

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2019 年 6 月 28 日 第 27 卷 第 12 期 (Volume 27 Number 12)



12/2019

ISSN 1009-3079



《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。

目次

2019年6月28日 第27卷 第12期 (总第632期)

述评

- 727 炎症性肠病与情绪障碍

李思慧, 吴巧凤

基础研究

- 734 基于Oncomie和Kaplan-Meier Plotter数据库分析
- KLF5*
- 在胃癌中的表达及其与患者预后相关性

冯福梅, 张磊

- 742 下调miRNA-214表达抑制胃癌SGC-7901/DDP细胞顺铂耐药、迁移和上皮间质转化

朱艳, 刘玮丽, 吴明东, 庄永卫, 叶淑芳, 施旭红

- 748 miR-7靶向Sp3对急性胰腺炎腺泡细胞增殖和凋亡的影响及机制研究

熊凯, 陈建, 傅庆洋

临床研究

- 756 腹腔镜联合胆道镜经胆囊管取石治疗胆囊结石合并胆总管结石5年随访效果分析

丁国乾, 朱杰高, 汪栋, 郭伟, 张忠涛

- 761 思连康治疗小儿非感染性腹泻的临床疗效及其对炎症因子的影响

陈前安, 宁宏伟, 王燕霞

文献综述

- 767 食管微生态与食管疾病

马双, 王赛宇, 朱兰平, 陈鑫, 王邦茂

- 773 炎症性肠病患者自我管理的研究进展

曹丹, 朱秀琴

会议纪要

- 778 参加2018年欧洲消化疾病周(UEG Week 2018)约稿及当地旅游

李香

临床实践

- 790 原发性肝癌细胞癌抗血管生成治疗后血管内皮生长因子及血流灌注参数变化

仲康, 张亦青, 陈华

消 息

- 760 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
761 《世界华人消化杂志》参考文献要求
772 《世界华人消化杂志》正文要求

封面故事

魏东, 主任医师, 医学博士, 博士生导师, 解放军联勤保障部队第九八九医院全军肛肠外科研究所主任, 享受国务院政府特殊津贴, 军队优秀人才二类岗位津贴. 现任中国医师协会理事, 中国医师协会肛肠医师分会副会长兼总干事, 全军结直肠病学专业委员会主任委员等. 长期从事胃肠疾病的临床和科研工作, 主要研究大肠癌的早期诊断、大肠癌肝肺转移机制的研究、中低位直肠癌保肛手术、胃结直肠肿瘤的腹腔镜微创手术、盆底影像和便秘的诊断与治疗等. 承担省部级以上科研基金7项, 获河南省和军队科技进步一等奖各1项, 河南省和军队科技进步二等奖14项; 发表论文60余篇, 其中SCI 28篇, 单篇最高影响因子22.56, 发明专利18项, 专著5部.

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 崔丽君; 组版编辑 刘继红; 英文编辑 王天奇; 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

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2019-06-28

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.

《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

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 27 Number 12 Jun 28, 2019

EDITORIAL

- 727 Emotional dysfunction and inflammatory bowel disease

Li SH, Wu QF

BASIC RESEARCH

- 734 Analysis of *KLF5* expression and its prognostic significance in gastric cancer based on Oncomine and Kaplan-Meier Plotter

Feng FM, Zhang L

- 742 Downregulation of miRNA-214 inhibits cisplatin resistance, cell migration, and epithelial interstitial transformation in gastric cancer SGC-7901/DDP cells

Zhu Y, Liu YL, Wu MD, Zhuang YW, Ye SF, Shi XH

- 748 MiR-7 regulates proliferation and apoptosis of acinar cells in acute pancreatitis by targeting Sp3

Xiong K, Chen J, Fu QY

CLINICAL RESEARCH

- 756 Five-year follow-up outcomes of laparoscopic choledochoscopy via the cystic duct for choledocholithiasis in patients with gallstones and common bile duct stones

Ding GQ, Zhu JG, Wang D, Guo W, Zhang ZT

- 761 Si Lian Kang for treatment of non-infectious diarrhea in children: Clinical efficacy and effect on inflammatory factors

Chen QA, Ning HW, Wang YX

REVIEW

- 767 Esophageal microbiota and esophageal diseases

Ma S, Wang SY, Zhu LP, Chen X, Wang BM

- 773 Advances in research on self-management model for patients with inflammatory bowel disease

Cao D, Zhu XQ

Conference Summary

- 778 Attending the United European Gastroenterology Week 2018 to invite manuscripts and local travel in Austria

Li X

CLINICAL PRACTICE

- 786 Changes of serum vascular endothelial growth factor and perfusion parameters in hepatocellular carcinoma after anti-angiogenic therapy

Zhong K, Zhang YQ, Chen H

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 27 Number 12 Jun 28, 2019

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Wei Dong, Chief Physician, MD, Ph.D. Supervisor, 989 Hospital of the Joint Logistics Support Force of the Chinese People's Liberation Army, No. 2 Huaxia Road, Jianxi District, Luoyang 471000, Henan Province, China

Indexed/Abstracted by

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Li-Jun Cui* Electronic Editor: *Ji-Hong Liu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* 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 June 28, 2019

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 136 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2019 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.

下调miRNA-214表达抑制胃癌SGC-7901/DDP细胞顺铂耐药、迁移和上皮间质转化

朱艳, 刘玮丽, 吴明东, 庄永卫, 叶淑芳, 施旭红

朱艳, 吴明东, 庄永卫, 叶淑芳, 施旭红, 丽水市人民医院全科 浙江省丽水市 323000

刘玮丽, 邵逸夫医院消化内科 浙江省杭州市 310000

朱艳, 副主任医师, 主要从事胃癌基础与临床研究.

基金项目: 丽水市科技计划项目, No. 2015zdxk07.

作者贡献分布: 此课题由刘玮丽设计; 研究过程由朱艳、吴明东、庄永卫及施旭红操作完成; 研究所用试剂及分析工具由刘玮丽及朱艳提供; 数据分析由朱艳及叶淑芳完成; 本文写作由朱艳及吴明东完成.

通讯作者: 刘玮丽, 副主任医师, 310000, 浙江省杭州市江干区庆春东路3号, 邵逸夫医院消化内科. liuweilipp23@aliyun.com
电话: 0571-86006186

收稿日期: 2019-04-11

修回日期: 2019-05-14

接受日期: 2019-06-05

在线出版日期: 2019-06-28

Downregulation of miRNA-214 inhibits cisplatin resistance, cell migration, and epithelial interstitial transformation in gastric cancer SGC-7901/DDP cells

Yan Zhu, Yu-Li Liu, Ming-Dong Wu, Yong-Wei Zhuang, Shu-Fang Ye, Xu-Hong Shi

Yan Zhu, Ming-Dong Wu, Yong-Wei Zhuang, Shu-Fang Ye, Xu-Hong Shi, Department of General Practice, Lishui People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Yu-Li Liu, Department of Gastroenterology, Run Run Shaw Hospital, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China

Supported by: Lishui Science and Technology Plan Project, No. 2015zdxk07.

Corresponding author: Yu-Li Liu, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Run Run Shaw Hospital, 3 Qingchun

East Road, Jianggan District, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China. liuweilipp23@aliyun.com

Received: 2019-04-11

Revised: 2019-05-14

Accepted: 2019-06-05

Published online: 2019-06-28

Abstract BACKGROUND

Gastric cancer (GC) is one of the common tumors of the digestive system, and resistance to chemotherapy is the bottleneck that restricts the therapeutic effect of chemotherapy in GC. Therefore, it is of great significance to explore the mechanism of reversal of chemotherapy resistance.

AIM

To investigate the effect of miRNA-214 (miR-214) knockdown on cisplatin resistance, cell migration, and epithelial mesenchymal transformation (EMT) in GC SGC-7901/DDP cells, and to explore the preliminary mechanism.

METHODS

After transfection of SGC-7901/DDP cells with miR-214 inhibitor using the LipofectamineTM2000 method, the change of cell resistance to cisplatin was evaluated by the CCK-8 assay, cell migration was evaluated by wound healing assay, and the protein expression levels of E-cadherin (E-cad), Vimentin, N-cadherin (N-cad), NF- κ B, and Bcl-2 were detected by Western blot.

RESULTS

After transfection with miR-214 inhibitor, the resistance of SGC-7901/DDP cells to cisplatin was significantly reduced ($P < 0.05$), and the ability of cell migration was

obviously decreased ($P < 0.05$). The expression level of E-cad protein was significantly increased ($P < 0.05$), while the expression levels of Vimentin and N-cad proteins were significantly decreased ($P < 0.05$). Moreover, the expression levels of NF- κ B and Bcl-2 protein in SGC-7901/DDP cells were significantly decreased ($P < 0.05$).

CONCLUSION

Down-regulation of miR-214 can reduce the resistance of SGC-7901/DDP cells to cisplatin and inhibit cell migration and EMT. This effect may be related to the down-regulation of NF- κ B and Bcl-2 expression.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: miR-214; Gastric cancer; Epithelial mesenchymal transformation; Cisplatin resistance

Zhu Y, Liu YL, Wu MD, Zhuang YW, Ye SF, Shi XH. Downregulation of miRNA-214 inhibits cisplatin resistance, cell migration, and epithelial interstitial transformation in gastric cancer SGC-7901/DDP cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(12): 742-747
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i12/742.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i12.742>

摘要

背景

胃癌(gastric cancer, GC)是常见的消化系统肿瘤之一,而肿瘤化疗耐药是制约GC治疗效果的瓶颈,探索逆转GC化疗耐药机制对于GC的治疗具有重大意义。

目的

探讨敲低miR-214表达对GC细胞SGC-7901/DDP顺铂耐药性、迁移以及上皮间质转化(epithelial mesenchymal transformation, EMT)的影响,并讨论初步作用机制。

方法

采用Lipofectamine™2000法转染miR-214 inhibitor至SGC-7901/DDP细胞后, CCK-8法评估细胞对顺铂耐药性的改变; 划痕试验检测细胞迁移能力; 免疫印迹法检测细胞中E-钙黏蛋白(E-cad)、波形蛋白(Vimentin)和N-钙黏蛋白(N-cad), 以及NF- κ B与Bcl-2蛋白表达水平。

结果

转染miR-214 inhibitor后, SGC-7901/DDP细胞对顺铂耐药性明显降低($P < 0.05$); 且细胞迁移能力明显降低($P < 0.05$), E-cad蛋白表达显著升高($P < 0.05$), Vimentin与N-cad蛋白表达均显著降低(均 $P < 0.05$)。另外, SGC-7901/DDP细胞中NF- κ B与Bcl-2的表达明显降低(均 $P < 0.05$)。

结论

下调miR-214表达具有降低GCSGC-7901/DDP细胞对顺铂耐药性, 抑制细胞迁移与EMT的作用。而这种作用可能与下调NF- κ B与Bcl-2的表达有关。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: miR-214; 胃癌; 上皮间质转化; 顺铂耐药

核心提要: 铂类药物为主的化疗是治疗胃癌的常用手段之一, 而化疗耐药制约着化疗的最终疗效。本研究发现, 下调SGC-7901/DDP细胞miR-214表达后, 顺铂耐药性、细胞迁移与上皮间质转化均降低; 同时, NF- κ B与Bcl-2的表达也明显降低。

朱艳, 刘玮丽, 吴明东, 庄永卫, 叶淑芳, 施旭红. 下调miRNA-214表达抑制胃癌SGC-7901/DDP细胞顺铂耐药、迁移和上皮间质转化. *世界华人消化杂志* 2019; 27(12): 742-747

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i12/742.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i12.742>

0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 据2018年肿瘤年报显示, 我国GC发病率位于所有恶性肿瘤中的第五位, 死亡率位于所有恶性肿瘤中的第三位^[1]。且, 随着人们饮食结构的变化, 以及现代生活压力的增加, GC的发病年龄呈现低龄化趋势^[2]。GC常规治疗手段是化疗或者GC切除术后辅以化疗方式^[3]。虽然大部分GC患者对化疗呈现出较好的初始反应, 但很快就易出现获得性耐药, 而再次化疗效果极不理想^[4]。即便是化疗敏感的GC患者也易进展为化疗耐药性GC患者; 而这种获得性耐药往往是多药耐药, 对其他具有不同分子结构和作用靶点的抗肿瘤药物也往往存在交叉性耐药, 此时更换或联合其他种类化疗药物也难以使患者获益^[5]。因此, 逆转GC细胞对化疗的耐药性的研究, 不仅是急需解决的临床治疗课题, 还具有重大的社会意义。

在肿瘤的研究中, 许多与GC化疗药物敏感性的靶点受到miRNAs的调控^[6]。miR-214作为miRNAs中的一员, 不但被报道可以调节包含GC细胞在内的多种癌细胞的增殖、侵袭和迁移^[7,8]; 而且miR-214表达还与骨肉瘤、卵巢癌和舌鳞状细胞癌等癌细胞的顺铂耐药性相关^[9-11]。尽管miR-214已被证明在多种肿瘤的发生及发展中具有调控功能, 但其对GC顺铂耐药中的具体作用尚不清楚。本研究讨论敲低miR-214对GC顺铂耐药株SGC-7901/DDP的耐药性、迁移与上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的影响, 并讨论其可能的初步机制。

1 材料和方法

1.1 材料 人GC顺铂耐药SGC-7901/DDP细胞购自中国科学院上海生物细胞研究所; 胎牛血清购自美国Gibco公司; RPMI-1640培养基购自美国Hyclone公司; CCK-8试剂盒购自碧云天生物技术有限公司; E-cadherin (E-cad)抗体购自美国Acam公司; Vimentin、NF- κ B和Bcl-2抗体均购自美国Santa Cruz公司; N-cadherin (N-cad)抗体购自美国BD公司; miR-214 NC和miR-214 inhibitor由上海吉玛公司合成; 其他试剂为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与转染: 将人GC顺铂耐药SGC-7901/DDP细胞培养于含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基中, 在37℃、5%CO₂的培养箱中培养, 待细胞融合至80%-90%时, 按照Lipofectamine™2000试剂盒说明书进行转染, 实验共分为三组: 对照组(Control), 阴性对照组(miR-214 NC)和miRNA-214下调组(miR-214 inhibitor), 阴性对照组与沉默组分别转染miR-214 NC与miR-214 inhibitor, 48 h后更换培养基, 继续培养细胞, 备用。

1.2.2 细胞存活率检测: 严格按照CCK-8试剂盒说明书操作, 将SGC-7901/DDP细胞和已转染miR-214 NC与miR-214 inhibitor的SGC-7901/DDP细胞按照 5×10^4 的密度接种到96孔板中, 分别加入终浓度分别为50 μ mol/L、100 μ mol/L和200 μ mol/L的顺铂, 分别再继续培养24 h与48 h。达到时间终点时, 每孔加入10 μ L CCK-8溶液, 在培养箱中孵育2 h, 用酶标仪在450 nm波长处测量吸光度(OD值)。计算细胞存活率, 细胞存活率=处理组OD/对照组OD值 $\times 100\%$ 。

1.2.3 细胞迁移能力: 收集SGC-7901/DDP细胞和已转染miR-214 NC与miR-214 inhibitor的SGC-7901/DDP细胞, 将其接种至6孔板, 待细胞达到单细胞层完全融合时, 采用无菌10 μ L枪头划痕, 并采用无菌生理盐水冲洗细胞2次, 然后置于37℃、5%CO₂的培养箱中继续培养12 h和24 h。导致显微镜拍照记录细胞在划痕开始时和划痕后12 h与24 h的细胞图像, 采用IPP软件计算细胞迁移面积。

1.2.4 免疫印迹法: 收集SGC-7901/DDP细胞和已转染miR-214 NC与miR-214 inhibitor的SGC-7901/DDP细胞, 然后分别加入预冷的细胞裂解液, 4℃下12000 \times g离心15 min, 收集上清液。BCA蛋白浓度测定试剂盒进行蛋白浓度测定后, 取50 μ g蛋白与5 \times SDS上样缓冲液一起进行SDS-PAGE电泳, 然后再电转至合适大小的PVDF膜, 加入5%脱脂牛奶, 室温下封闭1 h, 加入一抗稀释液, 室温下摇床孵育1 h, 4℃孵育过夜, TBST漂洗5 min \times 3次, 加入相应二抗, 37℃孵育1 h, TBST洗涤5 min \times 3次, 采用ECL电化学发光显色, 采用Image J软件对蛋白条带进行定量分析。

统计学处理 采用SPSS 18.0统计软件对实验数据进行分析, 计量资料采用mean \pm SD表示, 多样本均数比较采用单因素方差分析后LSD-*t*检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 下调miR-214降低SGC-7901/DDP细胞对顺铂耐药性 CCK-8法结果(图1)显示, 与Control组或miR-214 NC组相比, 转染miR-214 inhibitor 24 h(图1A)或48 h(图1B)后, SGC-7901/DDP细胞对顺铂的耐药性均降低, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。其中与Control组相比, 转染miR-214 NC 24 h(图1A)或48 h(图1B)后, SGC-7901/DDP细胞对顺铂的耐药性无影响, 差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

2.2 下调miR-214抑制SGC-7901/DDP细胞迁移 划痕试验结果(图2)显示, 与Control组或miR-214 NC组相比, 转染miR-214 inhibitor后, SGC-7901/DDP细胞迁移面积明显降低, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。其中与Control组相比, 转染miR-214 NC后, SGC-7901/DDP细胞迁移面积无明显变化, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 下调miR-214抑制SGC-7901/DDP细胞EMT Western blot结果显示(图3), 与Control组或miR-214 NC组相比, 转染miR-214 inhibitor后, SGC-7901/DDP细胞中E-cad蛋白表达显著上升($P < 0.05$), Vimentin与N-cad蛋白表达均显著下降(均 $P < 0.05$); 其中与Control组相比, 转染miR-214 NC后, 上述相关蛋白均无显著变化(均 $P > 0.05$)。

2.4 下调miR-214抑制SGC-7901/DDP细胞中NF- κ B与Bcl-2蛋白表达 Western blot结果显示(图4), 与Control组或miR-214 NC组相比, 转染miR-214 inhibitor后, SGC-7901/DDP细胞中NF- κ B(图4A)与Bcl-2(图4B)的表达均明显下调, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。其中与Control组相比, 转染miR-214 NC后, SGC-7901/DDP细胞中NF- κ B(图4A)与Bcl-2(图4B)的表达无明显差异(均 $P > 0.05$)。

3 讨论

GC以化疗或者GC切除术后辅以基础化疗作为主要的治疗手段^[3]。顺铂是常用的广谱的肿瘤化疗药物之一, 广泛应用于头颈部肿瘤、GC、肺癌、乳腺癌和卵巢癌等各类肿瘤的临床治疗。但在临床上, 大多数化疗GC患者会出现顺铂耐药, 而顺铂耐药也是GC患者临床治疗失败的主要原因^[4,5]。而miRNAs的差异表达在GC的顺铂化疗耐药中发挥重要作用^[6,12]。如miR-129在GC化疗耐药组织中低表达; 而过表达miR-129后, GC细胞对顺铂的耐药性得到逆转, 造成对顺铂的敏感性明显提高^[12]。

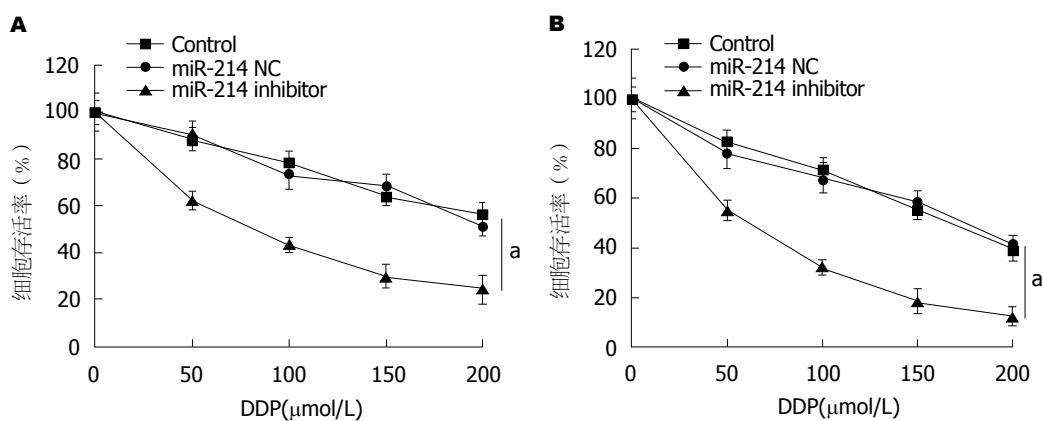


图1 敲低miR-214抑制SGC-7901/DDP细胞对顺铂耐药性. A: 三组细胞在24 h细胞存活率曲线; B: 三组细胞在48 h细胞存活率曲线. $n = 3$, $^aP < 0.05$, 与对照组或者miR-214 NC组相比.

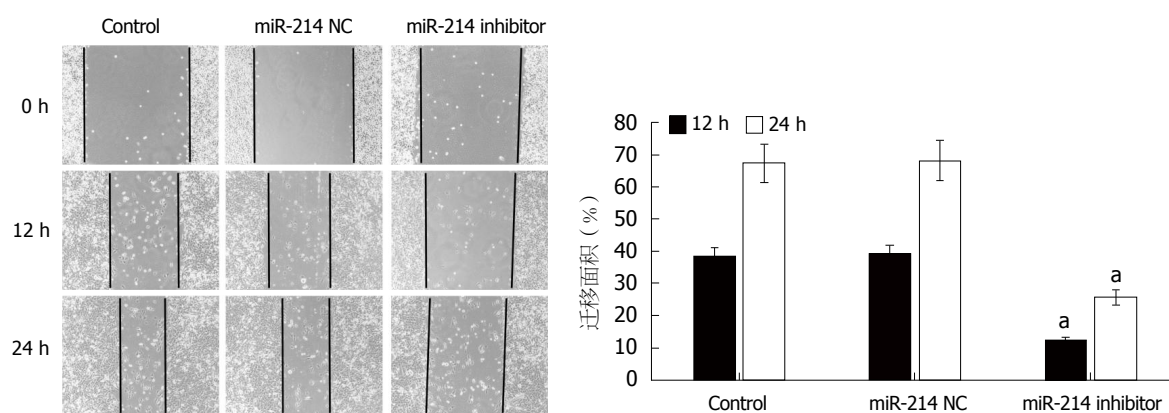


图2 敲低miR-214抑制SGC-7901/DDP细胞迁移. $n = 4$, $^aP < 0.05$, 与对照组或者miR-214 NC组相比.

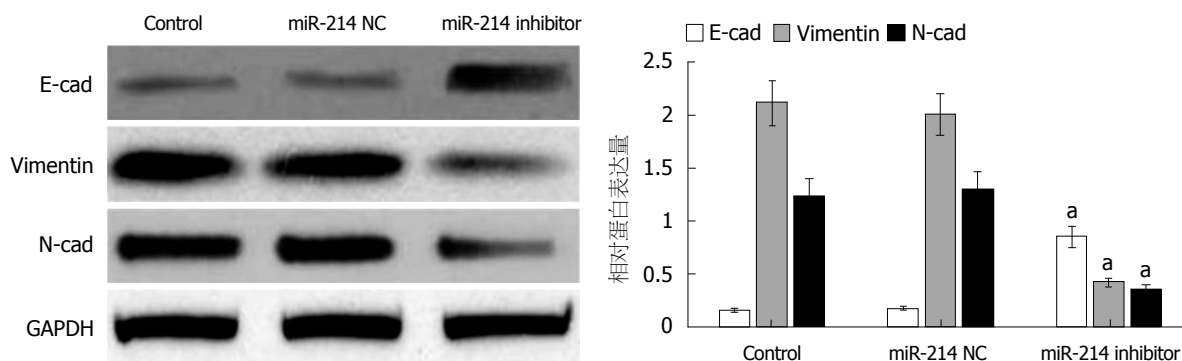


图3 敲低miR-214抑制SGC-7901/DDP细胞EMT. $n = 4$, $^aP < 0.05$, 与对照组或者miR-214 NC组相比.

miR-214作为总多miRNAs的一员, 参与调控骨肉瘤、卵巢癌和舌鳞状细胞癌细胞的顺铂耐药性^[9-11]. 而在GC耐药细胞中改变miR-214表达是否对顺铂耐药产生影响尚不清楚. 本研究在GC顺铂耐药细胞SGC-7901/DDP中通过转染miR-214 inhibitor后, 发现, 敲低miR-214表达能降低SGC-7901/DDP细胞对顺铂的耐药性, 抑制细胞的迁移与EMT.

EMT是指细胞通过特定程序转化为具有间质表型细胞的生物学过程^[12]. 在此过程中伴随着上皮细胞

标志物E-钙黏蛋白(E-cadherin)的表达减少和N-钙黏蛋白(N-cadherin)表达增加, 以及间质细胞标志物波形蛋白(Vimentin)增加等EMT的标志物的改变^[13]. 多项研究表明^[13,14], EMT在肿瘤的迁移与侵袭中发挥着重要的作用, 当肿瘤细胞出现间充质转化后, 失去细胞极性, 降低与基底膜的连接性, 从而具有降解细胞外基质、高迁移能力与侵袭能力的间质表型; 而抑制EMT能抑制肿瘤细胞迁移. 本研究中, 发现敲低miR-214表达能降低SGC-7901/DDP细胞的迁移与敲低miR-214降低

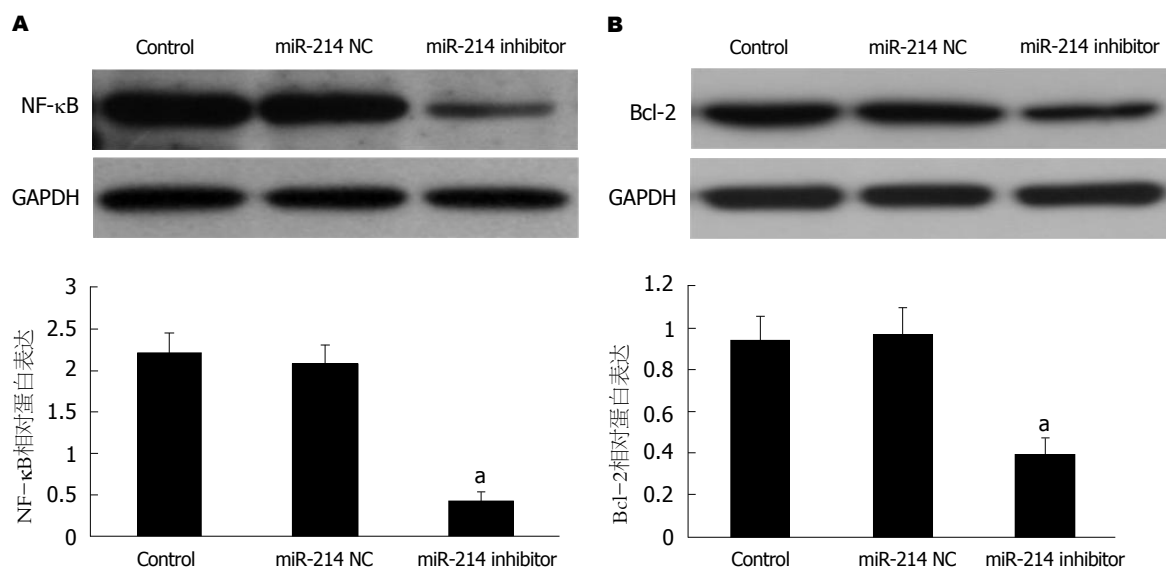


图 4 敲低miR-214抑制SGC-7901/DDP细胞中NF-κB与Bcl-2蛋白表达. $n = 4$, $^a P < 0.05$, 与对照组或者miR-214 NC组相比.

SGC-7901/DDP细胞EMT进程相关.

NF-κB是一种核内转录调节因子. 研究发现, 在顺铂耐药的肿瘤细胞中, NF-κB和Bcl-2高表达, 而抑制NF-κB和Bcl-2表达, 能够使多种肿瘤细胞对化疗药物的敏感性增高^[15,16]. 另外, 抑制NF-κB和Bcl-2表达能使GC细胞迁移与EMT降低^[17]. Bcl-2的调节位点上有NF-κB的结合位点, 受NF-κB的调控, 与NF-κB具有协同作用^[18]. 我们研究结果显示, 下调miR-214表达后, SGC-7901/DDP细胞中的NF-κB与Bcl-2蛋白明显降低, 提示敲低miR-214抑制SGC-7901/DDP细胞顺铂耐药性可能与抑制NF-κB与Bcl-2蛋白表达相关. 下调miR-214如何抑制NF-κB与Bcl-2表达, 还需要进一步进行研究验证.

总之, 下调miR-214的表达能够抑制GC顺铂耐药株SGC-7901/DDP对顺铂的耐药性, 同时使得细胞迁移能力下降, 并促进EMT作用, 可能与其抑制NF-κB与Bcl-2蛋白表达的作用有关.

文章亮点

实验背景

胃癌(gastric cancer, GC)是常见的消化系统恶性肿瘤之一. 而化疗是治疗GC常规治疗手段之一. 而GC患者化疗容易出现获得性化疗耐药. 因此, 研究逆转GC化疗耐药性的靶点和调控信号机制, 是当今治疗GC急需解决的重要的临床课题.

实验动机

在肿瘤的研究中, 许多miRNAs在调控肿瘤细胞的化疗耐药性中发挥着重要作用. miR-214作为总多miRNAs中

的一员, 可以促进多种癌细胞包含GC细胞的增殖、侵袭和迁移, 另外, miR-214还参与调控骨肉瘤细胞、卵巢癌细胞和舌鳞状细胞癌细胞对顺铂耐药性的改变. 尽管miR-214已被证明在多种肿瘤的发生及发展中具有调控功能, 但其对GC顺铂耐药中的具体作用尚不清楚.

实验目标

本研究采用GC顺铂耐药SGC-7901/DDP细胞, 然后通过转染miR-214 inhibitor, 下调miR-214表达后, 观察SGC-7901/DDP细胞迁移、上皮间质转化与顺铂耐药性的变化, 并分析其初步作用机制.

实验方法

SGC-7901/DDP细胞转染miR-214 inhibitor后, 通过CCK8法评估敲低miR-214是否影响细胞对顺铂耐药性; 通过划痕实验评估敲低miR-214是否影响细胞迁移能力; 免疫印迹法评估敲低miR-214是否影响细胞上皮间质转化标志物表达, 以及NF-κB与Bcl-2表达水平.

实验结果

敲低miR-214后, SGC-7901/DDP细胞对顺铂耐药性明显降低; 敲低miR-214后, SGC-7901/DDP细胞迁移能力下降; 敲低miR-214后, SGC-7901/DDP细胞上皮间质转化标志物表达发生了改变, 表现为E-cad蛋白表达显著上升, Vimentin与N-cad蛋白表达显著下降; 同时, 敲低miR-214后, SGC-7901/DDP细胞NF-κB与Bcl-2的表达明显降低.

实验结论

敲低miR-214具有抑制SGC-7901/DDP细胞对顺铂耐药

性、细胞迁移与上皮间质转化的作用. 而这种作用可能与下调NF- κ B与Bcl-2的表达有关.

展望前景

本研究提示, 下调miR-214能逆转GCSGC-7901/DDP细胞对顺铂的耐药性, 为GC顺铂耐药提供了一定的研究靶点. 本研究下步将先检查临床样本GC耐药组织中miR-214表达, 并采用GC耐药细胞建立GC移植荷瘤鼠在动物实验上检验下调miR-214后, GC顺铂耐药性是否发生逆转.

4 参考文献

- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 394-424 [PMID: 30207593 DOI: 10.3322/caac.21492]
- Sung H, Siegel RL, Rosenberg PS, Jemal A. Emerging cancer trends among young adults in the USA: analysis of a population-based cancer registry. *Lancet Public Health* 2019; 4: e137-e147 [PMID: 30733056 DOI: 10.1016/S2468-2667(18)30267-6]
- Choi AH, Kim J, Chao J. Perioperative chemotherapy for resectable gastric cancer: MAGIC and beyond. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 7343-7348 [PMID: 26139980 DOI: 10.3748/wjg.v21.i24.7343]
- Hayase S, Yamada L, Ujiie D, Nirei A, Tada T, Hanayama H, Monma T, Saze Z, Ohki S, Kono K. Clinical usefulness of ramucirumab plus paclitaxel for unresectable and recurrent gastric cancer. *Fukushima J Med Sci* 2019; 65: 6-12 [PMID: 30996218 DOI: 10.5387/fms.2018-12]
- Yu P, Du Y, Cheng X, Yu Q, Huang L, Dong R. Expression of multidrug resistance-associated proteins and their relation to postoperative individualized chemotherapy in gastric cancer. *World J Surg Oncol* 2014; 12: 307 [PMID: 25304659 DOI: 10.1186/1477-7819-12-307]
- Yang X, Zhao Q, Yin H, Lei X, Gan R. MiR-33b-5p sensitizes gastric cancer cells to chemotherapy drugs via inhibiting HMGA2 expression. *J Drug Target* 2017; 25: 653-660 [PMID: 28436711 DOI: 10.1080/1061186X.2017.1323220]
- Li HL, Liang S, Cui JH, Han GY. Targeting of GSK-3 β by miR-214 to facilitate gastric cancer cell proliferation and decrease of cell apoptosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2018; 22: 127-134 [PMID: 29364479 DOI: 10.26355/eurev.201801_14109]
- Zhang K, Zhang M, Jiang H, Liu F, Liu H, Li Y. Down-regulation of miR-214 inhibits proliferation and glycolysis in non-small-cell lung cancer cells via down-regulating the expression of hexokinase 2 and pyruvate kinase isozyme M2. *Biomed Pharmacother* 2018; 105: 545-552 [PMID: 29886375 DOI: 10.1016/j.biopha.2018.06.009]
- Song YD, Li DD, Guan Y, Wang YL, Zheng J. miR-214 modulates cisplatin sensitivity of osteosarcoma cells through regulation of anaerobic glycolysis. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2017; 63: 75-79 [PMID: 28980925 DOI: 10.14715/cmb/2017.63.9.14]
- Yang H, Kong W, He L, Zhao JJ, O'Donnell JD, Wang J, Wenham RM, Coppola D, Kruk PA, Nicosia SV, Cheng JQ. MicroRNA expression profiling in human ovarian cancer: miR-214 induces cell survival and cisplatin resistance by targeting PTEN. *Cancer Res* 2008; 68: 425-433 [PMID: 18199536 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2488]
- Yu ZW, Zhong LP, Ji T, Zhang P, Chen WT, Zhang CP. MicroRNAs contribute to the chemoresistance of cisplatin in tongue squamous cell carcinoma lines. *Oral Oncol* 2010; 46: 317-322 [PMID: 20219416 DOI: 10.1016/j.oraloncology.2010.02.002]
- Lu C, Shan Z, Li C, Yang L. MiR-129 regulates cisplatin-resistance in human gastric cancer cells by targeting P-gp. *Biomed Pharmacother* 2017; 86: 450-456 [PMID: 28012924 DOI: 10.1016/j.biopha.2016.11.139]
- Zhang Z, Che X, Yang N, Bai Z, Wu Y, Zhao L, Pei H. miR-135b-5p Promotes migration, invasion and EMT of pancreatic cancer cells by targeting NR3C2. *Biomed Pharmacother* 2017; 96: 1341-1348 [PMID: 29196101 DOI: 10.1016/j.biopha.2017.11.074]
- Wu TJ, Xu B, Zhao GH, Luo J, Luo C. IL-37 suppresses migration and invasion of gallbladder cancer cells through inhibition of HIF-1 α induced epithelial-mesenchymal transition. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2018; 22: 8179-8185 [PMID: 30556856 DOI: 10.26355/eurev.201812_16510]
- Yu S, Gong LS, Li NF, Pan YF, Zhang L. Galangin (GG) combined with cisplatin (DDP) to suppress human lung cancer by inhibition of STAT3-regulated NF- κ B and Bcl-2/Bax signaling pathways. *Biomed Pharmacother* 2018; 97: 213-224 [PMID: 29091869 DOI: 10.1016/j.biopha.2017.10.059]
- Chen PM, Cheng YW, Wu TC, Chen CY, Lee H. MnSOD overexpression confers cisplatin resistance in lung adenocarcinoma via the NF- κ B/Snail/Bcl-2 pathway. *Free Radic Biol Med* 2015; 79: 127-137 [PMID: 25499851 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.12.001]
- Zhou P, Wang C, Hu Z, Chen W, Qi W, Li A. Genistein induces apoptosis of colon cancer cells by reversal of epithelial-to-mesenchymal via a Notch1/NF- κ B/slug/E-cadherin pathway. *BMC Cancer* 2017; 17: 813 [PMID: 29202800 DOI: 10.1186/s12885-017-3829-9]
- Ren L, Li Z, Dai C, Zhao D, Wang Y, Ma C, Liu C. Chrysophanol inhibits proliferation and induces apoptosis through NF- κ B/cyclin D1 and NF- κ B/Bcl-2 signaling cascade in breast cancer cell lines. *Mol Med Rep* 2018; 17: 4376-4382 [PMID: 29344652 DOI: 10.3892/mmr.2018.8443]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红





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

