



miR-17-5p及PTEN在弥漫性大B细胞淋巴瘤中的表达及其意义

刘伟, 叶绥艳, 雷磊

引用本文:

刘伟, 叶绥艳, 雷磊. miR-17-5p及PTEN在弥漫性大B细胞淋巴瘤中的表达及其意义[J]. 蚌埠医学院学报, 2021, 46(12): 1654-1659.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.12.003>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

miR-655在上皮性卵巢癌中的表达研究

Study on the miR-655 expression in epithelial ovarian cancer

蚌埠医学院学报. 2020, 45(2): 181-184 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.02.012>

紫杉醇耐药乳腺癌细胞外泌体来源的miR-5585-5p诱导乳腺癌细胞产生耐药表型研究

Study on the drug-resistant phenotypes of breast cancer cells induced by exosomal miR-5585-5p derived from paclitaxel-resistant breast cancer cells

蚌埠医学院学报. 2021, 46(8): 989-993 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.08.001>

淫羊藿通过miR-19a-3p对高糖高脂诱导的胰岛β细胞损伤的影响及机制研究

Effects of Epimedium herb through miR-19a-3p on islet β cells damage induced by high glucose and lipid and its mechanism

蚌埠医学院学报. 2020, 45(6): 725-730 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.06.007>

miR-432、miR-646和miR-100在骨肉瘤细胞中的表达

Expression and clinical significance of miR-432, miR-646 and miR-100 in osteosarcoma cells

蚌埠医学院学报. 2020, 45(12): 1646-1650, 1654 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.12.014>

卵巢癌组织中miR-377的表达及其与临床病理参数的关系

Expression level of miR-377 in ovarian cancer tissues, and its relationship with clinicopathological parameters

蚌埠医学院学报. 2021, 46(2): 210-213 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.02.019>

miR-17-5p 及 PTEN 在弥漫性大 B 细胞淋巴瘤中的表达及其意义

刘 伟,叶绥艳,雷 磊

[摘要] **目的:**研究弥漫大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)中微小 RNA(miR)-17-5p 及磷酸酶张力蛋白同系物(PTEN)表达及其临床意义。**方法:**应用荧光实时定量 PCR 检测 82 例 DLBCL 肿瘤组织及 30 例淋巴结反应性增生组织(对照组)中 miR-17-5p 及 PTEN 的表达,统计学分析组间表达差异及两者与临床病理特征之间的关系。根据 miR-17-5p 序列合成 miR-17-5p 抑制剂和抑制剂对照,并转染至 DLBCL 细胞系中,MTT 细胞增殖实验及 Transwell 小室实验观察对肿瘤细胞增殖和侵袭能力的影响。采用 Kaplan-Meier 生存分析观察不同 miR-17-5p 及 PTEN 的表达水平与病人预后之间的差异。**结果:**肿瘤组织中 miR-17-5p 的相对表达量高于正常组织($P < 0.01$);肿瘤组织中 PTEN 的相对表达量低于正常组织($P < 0.01$)。Pearson 线性相关分析结果表明,肿瘤组织中 miR-17-5p 与 PTEN 的表达呈负相关($r = -0.612, P < 0.01$)。病人肿瘤原发部位为节内、乳酸脱氢酶(LDH) ≤ 245 U/L、临床分期为 I ~ II 期 miR-17-5p 表达高于节外、LDH > 245 U/L、III ~ IV 期,PTEN 表达低于节外、LDH > 245 U/L、III ~ IV 期,差异均有统计学意义($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。与转染抑制剂对照相比,转染 miR-17-5p 抑制剂的 SU-DHL-8 细胞 miR-17-5p 表达较低,而 PTEN 表达较高($P < 0.01$)。与转染抑制剂对照相比,转染 miR-17-5p 抑制剂的 SU-DHL-8 细胞在第 96 小时增殖能力均明显下降($P < 0.05$);Transwell 小室实验中,与转染抑制剂对照组细胞穿膜细胞数比较,转染 miR-17-5p 抑制剂组明显减少($P < 0.05$)。高 miR-17-5p 组病人 3 年总生存率低于低 miR-17-5p 组病人($P < 0.05$),低 PTEN 表达组病人 3 年总生存率低于高 PTEN 表达组病人($P < 0.05$)。**结论:**DLBCL 肿瘤组织中 miR-17-5p 表达升高,而 PTEN 表达降低,两者共同参与 DLBCL 的发生发展过程,有可能成为新的 DLBCL 诊断和治疗的肿瘤标志物。

[关键词] 弥漫大 B 细胞淋巴瘤;微小 RNA-17-5p;磷酸酶张力蛋白

[中图分类号] R 733.4

[文献标志码] A

DOI:10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.12.003

Expression and significance of miR-17-5p and PTEN in diffuse large B-cell lymphoma

LIU Wei, YE Sui-yan, LEI Lei

(Department of Hematology, The First Hospital of Yulin, Yulin Shaanxi 719000, China)

[Abstract] **Objective:**To investigate the expression levels of microRNA(miR)-17-5p and phosphatase and tensin homolog(PTEN) in diffuse large B-cell lymphoma(DLBCL), and their clinical significance. **Methods:**The expression levels of miR-17-5p and PTEN in 82 cases of DLBCL carcinoma tissues and 30 cases of lymph node reactive hyperplasia tissues(control group) were detected using real-time quantitative PCR. The differences of the expression levels of miR-17-5p and PTEN between groups, and their relationship with clinicopathological features were analyzed. According to miR-17-5p sequence, the miR-17-5p inhibitors and inhibitor controls were synthesized, and transfected into the DLBCL cell lines. The MTT cell proliferation assay and Transwell chamber assay were used to observe the effects on the proliferation and invasion ability of tumor cells. The Kaplan-Meier survival analysis was used to analyze the differences between the different expression levels of miR-17-5p and PTEN and prognosis of patients. **Results:**The relative expression level of miR-17-5p in tumor tissues was higher than that in normal tissues($P < 0.01$). The relative expression level of PTEN in tumor tissue was lower than that in normal tissue($P < 0.01$). The results of Pearson linear correlation analysis showed that the expression level of miR-17-5p was negatively correlated with the PTEN expression in tumor tissues($r = -0.612, P < 0.01$). The expression level of miR-17-5p in patients with primary tumor site locating intra-ganglia, lactic dehydrogenase(LDH) ≤ 245 U/L and clinical stages I - II were higher than that in patients with primary tumor site locating extra ganglia, LDH > 245 U/L and clinical stage III - IV, and the expression level of PTEN in patients with primary tumor site locating intra-ganglia, LDH ≤ 245 U/L and clinical stages I - II was lower than that in extra ganglia, LDH > 245 and clinical stage III - IV ($P < 0.05$ to $P < 0.01$). Compared with the transfection inhibitor control, the expression levels of miR-17-5p and PTEN in SU-DHL 8 cells transfected with miR-17-5p inhibitor were lower and higher, respectively($P < 0.01$). Compared with the transfection inhibitor control, the proliferation and invasion ability of DLBCL cells

transfected with miR-17-5p inhibitor after 96 h was significantly attenuated($P < 0.05$). In Transwell chamber assay, the number of transmembrane cells transfected with miR-17-5p inhibitor was significantly reduced compared with the transfection inhibitor control group($P < 0.05$). The 3-year overall survival rate of patients with high miR-17-5p

[收稿日期] 2019-09-11 **[修回日期]** 2021-04-12

[作者单位] 陕西省榆林市第一医院 血液科, 719000

[作者简介] 刘 伟(1978-),男,副主任医师。

[通信作者] 雷 磊, 硕士, 副主任检验师. E-mail: 1564570864@

qq.com

was lower than that of patients with low miR-17-5p ($P < 0.05$), and that of patients with low PTEN expression was lower than that of patients with high PTEN expression ($P < 0.05$). **Conclusions:** The expression level of miR-17-5p increases, while the expression level of PTEN decreases in patients with DLBCL. Both of them are involved in the occurrence and development of DLBCL, and may become a new tumor marker for DLBCL diagnosis and treatment.

[**Key words**] diffuse large B-cell lymphoma; miR-17-5p; phosphatase tensin

弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 是世界范围内最常见的非霍奇金淋巴瘤 (NHL), 占有 NHL 病例的 30% ~ 40%。DLBCL 年发病率 8/10 万, 近年来其发病率有逐渐增加的趋势^[1]。虽然化疗及免疫疗法改善了 DLBCL 病人的总体缓解率, 延长病人的无进展生存时间和总生存时间, 但仍有约 30% 病人出现疾病复发或难治, 预后不良^[2]。因此有必要深入研究 DLBCL 发生发展的分子机制, 寻找有效的诊断治疗靶点。微小 RNA (miR) 是长度为 18 ~ 25 个核苷酸的 RNA 分子, 可结合靶基因 mRNA 的 3' 非翻译区 (UTR), 调控靶基因蛋白表达, 影响细胞的胚胎发育、血管生成、细胞分化及增殖和凋亡等过程。在肝癌^[3]、乳腺癌^[4] 等多种肿瘤中均存在多种 miR 的异常表达, 通过调控下游癌基因及抑癌基因表达影响肿瘤的发生发展的过程。人类 miR-17-5p 基因位于染色体 13q31.3, 是 miR-17 家族成员之一。miR-17-5p 作为一种癌基因, 可通过调控多种癌基因, 如 c-MYC 的表达, 激活丝裂原激活的蛋白激酶途径等机制, 发挥促进肿瘤细胞增殖、凋亡抑制及促进肿瘤浸润转移的作用^[5]。磷酸酶张力蛋白同系物 (PTEN) 基因位于人类染色体 10q23.31 上, 该基因编码蛋白具有特异性磷酸酯酶的活性, 负性调节磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) 的信号转导, 抑制肿瘤细胞的无限增殖及迁移能力^[6]。研究^[7] 表明, PTEN 是 miR-17-5p 潜在作用靶点, 即 miR-17-5p 可能通过抑制 PTEN 的表达发挥肿瘤促进的作用。但目前在 DLBCL 中 miR-17-5p 及 PTEN 的表达及临床意义尚不清楚, 本研究通过检测癌组织中 miR-17-5p 及 PTEN 表达, 探讨两者在 DLBCL 发生发展中的作用及临床意义。现作报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1 月至 2016 年 1 月期间于我院诊治的 82 例 DLBCL 病人的临床病理资料。纳入标准: (1) 经病理检查明确诊断为 DLBCL, 由 2 位病理科医生独立阅片判断。 (2) 均为初次诊治, 既往无化疗、放射治疗等抗肿瘤治疗的病史。 (3) 所有病人临床病理资料和随访资料完整。排除

标准: (1) 合并严重的心血管、呼吸系统及神经系统疾病。 (2) 合并其他系统恶性肿瘤。 (3) 年龄 ≤ 18 岁。82 例病人中男 43 例, 女 39 例; 年龄 24 ~ 78 岁, 平均年龄 (58.1 \pm 7.2) 岁; 肿瘤分期: 其中 I ~ II 期 46 例, III ~ IV 期 36 例; 组织学分类: 中心母细胞型 48 例, 免疫母细胞型 18 例, 间变性大细胞型 10 例, 富于 T 细胞或组织细胞型 6 例; 原发部位: 结外 13 例, 结内 69 例; 乳酸脱氢酶 (LDH): ≤ 245 U/L 40 例, > 245 U/L 42 例; 血 β -II 型微球蛋白 (B2M): ≤ 3 mg/L 50 例, > 3 mg/L 32 例; 分子分型: 生发中心型 31 例, 非生发中心型 51 例; 参考 2004 年 Hans 分型标准^[8]: GCB 亚型 13 例, non-GCB 亚型 69 例; 国际预后指数评分 (IPI): 0 ~ 2 分 53 例, 3 ~ 4 分 29 例。以 30 例同期经病理检查明确为淋巴结反应性增生的病人的淋巴结组织作为正常对照组。所有病人自术后第 1 天开始随访, 随访时间 3 ~ 36 个月, 以门诊或电话的方式进行随访, 每 3 个月一次, 内容包括生存情况、疾病复发等, 随访终止时间为随访结束或出现死亡。

1.2 方法

1.2.1 实时荧光定量 PCR 检测 miR-17-5p 及 PTEN 的表达 收集术中新鲜获取 (离体 30 min 以内) 的组织, 置于冻存管内液氮中转运, 后置于 -80 °C 冰箱保存待测。切取 30 ~ 50 mg 组织, 加入 1 mL 的 Trizol 裂解组织细胞, 分别用三氯甲烷及异丙醇沉淀蛋白及 RNA, 加 1 mL 75% 乙醇溶解残留异丙醇, 12 000 r/min 离心 5 min 后弃上清液, RNA 沉淀干燥后应用 DEPC 水溶解, 紫外分光光度计鉴定 RNA 的浓度及纯度。以总 RNA 为模板, 进行反转录为 cDNA。以 cDNA 为模板进行反应, miR-17-5p 正向引物序列: 5'-CAA AGU GCU UAC AGU GCA GGU AG-3', 反向引物序列: 5'-CUA CCU GCA CUG UAA GCA CUU UG-3', 内参基因 β -actin 正向序列: 5'-AGA GCT ACG AGC TGC CTG AC-3', 反向序列: 5'-AGC ACT GTG TTG GCG TAC AG-3'; PTEN 正向引物序列: 5'-TGG ATT CGA CTT AGA CTT GAC CT-3', 下游引物序列: 5'-GGT GGG TTA TGG TCT TCA AAA GG-3', 以 GAPDH 作为内参照, 上游引物序列:

5'-ACA ACT TTG GTA TCG TGG AAG G-3',下游引物序列:5'-GCC ATC ACG CCA CAG TTT C-3'。反应条件为:96 ℃ 2 min,96 ℃ 变性 15 s,62 ℃ 退火 30 s,70 ℃ 延伸 10 s,变性退火延伸共 40 个循环。采用相对 Ct 值方法进行数据分析,目的基因 miR-17-5p 及 PTEN 的表达水平分别相对于内参基因 β -actin、GAPDH 的比值为 $2^{-\Delta Ct}$,计算公式 $\Delta Ct = Ct_{目的基因} - Ct_{内参}$ 。

1.2.2 转染 miR-17-5p 抑制剂和抑制剂对照对 DLBCL 细胞增殖和侵袭能力的影响 选取 SU-DHL-8 细胞系,应用含 10% 的胎牛血清的 RPMI-1640 培养基进行细胞培养。miR-17-5p 抑制剂和抑制剂对照由上海吉玛公司设计合成。使用 lipofectamine²⁰⁰⁰ 试剂进行转染,转染步骤参照 lipofectamine²⁰⁰⁰ 试剂盒说明书(Invitrogen 公司,美国)。MTT 法检测细胞转染后细胞增殖检测:将 SU-DHL-8 和 SU-DHL-10 两种细胞系以 1×10^4 个接种于 96 孔板,培养 24、48、72 及 96 h 每孔加入 MTT 染料 50 μ L,5 h 后离心去上清液,加入二甲基亚砷 150 μ L 溶解,用酶标仪在波长 490 nm 进行比色分析。转染侵袭能力检测:转染 48 h 后,将细胞接种于 Transwell 上室,下室加入胎牛血清,孵育 24 h 后,收集下层培养液,流式细胞计数细胞量。

1.3 统计学方法 采用 *t* 检验、方差分析、Pearson 线性相关分析和 Kaplan-Meier 生存分析。

2 结果

2.1 肿瘤组织和正常组织中 miR-17-5p 和 PTEN 的表达比较 肿瘤组织中 miR-17-5p 的相对表达量 (5.415 ± 0.486) 高于正常组织 (1.235 ± 0.210) ($t=45.48, P<0.01$);肿瘤组织中 PTEN 的相对表达量 (0.547 ± 0.131) 低于正常组织 (1.220 ± 0.201) ($t=20.67, P<0.01$)。Pearson 线性相关分析结果表明,肿瘤组织中 miR-17-5p 与 PTEN 的表达呈负相关($r = -0.612, P<0.01$)。

2.2 肿瘤组织中 miR-17-5p、PTEN 表达与临床病理特征的关系 病人肿瘤原发部位为节内、LDH ≤ 245 U/L、临床分期为 I ~ II 期 miR-17-5p 表达高于节外、LDH > 245 U/L、III ~ IV 期,PTEN 表达低于节外、LDH > 245 、III ~ IV 期,差异均有统计学意义 ($P<0.05 \sim P<0.01$),不同性别、年龄、组织学分类、B2M、分子分型、Hans 分型及 IPI 评分病人,miR-17-5p、PTEN 表达差异无统计学意义 ($P>0.05$) (见表 1)。

表 1 不同临床病理特征病人肿瘤组织中 miR-17-5p、PTEN 表达 ($\bar{x} \pm s$)

临床病理特征	<i>n</i>	miR-17-5p	PTEN
性别			
男	43	5.460 \pm 0.488	0.541 \pm 0.130
女	39	5.365 \pm 0.481	0.554 \pm 0.132
<i>t</i>	—	0.89	0.45
<i>P</i>	—	>0.05	>0.05
年龄/岁			
≤ 60	44	5.435 \pm 0.489	0.544 \pm 0.129
>60	38	5.392 \pm 0.482	0.551 \pm 0.134
<i>t</i>	—	0.40	0.24
<i>P</i>	—	>0.05	>0.05
组织学分类			
中心母细胞型	48	5.420 \pm 0.487	0.549 \pm 0.130
免疫母细胞型	18	5.413 \pm 0.486	0.546 \pm 0.129
其他	16	5.402 \pm 0.483	0.542 \pm 0.128
<i>F</i>	—	0.02	0.03
<i>P</i>	—	>0.05	>0.05
<i>MS</i> _{组内}	—	0.236	0.017
原发部位			
结内	69	5.319 \pm 0.482	0.562 \pm 0.133
结外	13	5.924 \pm 0.489	0.447 \pm 0.127
<i>t</i>	—	4.14	2.88
<i>P</i>	—	<0.01	<0.01
LDH/(U/L)			
≤ 245	40	5.136 \pm 0.480	0.595 \pm 0.135
>245	42	5.681 \pm 0.491	0.501 \pm 0.129
<i>t</i>	—	5.08	3.22
<i>P</i>	—	<0.01	<0.01
B2M/(mg/L)			
≤ 3	50	5.420 \pm 0.487	0.541 \pm 0.130
>3	32	5.407 \pm 0.485	0.556 \pm 0.132
<i>t</i>	—	0.12	0.51
<i>P</i>	—	>0.05	>0.05
临床分期			
I ~ II 期	40	4.787 \pm 0.480	0.564 \pm 0.135
III ~ IV 期	45	5.612 \pm 0.491	0.495 \pm 0.127
<i>t</i>	—	7.81	2.43
<i>P</i>	—	<0.01	<0.05
IPI 评分/分			
0 ~ 2	53	5.404 \pm 0.483	0.551 \pm 0.133
3 ~ 4	29	5.435 \pm 0.488	0.540 \pm 0.130
<i>t</i>	—	0.28	0.36
<i>P</i>	—	>0.05	>0.05
Hans 分型			
GCB	13	5.411 \pm 0.490	0.551 \pm 0.137
非 GCB	69	5.416 \pm 0.485	0.546 \pm 0.130

续表 1

临床病理特征	<i>n</i>	miR-17-5p	PTEN
<i>t</i>	—	0.03	0.13
<i>P</i>	—	>0.05	>0.05
分子分型			
生发中心型	31	5.423 ± 0.489	0.554 ± 0.140
非生发中心型	51	5.410 ± 0.485	0.543 ± 0.135
<i>t</i>	—	0.12	0.35
<i>P</i>	—	>0.05	>0.05

2.3 转染 miR-17-5p 抑制剂和抑制剂对照对 DLBCL 细胞增殖和侵袭能力的影响 SU-DHL-8 细胞系转染 miR-17-5p 抑制剂和抑制剂对照 48 h 后, PCR 检测 miR-17-5p 和 PTEN mRNA 表达, 结果与转染抑制剂对照相比, 转染 miR-17-5p 抑制剂的 SU-DHL-8 细胞 miR-17-5p 表达较低 (5.212 ± 0.475 和 1.012 ± 0.181 , $t = 26.13$, $P < 0.01$), 而 PTEN 表达较高 (0.503 ± 0.136 和 1.890 ± 0.211 , $t = 17.47$, $P < 0.01$)。MTT 增殖实验中, 与转染抑制剂对照相比, 转染 miR-17-5p 抑制剂的 SU-DHL-8 细胞在第 96 小时增殖能力均明显下降 ($P < 0.01$) (见表 2)。Transwell 小室实验中, 与转染抑制剂对照组细胞穿膜细胞数 (71.5 ± 10.6) 比较, 转染 miR-17-5p 抑制剂组 (50.3 ± 7.6) 明显减少 ($t = 3.63$, $P < 0.05$)。

表 2 各组细胞增殖能力 (吸光度) 比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	0 h	48 h	72 h	96 h
抑制剂组	0.73 ± 0.12	1.12 ± 0.26	1.97 ± 0.39	2.25 ± 0.36
抑制剂对照组	0.71 ± 0.13	1.35 ± 0.28	2.19 ± 0.41	3.16 ± 0.44
<i>t</i>	0.25	1.35	0.87	3.58
<i>P</i>	>0.05	>0.05	>0.05	<0.01

2.4 肿瘤组织中 miR-17-5p、PTEN 表达与病人预后关系 以 miR-17-5p 的平均数 5.415 为截点, 分为高 miR-17-5p 表达组和低表达组, 3 年总体生存率 (OS) 分别为 42.5% (17/40)、71.4% (30/42), Kaplan-Meier 分析 (log-rank 检验) 表明高 miR-17-5p 组病人 3 年 OS 低于低 miR-17-5p 表达组病人, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 3.87$, $P < 0.05$)。以 PTEN 平均数 0.547 为截点, 高 PTEN 表达组 41 例, 低 PTEN 表达组 41 例, 3 年 OS 分别为 37.5% (15/41)、78.0% (32/41), 低 PTEN 表达组病人 3 年 OS 低于高 PTEN 表达组病人, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 6.12$, $P < 0.05$) (见图 1)。

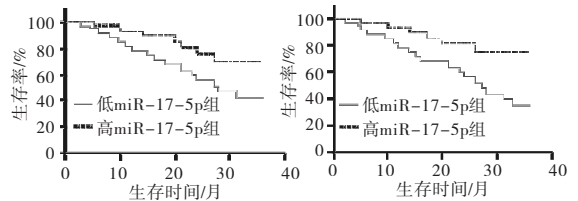


图 1 不同 miR-17-5p、PTEN 表达水平对 DLBCL 病人预后影响

3 讨论

DLBCL 是 B 淋巴细胞恶性增生性疾病。随着我国步入老龄化社会, DLBCL 的发病率、死亡率有逐渐上升的趋势, 威胁人们健康^[9]。深入研究 DLBCL 发生发展的分子机制, 对 DLBCL 的诊断和治疗具有重要的临床意义^[10]。miR 是长度 19 ~ 25 个核苷酸的非编码 RNA 分子。在 RNA 聚合酶的作用下 mi 基因转录为初始 miR, 在 RNA 聚合酶 II 和 Dicer 酶作用后形成成熟的 miR, 形成 RNA 诱导的沉默复合物后, 与靶基因信使 RNA 的 3' 非编码区特异性结合, 影响靶基因 mRNA 翻译。miR-17-5p 在肺癌^[11]、鼻咽癌^[12] 等多种肿瘤中存在异常表达上调的现象, 通过直接影响癌基因如 P21 等的表达, 影响肿瘤细胞的增殖、凋亡和浸润转移等过程。本研究中, DLBCL 肿瘤组织中 miR-17-5p 的相对表达量明显高于正常组织, 表明 DLBCL 肿瘤组织中 miR-17-5p 表达增加。其表达增加的机制可能与肿瘤发生时长链非编码 RNA (LncRNA) H19 通过对 miR-17-5p 基因表达及功能调控有关。LncRNA H19 能够作为内源竞争性 RNA 表达抑制 miR-17-5p 的表达及功能, 进而抑制 miR-17-5p 下游癌基因如 YES1 基因的表达, 而肿瘤发生时 LncRNA H19 表达降低, 导致 miR-17-5p 表达增加, 促进肿瘤细胞的增殖^[13]。本研究中, III ~ IV 期病人肿瘤组织中 miR-17-5p 表达明显高于 I ~ II 期癌组织, 表明 miR-17-5p 表达与肿瘤分期有关。其机制可能与 miR-17-5p 的表达对抑癌基因表达的抑制作用有关。研究^[14-15] 表明, miR-17-5p 能直接结合并抑制抑癌基因 Rb 信使 RNA 表达, 导致与 Rb 结合的转录因子 E2F1 水平增加, 通过促进下游癌基因的表达, 促进肿瘤细胞的增殖、浸润和转移。本研究在 DLBCL 体外细胞实验中进一步证实, 通过 miR-17-5p 抑制剂抑制 miR-17-5p 表达后, 肿瘤细胞的增殖和侵袭能力明显减弱, 表明 miR-17-5p 可能是影响 DLBCL 增殖和浸润的关键因子。本研究中进一步分析不同 miR-17-5p 表达水平病人 3 年 OS 的差别, 结果高表

达组病人 3 年 OS 明显低于低表达组病人,表明 miR-17-5p 能够成为提示 DLBCL 病人预后的肿瘤标志物。

PTEN 是人类癌症中最常见的突变肿瘤抑制基因之一。其编码的 PTEN 蛋白属于蛋白酪氨酸磷酸酶家族的成员,能去除肌醇环中的磷酸基团,如 PTEN 能使磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸(PIP3)去磷酸化为磷脂酰肌醇(4,5)二磷酸酯。PIP3 作为细胞中的重要脂质第二信使,能够激活下游 Akt 和其他信号分子,促进细胞增殖、血管生成、细胞迁徙等生物学行为^[16]。乳腺癌^[17]、黑色素瘤^[18]等恶性肿瘤中发现 PTEN 表达降低的现象,促进肿瘤的发生发展,与 PTEN 基因突变、染色体杂合型缺失及转录后调控异常等因素有关。本研究中,肿瘤组织中 PTEN 表达明显降低,其机制可能与 PTEN 基因启动子区的表观遗传学修饰,如甲基化、乙酰化修饰有关。如 PTEN 基因启动子区甲基化导致 PTEN 表达降低,导致 PI3K/Akt 信号通路的过度激活,促进肿瘤细胞的恶性增殖^[19]。此外,PTEN 基因的表达与 DLBCL 肿瘤分期有关,Ⅲ~Ⅳ期病人肿瘤组织中 PTEN 基因的表达明显较低,其机制可能是高分期肿瘤组织中调控 PTEN 表达的 miR 表达升高更为明显。研究表明,高分期肿瘤中 miR-106b、miR-93 等多种微小 RNA 表达升高更为显著,miR-106b、miR-93 等通过结合并降低 PTEN 信使 RNA 的稳定性,导致 PTEN 表达水平显著降低^[20-21]。本研究中,DLBCL 癌组织中 miR-17-5p 与 PTEN 表达明显呈负相关,在体外细胞实验中,转染 miR-17-5p 抑制剂的 DLBCL 细胞 miR-17-5p 表达下降的同时,PTEN 的相对表达量明显升高,表明 PTEN 的表达可能受到 miR-17-5p 的调控。有研究^[22]报道,卵巢癌中 miR-17-5p 能够结合 PTEN 的信使 RNA 3'UTR 区,进而促进 PTEN 信使 RNA 的降解,而应用 shRNA 抑制 miR-17-5p 表达后,PTEN 表达升高,结果抑制肿瘤的恶性进展。

综上所述,DLBCL 肿瘤组织中 miR-17-5p 表达升高,而 PTEN 表达降低,两者与 DLBCL 的肿瘤分期及预后有关,可能参与 DLBCL 的发生发展的过程,但两者的相互作用机制及临床意义尚需要进一步深入研究。

[参 考 文 献]

- [1] CHIAPPELLA A, CASTELLINO A, NICOLOSI M, *et al.* Diffuse large B-cell lymphoma in the elderly: standard treatment and new perspectives[J]. *Expert Rev Hematol*, 2017, 10(4): 289.
- [2] KUBUSCHOK B, HELD G, PFREUNDSCHUH M. Management of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) [J]. *Cancer Treat Res*, 2015, 165: 271.
- [3] CUI X, LI Q, HE Y. miR-3117 regulates hepatocellular carcinoma cell proliferation by targeting PHLPLP [J]. *Mol Cell Biochem*, 2017, 424(1/2): 195.
- [4] MCGUIRE A, BROWN JA, KERIN MJ. Metastatic breast cancer: the potential of miRNA for diagnosis and treatment monitoring [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2015, 34(1): 145.
- [5] 吴莹莹,高波,丁跃明,等. miR-17-5p 在肿瘤中作用的研究进展[J]. *中国肿瘤临床*, 2016, 43(3): 130.
- [6] JEFFERIES MT, COX AC, SHORNING BY, *et al.* PTEN loss and activation of K-RAS and β -catenin cooperate to accelerate prostate tumorigenesis [J]. *J Pathol*, 2017, 243(4): 442.
- [7] 任妮丽,胡俊华,吴方毅. miR-17-5p 通过靶定 PTEN 调节结肠癌细胞增殖、侵袭和迁移能力的研究[J]. *解放军医药杂志*, 2015(7): 56.
- [8] HANS CP, WEISENBURGER DD, GREINER TC, *et al.* Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray [J]. *Blood*, 2004, 103(1): 275.
- [9] 佟丹江. 弥漫大 B 细胞淋巴瘤的流行病学分析[J]. *中国现代药物应用*, 2016, 10(8): 46.
- [10] COIFFIER B, SARKOZY C. Diffuse large B-cell lymphoma: R-CHOP failure-what to do? [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2016(1): 366.
- [11] ZHANG W, LIN J, WANG P, *et al.* miR-17-5p down-regulation contributes to erlotinib resistance in non-small cell lung cancer cells [J]. *J Drug Target*, 2017, 25(2): 125.
- [12] CHEN C, LU Z, YANG J, *et al.* MiR-17-5p promotes cancer cell proliferation and tumorigenesis in nasopharyngeal carcinoma by targeting p21 [J]. *Cancer Med*, 2016, 5(12): 3489.
- [13] LIU L, YANG J, ZHU X, *et al.* Long noncoding RNA H19 competitively binds miR-17-5p to regulate YES1 expression in thyroid cancer [J]. *FEBS J*, 2016, 283(12): 2326.
- [14] KONKRITE K, SUNDBY M, MUKAI S, *et al.* miR-17 ~ 92 cooperates with RB pathway mutations to promote retinoblastoma [J]. *Genes Dev*, 2011, 25(16): 1734.
- [15] TAN W, LI Y, LIM SG, *et al.* miR-106b-25/miR-17-92 clusters: polycistrons with oncogenic roles in hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(20): 5962.
- [16] KECHAGIOGLOU P, PAPI RM, PROVATOPOULOU X, *et al.* Tumor suppressor PTEN in breast cancer: heterozygosity, mutations and protein expression [J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(3): 1387.
- [17] NGEOW J, SESOCK K, ENG C. Breast cancer risk and clinical implications for germline PTEN mutation carriers [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2017, 165(1): 1.
- [18] DANKORT D, CURLEY DP, CARTLIDGE RA, *et al.* Braf (V600E) cooperates with Pten loss to induce metastatic melanoma [J]. *Nat Genet*, 2009, 41(5): 544.
- [19] TEKCHAM DS, GUPTA S, SHRIVASTAV BR, *et al.* Epigenetic downregulation of PTEN in gallbladder cancer [J]. *J Gastrointest Cancer*, 2017, 48(1): 110.

丹参酮提取物对阿尔茨海默病模型大鼠的干预效果及作用机制研究

李志海¹, 杨勤珍², 木崇仙³

[摘要] **目的:**探究丹参酮提取物对阿尔茨海默病模型大鼠的干预效果及作用机制。**方法:**选取 40 只 SD 健康雄性大鼠, 随机选取 10 只作为正常组, 其余 30 只建立阿尔兹海默病模型, 并分为模型组、低剂量组、高剂量组。低剂量组、高剂量组大鼠分别使用 10 g/L、30 g/L 丹参酮提取物溶液进行灌胃, 正常组、模型组大鼠使用 0.9% 氯化钠溶液进行灌胃。对各组大鼠学习记忆能力进行测试, 酶联免疫吸附实验法检测白细胞介素(IL)-4、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平, 流式细胞仪检测各组大鼠海马区细胞凋亡情况, Western blotting 法检测 Bcl-2、Bax、caspase-3 表达。**结果:**模型组逃避潜伏期长于正常组($P < 0.01$), 穿越平台次数低于正常组($P < 0.01$); 高剂量组大鼠逃避潜伏期低于模型组和低剂量组($P < 0.01$), 穿越平台次数多于模型组和低剂量组($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$)。hs-CRP、TNF- α 、IL-4 水平由高到低的排序依次为: 模型组、高剂量组、低剂量组和正常组($P < 0.01$)。4 组之间不同时间点海马区细胞凋亡率由高到低的排序依次为: 模型组、低剂量组、高剂量组和正常组($P < 0.01$)。Bcl-2 的表达量在 4 组之间由高到低的排序依次为: 正常组、高剂量组、低剂量组和模型组($P < 0.01$); Bax 与 caspase-3 的表达量在 4 组之间由高到低的排序依次均为: 模型组、低剂量组、高剂量组和正常组($P < 0.01$)。**结论:**使用丹参酮提取物对阿尔兹海默病模型大鼠进行干预, 能够提升阿尔兹海默病大鼠学习记忆能力, 减轻脑组织炎症反应, 调控细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax、caspase-3 相对表达量, 抑制阿尔兹海默病大鼠海马区细胞凋亡, 具有一定神经元保护作用。

[关键词] 阿尔兹海默病; 丹参酮提取物; 炎症反应; 细胞凋亡; 大鼠

[中图分类号] R 741

[文献标志码] A

DOI:10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.12.004

Study on the intervention effects of tanshinone extract on Alzheimer's disease model rats and its mechanism

LI Zhi-hai¹, YANG Qin-zhen², MU Chong-xian³

(1. Department of Neurology, Yunnan Geriatrics Hospital, Kunming Yunnan 650011; 2. Department of Psychiatry, Yunnan Provincial Hospital for Infectious Diseases, Kunming Yunnan 650301; 3. Department of Neurology, The First People's Hospital of Kunming, Kunming Yunnan 650051, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the intervention effects of tanshinone extract on Alzheimer's disease model rats and its mechanism.

Methods: Forty healthy male SD rats were randomly divided into the normal group, model group, low-dose group and high-dose group (10 rats in each group). The low-dose group and high-dose group were given 10 g/L and 30 g/L tanshinone extract by intragastric administration, respectively. The normal group and model group were given 0.9% sodium chloride solution by intragastric administration. The learning and memory ability in each group were tested. The levels of interleukin4 (IL-4), high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected using enzyme-linked immunosorbent assay, the apoptosis of hippocampal cells in each group was detected using flow cytometry, and the protein expression levels of Bcl-2, Bax and caspase-3 were detected using Western blotting. **Results:** The latency of escape in model group was longer than that in normal group ($P < 0.01$), and the number of crossing platform in model group was lower than that in normal group ($P < 0.01$). The escape latency in high-dose group

was lower than that in model group and low-dose group ($P < 0.01$), and the number of crossing platform in high-dose group was more than that in model group and low-dose group ($P < 0.01$ and $P < 0.05$). The order of hs-CRP, TNF- α and IL-4 levels from high to low was as follows: model group, high-dose

[收稿日期] 2019-10-23 [修回日期] 2020-05-21

[作者单位] 1. 云南省老年病医院 神经内科, 云南昆明 650011;
2. 云南省传染病专科医院 精神科, 云南昆明 650301;
3. 云南省昆明市第一人民医院 神经内科, 650051

[作者简介] 李志海(1974-), 男, 回族, 主治医师。

[20] LI N, MIAO Y, SHAN Y, et al. MiR-106b and miR-93 regulate cell progression by suppression of PTEN via PI3K/Akt pathway in breast cancer[J]. Cell Death Dis, 2017, 18; 8(5): e2796.

[21] 肖长艳, 郭子健, 曹磊, 等. Mir-106b 表达与食管鳞状细胞癌的关系[J]. 南方医科大学学报, 2016, 36(12): 1667.

[22] FANG Y, XU C, FU Y. MicroRNA-17-5p induces drug resistance and invasion of ovarian carcinoma cells by targeting PTEN signaling[J]. J Biol Res(Thessalon), 2015, 22: 12.

(本文编辑 刘梦楠)