

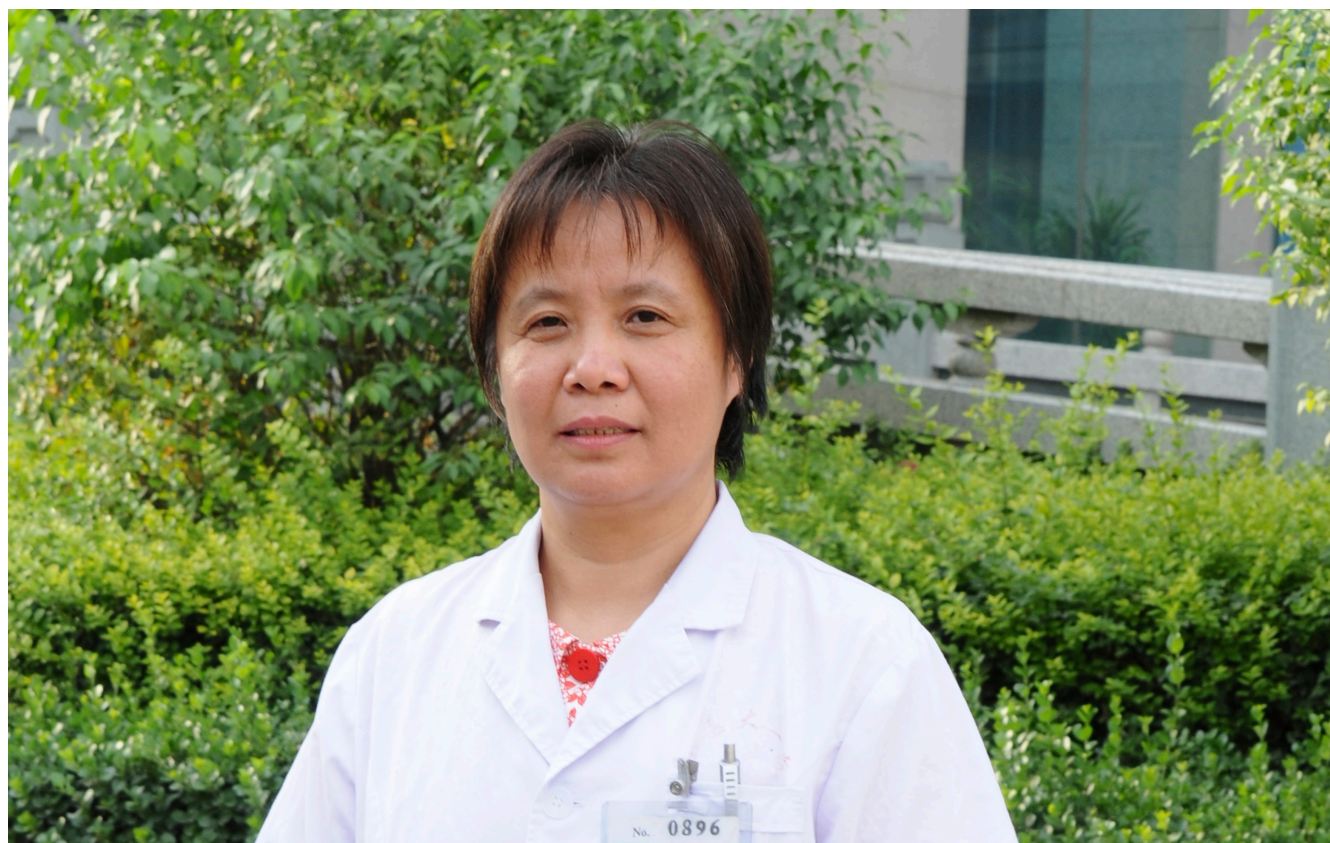
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2021 年 8 月 8 日 第 29 卷 第 15 期 (Volume 29 Number 15)



15 / 2021

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议、开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录。



述评

- 835 新型肝内胆管结石病临床病理分型和治疗体系之我见
陈晓鹏
- 841 靶向肠道菌群治疗胃肠疾病研究进展
邵好青, 谭周进

基础研究

- 849 COPB2表达对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响
卢军, 董麒麟, 沈壮虹

临床研究

- 858 幽门螺杆菌感染与结直肠癌EMT的相关性研究
楼何飞, 马春梅, 傅英芝, 张术
- 866 经内镜逆行胰胆管造影术在治疗合并消化道狭窄的胆胰疾病患者中的应用价值
王维钊, 向晓星, 刘军, 邓登豪, 王璐, 陈娟, 陈炜炜, 柴海娜, 孙超, 吴莹莹, 徐庆成, 陈功, 韩维维, 陈超伍, 倪修凡, 任天棋
- 873 循环视黄醇结合蛋白预测急性胰腺炎局部并发症的临床价值的初步探讨
董小武, 魏梅, 马楠, 陆莹莹, 谢晓纯, 施笑蕾, 董杰, 马孝杰, 李百强, 童智慧, 李维勤
- 880 艾迪莎治疗轻中度溃疡性结肠炎的有效性及安全性的Meta分析
凌方梅, 陆斐楠, 王胜难, 朱良如

文献综述

- 893 炎症性肠病治疗中生物制剂的个体化选择
容加梅, 罗娟, 黄奇, 缪应雷
- 901 谷胱甘肽在肿瘤细胞发生铁死亡过程中的作用研究
杨凤娟, 谭宁, 张天禹, 程潭

临床实践

- 908 “医养结合-四元联动”整合照护的全流程闭环护理模式在乙型肝炎肝硬化失代偿患者中的应用
夏晨曦, 李兴兴, 郑莹, 吴晨丹

消 息

- 840 《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯
- 865 《世界华人消化杂志》正文要求
- 892 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
- 900 《世界华人消化杂志》参考文献要求

封面故事

朱新宇, 教授, 硕士生导师, 山西医科大学第一医院首席专家. 任山西省医学会感染病学专业委员会常委、山西省医师协会感染病医师分会常委、山西省医师协会细胞免疫医师分会常委、全国肝胆病咨询专家、北京亚太肝病诊疗技术联盟山西联盟副理事长、山西省医学会医疗事故技术鉴定专家、山西省医疗保险评审专家、山西省突发公共卫生事件专家委员会专家, 荣立抗击“非典”二等功, 从事感染病临床、教学及科研工作40年, 在科研工作中一直从事隐匿性肝病基础与临床研究, 主持承担各级科研项目4项, 两项科研成果经山西省科学技术委员会鉴定为国际先进, 近年发表科研论文三十余篇, 撰写科技专著4部.

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇;
形式规范审核编辑部主任 李香; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2021-08-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

王金磊, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjgd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路
62号, 远洋国际中心D座903室
电话: +86-10-85381892

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 29 Number 15 August 8, 2021

EDITORIAL

- 835 New clinical pathological classification and treatment system for hepatolithiasis
Chen XP
- 841 Microbiota-targeted therapeutics in gastrointestinal diseases
Shao HQ, Tan ZJ

BASIC RESEARCH

- 849 Effect of COPB2 expression on proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells
Lu J, Dong QF, Shen ZH

CLINICAL RESEARCH

- 858 Relationship between *Helicobacter pylori* infection and epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer
Lou HF, Ma CM, Fu YZ, Zhang S
- 866 Value of endoscopic retrograde cholangiopancreatography in treatment of patients with biliary and pancreatic diseases with digestive tract stricture
Wang WZ, Xiang XX, Liu J, Deng DH, Wang L, Chen J, Chen WW, Chai HN, Sun C, Wu YY, Xu QC, Chen G, Han WW, Chen CW, Ni XF, Ren TQ
- 873 Decreased circulating retinol binding protein is an independent risk factor for local complications of acute pancreatitis
Dong XW, Wei M, Ma N, Lu YY, Xie XC, Shi XL, Dong J, Ma XJ, Li BQ, Tong ZH, Li WQ
- 880 Efficacy and safety of Etiasa for treatment of mild-to-moderate ulcerative colitis: A Meta-analysis
Ling FM, Lu FN, Wang SN, Zhu LR

REVIEW

- 893 Individualized selection of biological agents in treatment of inflammatory bowel disease
Rong JM, Luo J, Huang Q, Miao YL
- 901 Role of glutathione in ferroptosis of tumor cells
Yang FJ, Tan N, Zhang TY, Cheng Tan

CLINICAL PRACTICE

- 908 Application of whole-closed-loop nursing model of "integration of medical and nursing care-quaternary linkage" in decompensated patients with hepatitis B liver cirrhosis
Xia CX, Li XX, Zheng Y, Wu CD

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 29 Number 15 August 8, 2021

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Xin-Yu Zhu, Supervisor of Postgraduate, Professor, Department of Infectious Diseases, The First Hospital of Shanxi Medical University, No. 85 Jiefang South Road, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. zxy6608056@163.com

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang* Review Editor: *Yan-Liang Zhang*
Production Editor: *Yan-Liang Zhang* English Language Editor: *Tian-Qi Wang*
Proof Editor: *Xiang Li* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date August 8, 2021

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi,

Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Jin-Lei Wang, Director
World Chinese Journal of Digestology
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: wjcd@wjgnet.com
<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

COPB2表达对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响

卢军, 董麒麟, 沈壮虹

卢军, 浙江中医药大学附属江南医院杭州市萧山区中医院药剂科 浙江省杭州市 311200

董麒麟, 浙江中医药大学附属江南医院杭州市萧山区中医院普外科 浙江省杭州市 311200

沈壮虹, 浙江中医药大学附属江南医院杭州市萧山区中医院肿瘤内科 浙江省杭州市 311200

卢军, 本科, 主管药师, 主要从事肿瘤疾病相关的临床药学研究.

作者贡献分布: 此课题由卢军和董麒麟设计; 研究过程由卢军和沈壮虹操作完成; 研究所用试剂由卢军和董麒麟提供; 数据分析由卢军和董麒麟完成; 论文写作由卢军完成; 文章修订由董麒麟和沈壮虹完成.

通讯作者: 卢军, 本科, 主管药师, 311200, 浙江省杭州市萧山区育才路156号, 浙江中医药大学附属江南医院杭州市萧山区中医院药剂科. ljunfp52@126.com

收稿日期: 2021-04-16

修回日期: 2021-06-12

接受日期: 2021-07-07

在线出版日期: 2021-08-08

Effect of COPB2 expression on proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells

Jun Lu, Qi-Feng Dong, Zhuang-Hong Shen

Jun Lu, Department of Pharmacy, Jiangnan Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medicine University Hangzhou Xiaoshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 311200, Zhejiang Province, China

Qi-Feng Dong, Department of General Surgery, Jiangnan Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medicine University Hangzhou Xiaoshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 311200, Zhejiang Province, China

Zhuang-Hong Shen, Department of Medical Oncology, Jiangnan Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medicine University Hangzhou Xiaoshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 311200, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Jun Lu, Bachelor degree, Pharmacist-in-Charge, Department of Pharmacy, Jiangnan Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medicine University Hangzhou Xiaoshan Hospital of Traditional Chinese

Medicine, No. 156 Yucai Road, Xiaoshan District, Hangzhou 311200, Zhejiang Province, China. ljunfp52@126.com

Received: 2021-04-16

Revised: 2021-06-12

Accepted: 2021-07-07

Published online: 2021-08-08

Abstract

BACKGROUND

Coatamer protein complex subunit beta 2 (COPB2) is involved in the regulation of malignant biological behavior of various tumor cells. However, its expression and clinical significance in gastric cancer are still unclear.

AIM

To investigate the effects of COPB2 on the proliferation, invasion, and migration of gastric cancer cells and the possible mechanism.

METHODS

Immunohistochemical method was used to observe the expression of COPB2 in gastric cancer and adjacent tissues. Western blot was used to detect the expression of COPB2 protein in gastric cancer tissues and gastric cancer cell lines (SGC-7901, MKN45, and AGS). After transfection of COPB2-shRNA and its corresponding negative control (Con-shRNA), and pcDNA-COPB2 and its corresponding negative control (pcDNA-Con) into SGC-7901 cells, the effects of knockdown or overexpression of COPB2 on the proliferation, colony formation, migration, and invasion ability of gastric cancer cells were analyzed by CCK-8 assay, cell colony formation assay, and Transwell assay, and the effect of knockdown or overexpression of COPB2 on AKT signaling in gastric cancer cells was detected by Western blot. A tumor xenograft model was established to detect the effect of knockdown of COPB2 on tumor growth.

RESULTS

Compared with adjacent tissues and normal gastric epithelial cells (GES-1), the expression of COPB2 protein

was significantly increased in gastric cancer tissues and gastric cancer cell lines (SGC-7901, MKN45, and AGS). Knockdown of COPB2 inhibited the proliferation, colony formation, migration, and invasion of SGC-7901 and the expression of p-Akt protein, while overexpression of COPB2 showed the opposite effect. In addition, knockdown of COPB2 inhibited SGC-7901 cell growth *in vivo* in a tumor xenograft model.

CONCLUSION

Knockdown of COPB2 expression can inhibit the proliferation, invasion, and metastasis of gastric cancer cells, and this effect may be related to the inhibition of AKT signaling activity.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: COPB2; Gastric cancer; Migration; Invasion; Proliferation

Citation: Lu J, Dong QF, Shen ZH. Effect of COPB2 expression on proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(15): 849-857

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i15/849.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i15.849>

摘要

背景

外被体蛋白复合物β2亚基(coatamer protein complex subunit beta 2, COPB2)可参与调节多种肿瘤细胞的恶性生物学行为, 而其在胃癌中表达和临床意义仍不完全明确。

目的

探究COPB2对胃癌细胞增殖、侵袭和迁移能力的影响及其机制。

方法

采用免疫组化法观察COPB2在胃癌组织和癌旁组织中的表达情况。采用Western blot检测胃癌组织和胃癌细胞系(SGC-7901、MKN45和AGS)中COPB2蛋白的表达情况。将COPB2-shRNA及其相应的阴性对照(Con-shRNA)、pcDNA-COPB2及其相应的阴性对照(pcDNA-Con)转染到SGC-7901细胞后, 采用CCK-8法、细胞集落形成法和Transwell法分析敲低或过表达COPB2对胃癌细胞增殖、集落形成、迁移和侵袭能力的影响; 采用Western blot检测敲低或过表达COPB2对胃癌细胞中Akt信号的影响。建立肿瘤异体移植模型, 检测敲低COPB2对瘤体生长能力的影响。

结果

相对于癌旁组织和正常人胃上皮细胞GES-1, 胃癌组织和胃癌细胞系(SGC-7901、MKN45和AGS)中COPB2蛋白表达均显著升高。敲低COPB2能抑制

SGC-7901增殖、集落形成、迁移与侵袭的能力和p-Akt的蛋白表达, 而过表达COPB2则呈现相反作用。另外, 肿瘤异体移植模型实验证实敲低COPB2能抑制SGC-7901细胞在体内的生长。

结论

敲低COPB2表达可抑制胃癌细胞增殖、侵袭转移, 且这一作用可能与其抑制Akt信号活性相关。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 外被体蛋白复合物β2亚基; 胃癌; 迁移; 侵袭; 增殖

核心提要: 外被体蛋白复合物β2亚基(coatamer protein complex subunit beta 2, COPB2)在胃癌中表达上调, 而敲低COPB2表达可抑制胃癌细胞增殖、迁移和侵袭能力; 另外, 本研究提示, 靶向COPB2可能会是胃癌的一个潜在的治疗策略。

文献来源: 卢军, 董麒麟, 沈壮虹. COPB2表达对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响. *世界华人消化杂志* 2021; 29(15): 849-857

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i15/849.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i15.849>

0 引言

在我国, 由于胃癌的临床前筛查率低, 使其已成为导致癌症死亡的主要原因^[1]。目前, 随着治疗技术和方法的改进, GC患者的长期生存率尽管有所提高, 但中晚期患者的复发率和死亡率仍然居高不下^[2]。而, 深入探索影响胃癌进展的分子靶点有可能为开发新的胃癌疗法和提高患者生存率提供新的策略。

外被体蛋白复合物β2亚基(coatamer protein complex subunit beta 2, COPB2)是构成高尔基体的外被体包被蛋白复合体I, 主要负责细胞内高尔基体和内质网间的囊泡转运^[3,4]。而, 内质网和高尔基体的完整性对维持细胞稳态具有重要意义。近来研究发现, COPB2除参与囊泡运输外, 还参与细胞周期调控^[5]和细胞凋亡^[6,7]。特别是最近的研究显示, COPB2可参与调节肺癌、结肠癌和前列腺癌等多种肿瘤的发生和进展^[5,8,9]。然而, COPB2在胃癌中表达和临床意义仍不完全明确。因此, 本实验探索COPB2在胃癌组织和胃癌细胞系中的表达情况, 随后探讨COPB2对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及其初步机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 胃癌组织与癌旁组织样本的收集: 本研究经过伦理委员会批准, 所有患者均提供书面同意。收集10例接受

胃癌切除术的患者的胃癌组织和配对的癌旁组织。

1.2 方法

1.2.1 细胞系、裸鼠和实验试剂: 人正常胃上皮细胞(GES-1)和胃癌细胞(SGC-7901、MKN45、AGS)购自中国科学院上海细胞生物研究所。10只6-7周龄SPF级雄性BALB/c裸鼠购于浙江维通利华实验动物技术有限公司。胎牛血清(FBS)、Dulbecco改良版Eagle培养基(DMEM)购于美国Life Technologies公司; Lipofectamine™ 2000和Trizol试剂购于美国Invitrogen公司; RIPA、CCK-8细胞计数试剂盒、BCA试剂盒和GAPDH抗体购于上海碧云天生物科技有限公司; COPB2和Ki67抗体购自英国Abcam公司; p-Akt和Akt抗体购自美国CST公司; COPB2-shRNA的慢病毒载体和对照shRNA慢病毒载体(Con-shRNA)购自上海吉玛基因公司; pcDNA-COPB2和对照pcDNA载体(pcDNA-Con)购自上海吉凯基因公司。

1.2.2 细胞培养与转染: 将GES-1、SGC-7901、MKN45和AGS细胞接种在含10%FBS的DMEM培养基中, 置于细胞孵箱中培养。

将SGC-7901细胞按 2×10^5 个/孔接种至24孔板中, 次日, 将培养基更换为含6 μ g/mL聚凝胺培养基并分别加入30 MOI的COPB2-shRNA和Con-shRNA, 48 h后加入嘌呤霉素筛选1 wk, 用Western blot检测COPB2的相对表达, 以评估稳转细胞的转染效果。

将SGC-7901细胞按 5×10^5 个/孔接种至6孔板中, 待细胞约80%融合时, 用Lipofectamine™ 2000分别转染pcDNA-Con和pcDNA-COPB2, 48 h后, 用Western blot检测COPB2的相对表达, 以评估瞬时转染细胞的转染效果。

1.2.3 蛋白质免疫印迹(Western blot): 在冰上用RIPA裂解细胞, 并在4 $^{\circ}$ C下以 1.2×10^4 g离心10 min收集蛋白溶液。用BCA试剂盒对蛋白溶液定量后, 每样本取40 μ g蛋白样品, 通过SDS-PAGE电泳分离并转移至PVDF膜。封闭膜后, 在4 $^{\circ}$ C下将膜与一抗[p-Akt (1:1000)、COPB2和Akt (均1:2000)、GAPDH (1:5000)]一起孵育过夜。洗膜后, 在室温下将膜与二抗一起孵育1 h。再次洗膜后, 通过增强的化学发光试剂盒对条带显影。用Image J软件对COPB2的表达进行定量。

1.2.4 细胞增殖测定: 将已转染的SGC-7901细胞按 5×10^3 个/孔接种至96孔板中, 培养24、48和72 h, 加入CCK-8试剂并孵育2.5 h, 用酶标仪检测490 nm波长的吸光度OD值。

1.2.5 细胞集落形成测定: 将已转染的SGC-7901细胞按1000个/mL的细胞密度接种于6孔板中, 每3 d换液一次, 两周后, 用甲醇固定细胞后, 用姬姆萨染色, 对细胞集落(肉眼可见或显微镜下大于50个细胞簇)进行计数。

1.2.6 细胞迁移和侵袭测定: 将已转染的SGC-7901细胞用

无血清培养基制备成 2×10^4 个/mL的细胞悬液。细胞迁移测定: 取200 μ L细胞悬液加入transwell板的上室中, 600 μ L含10% FBS的培养基加入下室。细胞侵袭测定: 取200 μ L细胞悬液加入基质胶涂覆膜的transwell板的上室中, 600 μ L含10% FBS的培养基加入下室。培养24 h后, 分别取出上室, 擦除膜的上表层的细胞, 然后甲醇固定膜的下表层的细胞并用结晶紫染色。在显微镜下对染色的细胞进行拍照并计数。

1.2.7 肿瘤异体移植模型: 本研究经过动物伦理委员会批准。将稳转COPB2-shRNA或Con-shRNA的SGC-7901细胞分别接种于BALB/c裸鼠的颈部皮下, 每只小鼠接种 5×10^6 个细胞。接种后, 每5天测量一次瘤体体积($V(\text{mm}^3) = \text{长} \times \text{宽} \times \text{高} \times 0.5$)。第15天, 麻醉并处死小鼠, 分离瘤体组织。

1.2.8 免疫组织化学(IHC): 取临床样本组织和肿瘤异体移植模型瘤体组织, 分别用4%多聚甲醛固定后, 用常规石蜡包埋法包埋组织。石蜡组织切为4 μ m后的切片, 然后用二甲苯脱蜡和梯度分级的乙醇再水化后, 用3%的过氧化氢处理以阻断内源性过氧化物酶活性。将切片放入0.01 mol/L柠檬酸钠缓冲液(pH 6.0)中在微波炉中煮沸5 min以修复抗原。切片用10%的正常山羊血清封闭后, 在4 $^{\circ}$ C下与一抗(COPB2和Ki67, 1:200; p-Akt, 1:100)孵育过夜。用PBS清洗组织切片后, 在室温下与生物素标记二抗(1:200)孵育30 min。用PBS清洗组织切片后, 在室温下与链霉亲和素-辣根过氧化物酶复合物(1:200)孵育45 min。用PBS清洗组织切片后, 用DAB显色和苏木素复染后, 常规脱水、封片和显微镜下观察。

统计学处理 采用GraphPad Prism 6软件将实验中所获得的数据进行统计分析。数据用均数 \pm 标准差(mean \pm SD)表示, 两组之间比较采用 t 检验, 多组之间比较采用单因素方差分析; 以 $P < 0.05$ 为界限判断有无统计学意义。

2 结果

2.1 COPB2在胃癌组织和癌细胞系中表达情况 免疫组化染色(图1A)显示, COPB2在癌旁组织阴性表达, 而在胃癌组织中呈现弥漫强阳性表达。Western blot结果(图1B)显示, 相对于正常胃上皮细胞系GES-1, COPB2在3种胃癌细胞系蛋白表达水平平均升高($P < 0.01$)。

2.2 敲低和过表达COPB2效果的验证 通过Western blot分析COPB2-shRNA及pcDNA-COPB2的转染效率, 结果(图2)表明, 相对于Con-shRNA组, COPB2-shRNA组的SGC-7901细胞中COPB2蛋白表达降低(图2A, $P < 0.01$); 相对于pcDNA-Con组, pcDNA-COPB2组的SGC-7901细胞中COPB2蛋白表达增加(图2B, $P < 0.01$)。

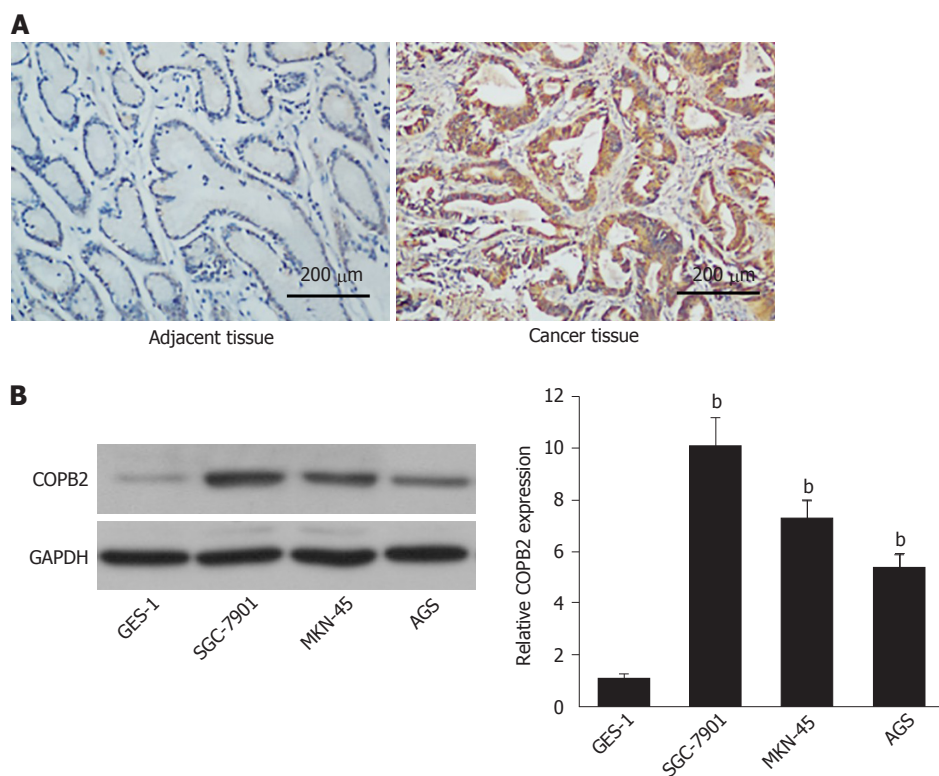


图 1 COPB2在胃癌组织和胃癌细胞系中表达情况. A: 免疫组化检测癌旁组织及胃癌组织中COPB2表达的代表性图. B: Western blot检测正常胃上皮细胞系及胃癌细胞系中COPB2蛋白水平, 与GES-1细胞比较: ^b $P < 0.01$; $n = 3$.

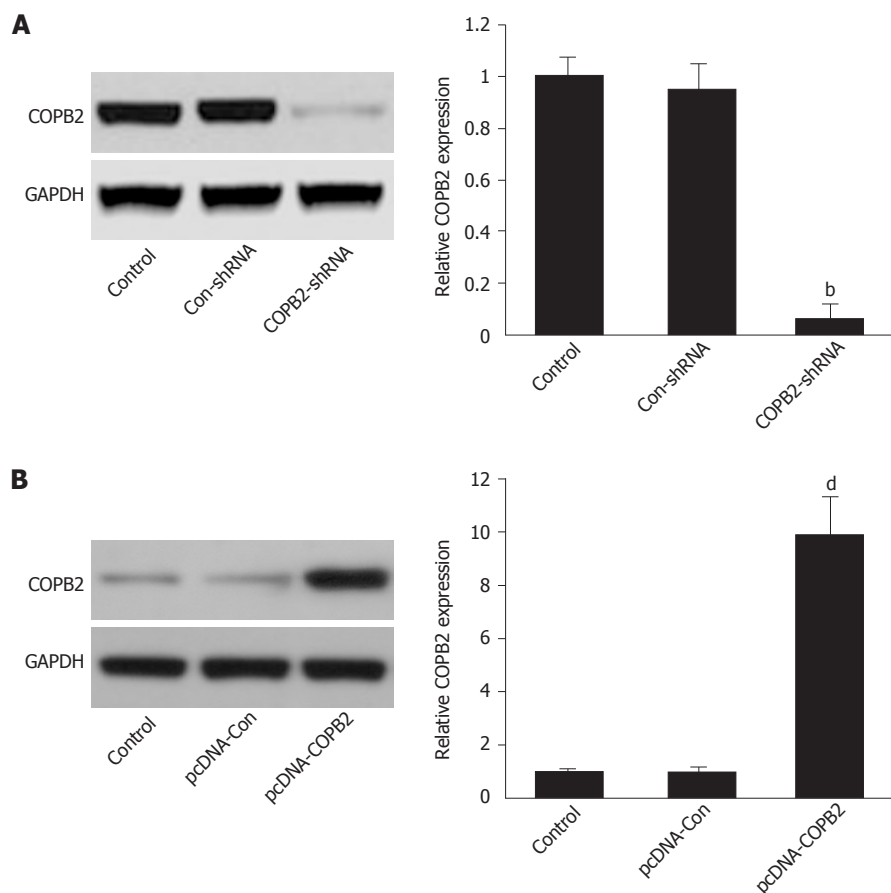


图 2 COPB2-shRNA与pcDNA-COPB2的转染效率检测. A: 转染COPB2-shRNA或Con-shRNA后, Western blot检测COPB2蛋白表达水平; 与Con-shRNA组比较: ^b $P < 0.01$; $n = 3$. B: 转染pcDNA-COPB2或pcDNA-Con后, Western blot检测COPB2蛋白表达水平; 与pcDNA-Con组比较: ^d $P < 0.01$; $n = 3$.

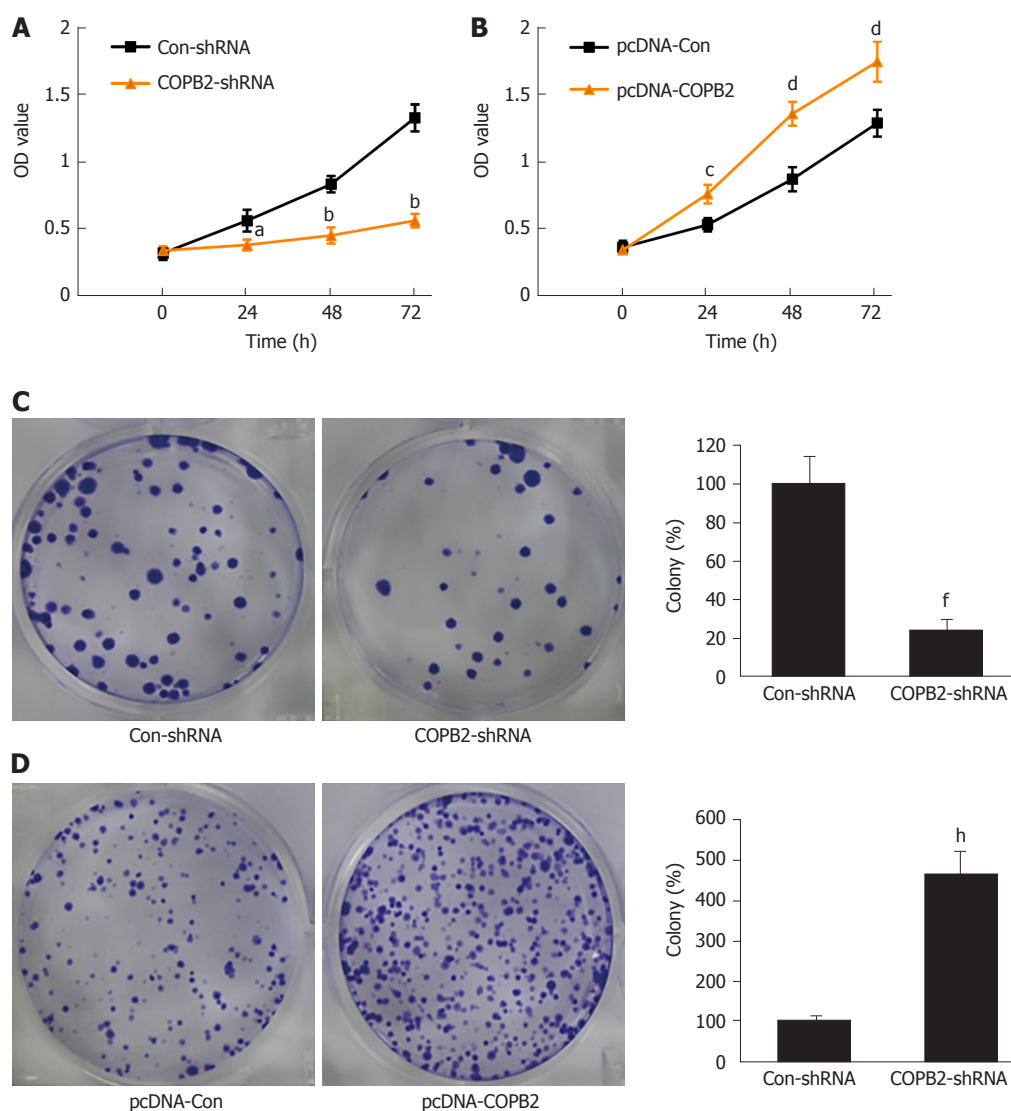


图 3 敲低或过表达COPB2对胃癌细胞系集落形成的影响. A: CCK-8法检测敲低COPB2对细胞活性的影响; 与Con-shRNA组比较: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$; $n=3$. B: CCK-8法检测过表达COPB2对细胞活性的影响; 与pcDNA-Con组比较: $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; $n=3$. C: 集落形成实验检测敲低COPB2对细胞集落数的影响; 与Con-shRNA组比较: $^eP<0.01$; $n=3$. D: 集落形成实验检测过表达COPB2对细胞集落数的影响; 与pcDNA-Con组比较: $^fP<0.001$; $n=3$.

2.3 敲低和过表达COPB2对胃癌细胞生长的影响 用CCK-8法检测了敲低及过表达COPB2后SGC-7901细胞的细胞活性, 结果显示, 相对于Con-shRNA组, COPB2-shRNA组的SGC-7901细胞的细胞活性显著降低(图3A, $P<0.01$); 相对于pcDNA-Con组, pcDNA-COPB2组的SGC-7901细胞的细胞活性显著升高(图3B, $P<0.01$). 集落形成实验检测了敲低及过表达COPB2后SGC-7901细胞的集落形成, 结果显示, 相对于Con-shRNA组, COPB2-shRNA组的SGC-7901细胞的集落形成能力显著降低(图3C, $P<0.01$); 相对于pcDNA-Con组, pcDNA-COPB2组的SGC-7901细胞的集落形成能力显著升高(图3D, $P<0.01$).

2.4 敲低和过表达COPB2对胃癌细胞系迁移和侵袭能力的影响 Transwell法评估细胞迁移和侵袭的结果显示, 相对于Con-shRNA组, COPB2-shRNA组的SGC-7901胃癌

细胞的迁移和侵袭能力均显著降低(图4A, $P<0.01$); 相对于pcDNA-Con组, pcDNA-COPB2组的SGC-7901细胞的迁移和侵袭能力均显著升高(图4B, $P<0.01$).

2.5 敲低和过表达COPB2对p-Akt蛋白表达的影响 Western blot法检测p-Akt蛋白表达的结果显示, 相对于Con-shRNA组, COPB2-shRNA组的SGC-7901细胞中p-Akt蛋白表达降低(图5A, $P<0.01$); 相对于pcDNA-Con组, pcDNA-COPB2组的SGC-7901细胞中p-Akt蛋白表达增加(图5B, $P<0.01$).

2.6 敲低COPB2对胃癌细胞系在体内生长的影响 与Con-shRNA组比较, COPB2-shRNA组瘤体生长明显减缓(图6A, $P<0.001$), 瘤体普遍缩小(图6B). 免疫组化结果(图6C)显示, 发现COPB2-shRNA组COPB2、Ki-67及p-Akt染色强度低于Con-shRNA组. 上述结果表明, 敲低COPB2

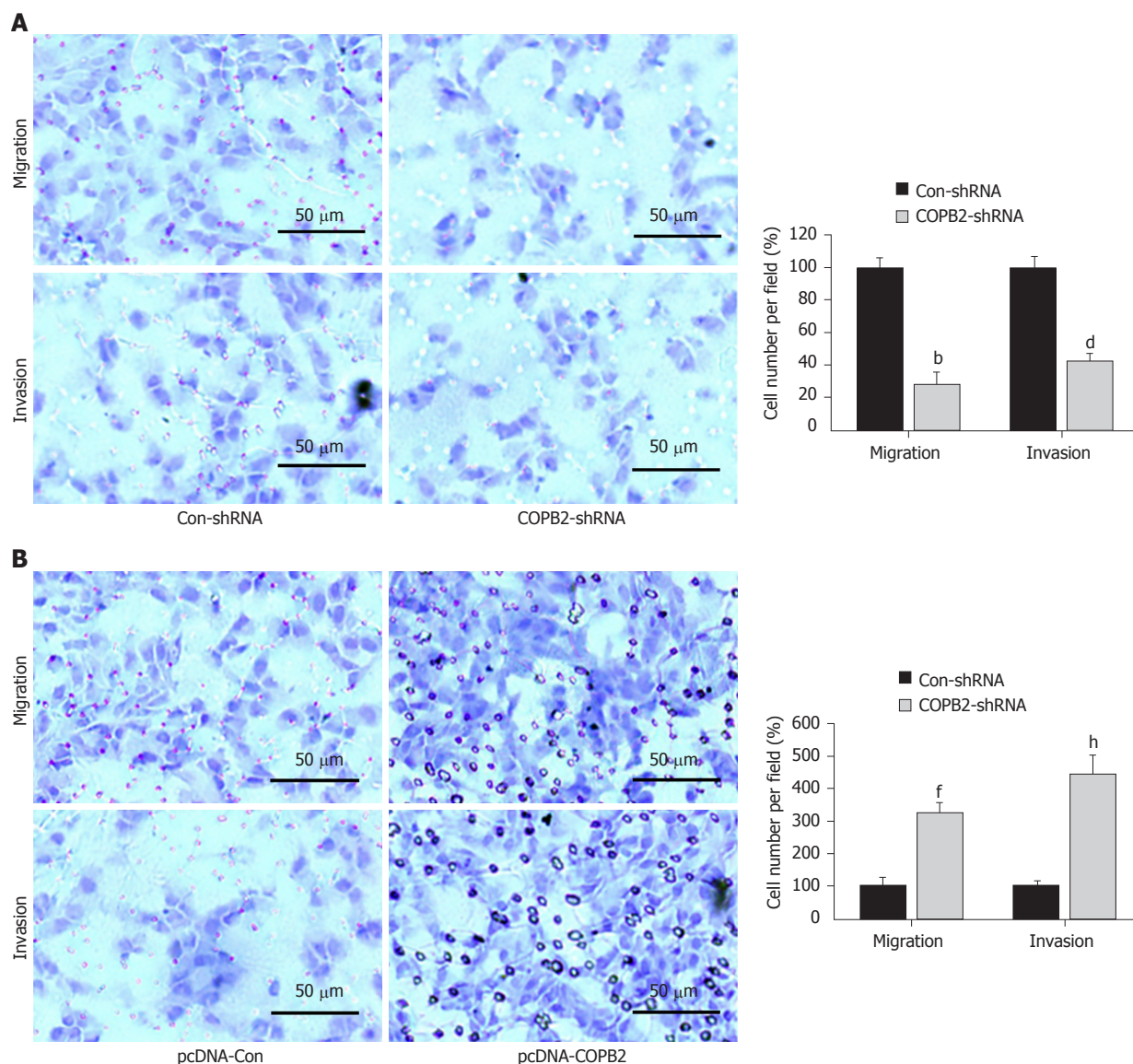


图 4 敲低或过表达COPB2对胃癌细胞系迁移和侵袭能力的影响. A: 集落形成实验检测敲低COPB2对SGC-7901细胞的迁移和侵袭的影响; 与Con-shRNA组比较: ^b $P<0.01$, ^d $P<0.01$; $n=3$. B: 集落形成实验检测过表达COPB2对SGC-7901细胞的迁移和侵袭的影响; 与pcDNA-Con组比较, ^f $P<0.01$, ^h $P<0.01$; $n=3$.

可以降低SGC-7901细胞在体内的生长.

3 讨论

胃癌是全球范围内最常见的恶性肿瘤之一, 据最新研究数据显示, 其病死率位居所有癌症相关死亡的第3位^[10]. 尽管, 化疗仍是中晚期胃癌患者主要的治疗手段, 其可在一定程度上延长患者生存期, 但化疗的不良反应突出, 且易导致耐药. 近年来, 随着对胃癌发生和发展的分子机制的深入研究, 致使胃癌的分子靶向治疗越来越受到研究者们的关注, 且个体化靶向治疗已为许多癌症患者带来了明显的益处^[11]. 提示, 继续深入研究影响胃癌进展的关键靶点, 可能会为靶向疗法提供更多的参考策略.

近年来, 研究发现COPB2参与调控许多肿瘤的进展与预后. 如, Bhandari等^[12]研究发现COPB2在乳腺癌

组织中呈高表达水平, 且其表达水平与乳腺癌淋巴结转移、肿瘤分期以及肿瘤大小成相关; Zhou等^[13]研究结果显示COPB2在神经胶质瘤组织中表达上调, 且其高表达水平与神经胶质瘤的不良预后呈正相关. 以上这些数据表明COPB2可能与肿瘤进展、转移和不良预后有关, 但其在胃癌中的表达以及作用尚不清楚. 本研究显示, COPB2在胃癌组织中呈现高表达. 肿瘤细胞的恶性增殖与转移是导致肿瘤进展甚至患者死亡的最主要因素. 为探索COPB2对胃癌的作用, 本研究采用敲低或过表达的方式研究了COPB2对胃癌细胞增殖、迁移与侵袭的作用, 结果显示, 过表达COPB2能促进胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 而敲低COPB2则能抑制胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭. 同时, 这一结果在体内得证实.

本研究进一步对COPB2影响胃癌细胞增殖、迁移

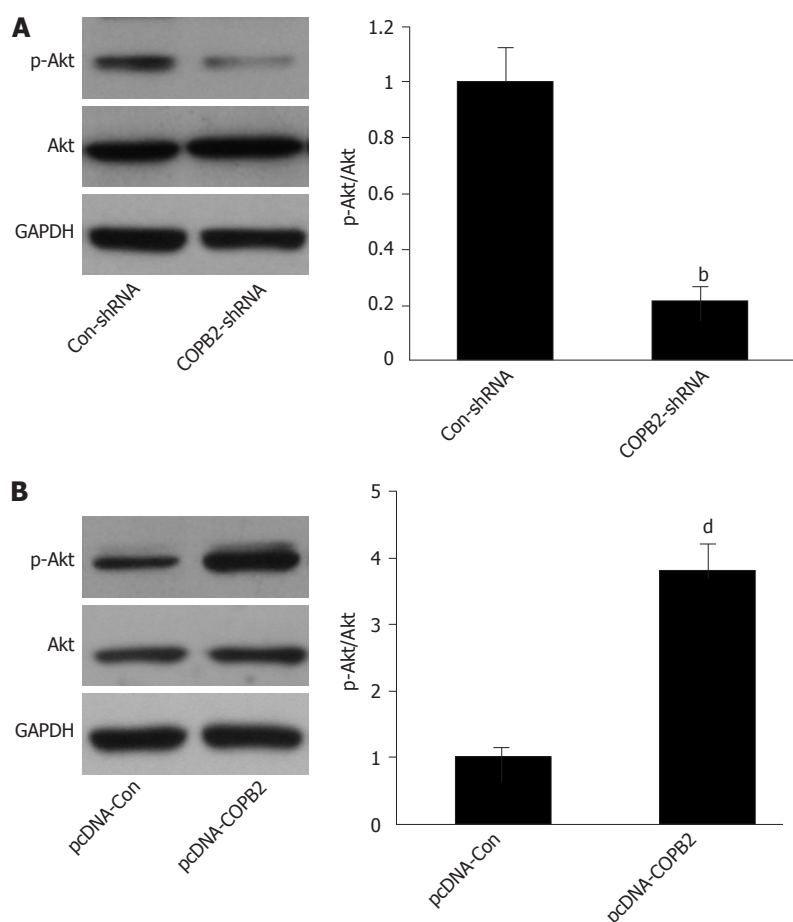


图 5 敲低或过表达COPB2对胃癌细胞中p-Akt蛋白表达的影响. A: Western blot检测敲低COPB2对SGC-7901细胞中p-Akt蛋白表达的影响; 与Con-shRNA组比较: ^b $P < 0.01$; $n = 3$. B: Western blot检测过表达COPB2对SGC-7901细胞中p-Akt蛋白表达的影响; 与pcDNA-Con组比较: ^d $P < 0.01$; $n = 3$.

和侵袭的机制进行了初步探索. 众多研究^[14-16]显示, Akt信号的激活在肿瘤的发生与发展起着关键的促进作用, 而抑制Akt信号活性能抑制肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭. 本研究结果显示, 过表达COPB2能促进p-Akt的表达, 相反敲低COPB2则能抑制p-Akt的表达; 说明COPB2能影响胃癌细胞中Akt信号活性, 但COPB2是如何影响Akt信号活性以及COPB2是否影响其他影响胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的信号途径仍有待更多的研究.

4 结论

总之, 就目前结果而言, COPB2在胃癌中表达上调, 而敲低COPB2表达可抑制胃癌细胞增殖、迁移和侵袭能力; 另外, 本研究提示, 靶向COPB2可能会是胃癌的一个潜在的治疗策略.

文章亮点

实验背景

目前, 人们对胃癌的发生和进展机制并不完全清楚, 探

索胃癌的发生和进展机制有助于今后对其诊断和治疗开发新方法.

实验动机

外被体蛋白复合物 $\beta 2$ 亚基(coatome protein complex subunit beta 2, COPB2)在乳腺癌、肺癌、胶质瘤和结肠癌等多种肿瘤中高表达, 且其可促进肿瘤进展. 而其在胃癌中表达和作用并不清楚.

实验目标

检测COPB2在胃癌组织以及胃癌细胞系中的表达情况, 并分析其表达对胃癌细胞增殖、侵袭和迁移能力的影响.

实验方法

检测COPB2在人胃癌组织样本以及胃癌细胞系中的表达情况. 敲低或过表达胃癌细胞中COPB2表达后, 检测胃癌细胞增殖、集落形成、迁移、侵袭以及Akt信号的改变情况. 用肿瘤异体移植模型评估敲低COPB2对体内胃癌细胞生长能力的影响.

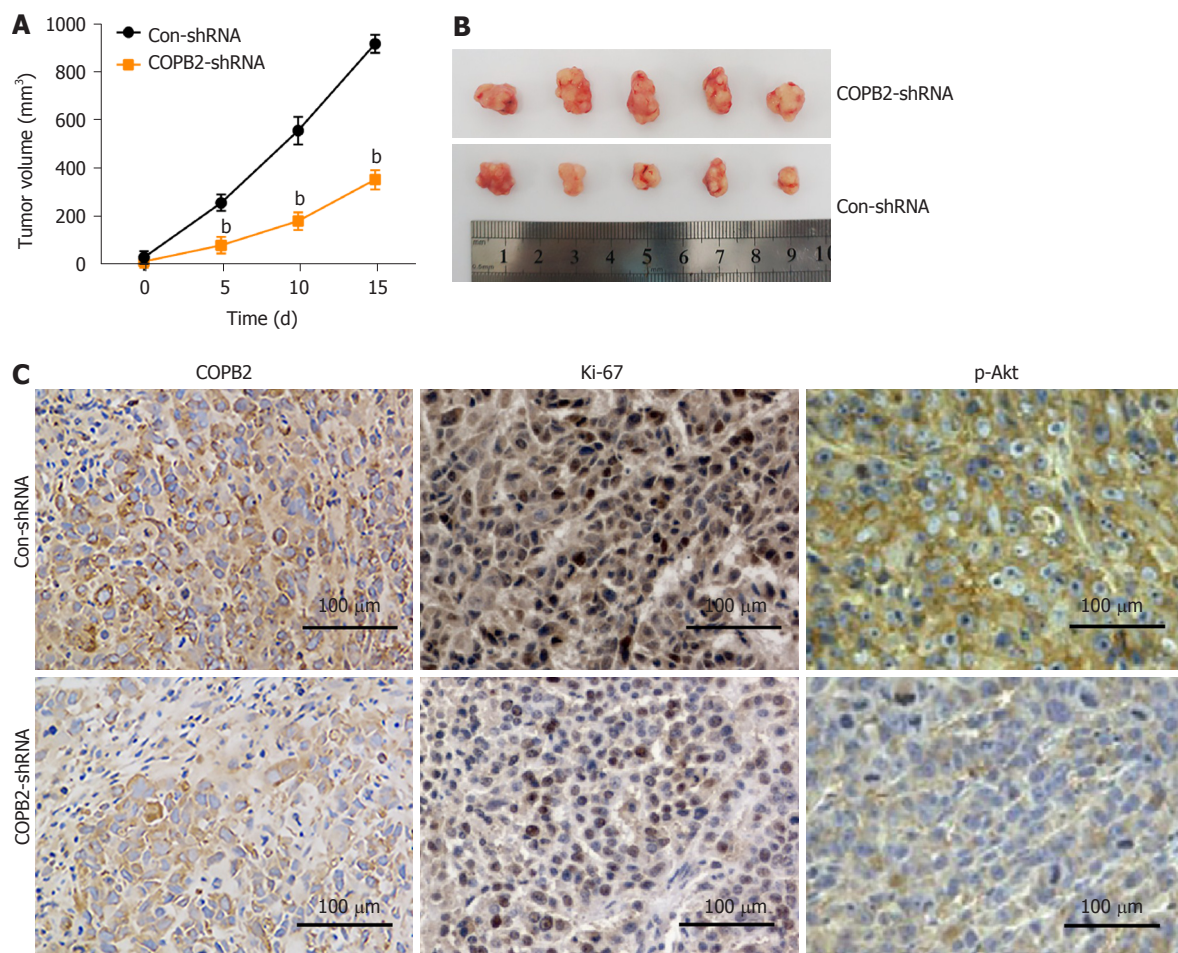


图 6 敲低COPB2对胃癌细胞系在体内生长的影响。A: 各组瘤体体积的统计结果; 与Con-shRNA组比较: ^b $P < 0.01$; $n = 5$ 。B: 各组瘤体的大体形态。C: 免疫组化检测各组瘤体组织中COPB2、Ki67和p-Akt表达的代表性图。

实验结果

COPB2在人胃癌组织样本和胃癌细胞系中高表达。敲低COPB2后, SGC-7901细胞的增殖、集落形成、迁移与侵袭以及Akt信号活性均降低; 过表达COPB2后, SGC-7901细胞的上述指标均呈增加。另外, 敲低COPB2后, SGC-7901细胞在体内生长减缓。

实验结论

COPB2在胃癌中发挥促癌进展作用, 而敲低COPB2能抑制胃癌细胞增殖、迁移和侵袭。

展望前景

开发COPB2靶向抑制剂可能会成为研究胃癌治疗药物的一个潜在方向。

5 参考文献

- 1 Zong L, Abe M, Seto Y, Ji J. The challenge of screening for early gastric cancer in China. *Lancet* 2016; 388: 2606 [PMID: 27894662 DOI: 10.1016/S0140-6736(16)32226-7]
- 2 Tan Z. Recent Advances in the Surgical Treatment of Advanced Gastric Cancer: A Review. *Med Sci Monit* 2019; 25: 3537-3541

[PMID: 31080234 DOI: 10.12659/MSM.916475]

- 3 Tarsounas M, Heng HH, Ye CJ, Pearlman RE, Moens PB. Identification of the mouse beta'-COP Golgi component as a spermatocyte autoantigen in scleroderma and mapping of its gene Copb2 to mouse chromosome 9. *Cytogenet Cell Genet* 1999; 87: 201-204 [PMID: 10702668 DOI: 10.1159/000015467]
- 4 Beyer AR, Rodino KG, VieBrock L, Green RS, Tegels BK, Oliver LD Jr, Marconi RT, Carlyon JA. Orientia tsutsugamushi Ank9 is a multifunctional effector that utilizes a novel GRIP-like Golgi localization domain for Golgi-to-endoplasmic reticulum trafficking and interacts with host COPB2. *Cell Microbiol* 2017; 19 [PMID: 28103630 DOI: 10.1111/cmi.12727]
- 5 Wang Y, Chai Z, Wang M, Jin Y, Yang A, Li M. COPB2 suppresses cell proliferation and induces cell cycle arrest in human colon cancer by regulating cell cycle-related proteins. *Exp Ther Med* 2018; 15: 777-784 [PMID: 29399086 DOI: 10.3892/etm.2017.5506]
- 6 Wang Y, Xie G, Li M, Du J, Wang M. COPB2 gene silencing inhibits colorectal cancer cell proliferation and induces apoptosis via the JNK/c-Jun signaling pathway. *PLoS One* 2020; 15: e0240106 [PMID: 33211699 DOI: 10.1371/journal.pone.0240106]
- 7 Wang X, Shi J, Niu Z, Wang J, Zhang W. MiR-216a-3p regulates the proliferation, apoptosis, migration, and invasion of lung cancer cells via targeting COPB2. *Biosci Biotechnol Biochem* 2020; 84: 2014-2027 [PMID: 32619135 DOI: 10.1080/09168451.2020.1783197]
- 8 Pu X, Wang J, Li W, Fan W, Wang L, Mao Y, Yang S, Liu S, Xu J, Lv Z, Xu L, Shu Y. COPB2 promotes cell proliferation and

- tumorigenesis through up-regulating YAP1 expression in lung adenocarcinoma cells. *Biomed Pharmacother* 2018; 103: 373-380 [PMID: 29674272 DOI: 10.1016/j.biopha.2018.04.006.]
- 9 Mi Y, Yu M, Zhang L, Sun C, Wei B, Ding W, Zhu Y, Tang J, Xia G, Zhu L. COPB2 Is Upregulated in Prostate Cancer and Regulates PC-3 Cell Proliferation, Cell Cycle, and Apoptosis. *Arch Med Res* 2016; 47: 411-418 [PMID: 27986120 DOI: 10.1016/j.arcmed.2016.09.005]
- 10 Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, Bray F. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer* 2019; 144: 1941-1953 [PMID: 30350310 DOI: 10.1002/ijc.31937]
- 11 Bedard PL, Hyman DM, Davids MS, Siu LL. Small molecules, big impact: 20 years of targeted therapy in oncology. *Lancet* 2020; 395: 1078-1088 [PMID: 32222192 DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30164-1]
- 12 Bhandari A, Zheng C, Sindan N, Sindan N, Quan R, Xia E, Thapa Y, Tamang D, Wang O, Ye X, Huang D. COPB2 is up-regulated in breast cancer and plays a vital role in the metastasis via N-cadherin and Vimentin. *J Cell Mol Med* 2019; 23: 5235-5245 [PMID: 31119859 DOI: 10.1111/jcmm.14398]
- 13 Zhou Y, Wang X, Huang X, Li XD, Cheng K, Yu H, Zhou YJ, Lv P, Jiang XB. High expression of COPB2 predicts adverse outcomes: A potential therapeutic target for glioma. *CNS Neurosci Ther* 2020; 26: 309-318 [PMID: 31710183 DOI: 10.1111/cns.13254]
- 14 Song M, Bode AM, Dong Z, Lee MH. AKT as a Therapeutic Target for Cancer. *Cancer Res* 2019; 79: 1019-1031 [PMID: 30808672 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-2738]
- 15 Shariati M, Meric-Bernstam F. Targeting AKT for cancer therapy. *Expert Opin Investig Drugs* 2019; 28: 977-988 [PMID: 31594388 DOI: 10.1080/13543784.2019.1676726]
- 16 Ao R, Guan L, Wang Y, Wang JN. Silencing of COL1A2, COL6A3, and THBS2 inhibits gastric cancer cell proliferation, migration, and invasion while promoting apoptosis through the PI3k-Akt signaling pathway. *J Cell Biochem* 2018; 119: 4420-4434 [PMID: 29143985 DOI: 10.1002/jcb.26524]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079

