miR-NC 转染至肿瘤细胞,采用试剂盒测定相应荧光素酶活性并比较,每组 3 个复孔。

(4)细胞实验:采用 RT-qPCR 检测各组细胞 LncRNA GC1、miR-551b-3p 与 CyclinD1、p21、Bcl-2、Bax 基因表达水平;倒置显微镜下观察各组细胞形态学改变;流式细胞术检测各组细胞凋亡率;Western blot 检测各组细胞 CyclinD1、p21、Bcl-2、Bax 蛋白表达水平。

3. 统计学处理:应用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间两两比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素分析和 SNK-*q* 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 结 果

### 1. 动物实验中 9 组裸小鼠瘤体质量、抑瘤率、相关

表 1 动物实验中 9 组裸小鼠瘤体质量、抑瘤率、相关基因、蛋白表达水平及细胞凋亡率比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	瘤体质量 (g)	抑瘤率 (%)	细胞凋亡率 (%)	基因表达			
				LncRNA GC1	miR-551b-3p	CyclinD1	p21
GC1 上调组	1.19 ± 0.25 <sup>ab</sup>	-13.33 ± 2.12 <sup>ab</sup>	1.75 ± 0.24 <sup>ab</sup>	1.75 ± 0.32 <sup>ab</sup>	0.55 ± 0.11 <sup>ab</sup>	1.78 ± 0.30 <sup>ab</sup>	0.55 ± 0.10 <sup>ab</sup>
GC1 上调对照组	1.04 ± 0.21	0.95 ± 0.18	6.41 ± 1.22	0.99 ± 0.17	0.98 ± 0.18	1.01 ± 0.17	1.00 ± 0.18
GC1 下调组	0.87 ± 0.14 <sup>ab</sup>	17.14 ± 3.05 <sup>ab</sup>	31.74 ± 4.51 <sup>ab</sup>	0.43 ± 0.07 <sup>ab</sup>	1.82 ± 0.36 <sup>ab</sup>	0.63 ± 0.11 <sup>ab</sup>	1.32 ± 0.24 <sup>ab</sup>
GC1 下调对照组	1.05 ± 0.21	0 ± 0.05	6.45 ± 1.25	1.01 ± 0.19	1.00 ± 0.18	0.99 ± 0.19	0.98 ± 0.19
miR-551b-3p 上调组	0.86 ± 0.15 <sup>ab</sup>	18.10 ± 3.16 <sup>ab</sup>	30.86 ± 4.33 <sup>ab</sup>	1.00 ± 0.19	1.80 ± 0.37 <sup>ab</sup>	0.61 ± 0.10 <sup>ab</sup>	1.35 ± 0.26 <sup>ab</sup>
miR-551b-3p 上调对照组	1.04 ± 0.22	0.95 ± 0.19	6.39 ± 1.20	1.00 ± 0.18	0.99 ± 0.19	0.98 ± 0.18	0.99 ± 0.19
miR-551b-3p 下调组	1.20 ± 0.25 <sup>ab</sup>	-14.29 ± 2.27 <sup>ab</sup>	1.78 ± 0.26 <sup>ab</sup>	1.02 ± 0.17	0.53 ± 0.10 <sup>ab</sup>	1.80 ± 0.32 <sup>ab</sup>	0.54 ± 0.09 <sup>ab</sup>
miR-551b-3p 下调对照组	1.06 ± 0.21	-0.95 ± 0.18	6.50 ± 1.21	0.98 ± 0.17	1.00 ± 0.17	1.01 ± 0.19	1.00 ± 0.18
模型组	1.05 ± 0.22	-	6.35 ± 1.22	1.00	1.00	1.00	1.00
<i>F</i> 值	18.669	20.152	22.378	19.753	16.391	20.067	18.704
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

组别	基因表达		蛋白表达			
	Bcl-2	Bax	CyclinD1	p21	Bcl-2	Bax
GC1 上调组	1.36 ± 0.24 <sup>ab</sup>	0.56 ± 0.11 <sup>ab</sup>	1.76 ± 0.27 <sup>ab</sup>	0.72 ± 0.15 <sup>ab</sup>	1.46 ± 0.32 <sup>ab</sup>	0.89 ± 0.17 <sup>ab</sup>
GC1 上调对照组	1.00 ± 0.19	0.98 ± 0.19	1.15 ± 0.22	1.47 ± 0.22	0.90 ± 0.18	1.55 ± 0.26
GC1 下调组	0.45 ± 0.07 <sup>ab</sup>	1.69 ± 0.24 <sup>ab</sup>	0.73 ± 0.13 <sup>ab</sup>	1.88 ± 0.36 <sup>ab</sup>	0.42 ± 0.07 <sup>ab</sup>	2.15 ± 0.39 <sup>ab</sup>
GC1 下调对照组	0.99 ± 0.18	1.01 ± 0.17	1.16 ± 0.23	1.48 ± 0.24	0.90 ± 0.17	1.53 ± 0.25
miR-551b-3p 上调组	0.43 ± 0.08 <sup>ab</sup>	1.71 ± 0.32 <sup>ab</sup>	0.75 ± 0.14 <sup>ab</sup>	1.90 ± 0.35 <sup>ab</sup>	0.43 ± 0.07 <sup>ab</sup>	2.18 ± 0.41 <sup>ab</sup>
miR-551b-3p 上调对照组	0.99 ± 0.19	1.02 ± 0.19	1.14 ± 0.23	1.47 ± 0.23	0.91 ± 0.17	1.54 ± 0.25
miR-551b-3p 下调组	1.37 ± 0.29 <sup>ab</sup>	0.59 ± 0.12 <sup>ab</sup>	1.74 ± 0.29 <sup>ab</sup>	0.70 ± 0.13 <sup>ab</sup>	1.48 ± 0.33 <sup>ab</sup>	0.87 ± 0.18 <sup>ab</sup>
miR-551b-3p 下调对照组	0.98 ± 0.17	0.99 ± 0.18	1.13 ± 0.22	1.18 ± 0.23	0.91 ± 0.18	1.55 ± 0.27
模型组	1.00	1.00	1.15 ± 0.20	1.46 ± 0.21	0.89 ± 0.17	1.52 ± 0.24
<i>F</i> 值	19.166	22.715	19.856	20.107	22.369	21.578
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与模型组比较,<sup>a</sup>*P* < 0.05;与相应对照组比较,<sup>b</sup>*P* < 0.05

基因、蛋白表达水平及细胞凋亡率比较:与模型组和相应对照组比较,GC1 上调组与 miR-551b-3p 下调组瘤体质量、CyclinD1 和 Bcl-2 基因与蛋白表达水平均上升,抑瘤率、细胞凋亡率、miR-551b-3p 基因、p21 和 Bax 基因与蛋白表达水平均下降;GC1 下调组与 miR-551b-3p 上调组瘤体质量、CyclinD1 和 Bcl-2 基因与蛋白表达水平均下降,抑瘤率和细胞凋亡率、miR-551b-3p 基因、p21 和 Bax 基因与蛋白表达水平均上升;GC1 上调组 LncRNA GC1 基因表达水平上升,GC1 下调组 LncRNA GC1 基因表达水平下降(*P* < 0.05)。见表 1。

2. 动物实验中 9 组裸小鼠肿瘤组织病理改变:模型组和各对照组裸小鼠肿瘤组织细胞核大、核浆比例大、核分裂象多,可呈菊花团状或围绕小血管呈放射状;GC1 上调组、miR-551b-3p 下调组裸小鼠肿瘤组织部分细胞固缩、核深染、核分裂象减少;GC1 下调组、miR-551b-3p 上调组裸小鼠肿瘤组织细胞饱满、排列紧密、核分裂象显著增多、细胞密度增大。见图 1。

3. 动物实验中双荧光素酶基因测序结果:与转染野生型 GC1 的腺病毒载体相比,转染突变型 GC1 的腺病毒载体的 miR-551b-3p 荧光素酶相对活性上升 [(1.18 ± 0.20) 比 (0.65 ± 0.11), *P* < 0.05]。结合位点见图 2。

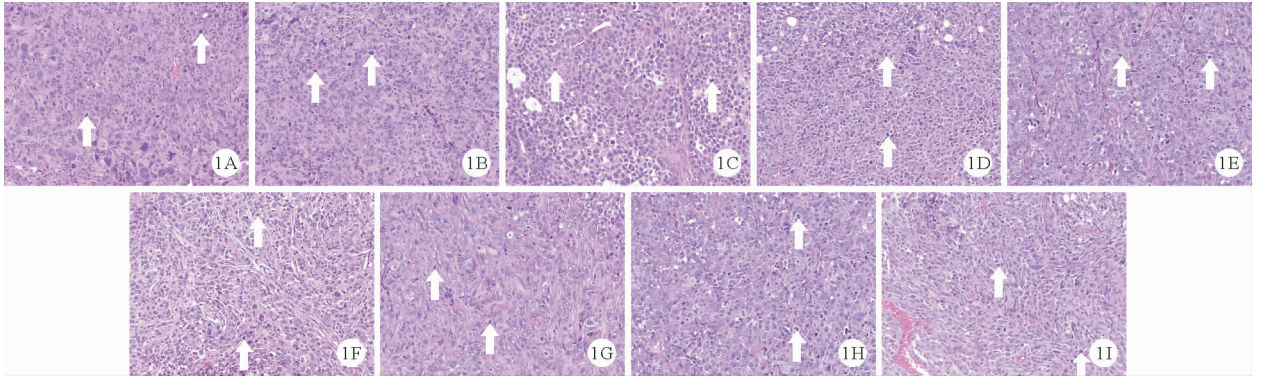


图1 动物实验中9组裸小鼠肿瘤组织病理改变(A:GC1上调组;B:GC1上调对照组;C:GC1下调组;D:GC1下调对照组;E:miR-551b-3p上调组;F:miR-551b-3p上调对照组;G:miR-551b-3p下调组;H:miR-551b-3p下调对照组;I:模型组;核分裂象如白色箭头所示;HE染色,×200)

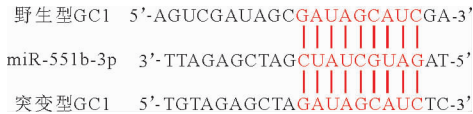


图2 LncRNA GC1 与 miR-551b-3p 的结合位点

4. 细胞实验中9组细胞凋亡率、相关基因与蛋白表达水平比较:与空白组和相应对照组比较,GC1上调组 LncRNA GC1 基因表达水平均上升、GC1 下调组 LncRNA GC1 基因表达水平均下降;GC1 上调组、miR-551b-3p 下调组 miR-551b-3p 基因表达水平、细胞凋亡率、p21和Bax基因与蛋白表达水平均下降,CyclinD1

和 Bcl-2 基因与蛋白表达水平均上升,而 GC1 下调组与 miR-551b-3p 上调组 miR-551b-3p 表达水平、细胞凋亡率、p21 和 Bax 基因与蛋白表达水平均上升,CyclinD1和 Bcl-2 基因与蛋白表达水平均下降( $P < 0.05$ )。见表2。

5. 细胞实验中9组细胞形态学改变:镜下可观察到空白组和相应对照组细胞均正常贴壁生长、呈规则圆形;GC1上调组和 miR-551b-3p 下调组细胞大量生长、呈规则圆形、密集汇合;GC1 下调组和 miR-551b-3p 上调组大量细胞死亡、裂解,且可见大量的凋亡细胞碎片。见图3。

表2 细胞实验中9组细胞凋亡率、相关基因与蛋白表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	细胞凋亡率 (%)	基因表达				
		LncRNA GC1	miR-551b-3p	CyclinD1	p21	Bcl-2
GC1 上调组	6.94 ± 1.13 <sup>ab</sup>	1.81 ± 0.34 <sup>ab</sup>	0.52 ± 0.10 <sup>ab</sup>	1.80 ± 0.31 <sup>ab</sup>	0.54 ± 0.09 <sup>ab</sup>	1.37 ± 0.22 <sup>ab</sup>
GC1 上调对照组	16.27 ± 3.08	1.02 ± 0.18	1.01 ± 0.19	1.01 ± 0.19	1.02 ± 0.21	1.01 ± 0.20
GC1 下调组	53.68 ± 7.28 <sup>ab</sup>	0.40 ± 0.09 <sup>ab</sup>	1.85 ± 0.37 <sup>ab</sup>	0.54 ± 0.12 <sup>ab</sup>	1.37 ± 0.25 <sup>ab</sup>	0.49 ± 0.08 <sup>ab</sup>
GC1 下调对照组	16.67 ± 3.11	0.99 ± 0.19	1.01 ± 0.19	1.00 ± 0.20	0.99 ± 0.20	1.00 ± 0.19
miR-551b-3p 上调组	51.75 ± 8.69 <sup>ab</sup>	1.01 ± 0.19	1.84 ± 0.36 <sup>ab</sup>	0.56 ± 0.11 <sup>ab</sup>	1.39 ± 0.25 <sup>ab</sup>	0.48 ± 0.07 <sup>ab</sup>
miR-551b-3p 上调对照组	15.94 ± 3.11	1.02 ± 0.20	1.00 ± 0.20	1.01 ± 0.19	1.01 ± 0.20	1.02 ± 0.20
miR-551b-3p 下调组	6.78 ± 1.19 <sup>ab</sup>	1.01 ± 0.19	0.51 ± 0.10 <sup>ab</sup>	1.82 ± 0.33 <sup>ab</sup>	0.52 ± 0.10 <sup>ab</sup>	1.39 ± 0.24 <sup>ab</sup>
miR-551b-3p 下调对照组	16.75 ± 3.10	0.99 ± 0.18	1.01 ± 0.20	1.02 ± 0.20	1.01 ± 0.19	1.01 ± 0.19
空白组	16.75 ± 3.12	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
F 值	22.696	20.371	19.385	21.406	20.328	20.227
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

组别	基因表达			蛋白表达		
	Bax	CyclinD1	p21	Bcl-2	Bax	
GC1 上调组	0.54 ± 0.10 <sup>ab</sup>	1.71 ± 0.38 <sup>ab</sup>	0.90 ± 0.17 <sup>ab</sup>	1.80 ± 0.35 <sup>ab</sup>	1.01 ± 0.22 <sup>ab</sup>	
GC1 上调对照组	1.00 ± 0.20	1.04 ± 0.22	1.50 ± 0.24	1.22 ± 0.23	1.80 ± 0.37	
GC1 下调组	1.71 ± 0.25 <sup>ab</sup>	0.52 ± 0.10 <sup>ab</sup>	2.07 ± 0.41 <sup>ab</sup>	0.72 ± 0.10 <sup>ab</sup>	2.64 ± 0.41 <sup>ab</sup>	
GC1 下调对照组	1.02 ± 0.18	1.06 ± 0.24	1.51 ± 0.23	1.20 ± 0.24	1.82 ± 0.38	
miR-551b-3p 上调组	1.70 ± 0.30 <sup>ab</sup>	0.55 ± 0.11 <sup>ab</sup>	2.05 ± 0.40 <sup>ab</sup>	0.70 ± 0.11 <sup>ab</sup>	2.62 ± 0.43 <sup>ab</sup>	
miR-551b-3p 上调对照组	1.01 ± 0.20	1.05 ± 0.23	1.53 ± 0.24	1.21 ± 0.25	1.81 ± 0.35	
miR-551b-3p 下调组	0.53 ± 0.10 <sup>ab</sup>	1.72 ± 0.41 <sup>ab</sup>	0.88 ± 0.19 <sup>ab</sup>	1.78 ± 0.34 <sup>ab</sup>	0.98 ± 0.19 <sup>ab</sup>	
miR-551b-3p 下调对照组	1.00 ± 0.19	1.07 ± 0.23	1.52 ± 0.24	1.23 ± 0.24	1.83 ± 0.39	
空白组	1.00	1.03 ± 0.25	1.52 ± 0.30	1.21 ± 0.22	1.82 ± 0.36	
F 值	25.836	15.143	17.826	14.697	22.054	
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	

注:与空白组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与相应对照组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

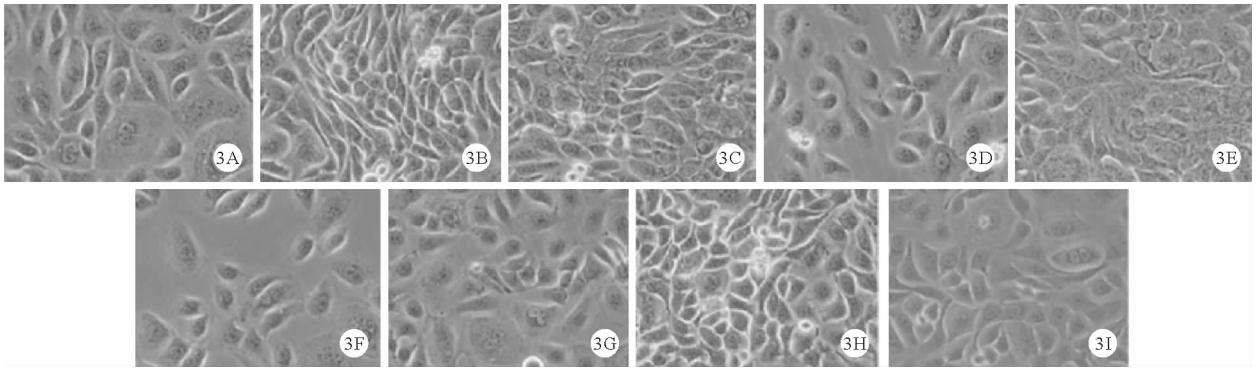


图3 细胞实验中9组细胞形态学改变(A:空白组;B:GC1上调组;C:GC1上调对照组;D:GC1下调组;E:GC1下调对照组;F:miR-551b-3p上调组;G:miR-551b-3p上调对照组;H:miR-551b-3p下调组;I:miR-551b-3p下调对照组;×200)

## 讨 论

致癌基因过表达是食管癌发生和发展的主要影响因素,其不仅可促进细胞生长、增殖、侵袭和迁移,还可抑制细胞凋亡。但目前人们对食管癌的致癌基因了解尚少,而探索新致癌基因有助于指导其靶向治疗研究。

本研究发现,下调 LncRNA GC1 表达、上调 miR-551b-3p 表达可能有助于抑制食管癌。LncRNA GC1 已被证实在胃癌患者的循环外泌体中高表达,且可作为消化道恶性肿瘤早期诊断与进展的标志物<sup>[8]</sup>。Lin 等<sup>[9]</sup>发现胃癌细胞中 LncRNA GC1 高表达。另有 Guo 等<sup>[10]</sup>研究指出,循环细胞外小泡来源的 LncRNA GC1 在胃肠道肿瘤中呈高表达,且是评估新辅助化疗效果的标志物,能预测接受新辅助化疗的恶性肿瘤患者的近远期生存率。Abdi 等<sup>[11]</sup>的报道中也显示,包括食管癌在内的上消化道恶性肿瘤中 LncRNA GC1 高表达。结合该分子的特性,推测其高表达能参与血管的新生和细胞增殖、迁移与凋亡调控,且能影响肿瘤组织学分级、淋巴结转移、临床分期、神经周围浸润、静脉入侵等病理特征。而 miR-551b-3p 属于抑癌基因,其在胃癌等多种恶性肿瘤组织中均低表达,与细胞外调节蛋白激酶(ERK)/p38 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、去泛素化酶(USP9X)、CyclinD1 均有关,且相关报道均证实上调 miR-551b-3p 表达有助于降低肿瘤细胞的增殖、迁移与侵袭能力,对控制肿瘤生长也有正向积极作用<sup>[12-14]</sup>。本研究结果与上述报道一致,且显示上调 LncRNA GC1 表达、下调 miR-551b-3p 表达也可促进食管癌进展,表明抑制 LncRNA GC1 表达、上调 miR-551b-3p 表达可作为食管癌靶向治疗的新思路。

此外,本研究提示抑制 LncRNA GC1 表达、上调 miR-551b-3p 表达均可降低食管癌荷瘤裸小鼠肿瘤组织与食管癌细胞株的 CyclinD1 和 Bcl-2 活性,增加 p21 和 Bax 活性。CyclinD1 可调控细胞周期蛋白依赖性激

酶影响细胞周期,在肿瘤细胞中高表达,与细胞从 G1 期进展为 S 期有关<sup>[15]</sup>。p21 也是细胞周期蛋白依赖性激酶的调控分子,可抑制其活性协调细胞周期,在癌组织中表达下降。而 Bcl-2 和 Bax 则主要调控细胞凋亡,前者在癌组织中高表达,可抑制细胞凋亡;后者则在癌组织中低表达,上调其表达可促进细胞凋亡<sup>[16]</sup>。有研究指出,上调 miR-551b-3p 表达可抑制人胆管癌细胞株生长,通过下调 CyclinD1 表达可降低其增殖活性<sup>[17]</sup>;也有报道表明骨髓源性间充质细胞的外泌体 miR-551b-3p 可抑制乳腺癌进展,且与调节细胞增殖、凋亡相关分子的转录水平及活性有关<sup>[18]</sup>。本研究还利用双荧光素酶报告基因实验验证了 LncRNA GC1 与 miR-551b-3p 的调控关系,与上述 Guo 等的报道一致。

综上,下调 LncRNA GC1 表达、上调 miR-551b-3p 表达均可抑制食管癌进展,且下调 LncRNA GC1 可靶向上调 miR-551b-3p,并降低 CyclinD1 和 Bcl-2 活性、增加 p21 和 Bax 活性,从而实现上述作用;反之同理。然而食管癌的发生与进展是一个动态的病理改变过程,分子网络复杂且精密,抑制 LncRNA GC1 与上调 miR-551b-3p 表达是否可通过其他分子途径参与抑制食管癌仍不明确,有待进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] Liu J, Peng Y, Wei W. Cell cycle on the crossroad of tumorigenesis and cancer therapy[J]. Trends Cell Biol, 2022, 32(1): 30-44.
- [2] Smith CEP, Prasad V. Targeted cancer therapies[J]. Am Fam Physician, 2021, 103(3): 155-163.
- [3] Chen X, Liu Y, Sun D, et al. Long noncoding RNA lnc-H2AFV-1 promotes cell growth by regulating aberrant m6A RNA modification in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Cancer Sci, 2022, 113(6): 2071-2084.
- [4] Guo X, Lv X, Ru Y, et al. Circulating exosomal gastric cancer-associated long noncoding rna1 as a biomarker for early detection and monitoring progression of gastric cancer: a multiphase study[J]. JAMA Surg, 2020, 155(7): 572-579.
- [5] Guo X, Wang X, Li S, et al. LncRNA-GC1 contributes to gastric cancer chemo-resistance through inhibition of miR-551b-3p and the overexpression of dysbindin[J]. Ann Oncol, 2019, 30(5): 27.
- [6] 耿锰行, 孙玉信. 姜黄素调控 miR-551b-3p 对食管癌 EC9706 细胞增殖, 迁移, 侵袭及凋亡的影响[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(2): 456-461.



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2024.05.015

http://www.lcnkz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2024.05.015

· 论著摘要 ·

## 系统免疫炎症指数对老年重症肺炎患者病死率的预测研究

张晓伟 黄晓云 张瑞 李玉玲

**【摘要】** 目的 探讨系统免疫炎症指数(SII)对老年重症肺炎患者病死率的预测价值。方法 选取2019年3月~2022年2月于民航总医院就诊的196例老年重症肺炎患者,根据发病后28d内生存情况将其分为病死组(23例)和存活组(73例)。收集所有患者的一般临床资料及实验室检查结果并进行组间比较。采用Pearson相关分析评估老年重症肺炎患者SII与病情程度的相关性,采用Cox回归分析评估老年重症肺炎患者病死率的影响因素;采用受试者工作特征(ROC)曲线评估SII对老年重症肺炎患者病死风险的预测价值。结果 入组100例老年重症肺炎患者,4例被剔除,96例完成研究,23例相继病死于28d内,病死率23.96%(23/96)。病死组患者年龄、APACHE II评分、PLT计数、SII、血浆hs-CRP、PCT均高于存活组( $P < 0.05$ )。Pearson相关性分析结果显示,老年重症肺炎患者SII与APACHE II评分( $r = 0.374$ )、hs-CRP( $r = 0.280$ )、PCT( $r = 0.292$ )、年龄( $r = 0.273$ )均呈正相关( $P < 0.05$ )。Cox回归分析数据显示,年龄、PCT、SII均是老年重症肺炎患者病死的影响因素( $P < 0.05$ )。ROC曲线分析结果显示,SII预测老年重症肺炎患者病死风险的AUC值为0.803,敏感度为0.826,特异度为0.534。结论 SII是老年重症肺炎病死风险因素,入院时检查SII能够实现老年重症肺炎患者病死风险的早期预测。

**【关键词】** 老年重症肺炎; 病死率; 系统免疫炎症指数

**【中图分类号】** R563.1 **【文献标识码】** A

肺炎是老年人群常见的呼吸道感染性疾病,因起病较隐匿,缺乏典型表现,导致其易持续发展为重症肺炎<sup>[1]</sup>。老年重症肺炎普遍伴有呼吸衰竭和(或)其他系统受累,治疗难度也随之增加<sup>[2]</sup>。据调查,在美国、日本有近90%死于肺炎的患者是老年人,肺炎成为这些国家老年人的第3大死因<sup>[3-4]</sup>。我国一

项大样本调查结果显示,肺炎患者住院病死率约4.2%,65岁以上住院病死率明显增加<sup>[5]</sup>。目前已知肺炎的进展与免疫和炎症反应有直接关系<sup>[6]</sup>,临床中也围绕这两大机制探索出与重症肺炎有关的众多细胞因子和评估工具,关于老年重症肺炎病死相关指标也在探索阶段。系统免疫炎症指数(SII)是基于外周血中PLT、中性粒细胞(NE)、淋巴细胞(LY)的免疫炎症指标,能够综合反映全身免疫和炎症状态的平衡,实现对疾病预后的评估<sup>[7-9]</sup>。现阶段,SII在恶性肿瘤中的应用最为广泛,已被证实是这些肿瘤预后的预测因子<sup>[10]</sup>,但少有研究将SII用于老年重症

基金项目:国家重点研发计划(2017YFC1309500)

作者单位:100123 北京,民航总医院感染疾病科

通讯作者:李玉玲,E-mail:lylmhzy@163.com

- [7] Tang H, Xiong Q, Yin M, et al. LncRNA PVT1 delays skin photoaging by sequestering miR-551b-3p to release AQP3 expression via ceRNA mechanism[J]. Apoptosis, 2023, 28(5-6): 912-924.
- [8] Song Q, Lv X, Ru Y, et al. Circulating exosomal gastric cancer-associated long noncoding RNA1 as a noninvasive biomarker for predicting chemotherapy response and prognosis of advanced gastric cancer: A multi-cohort, multi-phase study[J]. EBioMedicine, 2022, 78: 103971.
- [9] Lin Q, Huang Z, Ye X, et al. Lab in a tube: Isolation, extraction, and isothermal amplification detection of exosomal long noncoding RNA of gastric cancer[J]. Talanta, 2021, 225: 122090.
- [10] Guo X, Gao Y, Song Q, et al. Early assessment of circulating exosomal lncRNA-GC1 for monitoring neoadjuvant chemotherapy response in gastric cancer[J]. Int J Surg, 2023, 109(5): 1094-1104.
- [11] Abdi E, Latifi-Navid S, Abdi F, et al. Emerging circulating MiRNAs and LncRNAs in upper gastrointestinal cancers[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2020, 20(11): 1121-1138.
- [12] Qiao DH, He XM, Deng X, et al. Aberrant expression of five miRNAs in papillary thyroid carcinomas[J]. J Clin Lab Anal, 2021, 35(9): e23907.
- [13] 蒋可心, 何怡江, 张旭. MiR-551b-3p 靶向 USP9X 对人肺癌 A549 细胞凋亡和放射敏感性的影响[J]. 临床与病理杂志, 2021, 41(1): 1-10.

- [14] Ji T, Gao L, Yu Z. Tumor-suppressive microRNA-551b-3p targets H6PD to inhibit gallbladder cancer progression[J]. Cancer Gene Ther, 2021, 28(6): 693-705.
- [15] Massey AJ, Benwell K, Burbridge M, et al. Targeting DYRK1A/B kinases to modulate p21-cyclin D1-p27 signalling and induce anti-tumour activity in a model of human glioblastoma[J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(22): 10650-10662.
- [16] Zhao S, Zhang Y, Lu X, et al. CDC20 regulates the cell proliferation and radiosensitivity of P53 mutant HCC cells through the Bel-2/Bax pathway[J]. Int J Biol Sci, 2021, 17(13): 3608-3621.
- [17] Chang W, Wang Y, Li W, et al. MicroRNA-551b-3p inhibits tumour growth of human cholangiocarcinoma by targeting Cyclin D1[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(8): 4945-4954.
- [18] Yang Z, Xu B, Wu S, et al. Exosomal microRNA-551b-3p from bone marrow-derived mesenchymal stromal cells inhibits breast cancer progression via regulating TRIM31/Akt signaling[J]. Hum Cell, 2022, 35(6): 1797-1812.

(收稿日期:2023-12-11)

(本文编辑:李昊阳)