

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

2018 年 12 月 18 日 第 26 卷 第 35 期 (Volume 26 Number 35)



35 / 2018

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. 本刊被美国国际检索系统《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)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

目次

2018年12月18日 第26卷 第35期 (总第619期)

述评

2023 如何安全的进行腹腔镜胆囊切除术?

任海洋, 朱乾坤, 翟博

2029 环氧合酶和脂氧合酶的抗肿瘤作用机制

朱小朝, 张拓

基础研究

2036 miR-133靶向JAK2抑制胃癌细胞增殖、迁移和侵袭

彭玉平, 蒋红钢, 陈治横, 沈徐宁, 李进, 周元, 朱奕

文献综述

2046 胃食管反流病的个体化诊疗

牛春燕, 周永顺, 吴方雄

2057 合理饮食在胃癌术后治疗的作用与中医食疗的应用前景

刘磊, 洪裕玲, 刘国彦

临床实践

2064 两种药物治疗乙型肝炎硬化的疗效及其对肝纤维化程度、炎症反应及免疫相关指标的影响

孙波, 叶丽红, 吴婷婷, 罗酩

2071 腰硬联合麻醉和硬膜外麻醉对子宫全切术麻醉效果及对血清胃动素和胃泌素的变化影响

刘信毅, 方军, 王江铃

2077 急性脑卒中继发便秘患者对便秘症状、认知功能及日常生活能力的影响

林志云, 熊丽荣, 朱丽红

消 息

- 2045 《世界华人消化杂志》正文要求
2056 《世界华人消化杂志》修回稿须知
2070 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
2076 《世界华人消化杂志》外文字符标准
2082 《世界华人消化杂志》参考文献要求

封面故事

肖卫东, 副主任医师, 副教授, 外科学博士后, 博士研究生导师, 陆军军医大学第二附属医院(新桥医院)普通外科副主任. 长期从事胃肠外科营养及肠粘膜屏障基础与临床研究. 主要关注领域包括加速康复与围手术期营养、肠上皮细胞与肠神经胶质细胞及肠上皮间淋巴细胞之间的互动机制、肠粘膜屏障功能评估与新型肠屏障损伤标志物的筛选和检测. 作为项目负责人先后主持国家自然科学基金5项、中国博士后科学基金面上资助1项, 作为国家教育部“创新人才团队”骨干成员、教育部“长江学者”特聘教授团队骨干成员参与完成包括国家自然科学基金重点项目、重大国际合作项目、教育部“创新团队研究计划”等多个大型课题, 曾入选国家“西部人才”计划. 在美国肠内肠外营养学会主席 Daniel Teitelbaum教授指导下进行外科营养研究.

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 崔丽君; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 崔丽君; 形式规范审核编辑部主任 马亚娟; 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

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2018-12-18

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

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

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

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

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

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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: 010-85381892

传真: 010-85381893

《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. 本刊被美国国际检索系统《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)》和《超星期刊域出版平台(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90.67元 全年36期3264.00元

© 2018 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 26 Number 35 Dec 18, 2018

EDITORIAL

- 2023 How to perform laparoscopic cholecystectomy safely?

Ren HY, Zhu QK, Zhai B

- 2029 Antitumor mechanisms of cyclooxygenase and lipoxygenase

Zhu XC, Zhang T

BASIC RESEARCH

- 2036 MiR-133 inhibits cell proliferation, migration, and invasion in gastric cancer cells by targeting JAK2

Peng YP, Jiang HG, Chen ZH, Shen XN, Li J, Zhou Y, Zhu Y

REVIEW

- 2046 Individualized medicine of gastroesophageal reflux disease

Niu CY, Zhou YS, Wu FX

- 2057 Role of rational diet in postoperative treatment of gastric cancer and application prospect of traditional Chinese medicine diet

Liu L, Hong YL, Liu GY

CLINICAL PRACTICE

- 2064 Yinzhi Ganfu granules combined with entecavir for treatment of hepatitis B cirrhosis: Efficacy and impact on liver fibrosis, inflammatory response, and immune related indicators

Sun B, Ye LH, Wu TT, Luo W

- 2071 Efficacy of combined spinal and epidural anesthesia vs epidural anesthesia alone in total hysterectomy: Impact on serum motilin and gastrin

Liu XY, Fang J, Wang JL

- 2077 Effect of targeted cognitive function exercise on constipation symptoms, cognitive function, and daily living ability in acute stroke patients with constipation

Lin ZY, Xiong LR, Zhu LH

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 26 Number 35 Dec 18, 2018

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Wei-Dong Xiao, Associate Professor, Vice director, Department of General Surgery, Xinqiao Hospital, Army Medical University, Chongqing 400037, China

Indexed/Abstracted by

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Li-Jun Cui* Electronic Editor: *Yan-Liang Zhang* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Li-Jun Cui* Proof Editor: *Ya-Juan Ma* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date December 18, 2018

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

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

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang 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

Ya-Juan Ma, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2018 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.

miR-133靶向JAK2抑制胃癌细胞增殖、迁移和侵袭

彭玉平, 蒋红钢, 陈治横, 沈徐宁, 李进, 周元, 朱奕

彭玉平, 蒋红钢, 陈治横, 沈徐宁, 李进, 周元, 朱奕, 浙江省嘉兴市第一医院胃肠外科 浙江省嘉兴市 314000

彭玉平, 副主任医师, 研究方向为胃肠肿瘤。

基金项目: 嘉兴市科技计划项目, No. 2016BY28010.

作者贡献分布: 由彭玉平、蒋红钢、沈徐宁及李进设计; 研究过程由蒋红钢、陈治横、沈徐宁及李进操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由周元与朱奕提供; 数据分析由陈治横、沈徐宁、周元及朱奕完成; 本论文写作由彭玉平、蒋红钢、沈徐宁及朱奕完成。

通讯作者: 彭玉平, 副主任医师, 314000, 浙江省嘉兴市中环南路1882号, 浙江省嘉兴市第一医院胃肠外科. 17319188380@163.com
电话: 0573-82519757

收稿日期: 2018-10-22

修回日期: 2018-11-13

接受日期: 2018-11-29

在线出版日期: 2018-12-18

MiR-133 inhibits cell proliferation, migration, and invasion in gastric cancer cells by targeting JAK2

Yu-Ping Peng, Hong-Gang Jiang, Zhi-Heng Chen, Xu-Ning Shen, Jin Li, Yuan Zhou, Yi Zhu

Yu-Ping Peng, Hong-Gang Jiang, Zhi-Heng Chen, Xu-Ning Shen, Jin Li, Yuan Zhou, Yi Zhu, Department of Gastrointestinal Surgery, The First Hospital of Jiaxing, Jiaxing 314000, Zhejiang Province, China

Supported by: Jiaxing Science and Technology Plan Project, No. 2016BY28010.

Corresponding author to: Yu-Ping Peng, Associate Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, The First Hospital of Jiaxing, 1882 South Zhonghuan Road, Jiaxing 314000, Zhejiang Province, China. 17319188380@163.com

Received: 2018-10-22

Revised: 2018-11-13

Accepted: 2018-11-29

Published online: 2018-12-18

Abstract

AIM

To investigate the role of miR-133 in the proliferation, migration, and invasion of gastric cancer (GC) cells, and to explore the underlying mechanism.

METHODS

The expression of miR-133 and JAK2 mRNA in tissues and cells was detected by qRT-PCR. AGS and MGC-803 cells were transfected with miR-133 mimic (miR-133 group), miR-133 inhibitor (miR-133 inhibitor group), nonspecific inhibitor (inhibitor-NC group), psiCHECK2-JAK2-3 UTR WT vector and miR-133 mimic (JAK2 WT group), psiCHECK2-JAK2-3 UTR MUT vector and miR-133 mimic (JAK2 MUT group), miR-133 mimic and JAK2 (miR-133 + JAK2 group), or miR-133 mimic and pc-DNA 3.1 (miR-133 + vector group) using a liposome-mediated method. Untransfected cells (miR-NC group) were also included as a control. The protein expression of JAK2 was detected by Western blot. Cell proliferation was detected by MTT assay. Cell migration and invasion were detected by Transwell assay. The luciferase activity was detected by double luciferase reporter assay.

RESULTS

Compared with human paracancerous tissues or normal gastric mucosal cells (GES-1), miR-133 was down-regulated in GC tissues and GC cells (AGS and MGC-803), and JAK2 was highly expressed in GC tissues and AGS and MGC-803 cells ($P < 0.05$). Overexpression of miR-133 or silencing JAK2 could inhibit cell proliferation, migration, and invasion in GC cells. JAK2 is a target of miR-133, and JAK2 could rescue the inhibitory effect of miR-133 on cell proliferation, migration, and invasion in GC cells.

CONCLUSION

MiR-133 could inhibit the proliferation, migration, and

invasion of GC cells *via* mechanisms possibly related to targeting of JAK2, which will provide a new target for the clinical diagnosis and treatment of GC.

© The Author(s) 2018. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: MiR-133; Gastric cancer cells; JAK2; Proliferation; Migration; Invasion

Peng YP, Jiang HG, Chen ZH, Shen XN, Li J, Zhou Y, Zhu Y. MiR-133 inhibits cell proliferation, migration, and invasion in gastric cancer cells by targeting JAK2. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2018; 26(35): 2036-2045

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i35/2036.htm> DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v26.i35.2036>

摘要

目的

研究miR-133对胃癌(gastric cancer, GC)细胞增殖、迁移和侵袭的影响,并探讨其作用机制。

方法

运用qRT-PCR法检测组织和细胞中miR-133、JAK2的mRNA表达;将miR-133组(转染miR-133 mimics)、miR-NC组(未转染细胞)、miR-133 inhibitors组(转染miR-133 inhibitors)、inhibitors-NC组(转染inhibitors)、JAK2 WT(载体psiCHECK2-JAK2-3'UTR WT和miR-133共转染)、JAK2 MUT(载体psiCHECK2-JAK2-3'UTR MUT和miR-133共转染)、miR-133+JAK2组(miR-133 mimics和JAK2共转染)、miR-133+Vector组(miR-133 mimics和pc-DNA 3.1共转染)均用脂质体法转染至AGS、MGC-803细胞;用Western blot检测细胞中JAK2的蛋白表达;MTT法检测细胞增殖;Transwell法检测细胞迁移和侵袭;双荧光素酶报告基因检测实验检测细胞荧光素酶活性。

结果

与人癌旁组织、人正常胃黏膜细胞GES-1相比,GC组织、GC细胞AGS、MGC-803中miR-133均低表达,JAK2均高表达;且过表达miR-133、沉默JAK2均可抑制GC细胞增殖、迁移和侵袭;JAK2为miR-133的靶点,且回补JAK2可逆转miR-133对GC细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用。

结论

miR-133可抑制GC细胞增殖、迁移和侵袭,其可能与靶向JAK2有关,将可为GC的临床诊断治疗提供新靶点。

© The Author(s) 2018. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: miR-133; 胃癌细胞; JAK2; 增殖; 迁移; 侵袭

核心提要: miR-133能抑制胃癌(gastric cancer, GC)细胞增殖、迁移和侵袭,其作用机制可能为靶向JAK2. miR-133有望成为临床诊断治疗GC的新靶点。

彭玉平, 蒋红钢, 陈治横, 沈徐宁, 李进, 周元, 朱奕. miR-133靶向JAK2抑制胃癌细胞增殖、迁移和侵袭. *世界华人消化杂志* 2018; 26(35): 2036-2045

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i35/2036.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v26.i35.2036>

0 引言

2018年国际癌症研究机构发布亚洲癌症发病率和死亡率居首位,其中胃癌(gastric cancer, GC)以8.2%的死亡率位居世界癌症死亡率第三,其70%以上的病例存在于发展中国家,以中国为首,且呈逐年上升趋势^[1]. miRNA为19-23个核苷酸组成的内源性单链非编码RNA,其通过结合靶基因的3'端非编码区,降解靶基因或抑制翻译而调控基因表达,其涉及细胞增殖、凋亡、分化、代谢和炎症,调控细胞内稳态及各种细胞信号通路.特定的miRNA可为癌基因或抑癌基因,将正常细胞转化为癌细胞^[2].甚至有研究证明,miRNA的表达可用来预测器官损伤、脓毒症的风险^[3]. miR-133在多种消化系统恶性肿瘤中表达异常,与肿瘤细胞的分化、增殖、迁移、侵袭和凋亡密切相关,参与肿瘤的发生发展,并影响治疗和预后^[4].大量研究证实,miR-133在GC组织中低表达,且与恶性程度呈负相关.但miR-133在GC中的作用机制尚未完全清楚.酪氨酸激酶2(Janus kinase 2, JAK2),是Janus家族的非受体蛋白家族之一,可作为原激酶介导STAT3磷酸化,且在大多数肿瘤活化中均具有重要作用^[5].梁斌等^[6]研究报道,JAK2激酶抑制剂可抑制GC细胞的细胞侵袭,其机制与下调MMP-2、MMP-9,上调TIMP-1、TIMP-2有关^[6].但JAK2在GC细胞中的作用机制尚未十分明白.本研究将检测GC组织和细胞中miR-133、JAK2的表达,观察过表达miR-133、沉默JAK2对GC细胞增殖、迁移、侵袭的影响,揭示miR-133抑制GC细胞增殖、迁移、侵袭,其机制可能与靶向JAK2有关,为GC的预防和治疗提供新靶点。

1 材料和方法

1.1 材料 组织标本收集于浙江省嘉兴市第一医院2017-03/2018-08期间外科手术切除的GC标本39例,本研究经本医院医学伦理委员会批准,所有患者及家属均签署知情同意书;人正常胃黏膜细胞GES-1、GC细

胞AGS、MGC-803均购自美国ATCC公司; DMEM培养基、胎牛血清、MTT、基质胶、胰蛋白酶均购自美国GIBCO公司; LipofectamineTM2000、BCA蛋白定量试剂盒、逆转录试剂盒和qRT-PCR试剂盒均购自大连Takara公司; PVDF膜购自德国罗氏诊断有限公司; SDS-PAGE试剂盒、ECL发光液和RIPA蛋白裂解液均购自碧云天生物技术公司; 双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自美国Promega公司; Transwell小室购自美国Coming公司; miR-133 mimics、miR-133 inhibitor、inhibitor-NC、pc-DNA 3.1均由上海吉玛公司合成; 凝胶成像分析仪购自柯达公司; 半干转膜仪购自美国BIO-RAD公司; ABI 7500型实时荧光定量PCR系统购自美国ABI公司; 紫外分光光度计购自美国Thermo公司; 细胞培养箱购自美国Forma Scientific公司; PCR仪购自美国BIO-RAD公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 用含有10%胎牛血清的DMEM培养基培养人正常胃黏膜细胞GES-1和GC细胞AGS、MGC-803, 置于37℃, 5%CO₂的培养箱中常规培养.

1.2.2 转染: 将AGS、MGC-803细胞, 均分成miR-133组(转染miR-133 mimics)、miR-NC组(未转染细胞)、miR-133 inhibitors组(转染miR-133 inhibitors)、inhibitors-NC组(转染inhibitors)、JAK2 WT(载体psiCHECK2-JAK2-3'UTR WT和miR-133共转染)、JAK2 MUT(载体psiCHECK2-JAK2-3'UTR MUT和miR-133共转染)、miR-133+JAK2组(miR-133 mimics和JAK2共转染)、miR-133+Vector组(miR-133 mimics和pc-DNA 3.1共转染)均按照LipofectamineTM2000试剂说明书转染至AGS、MGC-803细胞. 转染成功后, 用MTT法检测各组细胞的活力, Western blot检测各组细胞的miR-133、JAK2蛋白表达, Transwell法检测各组细胞的迁移、侵袭, 双荧光素酶报告基因检测实验检测各组细胞的荧光素酶活性.

1.2.3 qRT-PCR实验: Trizol法提取细胞和组织样本总RNA, 并进行RNA定量. 按照逆转录反应试剂盒说明书操作, 合成模板链cDNA. 按照qRT-PCR试剂盒说明书操作步骤进行miR-133、JAK2的测定. 反应结束后通过分析Ct值, 以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算定量结果, 测定miR-133、JAK2的相对表达水平. 按照每个样品重复5次, 取平均值, 实验重复3次.

1.2.4 MTT实验: 取适量对数生长期的1.2.2转染组细胞, 培养至24 h、48 h和72 h时各加入20 μ L 5 g/L的MTT溶液, 继续培养4 h, 取出后吸去上清, 每孔加入150 μ L DMSO, 震荡待结晶充分溶解, 在490 nm波长下检测细胞吸光度(A). 每组设5个重复孔, 实验重复3次.

1.2.5 Western blot实验: 取适量对数生长期1.2.2各转染组细胞, RIPA裂解后, 提取总蛋白, 用BCA法蛋白定量后

变性, 然后按照免疫印迹实验操作步骤进行蛋白电泳-转膜-封闭-I抗孵育-II抗孵育-显影曝光. 以目的条带灰度值与内参GADPH灰度值的比值表示目的蛋白的表达情况.

1.2.6 Transwell实验: 将对数生长期的1.2.2各转染组细胞以 10^6 个/孔接种于细胞6孔板, 常规培养至细胞融合度达80%时, 更换为无血清培养基培养过夜. 调整各组细胞密度为 10^5 个/mL, 取100 μ L加入上室内, 600 μ L含血清的培养基加入下室内, 细胞常规培养过夜. 取出小室, 用棉签擦去上室内的细胞, PBS洗涤2次, 甲醇固定30 min, 0.1%结晶紫染色20 min, PBS洗涤2次. 显微镜下观察小室下表面附着的迁移细胞, 随机取5个视野拍照计数, 取平均值.

将小室的上室涂薄层基质胶后, 再加入 10^5 个/mL的转染细胞100 μ L, 其他操作与检测细胞迁移一样, 最后显微镜下观察小室下表面附着的细胞数量, 随机取5个视野拍照计算, 取平均值.

1.2.7 双荧光素酶报告基因检测实验: 取适量对数生长期的1.2.2各组细胞, Trizol细胞裂解液裂解, 取5 μ L细胞裂解液与萤火虫荧光素酶缓冲液和5 μ L底物, 混匀测荧光强度. 然后加入海肾荧光素酶缓冲液和5 μ L腔肠素底物, 混匀, 再次测得海肾荧光素酶活性. psiCHECK2载体以萤火虫荧光素酶活性为内参, psiCHECK2-JAK2-3'UTR WT和psiCHECK2-JAK2-3'UTR MUT的表达为对照, 观察miR-133对JAK2表达的影响.

统计学处理 实验数据采用SPSS 13.0软件进行分析. 计量资料用mean \pm SD表示, 多组间数据比较采用单因素方差分析, 两两比较采用NFK-q检验, 以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 miR-133、JAK2在GC组织和GC细胞中的表达 运用qRT-PCR检测GC组织和癌旁正常组织中miR-133 mRNA、JAK2 mRNA的相关表达, GC组织于癌旁正常组织, miR-133 mRNA表达显著降低(图1A), JAK2 mRNA表达显著升高(图1B); Western blot检测组织中JAK2的蛋白表达, GC组织于癌旁正常组织, JAK2蛋白表达显著升高(图1C), 均具有统计学意义($P<0.05$). GC细胞AGS、MGC-803于人胃黏膜细胞GES-1, miR-133 mRNA表达显著降低(图1D), JAK2 mRNA表达显著升高(图1E), JAK2蛋白表达显著升高(图1F), 均具有统计学意义($P<0.05$). 可见, miR-133在GC组织和GC细胞中低表达, JAK2在GC组织和GC细胞中高表达.

2.2 过表达miR-133抑制GC细胞增殖、迁移、侵袭 运用MTT法检测过表达miR-133的AGS、MGC-803

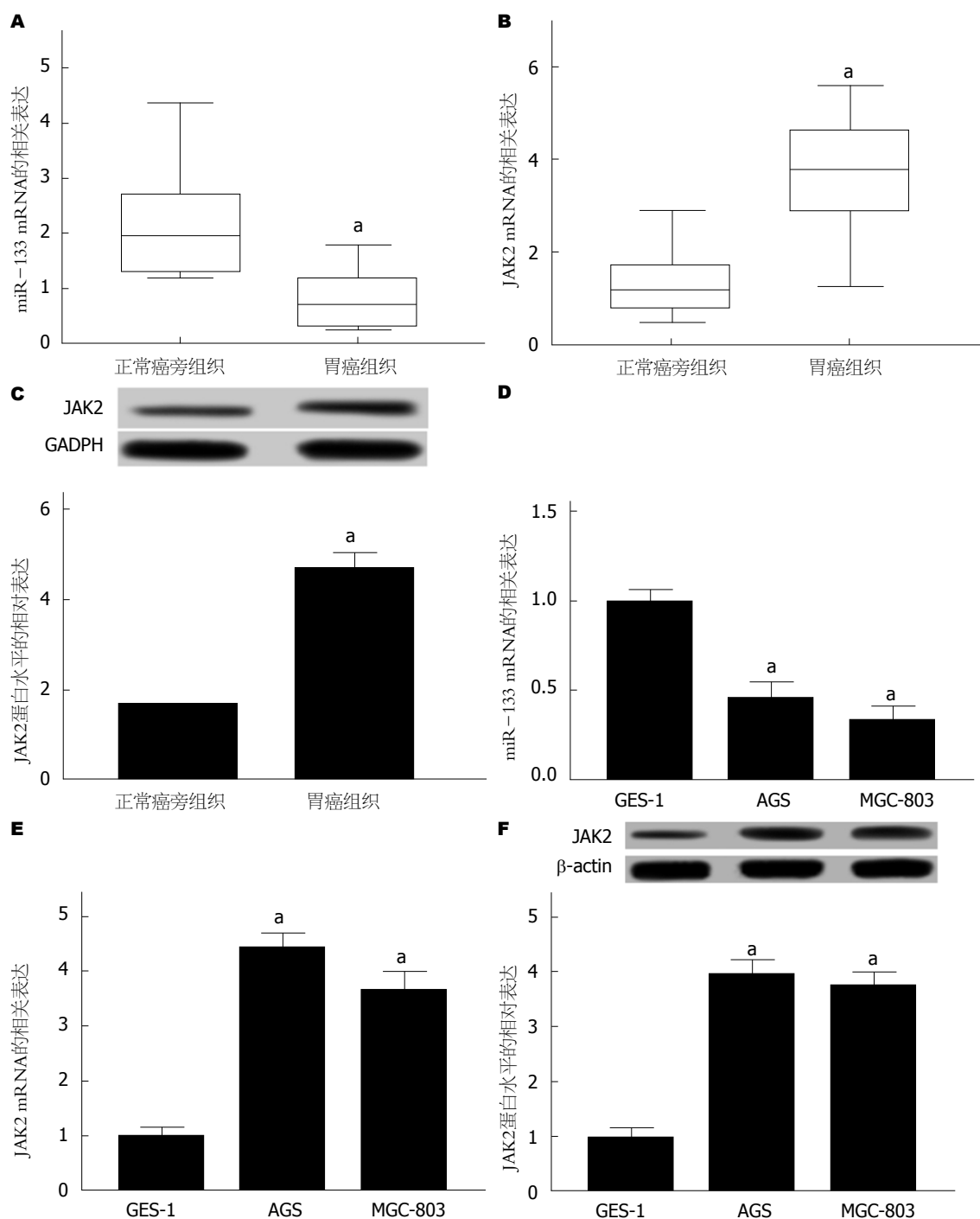


图 1 miR-133、JAK2在胃癌组织和胃癌细胞中的表达。A: miR-133 RNA在39例胃癌组织中的表达; B: JAK2 mRNA在39例胃癌组织中的表达; C: JAK2在39例胃癌组织中的蛋白表达; D: miR-133 RNA在胃癌细胞中的表达; E: JAK2 mRNA在胃癌细胞中的表达; F: JAK2在胃癌细胞中的蛋白表达; $P < 0.05$, 与对照组相比。

细胞增殖, Transwell法检测过表达miR-133的AGS、MGC-803细胞迁移数和侵袭数。miR-133组于miR-NC组GC细胞AGS、MGC-803, miR-133 mRNA表达均显著升高(图2A), 细胞增殖均显著降低(图2B), 细胞迁移数显著降低(图2C), 细胞侵袭数显著降低(图2D), 均具有统计学意义($P < 0.05$)。可见, 过表达miR-133抑制GC细胞增殖、迁移、侵袭。

2.3 沉默JAK2抑制GC细胞增殖、迁移、侵袭 si-JAK2组于si-NC组AGS、MGC-803细胞, JAK2表达均显著降低(图3A), JAK2蛋白表达均显著降低(图3B); 细胞增殖均显著降低(图3C), 细胞迁移数均显著降低(图3D), 细胞侵袭数均显著降低(图3E), 均具有统计学意义($P < 0.05$)。可见, 沉默JAK2抑制GC细胞增殖、迁移、侵袭。

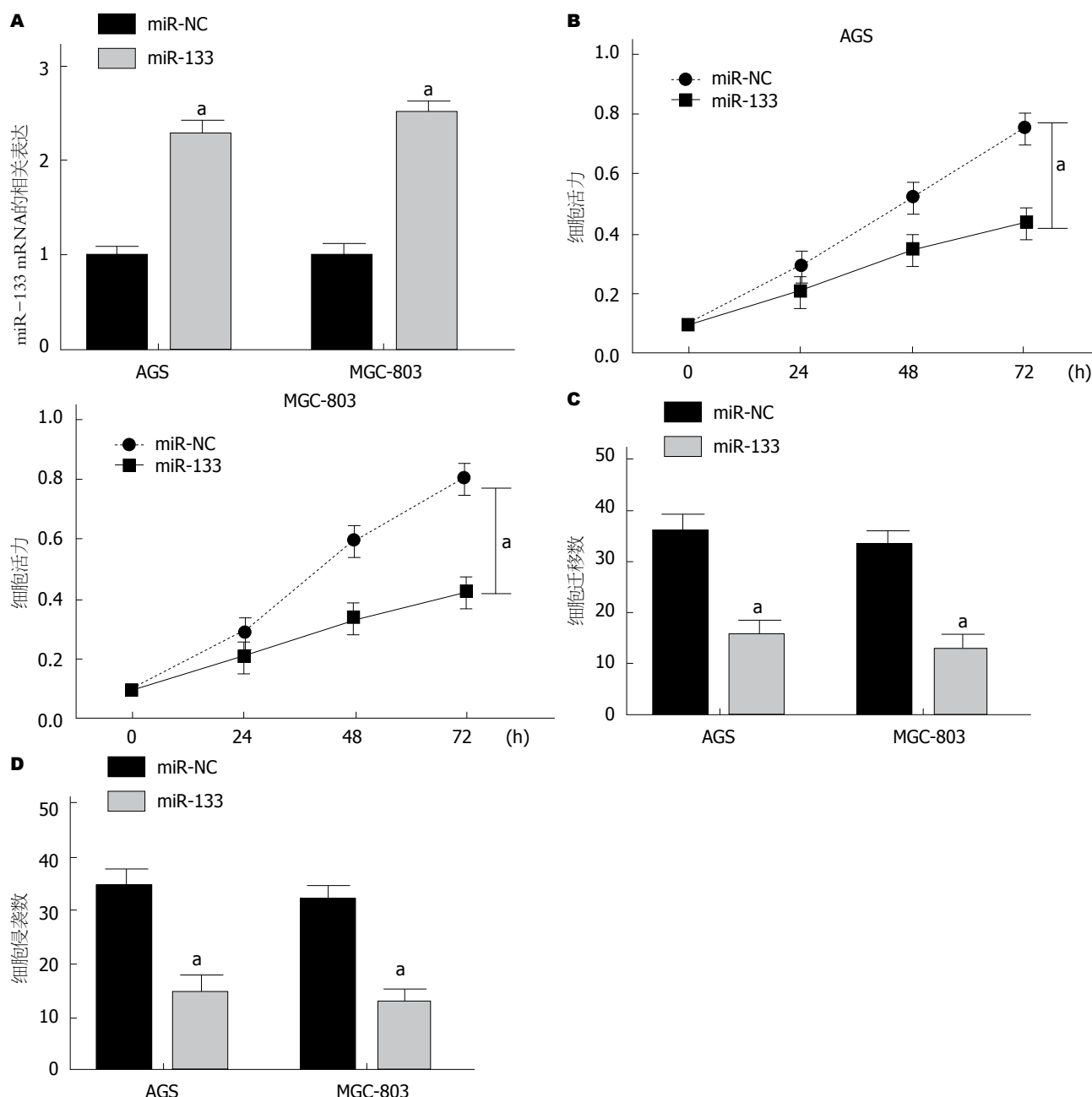


图 2 过表达miR-133抑制胃癌细胞增殖、迁移、侵袭。A: 过表达miR-133对胃癌细胞中miR-133相关表达的影响; B: 过表达miR-133对AGS细胞的细胞活力影响; C: 过表达miR-133对MGC-803细胞的细胞活力影响; D: 过表达miR-133对AGS、MGC-803细胞的细胞迁移数影响; E: 过表达miR-133对AGS、MGC-803细胞的细胞侵袭数影响; * $P < 0.05$, 与对照组相比。

2.4 miR-133靶向JAK2 运用miRcode对miR-133和JAK2的结合进行预测,发现miR-133的3'UTR与JAK2存在结合位点(图4A)。运用双荧光素酶报告基因检测实验检测miR-133对GC细胞AGS、MGC-803的荧光素酶活性的影响,与miR-NC组相比,荧光素酶载体JAK2(WT)的miR-133组细胞荧光强度均显著降低,miR-133 inhibitor组细胞荧光活性均显著升高,均不影响荧光素酶载体JAK2(MUT)的细胞荧光素酶活性(图4B和C)。与miR-NC组相比,miR-133组细胞JAK2蛋白表达均显著降低,miR-133 inhibitor组JAK2蛋白表达均显著升高(图4D),

均具有统计学意义($P < 0.05$)。可见,miR-133靶向JAK2。

2.5 JAK2可部分逆转 miR-133对GC增殖、迁移、侵袭的抑制作用 miR-133组于miR-NC组AGS、MGC-803细胞, JAK2 mRNA表达均显著降低, JAK2蛋白表达均显著降低, miR-133+JAK2组于miR-133+Vector组, JAK2 mRNA表达均显著升高, JAK2蛋白表达均显著升高(图5A和B)。miR-133组于miR-NC组AGS、MGC-803细胞, 细胞增殖均显著降低, miR-133+JAK2组于miR-133+Vector组, 细胞增殖均显著升高(图5C)。miR-133组于miR-NC组AGS、MGC-803细胞, 细胞迁移数均显著

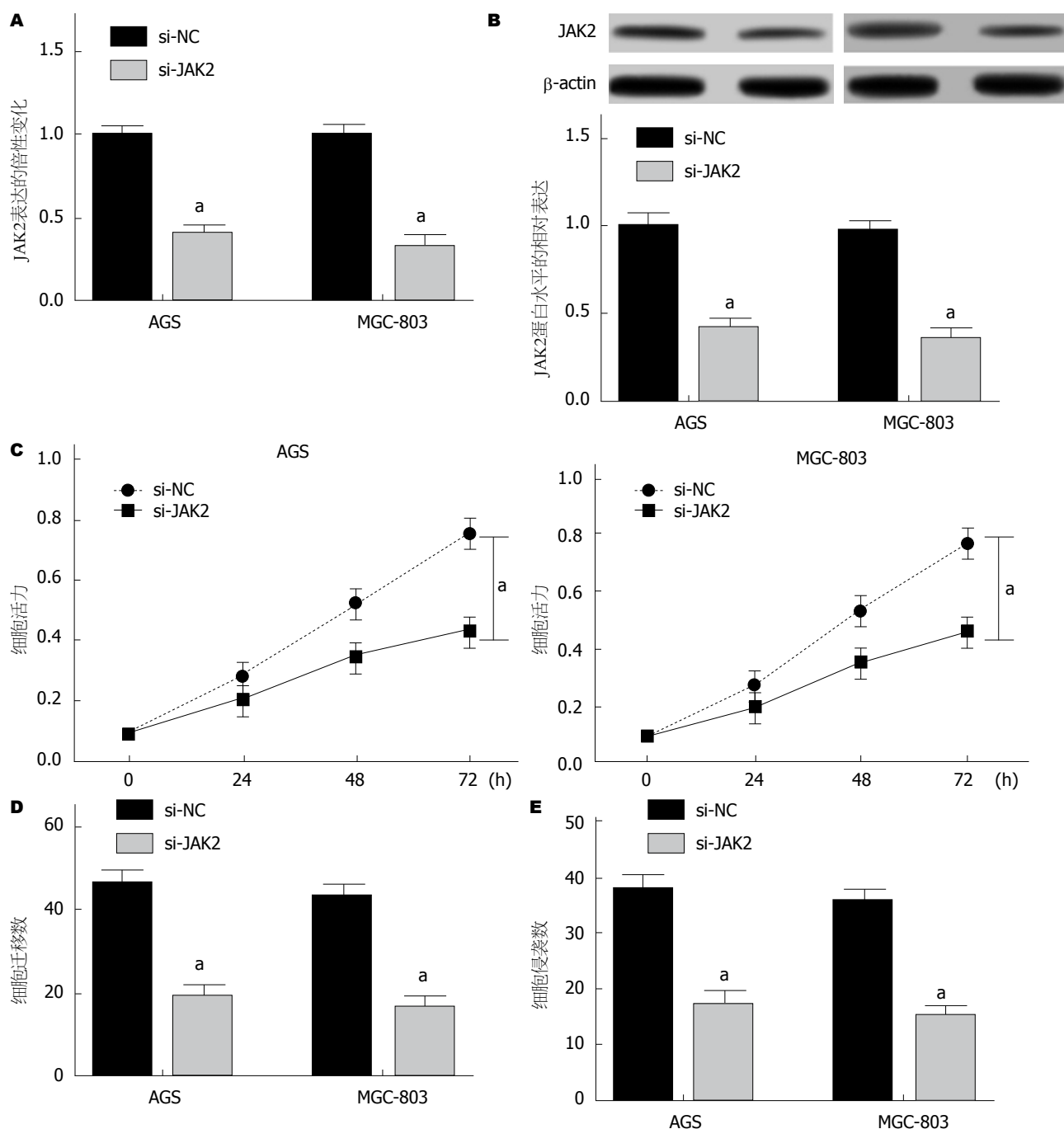


图 3 沉默JAK2抑制胃癌细胞增殖、迁移、侵袭. A: 沉默JAK2对AGS、MGC-803细胞中JAK2相关表达的影响; B: 沉默JAK2对AGS、MGC-803细胞中JAK2蛋白表达的影响; C: 沉默JAK2对AGS细胞的细胞活力影响以及沉默JAK2对MGC-803细胞的细胞活力影响; D: 沉默JAK2对AGS、MGC-803细胞的细胞迁移数影响; E: 沉默JAK2对AGS、MGC-803细胞的细胞侵袭数影响; * $P < 0.05$, 与对照组相比.

降低, 细胞侵袭数均显著降低, miR-133+JAK2组于miR-133+Vector组, 细胞迁移数均显著升高, 细胞侵袭数均显著升高(图5D和E). 可见, JAK2可部分逆转miR-133对GC增殖、迁移、侵袭的抑制作用.

3 讨论

miR-133为一种在骨骼肌、心肌等肌源性疾病中特异表达的非编码小RNA^[7]. 在多种肿瘤组织中均存在

miR-133表达紊乱, 其通过抑制转录后靶基因(EGFR、iGF-1R、MMPs)表达, 参与肿瘤的生长、转移, 肿瘤细胞的增殖、凋亡、迁移、侵袭等病理过程^[8].

miR-133在肺腺癌^[9]、胶质瘤^[10]、淋巴瘤^[11]、胰腺癌^[12]、膀胱癌^[13]中均具有调节作用.

Liu等^[10]在研究胶质瘤中, 运用qRT-PCR检测胶质瘤组织和细胞中miR-133的表达发现, miR-133在胶质瘤中低表达, 过表达miR-133抑制U87细胞的细胞增殖、

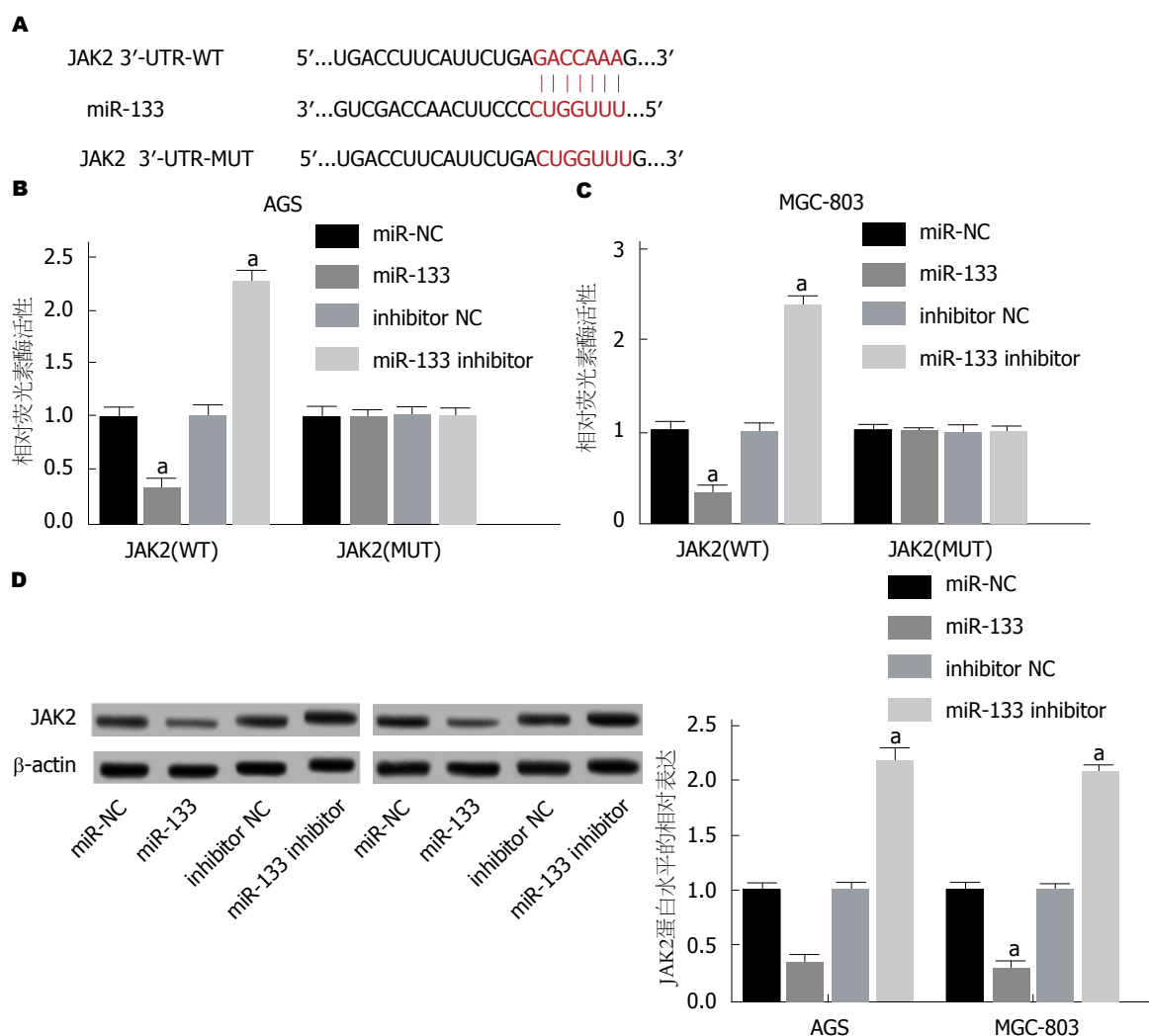


图4 miR-133靶向JAK2. A: 为互补序列; B: 不同处理组对AGS细胞荧光素酶活性的影响; C: 不同处理组对MGC-803细胞荧光素酶活性的影响; D: 不同处理组对AGS、MGC-803细胞JAK2蛋白表达的影响; * $P < 0.05$, 与对照组相比。

侵袭, 其作用机制可能与直接靶向FOXC1有关, 提示miR-133可能是胶质瘤的潜在治疗靶点. Wang等^[14]研究发现, miR-133在垂体瘤中低表达, 其可靶向FOXC1抑制垂体腺瘤细胞迁移、侵袭, 且miR-133的表达与FOXC1呈负相关. Cheng等^[15]在GC的研究中阐明, miR-133在GC组织中表达下调, 其表达与肿瘤大小、侵袭、外周器官转移呈负相关, 且可抑制癌症细胞增殖、迁移、侵袭, 推测其机制与靶向CDC42失活CDC42 / PAKs通路有关. 本研究检测了GC组织和细胞中miR-133的表达发现, miR-133在GC中低表达, 这与人体的研究结果相吻合; 进一步运用MTT、Transwell检测过表达miR-133的GC细胞的细胞增殖、迁移、侵袭发现, 过表达miR-133抑制GC细胞增殖、迁移、侵袭; 运用双荧光素酶报告基因检测实验验证了miR-133可靶向JAK2.

JAK2是Janus激酶(JAKs)非受体蛋白酪氨酸激酶家族的成员, 其包括JAK1、JAK2、JAK3和TYK2. JAK为细胞因子的细胞质信号传导组分, 可被细胞因子介

导的磷酸化激活, 引起转录激活因子(STAT)蛋白的募集和磷酸化^[16]. JAK具有位于C-末端酪氨酸激酶结构域上游的假激酶结构域. JAK的假激酶结构域对维持酪氨酸激酶活性的稳定至关重要. JAK2的假激酶结构域中的V617F, 已被用于确诊和治疗患有血液疾病的患者, 包括骨髓增生性肿瘤和白血病^[17]. 谭豆豆等^[18]在食管鳞状细胞癌的研究中证实, p-JAK2在食管鳞状细胞癌组织中高表达, 其与肿瘤的恶性程度呈负相关, 可能为食管癌预后判断的依据. Cheng等^[19]在鼻咽癌的研究中, 运用Western blotting和免疫组化方法检测鼻咽癌组织中JAK2、STAT3、VEGF的蛋白表达, 并进行Kaplan-Meier法评估JAK2、STAT3、VEGF与患者存活率之间的关系, 揭示了JAK2、STAT3、VEGF在癌组织中均高表达, 且与患者的存活率呈负相关, 提示JAK2、STAT3和VEGF的高表达可能与鼻咽癌患者的临床病理特征和预后相关. 报道显示, miR-375具有抑制GC细胞增殖、迁移、侵袭的作用, 其机制与靶向JAK2有关,

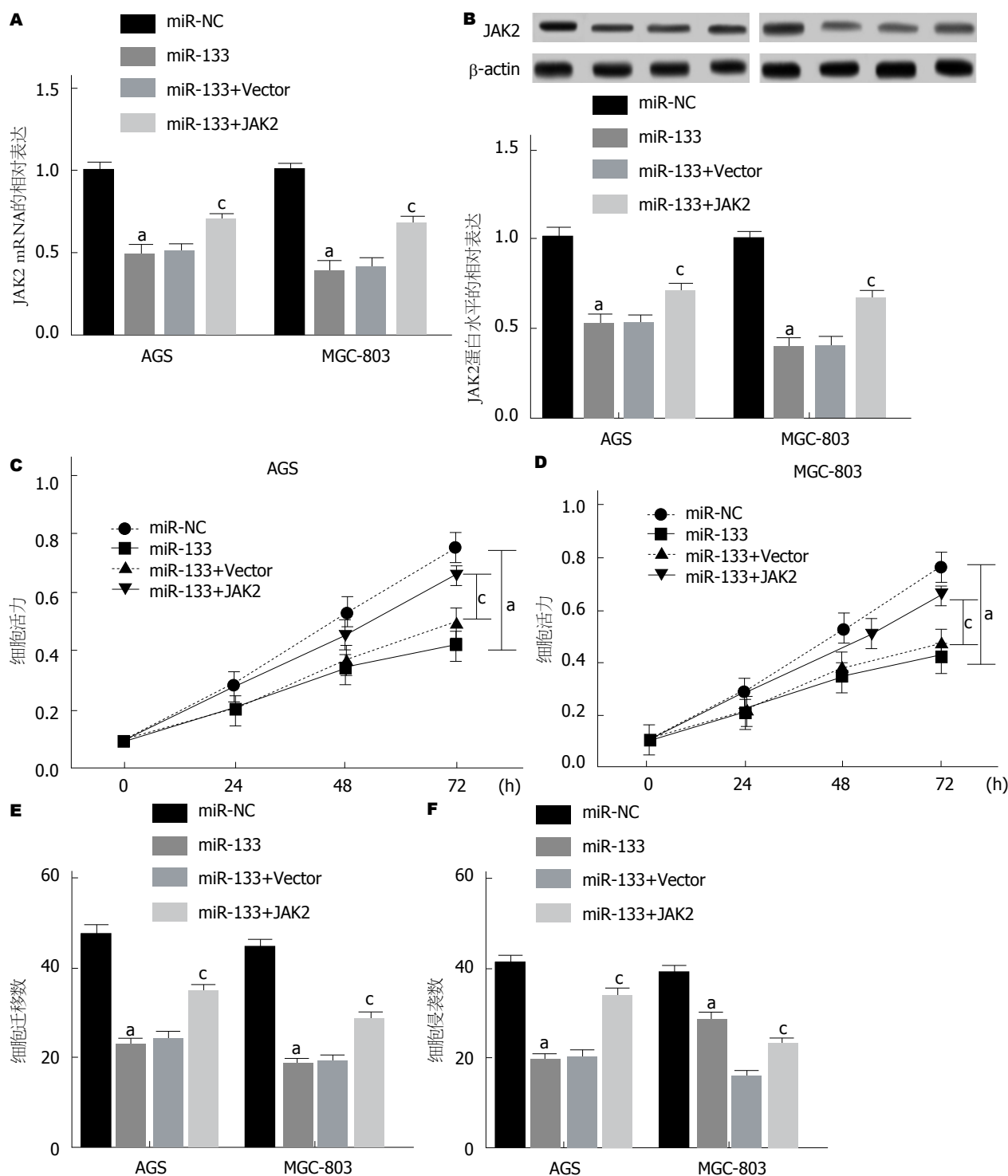


图 5 JAK2可部分逆转 miR-133对胃癌增殖、迁移、侵袭的抑制作用。A: 不同处理组对AGS、MGC-803细胞中JAK2相关表达的影响; B: 不同处理组对AGS、MGC-803细胞中JAK2蛋白表达的影响; C: 不同处理组对AGS细胞的细胞活力影响; D: 不同处理组对MGC-803细胞的细胞活力影响; E: 不同处理组对AGS、MGC-803细胞的细胞迁移数影响; F: 不同处理组对AGS、MGC-803细胞的细胞侵袭数影响; * $P < 0.05$, 与miR-NC组相比; $P < 0.05$, 与miR-133+Vector组相比。

且JAK2可部分逆转miR-375的抑制GC细胞增殖作用, miR-375可负向调控Snail、JAK2的表达^[20,21]。本研究检测了GC组织中JAK2的mRNA和蛋白表达发现, JAK2高表达, 这与人研究结果相一致; 沉默JAK2可得到与过表达miR-133一致的抑制GC细胞增殖、迁移、侵袭结

果; 进一步研究发现, JAK2可部分逆转miR-133的抑制GC细胞增殖、迁移、侵袭作用。

总之, miR-133可抑制GC细胞增殖、迁移、侵袭, 其机制可能与靶向JAK2有关, 为miR-133靶向治疗GC提供理论依据。

文章亮点

实验背景

近几年胃癌(gastric cancer, GC)的发病率和死亡率呈逐年上升趋势. miR-133在GC细胞中具有抑制增殖、迁移、侵袭作用, JAK2在GC中具有促癌作用, 但JAK2与JAK2在GC细胞中的作用关系国内外均尚未阐明.

实验动机

本研究旨在研究miR-133、JAK2对GC细胞增殖、迁移、侵袭的影响, 并探讨其分子作用机制, 以期能为GC的精准靶向治疗提供理论支持.

实验目标

探讨miR-133和JAK2对GC细胞增殖、迁移、侵袭的作用及二者之间的相互关系, 以期能为GC的靶向治疗提供依据.

实验方法

将GC组织和GC细胞中miR-133、JAK2的mRNA表达用qRT-PCR法检测; 涉及基因的干预均采用脂质体法转染到AGS、MGC-803细胞, 其中JAK2的蛋白表达用Western blot检测、细胞的增殖用MTT法检测、细胞的迁移和侵袭用Transwell法检测; miR-133靶向JAK2用双荧光素酶报告基因检测实验验证.

实验结果

本研究发现过表达miR-133与沉默JAK2对GC细胞具有同样的抑制增殖、迁移、侵袭作用, 同时, JAK2为miR-133的靶标, 且回补JAK2又能反向调控miR-133的抑癌作用.

实验结论

miR-133可靶向JAK2抑制GC细胞增殖、迁移、侵袭, 为miR-133靶向治疗GC的作用机制研究提供理论依据.

展望前景

本研究仅在体外研究miR-133对GC细胞增殖、迁移、侵袭的作用, 后期还需增加miR-133在裸鼠体内对GC生长、转移的治疗作用的实验, 以更清晰的展示miR-133对GC的治疗价值, 也为miR-133的靶向治疗提供更充分的理论依据.

4 参考文献

- 1 Qu Y, Dang S, Hou P. Gene methylation in gastric cancer. *Clin Chim Acta* 2013; 424: 53-65 [PMID: 23669186 DOI: 10.1016/j.cca.2013.05.002]
- 2 李淑英, 万福生. miRNA与肿瘤转移的研究进展. 南昌大学学

- 报(医学版) 2018; 58: 77-81 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2009.10.021]
- 3 Neudecker V, Brodsky KS, Kreth S, Ginde AA, Eltzschig HK. Emerging Roles for MicroRNAs in Perioperative Medicine. *Anesthesiology* 2016; 124: 489-506 [PMID: 26632665 DOI: 10.1097/ALN.0000000000000969]
- 4 王小磊, 刘小方. miR-133在常见消化系统恶性肿瘤中的研究进展. 医学综述 2018; 24: 3182-3186 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2018.16.012]
- 5 Yu H, Pardoll D, Jove R. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 798-809 [PMID: 19851315 DOI: 10.1038/nrc2734]
- 6 梁斌, 王杉, 叶颖江. JAK2激酶抑制剂AG490对胃癌细胞侵袭的影响. 中华普通外科杂志 2004; 10: 42-45 [DOI: 10.3760/j.issn.1007-631X.2004.10.014]
- 7 Yu H, Lu Y, Li Z, Wang Q. microRNA-133: expression, function and therapeutic potential in muscle diseases and cancer. *Curr Drug Targets* 2014; 15: 817-828 [PMID: 24975488]
- 8 郭连英, 高晓健, 刘放. miR-133与恶性肿瘤关系的研究进展. 生命科学 2015; 27: 143-150 [DOI: 10.13376/j.cbbs/2015021]
- 9 Xiao B, Liu H, Gu Z, Ji C. Expression of microRNA-133 inhibits epithelial-mesenchymal transition in lung cancer cells by directly targeting FOXQ1. *Arch Bronconeumol* 2016; 52: 505-511 [PMID: 26858166 DOI: 10.1016/j.arbres.2015.10.016]
- 10 Liu Y, Han L, Bai Y, Du W, Yang B. Down-regulation of MicroRNA-133 predicts poor overall survival and regulates the growth and invasive abilities in glioma. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2018; 46: 206-210 [PMID: 28376685 DOI: 10.1080/21691401.2017.1304551]
- 11 Li W, Zhong Y, Shuang Y, Huang H, Huang Y, Yu L, Huang X. High concentration of miR-133 is a useful marker for the diagnosis of lymphoma-associated hemophagocytic syndrome. *Cancer Biomark* 2017; 20: 159-164 [PMID: 28869447 DOI: 10.3233/CBM-170054]
- 12 Li TF, Liu J, Fu SJ. The interaction of long non-coding RNA MIAT and miR-133 play a role in the proliferation and metastasis of pancreatic carcinoma. *Biomed Pharmacother* 2018; 104: 145-150 [PMID: 29772434 DOI: 10.1016/j.biopha.2018.05.043]
- 13 Uchida Y, Chiyomaru T, Enokida H, Kawakami K, Tatarano S, Kawahara K, Nishiyama K, Seki N, Nakagawa M. MiR-133a induces apoptosis through direct regulation of GSTP1 in bladder cancer cell lines. *Urol Oncol* 2013; 31: 115-123 [PMID: 21396852 DOI: 10.1016/j.urolonc.2010.09.017]
- 14 Wang DS, Zhang HQ, Zhang B, Yuan ZB, Yu ZK, Yang T, Zhang SQ, Liu Y, Jia XX. miR-133 inhibits pituitary tumor cell migration and invasion via down-regulating FOXC1 expression. *Genet Mol Res* 2016; 15 [PMID: 27050992 DOI: 10.4238/gmr.15017453]
- 15 Cheng Z, Liu F, Wang G, Li Y, Zhang H, Li F. miR-133 is a key negative regulator of CDC42-PAK pathway in gastric cancer. *Cell Signal* 2014; 26: 2667-2673 [PMID: 25152372 DOI: 10.1016/j.cellsig.2014.08.012]
- 16 Yang T, Shi X, Kang Y, Zhu M, Fan M, Zhang D, Zhang Y. Novel compounds TAD-1822-7-F2 and F5 inhibited HeLa cells growth through the JAK/Stat signaling pathway. *Biomed Pharmacother* 2018; 103: 118-126 [PMID: 29649626 DOI: 10.1016/j.biopha.2018.03.174]
- 17 Hubbard SR. Mechanistic Insights into Regulation of JAK2 Tyrosine Kinase. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018; 8: 361 [PMID: 29379470 DOI: 10.3389/fendo.2017.00361]
- 18 谭豆豆, 马蓉, 刘涛, 刘清, 郑树涛, 周剑, 陈玉梅, 申铜雪, 张潇, 卢晓梅. p-JAK2蛋白在食管鳞状细胞癌中的表达及意义. 新疆医科大学学报 2018; 41: 281-283; 287 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-5551.2018.03.005]

- 19 Cheng JZ, Chen JJ, Xue K, Wang ZG, Yu D. Clinicopathologic and prognostic significance of VEGF, JAK2 and STAT3 in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Cell Int* 2018; 18: 110 [PMID: 30123088 DOI: 10.1186/s12935-018-0605-0]
- 20 Ding L, Xu Y, Zhang W, Deng Y, Si M, Du Y, Yao H, Liu X, Ke Y, Si J, Zhou T. MiR-375 frequently downregulated in gastric cancer inhibits cell proliferation by targeting JAK2. *Cell Res* 2010; 20: 784-793 [PMID: 20548334 DOI: 10.1038/cr.2010.79]
- 21 Xu Y, Jin J, Liu Y, Huang Z, Deng Y, You T, Zhou T, Si J, Zhuo W. Snail-regulated MiR-375 inhibits migration and invasion of gastric cancer cells by targeting JAK2. *PLoS One* 2014; 9: e99516 [PMID: 25055044 DOI: 10.1371/journal.pone.0099516]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2018 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文。以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。(2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。(3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。(4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 第 3 套为^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴。(5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<https://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

