

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2019 年 8 月 28 日 第 27 卷 第 16 期 (Volume 27 Number 16)



16 / 2019

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

977 罕见的息肉病-Cronkhite-Canada综合征

陈鑫, 李变霞, 朱兰平, 马双, 赵经文, 仲威龙, 王邦茂

基础研究

984 瑞芬太尼通过miR-519d-3p/STAT3对胃癌细胞增殖、凋亡的影响

孙成成, 刘宇, 胡旭明

991 miR-7a-5p对急性胰腺炎腺泡细胞增殖、凋亡的影响及机制

楼一波, 王晓华, 傅志成

临床研究

999 超声内镜下上消化道黏膜下病变的临床特征及内镜下治疗效果观察

张艳, 张伟, 张莹

文献综述

1007 脑肠轴传输中的胃肠肽类激素

刘娅薇, 惠华英, 谭周进

1013 肠神经胶质细胞对肠上皮屏障的调节与功能紊乱疾病

狄治杉, 杨泽俊, 朱敏佳, 王菲菲, 李利生, 徐敬东

研究快报

1022 某三级医院上消化道内镜检查1995例患者胃息肉病理特征研究

刘佳

临床实践

1027 经PTCD与ERCP途径胆道金属支架置入治疗恶性胆道梗阻对比研究

柴慈曼, 宋国栋, 范绪



病例报告

1035 外伤后以囊内出血为首发症状的胃囊肿一例及文献回顾

吴川林, 汝贝贝, 侯国方, 徐铂然, 杜祖超, 孙备, 白雪巍

更正

1041 更正“ERO1 α 介导同型半胱氨酸诱导的肝细胞内质网应激” [世界华人消化杂志 2014; 22(34): 5228-5234]

周龙霞, 杨安宁, 陈久凯, 赵丽, 王艳华, 刘现梅, 蔡欣, 张鸣号, 姜怡邓, 曹军

消 息

- 983 《世界华人消化杂志》外文字符标准
1006 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
1012 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事
1021 《世界华人消化杂志》修回稿须知
1026 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

封面故事

江学良, 山东中医药大学第二附属医院及山东省中西医结合医院消化中心主任, 医学博士, 博士后, 世界华人消化学会会长, 中国中西医结合学会炎症性肠病专家委员会主任委员, 承担国家重点研发项目子课题及国家博士后科研基金项目, 擅长炎症性肠病与内镜诊治, 在《WGJ》等杂志发表论文近100篇, 主编专著4部. 获军队及省部级科技成果奖6项.

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 2019-08-28

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 16 Aug 28, 2019

EDITORIAL

- 977 Cronkhite-Canada syndrome: A rare polyposis

Chen X, Li BX, Zhu LP, Ma S, Zhao JW, Zhong WL, Wang BM

BASIC RESEARCH

- 984 Remifentanyl inhibits proliferation and promotes apoptosis of gastric cancer cells by regulating miR-519d-3p/STAT3 expression

Sun CC, Liu Y, Hu XM

- 991 Effects of miR-7a-5p expression on proliferation and apoptosis of acinar cells in acute pancreatitis

Lou YB, Wang XH, Fu ZC

CLINICAL RESEARCH

- 999 Upper gastrointestinal submucosal lesions: Endoscopic ultrasonographic features and endoscopic curative effects

Zhang Y, Zhang W, Zhang Y

REVIEW

- 1007 Gastrointestinal peptide hormones associated with brain-intestinal axis

Liu YW, Hui HY, Tan ZJ

- 1013 Regulation of intestinal epithelial barrier by and dysfunction of intestinal glial cells

Di ZS, Yang ZJ, Zhu MJ, Wang FF, Li LS, Xu JD

RAPID COMMUNICATION

- 1022 Pathological characteristics of gastric polyps in 1995 patients undergoing upper gastrointestinal endoscopy in a tertiary hospital

Liu J

CLINICAL PRACTICE

- 1027 Comparative study of biliary stent placement by percutaneous transhepatic cholangial drainage and endoscopic retrograde cholangiopancreatography in treatment of malignant biliary obstruction

Chai CM, Song GD, Fan X



CASE REPORT

1035 Gastric duplication cyst with internal hemorrhage after trauma: A case report and literature review

Wu CL, Ru BR, Hou GF, Xu BR, Du ZC, Sun B, Bai XW

CORRECTION

1041 Corrigendum to "Zhou LX, Yang AN, Chen JK, Zhao L, Wang YH, Liu XM, Cai X, Zhang MH, Jiang YD, Cao J. Endoplasmic reticulum oxidoreductin 1 α mediates homocysteine-induced hepatocyte endoplasmic reticulum stress" [Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(34): 5228-5234]

Zhou LX, Yang AN, Chen JK, Zhao L, Wang YH, Liu XM, Cai X, Zhang MH, Jiang YD, Cao J

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 27 Number 16 Aug 28, 2019

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Jiang Xue-Liang, Professor, Digestive Center, Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, No. 1 Jingba Road, Jinan 250001, Shandong 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 August 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.

瑞芬太尼通过miR-519d-3p/STAT3对胃癌细胞增殖、凋亡的影响

孙成成, 刘宇, 胡旭明

孙成成, 刘宇, 义乌市中心医院麻醉科 浙江省义乌市 322000

胡旭明, 浙江大学附属邵逸夫医院麻醉科 浙江省杭州市 310016

孙成成, 硕士, 主治医师, 研究方向为临床麻醉学.

作者贡献分布: 此课题由孙成成与刘宇设计; 研究过程由孙成成、刘宇及胡旭明操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由胡旭明提供; 数据分析由孙成成与胡旭明完成; 本论文写作由孙成成、刘宇及胡旭明完成.

通讯作者: 孙成成, 硕士, 主治医师, 322000, 浙江省义乌市江东路699号, 义乌市中心医院麻醉科. kx5601057fantua@163.com
电话: 0579-85209666

收稿日期: 2019-04-11

修回日期: 2019-06-26

接受日期: 2019-08-12

在线出版日期: 2019-08-28

Remifentanyl inhibits proliferation and promotes apoptosis of gastric cancer cells by regulating miR-519d-3p/STAT3 expression

Cheng-Cheng Sun, Yu Liu, Xu-Ming Hu

Cheng-Cheng Sun, Yu Liu, Department of Anesthesiology, Yiwu Central Hospital, Yiwu322000, Zhejiang Province, China.

Xu-Ming Hu, Department of Anesthesiology, Shao Yifu Hospital Affiliated to Zhejiang University, Hangzhou310016, Zhejiang Province, China.

Corresponding author: Cheng-Cheng Sun, MSc, Chief Physician, Yiwu Central Hospital, Department of Anesthesiology, No. 699, Jiangdong Road, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China. kx5601057fantua@163.com

Received: 2019-04-11

Revised: 2019-06-26

Accepted: 2019-08-12

Published online: 2019-08-28

Abstract BACKGROUND

Studies have shown that opioids can not only be used for tumor anesthesia and postoperative analgesia, but also have an inhibitory effect on the malignant biological behavior of tumor cells. As a highly efficient opioid receptor agonist, remifentanyl has been reported to inhibit the proliferation and migration and induce apoptosis of tumor cells such as colon cancer, liver cancer, and lung adenocarcinoma cells. However, the effect of remifentanyl on the proliferation and apoptosis of gastric cancer (GC) cells and the underlying mechanism are still unclear.

AIM

To study the effect of remifentanyl on proliferation and apoptosis of GC cells and the potential mechanism involved.

METHODS

Human GC SGC7901 and BGC823 cells were cultured, and the effects of different concentrations of remifentanyl on cell proliferation were detected by MTT assay. GC cells overexpressing miR-519d-3p, those with low expression of miR-519d-3p, and those overexpressing STAT3 were constructed and treated with remifentanyl. Cell proliferation activity was measured by MTT assay at 24 h, 48 h, and 72 h after remifentanyl treatment. Apoptosis was detected by flow cytometry at 48 h. qRT-PCR and Western blot were used to detect the expression levels of miR-519d-3p and STAT3 in cells, respectively. The dual luciferase reporter assay was used to test whether miR-519d-3p targets STAT3.

RESULTS

Remifentanyl could effectively inhibit the proliferation of GC cells, induce their apoptosis, and promote the

expression of miR-519d-3p. Overexpression of miR-519d-3p inhibited the proliferation of GC cells and induced their apoptosis, while inhibition of miR-519d-3p expression reversed the effect of remifentanyl on the proliferation and apoptosis of GC cells. Dual luciferase reporter gene assay confirmed that miR-519d-3p negatively regulated STAT3 activity in GC cells. Overexpression of STAT3 reversed the effect of remifentanyl on the proliferation and apoptosis of GC cells.

CONCLUSION

Remifentanyl can inhibit the proliferation of GC cells and induce their apoptosis, which may be related to the regulation of miR-519d-3p/STAT3 expression.

Key Words: Gastric cancer; Remifentanyl; miR-519d-3p; STAT3; Proliferation; Apoptosis

Sun CC, Liu Y, Hu XM. Remifentanyl inhibits proliferation and promotes apoptosis of gastric cancer cells by regulating miR-519d-3p/STAT3 expression. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(16): 984-990
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/984.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i16.984>

摘要

背景

研究表明, 阿片类药物不仅用于肿瘤手术麻醉及术后镇痛, 而且对肿瘤细胞恶性生物学行为具有一定抑制作用. 瑞芬太尼作为一种高效阿片受体激动剂, 已有报道瑞芬太尼可抑制结肠癌、肝癌、肺腺癌等多种肿瘤细胞增殖、迁移并诱导肿瘤细胞凋亡. 但目前瑞芬太尼对胃癌(gastric cancer, GC)细胞增殖和凋亡的影响及其机制尚不清楚.

目的

研究瑞芬太尼对GC细胞增殖、凋亡的影响及其潜在作用机制.

方法

培养人GC SGC7901细胞, MTT实验检测不同浓度瑞芬太尼对细胞增殖的影响. 构建过表达miR-519d-3p的GC细胞, 另构建抑制表达miR-519d-3p和过表达STAT3的细胞并给于瑞芬太尼处理, 分别于培养24 h、48 h和72 h时采用MTT法测定细胞增殖活性, 培养48 h时采用流式细胞仪测定细胞凋亡情况, qRT-PCR和Western blot实验分别用于检测细胞中miR-519d-3p和STAT3蛋白表达水平, 双荧光素酶报告基因实验检验miR-519d-3p是否靶向STAT3.

结果

瑞芬太尼能够有效抑制GC细胞增殖, 诱导细胞凋亡, 并促进细胞中miR-519d-3p表达; 过表达miR-519d-3p

抑制GC细胞增殖并诱导细胞凋亡, 而抑制miR-519d-3p表达可逆转瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的作用; 双荧光素酶报告基因实验证实GC细胞中miR-519d-3p靶向负调控STAT3的活性; 过表达STAT3逆转了瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的作用.

结论

瑞芬太尼具有抑制GC细胞增殖并诱导细胞凋亡的作用, 其作用机制可能与调控miR-519d-3p/STAT3表达有关.

关键词: 胃癌; 瑞芬太尼; miR-519d-3p; STAT3; 增殖; 凋亡

核心提要: 瑞芬太尼体外处理胃癌(gastric cancer, GC)细胞, 可抑制GC细胞增殖并诱导细胞凋亡, 并诱导GC细胞中miR-519d-3p表达上调. 功能验证发现, STAT3是miR-519d-3p的靶基因, 而抑制miR-519d-3p表达或过表达STAT3均能逆转瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的作用.

孙成成, 刘宇, 胡旭明. 瑞芬太尼通过miR-519d-3p/STAT3对胃癌细胞增殖、凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2019; 27(16): 984-990
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/984.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i16.984>

0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)发病率和死亡率在中国恶性肿瘤中均居第3位, 是威胁中国居民生命健康的重大疾病之一^[1]. 外科手术治疗是GC根治的唯一方式, 阿片类药物广泛用于肿瘤手术全麻及术后自控镇痛, 也是癌痛治疗的重要部分, 此外有研究表明, 阿片类药物可通过不同机制影响肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭和转移等恶性生物学行为^[2-4]. 瑞芬太尼是一种高效阿片受体激动剂, 已有研究报道瑞芬太尼可抑制结肠癌、肝癌、肺腺癌等多种肿瘤细胞增殖、迁移并诱导肿瘤细胞凋亡^[5-7]. 但目前瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的影响及其机制还不清楚. 本研究以GC SGC7901细胞为研究对象, 分析瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的影响, 并初步探讨其潜在作用机制.

1 材料与方法

1.1 材料 GC细胞株SGC7901由中国科学院上海生科院细胞资源中心提供; 胎牛血清和RPMI 1640培养基(Gibco公司); 注射用盐酸瑞芬太尼(Remifentanyl, 湖北宜昌人福药业有限公司, 批号6120903); Lipofectamine™ 2000转染试剂(北京索莱宝科技有限公司); MTT试剂和二甲基亚砜(上海生工生物工程有限公司); Trizol试剂和RIPA裂解液(Invitrogen公司).

1.2 方法

1.2.1 细胞培养、转染: 将GC细胞SGC7901培养于含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基, 放于37℃, 5%CO₂培养箱中培养, 第2 d更换培养液, 待细胞长至80%作用融合时, 用0.25%胰酶消化细胞进行传代培养。

取对数生长期GC SGC7901细胞进行计数并按2×10⁵个/孔接种于96孔板, 待细胞长至60%左右融合时, 使用Lipofectamine™ 2000转染试剂分别将miRNA-mimics、miR-519d-3p-mimics、miRNA-inhibitor、miR-519d-3p-inhibitor、pcDNA3.1空载体、pcDNA3.1-STAT3转染至细胞, 并分别记为miR-NC组、miR-519d-3p组、anti-miR-NC组、anti-miR-519d-3p组、pcDNA组、pcDNA3-STAT3组。

1.2.2 MTT实验: 取对数生长期的GC SGC7901细胞, 以5×10⁴个/孔接种于24孔板中培养过夜, 分别加入Remifentanyl浓度1 mg/mL、1.5 mg/mL、2 mg/mL、2.5 mg/mL、3 mg/mL、3.5 mg/mL、4 mg/mL处理, 继续培养24 h、48 h、72 h时, 每孔分别加入20 μL MTT溶液孵育4 h, 吸去上清, 每孔分别加入150 μL二甲基亚砜反应10 min。酶标仪下测定各孔490 nm波长处吸光度(A)值。同样方法检测各转染组SGC7901细胞的增殖活性。

1.2.3 流式细胞仪实验: 将生长状态良好的细胞以1×10⁶个/mL的密度加入流式管中, 1000×g离心5 min弃上清, 使用PBS溶液洗涤细胞3次后1×Binding Buffer重悬细胞, 采用Annexin V-FITC和PI双染法检测细胞凋亡情况。首先加入Annexin V-FITC 5 μL混匀室温避光染色15 min, 再加入PI染色液10 μL冰浴下染色5 min, 放入流式细胞仪上检测并计算细胞凋亡率。

1.2.4 qRT-PCR实验: 收集细胞加入Trizol试剂抽提总RNA, 紫外分光光度计下测定RNA样品质量和浓度, 以RNA为模板使用Takara逆转录酶进行逆转录反应合成cDNA, 以cDNA为模板、U6为内参基因使用ABI染料法实时荧光定量PCR试剂盒进行qPCR反应。结果采用2^{-ΔΔCt}法计算miR-519d-3p相对表达水平。

1.2.5 Western blot实验: 收集细胞加入RIPA裂解液提取总蛋白, BCA法测定蛋白样品浓度并定量, 将蛋白样品按1:5比例与上样缓冲液混合, 放入100℃水浴锅中变性3 min, 采用SDS-PAGE分离蛋白样品并转移至PVDF膜, 并放入封闭液中封闭1 h。TBST溶液洗膜, 加入稀释的STAT3抗体和GAPDH抗体一抗4℃下过夜, 洗膜, 加入相应二抗室温放置2 h。洗膜, 放入ECL显色液中显色, 紫外凝胶成像仪中曝光、拍照, 应用Image J软件分析蛋白条带灰度值, 以GAPDH为对照计算STAT3蛋白相对表达水平。

1.2.6 双荧光素酶报告基因实验: 为证实miR-519d-3p

靶向STAT3, 本研究分别构建STAT3的3'UTR和突变3'UTR的荧光素酶报告基因载体, 然后分别与miRNA-mimics、miR-519d-3p-mimics共转染GC细胞, 使用Promega双荧光素酶报告基因检测试剂盒检测荧光素酶活性。

统计学处理 统计学软件SPSS 19.0用于实验数据分析, 计量数据用mean±SD表示, 多组间比较采用单因素方差分析检验, 两组间比较采用两独立样本t检验, 以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Remifentanyl对GC细胞SGC 7901增殖及对miR-519d-3p表达的影响 与Con组比较, 培养48 h和72 h时2 mg/mL、2.5 mg/mL、3 mg/mL、3.5 mg/mL、4 mg/mL Remifentanyl处理的GC SGC7901细胞增殖活性明显降低(P<0.05), 2 mg/mL、2.5 mg/mL、3 mg/mL、3.5 mg/mL、4 mg/mL Remifentanyl处理的GC SGC7901细胞中miR-519d-3p表达水平逐渐升高(P<0.05)。说明Remifentanyl能够抑制GC细胞增殖, 并促进GC细胞miR-519d-3p表达。根据以上实验结果, 选用对细胞抑制效果较为明显的Remifentanyl(4 mg/mL)做后续实验(图1)。

2.2 Remifentanyl对GC细胞SGC7901凋亡影响 流式细胞仪检测结果, Con组、Remifentanyl组GC SGC7901细胞凋亡率分别为7.18%±1.24%、21.98%±5.37%。与Con组比较, Remifentanyl组GC细胞凋亡率明显升高(P<0.05)。说明Remifentanyl能够诱导GC细胞凋亡(图2)。

2.3 过表达miR-519d-3p对GC细胞SGC7901增殖、凋亡的影响 与miR-NC组比较, miR-519d-3p组GC SGC7901细胞中miR-519d-3p表达水平明显升高(P<0.05), 培养48 h和72 h时细胞增殖活性明显降低(P<0.05); miR-NC组和miR-519d-3p组GC细胞凋亡率分别为7.23%±1.31%、17.94%±4.38%, miR-519d-3p组细胞凋亡率明显高于miR-NC组(P<0.05)。说明过表达miR-519d-3p能够抑制GC细胞增殖并诱导细胞凋亡(图3)。

2.4 抑制miR-519d-3p表达能逆转Remifentanyl对GC细胞SGC7901增殖、凋亡的作用 与REM+anti-miR-NC组比较, REM+anti-miR-519d-3p组GC SGC7901细胞中miR-519d-3p相对表达水平明显降低(P<0.05), 培养48 h和72 h时细胞增殖活性明显升高(P<0.05); REM+anti-miR-NC组和REM+anti-miR-519d-3p组GC细胞凋亡率分别为22.37%±4.96%、14.08%±3.74%, REM+anti-miR-519d-3p组细胞凋亡率明显低于REM+anti-miR-NC组(P<0.05)(图4)。

2.5 STAT3为miR-519d-3p的靶基因 生物信息学软件分析发现miR-519d-3p能够与STAT3的3'UTR区互补结合

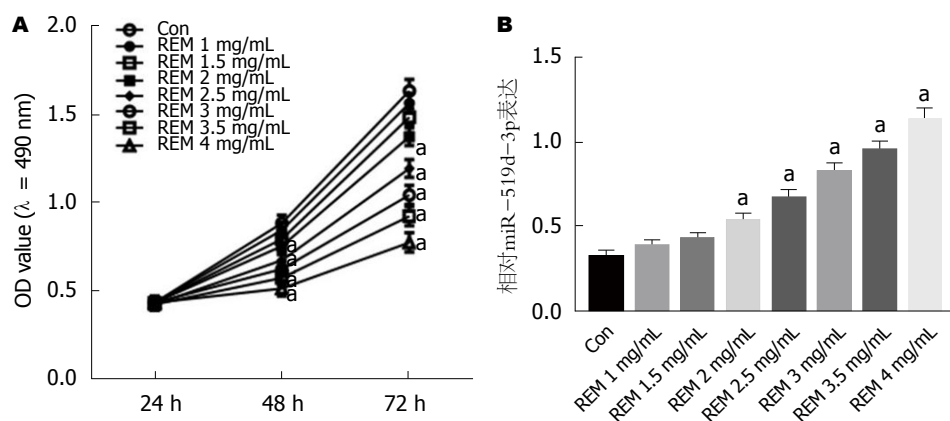


图 1 Remifentanyl对胃癌细胞SGC7901增殖及对miR-519d-3p表达的影响. A: Remifentanyl对细胞SGC7901增殖的影响; B: Remifentanyl对细胞SGC7901中miR-519d-3p表达的影响. $^*P<0.05$, 与Con组比较.

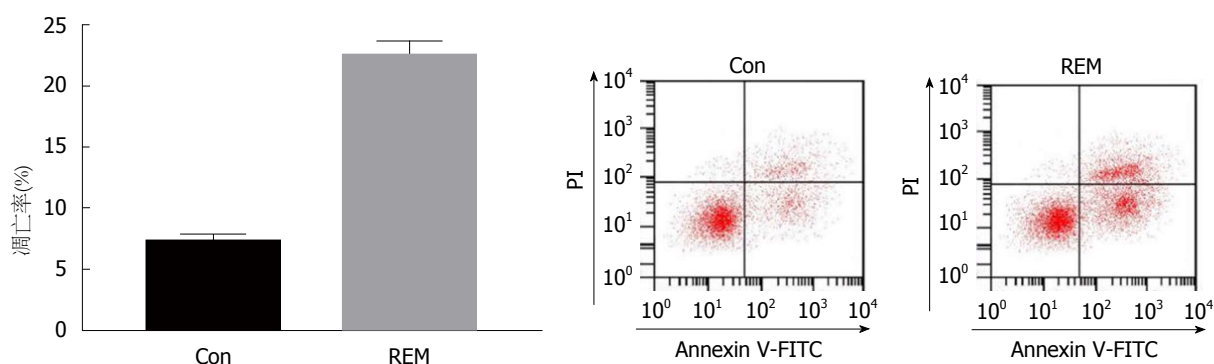


图 2 Remifentanyl对胃癌细胞凋亡影响. $^*P<0.05$, 与Con组比较.

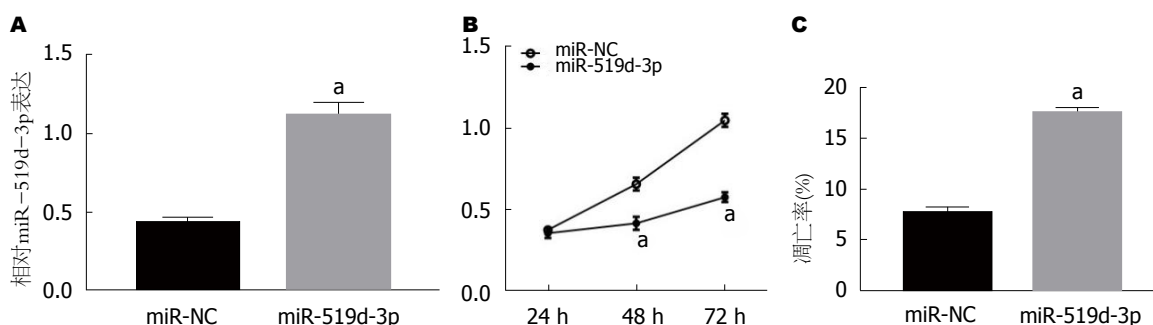


图 3 过表达miR-519d-3p对胃癌细胞SGC7901增殖、凋亡的影响. A: miR-519d-3p的表达; B: 过表达miR-519d-3p对SGC7901细胞增殖的影响; C: 过表达miR-519d-3p对SGC7901细胞凋亡的影响. $^*P<0.05$, 与miR-NC组比较.

(图5A). 双荧光素酶报告基因实验显示(图5B), 过表达miR-519d-3p抑制STAT3的转录活性, 而将STAT3的3' UTR区突变后miR-519d-3p的抑制作用消失. Western blot结果表明(图5C和D), 过表达miR-519d-3p的GC细胞中STAT3蛋白表达明显降低($P<0.05$), 而抑制miR-519d-3p表达的GC细胞中STAT3蛋白表达明显升高($P<0.05$). 说明STAT3是miR-519d-3p的靶基因.

2.6 过表达STAT3能逆转Remifentanyl对GC细胞SGC 7901增殖、凋亡的作用 与REM+pcDNA组比较,

REM+pcDNA-STAT3组GC SGC7901细胞中STAT3蛋白相对表达水平明显升高($P<0.05$), 培养48 h和72 h时细胞增殖活性明显增强($P<0.05$); REM+pcDNA组和REM+pcDNA-STAT3组GC细胞凋亡率分别为 $19.17\% \pm 3.02\%$ 、 $13.76\% \pm 2.88\%$, REM+pcDNA-STAT3组细胞凋亡率明显低于REM+pcDNA组($P<0.05$)(图6).

3 讨论

肿瘤细胞增殖和凋亡是肿瘤发生发展过程中的重要环

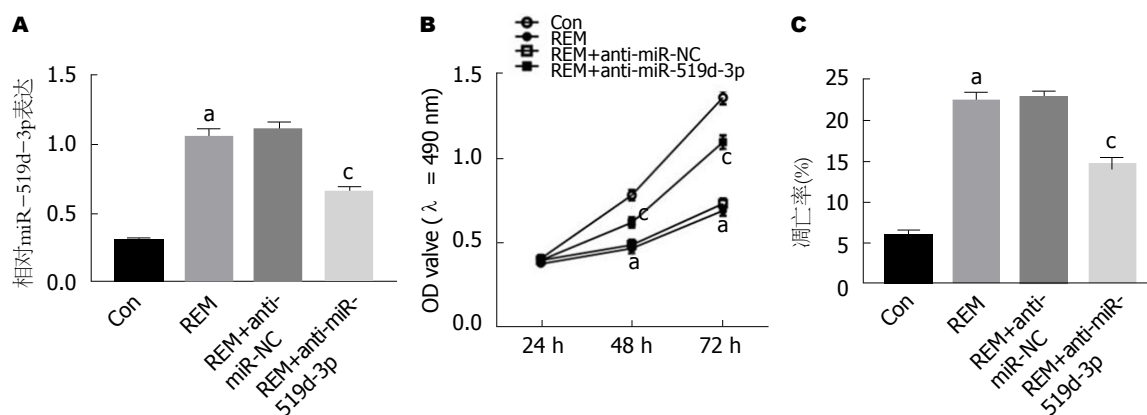


图 4 抑制miR-519d-3p表达能逆转Remifentanyl对细胞SGC 7901增殖、凋亡的作用。A: miR-519d-3p的表达; B: 抑制miR-519d-3p表达能逆转Remifentanyl对细胞SGC 7901增殖的抑制作用; C: 抑制miR-519d-3p表达能逆转Remifentanyl对细胞SGC 7901凋亡的促进作用。* $P<0.05$, 与Con组比较; * $P<0.05$, 与REM+anti-miR-NC组比较。

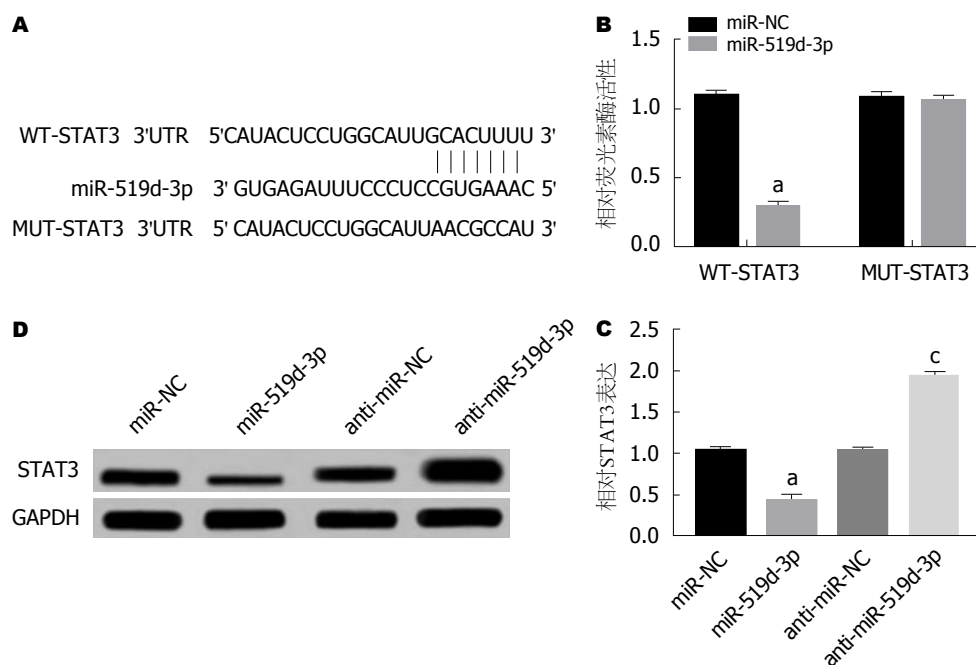


图 5 miR-519d-3p靶向调控STAT3。A: miR-519d-3p与STAT3的3'UTR区互补结合; B: 双荧光素酶报告实验; C、D: miR-519d-3p调控STAT3的表达。* $P<0.05$, 与miR-NC组比较; * $P<0.05$, 与anti-miR-NC组比较。

节^[8]。阿片类药物是肿瘤治疗中重要的麻醉镇痛药, 近年来越来越多的研究证实其在肿瘤细胞增殖和凋亡中起重要作用。张海芳等^[9]报道芬太尼可使GC细胞周期阻滞在G1期, 并显著抑制CyclinD1蛋白和Bcl-2蛋白表达, 进而抑制GC细胞增殖。瑞芬太尼的亲力和半衰期优于芬太尼, 唐优仕等^[10]报道瑞芬太尼可通过抑制Akt通路, 调节细胞凋亡相关蛋白表达, 发挥抑制胰腺癌细胞增殖并促进其凋亡的作用。本研究参考唐优仕等方法, 用不同浓度瑞芬太尼处理GC SGC7901和BGC823细胞, 结果发现瑞芬太尼明显抑制GC细胞增殖, 其中瑞芬太尼浓度为4 mg/mL时抑制作用最明显, 且GC SGC7901细胞对瑞芬太尼相对较为敏感。

microRNA(miRNA)是肿瘤细胞增殖和凋亡过程中的关键调控因子^[11]。据报道^[12], miR-519d在GC组织和细胞系中表达下调, 与GC远处转移、淋巴结转移和临床分期有关, 且是GC不良预后的独立预测因子。功能分析表明, 抑制miR-519d表达能促进GC细胞增殖、迁移和侵袭, 而过表达miR-519d则显著抑制GC细胞上皮间质转化, 抑制肿瘤生长。提示miR-519d在GC中起肿瘤抑制剂作用。本研究发现, 瑞芬太尼可诱导GC细胞中miR-519d-3p表达升高。体外构建过表达miR-519d-3p的GC细胞表明miR-519d-3p能够抑制GC细胞增殖并促进细胞凋亡, 而抑制miR-519d-3p表达则逆转了瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的影响。说明瑞芬太尼对GC细胞增殖

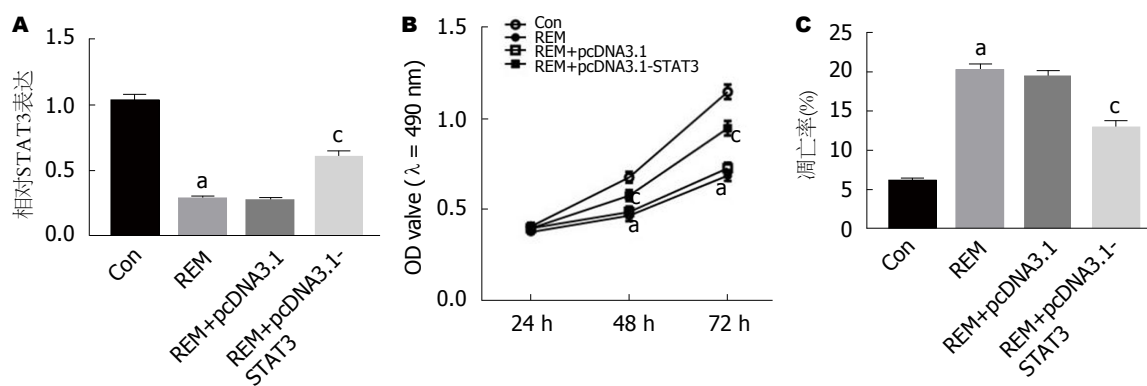


图6 过表达STAT3能逆转Remifentanyl对胃癌细胞SGC 7901增殖、凋亡的作用。A: STAT3的表达; B: 过表达STAT3能逆转Remifentanyl对细胞SGC 7901增殖的抑制作用; C: 过表达STAT3能逆转Remifentanyl对细胞SGC 7901凋亡的促进作用。* $P < 0.05$, 与Con组比较; * $P < 0.05$, 与Remifentanyl+pcDNA3.1组比较。

和凋亡的影响与miR-519d-3p表达有关。

Li等^[13]报道, miR-519d-3p可通过靶向LIM结构域激酶1抑制乳腺癌细胞生长和转移。另有研究表明^[14], miR-519d-3p在GC组织中低表达与GC组织分期和淋巴结转移有关, 并证实过表达miR-519d-3p延缓GC细胞周期G1/S期转换, 抑制细胞周期蛋白表达, 并靶向下调B细胞淋巴瘤6表达, 而发挥抑制GC细胞增殖和侵袭的作用。信号转导与转录激活因子3(signal transducers and activators of transcription 3, STAT3)是细胞中参与生长因子、细胞因子等应答的信号转导蛋白, 负责调控细胞增殖、分化、凋亡等, 其持续活化与肿瘤发生发展密切相关^[15,16]。本研究通过生物信息学软件和相关实验发现GC细胞中miR-519d-3p靶向负调控STAT3的表达, 与Deng等^[17]在乳腺癌中的研究结果基本一致。进一步分析结果, 过表达STAT3也可逆转瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的影响。推测瑞芬太尼可能通过诱导GC细胞中miR-519d-3p表达, 进而靶向抑制STAT3的表达, 发挥抑制GC细胞增殖和凋亡的作用。

综上所述, 瑞芬太尼能够有效抑制GC细胞增殖并促进细胞凋亡, 其作用机制可能与调控GC细胞中miR-519d-3p/STAT3表达有关。本研究为瑞芬太尼在GC治疗中的应用提供了实验参考, 但其在GC中是否存在其它作用途径尚需进一步研究。

文章亮点

实验背景

研究表明, 阿片类药物不仅用于肿瘤手术麻醉及术后镇痛, 而且对肿瘤细胞恶性生物学行为具有一定抑制作用。瑞芬太尼作为一种高效阿片受体激动剂, 已有报道瑞芬太尼可抑制结肠癌、肝癌、肺腺癌等多种肿瘤细胞增殖、迁移并诱导肿瘤细胞凋亡。但目前瑞芬太尼对胃癌

(gastric cancer, GC)细胞增殖和凋亡的影响及其机制尚不清楚。

实验动机

本研究分析瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的影响, 并进一步探讨其潜在分子作用机制, 对瑞芬太尼在GC治疗中应用具有指导意义。

实验目标

阐明瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的影响及其分子机制, 旨在为瑞芬太尼在临床GC治疗中的应用提供实验基础。

实验方法

体外培养人GC细胞SGC7901, 分别采用MTT实验和流式细胞术检测不同浓度瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的影响, 采用RT-qPCR实验检测不同浓度瑞芬太尼对GC细胞中miR-519d-3p表达的影响。构建抑制表达miR-519d-3p的GC细胞, 观察瑞芬太尼对抑制miR-519d-3p表达后的GC细胞增殖和凋亡的影响。双荧光素酶报告基因实验验证STAT3是否是miR-519d-3p的靶基因。构建过表达STAT3的GC细胞, 观察瑞芬太尼对过表达STAT3的GC细胞增殖和凋亡的影响。

实验结果

瑞芬太尼能够有效抑制GC细胞增殖, 并诱导细胞凋亡, 诱导GC细胞中miR-519d-3p表达上调。双荧光素酶报告基因实验证实miR-519d-3p能够靶向抑制STAT3的表达。抑制miR-519d-3p表达或过表达STAT3均能逆转瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的影响作用。

实验结论

瑞芬太尼具有抑制GC细胞增殖, 并诱导细胞凋亡的作

用. 其分子作用机制之一是促进GC细胞中miR-519d-3p表达, 进而靶向抑制STAT3的表达.

展望前景

本研究通过体外实验, 阐明了瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的作用及其潜在分子机制, 对临床GC治疗具有一定指导意义. 下一步将构建GC大鼠模型, 研究瑞芬太尼在体内对GC细胞的作用及其最佳作用浓度.

4 参考文献

- 1 左婷婷, 郑荣寿, 曾红梅, 张思维, 陈万青. 中国胃癌流行病学现状. 中国肿瘤临床 2017; 44: 52-58 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.2017.01.881]
- 2 Wallén Stefan, Eva S, Maria P E, Naslund I. Use of Opioid Analgesics Before and After Gastric Bypass Surgery in Sweden: a Population-Based Study. *Obesity Surgery* 2018; 28: 3518-3523 [DOI: 10.1007/s11695-018-3377-7]
- 3 田冬冬, 聂丽霞, 杨保仲, 邵旭萍. 阿片受体及阿片类药物治疗癌痛的研究进展. 肿瘤研究与临床 2016; 28: 645-648 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-9801.2016.09.019]
- 4 王茗芳, 金孝炬, 金孝炬. 阿片类受体及药物对肿瘤发生发展的影响. 国际麻醉学与复苏杂志 2017; 38: 1166 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4378.2017.12.022]
- 5 赵莉, 王志红, 李学斌, 徐桂萍. 瑞芬太尼对人结肠癌COLO205细胞增殖及凋亡的影响. 国际麻醉学与复苏杂志 2017; 38: 401-403 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4378.2017.05.004]
- 6 刘震, 阮林. 芬太尼和瑞芬太尼对人肝癌细胞SMMC-7721生物学特性的影响. 临床麻醉学杂志 2014; 30: 792-795
- 7 吴远波, 李欣, 鲁胜强, 吴艳, 余鸣. 瑞芬太尼对人肺腺癌细胞转移能力和白细胞介素-7受体表达的影响. 中华麻醉学杂志 2017; 37: 1058-1060 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1416.2017.09.008]
- 8 X Y, Lv SX. The effect of JAK2 knockout on inhibition of liver tumor growth by inducing apoptosis, autophagy and anti-proliferation via STATs and PI3K/AKT signaling pathways. *Biomed Pharmacother* 2016; 84: 1202-1212 [PMID: 27788478 DOI: 10.1016/j.biopha.2016.09.040]
- 9 张海芳, 卫星, 陈海华, 张佳, 石婷娟, 王学玲. 芬太尼对胃癌细胞SGC-7901增殖影响及机制研究. 中国生化药物杂志 2015; 35: 38-40
- 10 唐优仕, 王龙, 马浩文, 夏中元, 赵博. 瑞芬太尼对胰腺癌BxPC-3细胞增殖、凋亡的影响及其机制. 中国热带医学 2017; 17: 1193-1197 [DOI: 10.13604/j.cnki.46-1064/r.2017.12.07]
- 11 陈奇, 许建华, 余倩云, 李鳌. miRNA通过信号通路对中药抗癌作用及肿瘤细胞增殖/凋亡的影响. 国际中医中药杂志 2014; 36: 380-384 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4246.2014.04.034]
- 12 Yue H, Tang B, Zhao Y, Niu Y, Yin P, Yang W, Zhang Z, Yu P. MIR-519d suppresses the gastric cancer epithelial-mesenchymal transition via Twist1 and inhibits Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Am J Transl Res* 2017; 9: 3654-3664 [PMID: 28861156]
- 13 Li D, Song H, Wu T, Xie D, Hu J, Zhao J, Shen Q, Fang L. MiR-519d-3p suppresses breast cancer cell growth and motility via targeting LIM domain kinase 1. *Mol Cell Biochem* 2018; 444: 169-178 [PMID: 29188531 DOI: 10.1007/s11010-017-3241-4]
- 14 Li YY, Shao JP, Zhang SP, Xing GQ, Liu HJ. miR-519d-3p Inhibits Cell Proliferation and Invasion of Gastric Cancer by Downregulating B-Cell Lymphoma 6. *Cytogenet Genome Res* 2018; 154: 12-19 [PMID: 29510377 DOI: 10.1159/000487372]
- 15 岳晓虹, 叶霁青, 孙丽萍. 信号转导与转录激活因子的生物学功能及相关疾病. 中国药科大学学报 2016; 47: 404-411 [DOI: 10.11665/j.issn.1000-5048.20160404]
- 16 张启芳. 信号转导与转录激活因子3在肿瘤发生发展中的研究进展. 贵阳医学院学报 2015; 40: 1145-1149
- 17 Deng X, Zhao Y, Wang B. miR-519d-mediated downregulation of STAT3 suppresses breast cancer progression. *Oncol Rep* 2015; 34: 2188-2194 [PMID: 26238950 DOI: 10.3892/or.2015.4160]

编辑: 马亚娟 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

