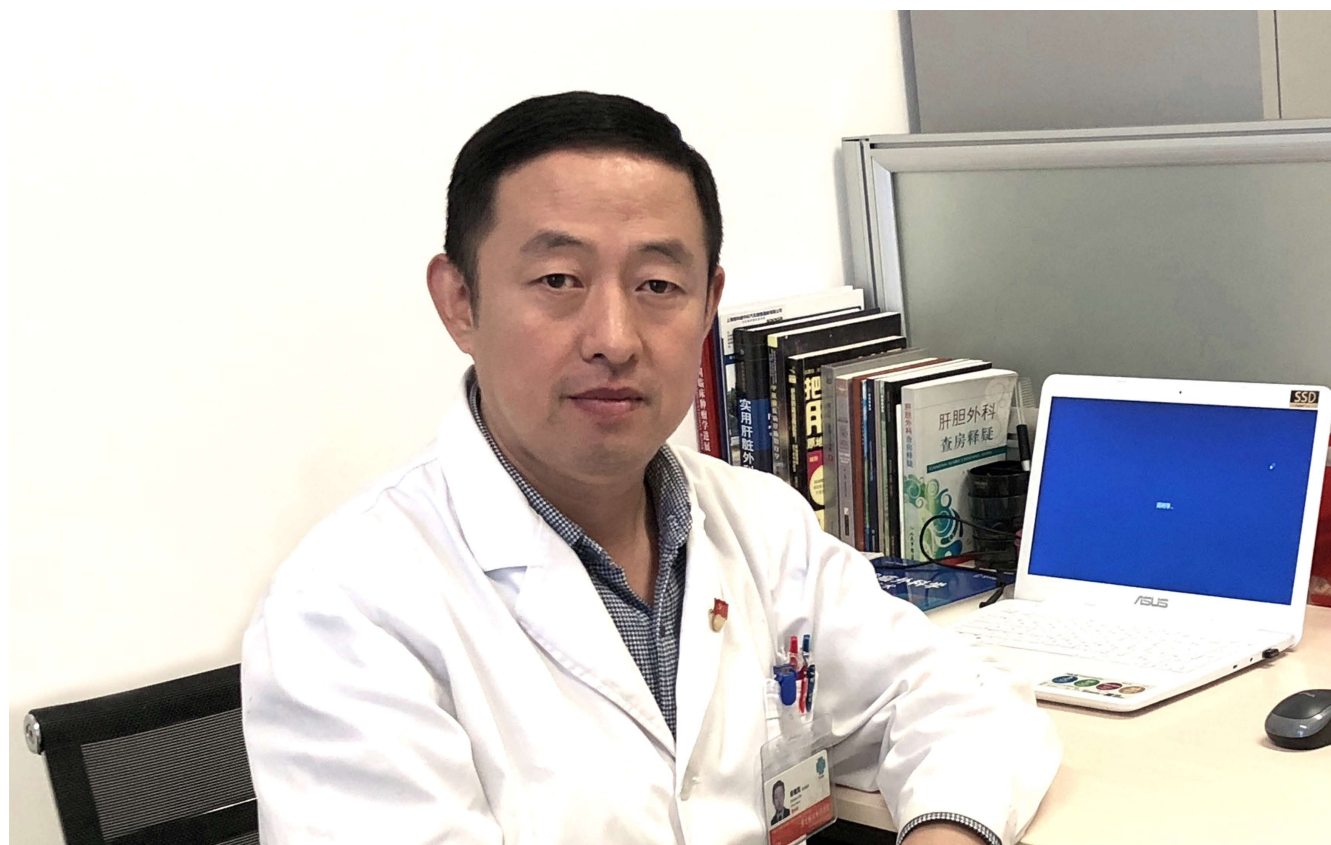


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2018 年 12 月 8 日 第 26 卷 第 34 期 (Volume 26 Number 34)



34/2018

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。



述评

- 1959 食管胃静脉曲张内镜治疗的困惑与思考

王曦, 孔德润

- 1966 基因表达谱技术从消化道肿瘤基础研究到临床转化

陆建波, 李汝懿

基础研究

- 1979 miR-346/DKK3信号轴在结肠癌中的细胞增殖的调控

周蕊, 孙赞晨, 高克威, 朱樑

临床研究

- 1989 血清Mg7-Ag、PG、CEA检测联合ME-NBI筛查高危人群早期胃癌的临床研究

郭淦华, 叶淑云, 应旭卿, 王芳芳

- 1996 慢性乙肝血清丙氨酸转氨酶活性逆向变化相关因素的研究

许磊, 林楷, 李胜联

- 2002 精神心理因素与老年功能性消化不良的相关性及对患者ADL评分的影响

谢渭根, 吕柏军, 李薇薇, 寿月儿, 唐志仙

文献综述

- 2008 肝细胞癌的分子靶向治疗

石娟娟, 党双锁

- 2018 Low-FODMAPs diet在肠易激综合征健康管理中的应用

王茜, 谢亚伦, 吴夏鑫, 田如, 高琳, 吴金凤, 曹超宇, 邱杰, 张瑜

消 息

- 1965 《世界华人消化杂志》正文要求
1978 《世界华人消化杂志》修回稿须知
1988 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
2007 《世界华人消化杂志》外文字符标准
2022 《世界华人消化杂志》参考文献要求

封面故事

秦建民, 医学博士, 博士后, 主任医师, 教授, 海军军医大学附属第三医院普外科. 主要从事消化系统肿瘤外科临床和肿瘤复发转移机制与纳米靶向药物治疗肿瘤的研究工作. 在肝胆胰等消化系统肿瘤根治性切除方面具有较深的造诣. 作为负责人承担国家自然科学基金1项, 国家卫计委科研项目1项、上海市及其他科研项目6项. 国内外发表学术论文126篇, 获国家发明专利授权6项, 主编专著1部, 参编专著3部. 目前担任中华医学会行为医学分会委员、世界中医药翻译协会理事、上海市中西医结合学会肿瘤专业委员会委员. 现担任《世界华人消化杂志》编委、*Clinics in Oncology*编委、*World J Surg & Surg Res*编委、中国组织工程研究与临床康复杂志执行编委、中国医药科学杂志编委、中国微创外科杂志通讯编委、*World J Gastroenterol*、*J Drug Targeting*和*Oncology Letter*特约审稿人.

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 2018-12-08

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

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 34 Dec 8, 2018

EDITORIAL

- 1959 Endoscopic treatment of esophagogastric varices: Problems and thoughts

Wang X, Kong DR

- 1966 Gene expression profiling in digestive tract tumors: From basic research to clinical practice

Lu JB, Li RY

BASIC RESEARCH

- 1979 Regulatory effect of miR-346/DKK3 axis on tumor cell proliferation in colon cancer

Zhou Y, Sun YC, Gao KW, Zhu L

CLINICAL RESEARCH

- 1989 Detection of serum Mg7-Ag, CEA and pepsinogens combined with magnifying narrow-band imaging endoscopy for screening early gastric carcinoma in high risk patients

Guo GH, Ye SY, Ying XQ, Wang FF

- 1996 Factors associated with reverse change of serum ALT activity in patients with chronic hepatitis B

Xu L, Lin K, Li SL

- 2002 Association between psycho-psychological factors and functional dyspepsia in elderly patients: Effect on activity of daily living score

Xie WG, Lv BJ, Li WW, Shou YE, Tang ZX

REVIEW

- 2008 Recent advances in molecular targeted therapy of hepatocellular carcinoma

Shi JJ, Dang SS

- 2018 Application of low-FODMAP diet in health management of irritable bowel syndrome

Wang Q, Xie YL, Wu XX, Tian R, Gao L, Wu JF, Cao CY, Qiu J, Zhang Y

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 26 Number 34 Dec 8, 2018

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Jian-Min Qin, Professor, Chief Physician, The third Affiliated Hospital, Naval Medical University, 700 North Moyu Road, Jiangding District, Shanghai 201805, 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 8, 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-346/DKK3信号轴在结肠癌中的细胞增殖的调控

周 慧, 孙赞晨, 高克威, 朱 樑

周慧, 孙赞晨, 高克威, 朱樑, 第二军医大学附属长征医院消化内科
上海市 200003

周慧, 主治医师, 主要从事中西医结合诊治肝胆疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由周慧与朱樑设计; 研究过程由周慧、孙赞晨及高克威操作完成; 数据分析由周慧与孙赞晨完成; 本论文写作由周慧、高克威及朱樑完成。

通讯作者: 朱樑, 主任医师, 200003, 上海市成都北路440号, 第二军医大学附属长征医院消化内科。zhuliangcz@126.com
电话: 021-81885262

收稿日期: 2018-10-10

修回日期: 2018-11-02

接受日期: 2018-11-15

在线出版日期: 2018-12-08

Regulatory effect of miR-346/DKK3 axis on tumor cell proliferation in colon cancer

Yi Zhou, Yun-Chen Sun, Ke-Wei Gao, Liang Zhu

Yi Zhou, Yun-Chen Sun, Ke-Wei Gao, Liang Zhu, Department of Gastroenterology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

Corresponding author to: Liang Zhu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, No. 440, Chengdu North Road, Shanghai 200003, China. zhuliangcz@126.com

Received: 2018-10-10

Revised: 2018-11-02

Accepted: 2018-11-15

Published online: 2018-12-08

Abstract

AIM

To investigate the regulatory effect of the miR-346/DKK3 axis on tumor cell proliferation in colon cancer.

METHODS

The expression of miR-346 in normal colon epithelial cells and colon cancer cells as well as in colon tissues and noncancerous tissues was examined by RT-PCR. The effect of miR-346 on the proliferation of colon cancer cells was examined by MTT assay. Flow cytometry was used to detect the effect of miR-346 on the colon cancer cell cycle. The dual luciferase reporter gene assay was used to validate the binding relationship between miR-346 and DKK3. The effect of DKK3 on the function of colon cancer cells was studied by transfecting colon cancer cells with siRNA and pcDNA-DKK3.

RESULTS

The expression of miR-346 in colon cancer cells was significantly upregulated. Overexpression of miR-346 promoted the proliferation of colon cancer cells. The proportion of cells in G1 phase decreased, and the proportion of cells in S phase and G2/M phase increased. The dual luciferase reporter assay showed that miR-346 bound directly to the 3'-UTR of DKK3. Inhibition of DKK3 using siRNA promoted the proliferation of colon cancer cells, reduced the proportion of cells in G1 phase and increased the proportion of cells in S phase and G2/M phase. Further, overexpression of DKK3 partially abrogated the proliferative effect of miR-346 on colon cancer cells.

CONCLUSION

MiR-346 promotes the proliferation of colon cancer cells by inhibiting DKK3.

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

Key Words: miR-346; DKK3; Colon cancer

Zhou Y, Sun YC, Gao KW, Zhu L. Regulatory effect of miR-346/DKK3 axis on tumor cell proliferation in colon cancer. *Shijie Huaren*

摘要

目的

研究miR-346/DKK3信号轴在结肠癌中的调控作用和机制。

方法

RT-PCR实验检测miR-346在正常结肠上皮细胞和结肠癌细胞中的表达水平, 随后检测其在结肠癌组织和对应的癌旁组织中的表达水平. MTT实验检测miR-346对结肠癌细胞增殖能力的影响. 流式细胞周期检测miR-346对结肠癌细胞周期的影响. 双荧光素酶报告基因实验验证miR-346和DKK3之间的结合关系. 利用siRNA和pcDNA-DKK3转染结肠癌细胞研究DKK3对结肠癌细胞功能的影响。

结果

miR-346在结肠癌细胞中的表达水平显著上调. 过表达miR-346后, 结肠癌细胞的增殖能力变强, G1期细胞比例降低, S期和G2/M期细胞比例增加. 双荧光素酶报告基因实验显示miR-346能够和DKK3直接结合. 转染siRNA抑制DKK3的表达后, 结肠癌细胞增殖能力变强, G1期细胞比例降低, S期和G2/M期细胞比例增加. 过表达DKK3后, 能够部分抵消miR-346对结肠癌细胞的促增殖作用。

结论

miR-346通过靶向结合并抑制DKK3进而促进结肠癌细胞的增殖。

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

关键词: miR-346; DKK3; 结肠癌

核心提要: 本文首次报道miR-346在结肠癌细胞中表达出现上调并且能够促进结肠癌细胞的增殖. 过表达miR-346后, 结肠癌细胞的增殖能力变强, G1期细胞比例降低, S期和G2/M期细胞比例增加. 同时, 我们还发现miR-346促进结肠癌细胞增殖是通过靶向抑制DKK3实现的. 我们的研究表明miR-346/DKK3信号轴在结肠癌发生发展中扮演了重要的角色, 可能成为结肠癌潜在的诊断标记物和药物治疗靶点。

周慧, 孙赞晨, 高克威, 朱樑. miR-346/DKK3信号轴在结肠癌中的细胞增殖的调控. 世界华人消化杂志 2018; 26(34): 1979-1988

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i34/1979.htm> DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v26.i34.1979>

0 引言

结肠癌是世界上第三大常见的肿瘤, 结肠癌的发病率和死亡率仅次于肺癌^[1]. 近年来, 随着我国人民生活水平的提高、饮食结构的变化和人口老龄化的加剧, 我国结肠癌发病率显著上升^[2,3]. 目前唯一有效的治疗方法是手术, 晚期结肠癌患者的生存也依赖于化疗. 因此, 早期诊断和治疗是亟待解决的问题。

miRNA是约22个核苷酸的非编码RNA分子, 其作为转录后调节因子调控基因表达^[4]. miRNA通过完全或部分互补的碱基与mRNA结合, 导致靶mRNA的降解或翻译抑制^[5]. 目前, 结肠癌肿瘤组织和细胞系中存在大量异常表达miRNA. Wang等^[6]人通过与相邻癌旁组织比较, 发现miR-195在结直肠癌组织中的表达下调. Ma等^[7]人研究了319种miRNA对人结肠癌细胞增殖和凋亡的影响, 发现miR-491能够诱导细胞凋亡并显著降低细胞活力. miRNA不仅在结肠癌的发生中起重要作用, 而且在结肠癌的发展和转移中起重要作用. Agostini等^[8]证明了miR-20与结肠癌的疾病进展密切相关. 此外最近一项研究表明, 联合检测血清CEA和miR-141有助于检测结肠癌的远处转移. 并且miR-141表达与肿瘤预后呈负相关^[9]. 以往的研究表明, miR-346在肿瘤发生发展中扮演重要的角色^[10]. 例如miR-346通过靶向SRCIN1促进乳腺癌细胞的生物学功能, 并降低其对多西紫杉醇的化学敏感性^[11]. MicroRNA-346还能够通过调节XPC/ERK/Snail/E-cadherin途径促进肺癌细胞的生长和转移, 抑制肺癌细胞凋亡^[12]. 但是, 迄今为止很少有关于miR-346与结肠癌的相关研究, 其在结肠癌发生发展中扮演的角色尚不清楚。

在本研究中, 我们报道miR-346在结肠癌细胞中表达上调并显著促进结肠癌细胞的增殖. 并且miR-346对结肠癌细胞的促增殖作用是通过靶向抑制DKK3. 总之, 我们的研究表明miR-346/DKK3信号轴在结肠癌发生发展中扮演了重要的角色, 可能成为结肠癌潜在的诊断标记物和药物治疗靶点。

1 材料和方法

1.1 材料 FHC、HCT-116、HT-29和SW-480细胞购自中国科学院细胞库. 细胞均用含10%胎牛血清的DMEM进行培养, 培养箱的条件设置为37 °C, 5%CO₂. 人结肠癌组织来自于生物芯片上海国家工程研究中心的生物银行. 本研究得到生物芯片上海国家工程研究中心伦理委员会批准. 术前获得知情同意书. 为了检测样品中miRNA的表达水平, 使用TIANSscript RT试剂盒将2 μg总RNA反转录为cDNA, 之后进行RT-

PCR. 内参为U6. 为了检测mRNA的表达, 取100 ng总RNA, 按照说明书使用PrimeScript RT Master Mix将其反转录为cDNA. 实验过程中所用引物序列如下所示: DKK3: 正向: 5'-ACACAGACACGAAGGTTGGA-3'; 反向: 5'-CGTCTCCCACAGATGTG ATA-3'; GAPDH: 正向: 5'-GGAGCG AGATCCCTCCAAAAT-3', 反向: 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'.

1.2 方法

1.2.1 细胞转染: 为了有效敲减DKK3的表达, 我们设计了两个siRNA, 分别作用于DKK3的不同区域. siRNA的核苷酸序列如下: siRNA-1: AAUGGUCUG GUACUUAUUCGCG, CGUUACCAGACCAUGAAU AAGG; 和siRNA-2: AUCCAUGUGCACCGAGAAA, CCAGAGAGGUCCCCGAUGA. miR-346的mimics购买自biotend公司. 我们在6孔板中提前预种好 1.5×10^5 个细胞. 24 h后, 按照说明书将mimics或siRNA和转染试剂Lipofectamine 2000混合后, 加入细胞培养基中. 转染48-72 h后, 根据具体的实验要求, 收集细胞继续后续的RT-PCR和Western blot实验.

1.2.2 荧光素酶报告实验和质粒构建: 首先抽提基因组DNA, 通过PCR扩增含有miR-346的假定靶点的DKK3的3'-UTR片段. 将野生型和突变型片段转染到PGL3载体中, 构建相应的双荧光素酶报告质粒. 使用293FT细胞来检测miR-346和DKK3之间的关系. 将细胞接种于24孔板中, 使用10%FBS的DMEM培养基培养, 24 h后进行转染. 根据试剂说明书, 使用FuGENE(Roche)将300 ng萤火虫荧光素酶报告载体和10 ng含有海肾荧光素酶的对照载体转入细胞. 每孔加入0.2 nmol/L miR-346 mimics或对照试剂. 转染48 h后, 使用双荧光素酶报告分析系统(Promega)连续测量萤火虫和海肾荧光素酶活性. 构建DKK3过表达质粒时, 将DKK3编码序列克隆到pcDNA中获得DKK3表达载体.

1.2.3 细胞增殖和细胞周期: HCT-116转染两天后, 以 3×10^3 细胞/孔的密度种到96孔板中. 在24、48和72 h的时间点进行细胞计数. 细胞种板24、48和72 h后, 加入MTT溶液, 在37 °C培养箱内孵育4 h. 然后每孔加入DMSO溶液, 使用分光光度计测量490 nm处的吸光度. 使用流式细胞仪进行细胞周期实验.

1.2.4 Western blotting: 收集细胞后, 加入适量裂解液提取蛋白. 用BCA蛋白定量试剂盒检测蛋白含量. 加入适量loading buffer, 99 °C变性后, 储存于-20 °C. 使用SDS-PAGE分离蛋白质, 转移至纯硝酸纤维素印迹膜上, 用相应抗体检测. 实验中使用的抗体包括: 抗DKK3(Bioworld, 1:3000)和抗GAPDH(BioWorld, 1:5000). 使用Image Quant LAS4000 Mini(GE Healthcare Life

Sciences)扫描实验结果.

统计学处理 采用SPSS 17.0统计软件进行数据分析. 两两比较应用t检验. $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 miR-346在结肠癌中的表达及其在细胞增殖中的作用 我们在三对结肠癌和对应的癌旁组织中检测miR-346的表达. 结果提示与癌旁组织相比, 结肠癌组织中miR-346的表达水平更高(图1A). 之后在结肠癌细胞系中也观察到类似的现象. miR-346在HCT-116、HT-29和SW-480三种结肠癌细胞系中的表达显著高于其在正常结肠粘液上皮细胞FHC中的表达(图1B). 为了研究miR-346对结肠癌细胞增殖的作用, 我们使用miR-346 mimics转染HCT-116, 以达到过表达miR-346的效果. 我们发现miR-346过表达实验组的细胞数多于对照组(图1C). MTT实验结果表明, miR-346的过表达可显著促进结肠癌细胞增殖(图1D). 此外, 流式细胞仪结果显示, 过表达miR-346后, G1期细胞比例显著降低, S期细胞比例和G2/M期细胞比例增加(图1E).

2.2 DKK3是miR-346的靶基因 我们利用TargetScan和PicTar进行预测, 发现miR-346能够和DKK3的3'-UTR区域结合, 提示DKK3可能是miR-346的潜在靶标. 预测中DKK3和miR-346相互作用的具体序列如图2B(顶部)所示. 我们进行了荧光素酶报告实验, 构建了野生型及突变型重组双荧光素酶报告质粒. 与空载体对照组相比, miR-346 mimics的转染明显抑制了野生型DKK3 3'-UTR荧光素酶活性, 而突变型DKK3 3'-UTR破坏了miR-346和DKK3之间的碱基配对, 导致实验组与对照组之间的荧光素酶活性无明显差异(图2B, 底部). 细胞转染miR-346 mimics后, DKK3在mRNA和蛋白质水平的表达显著下降(图2C).

2.3 DKK3在结肠癌细胞增殖中的作用 为了研究DKK3在结肠癌细胞增殖中的作用, HCT-116转染了pcDNA-DKK3或siRNA以增加或降低细胞内DKK3的表达. 我们检测到转染pcDNA-DKK3后DKK3的mRNA水平显著增加(图3A). DKK3过表达实验组的细胞数少于对照组(图3B). DKK3的过表达可显著抑制细胞增殖, 使G1期细胞比例显著增加, S期和G2/M期细胞比例减少(图3C和3D). 另一方面, siRNA-1和siRNA-2均显著干扰细胞内DKK3的表达(图3E). 转染siRNA-1/siRNA-2后DKK3表达下调的实验组细胞数多于对照组(图3F). DKK3的表达降低显著促进细胞增殖, 并且导致处于G1期的细胞比例显著降低, S期和G2/M期的细胞比例增加(图3G和3H).

2.4 miR-346通过下调DKK3表达来调节细胞增殖 为

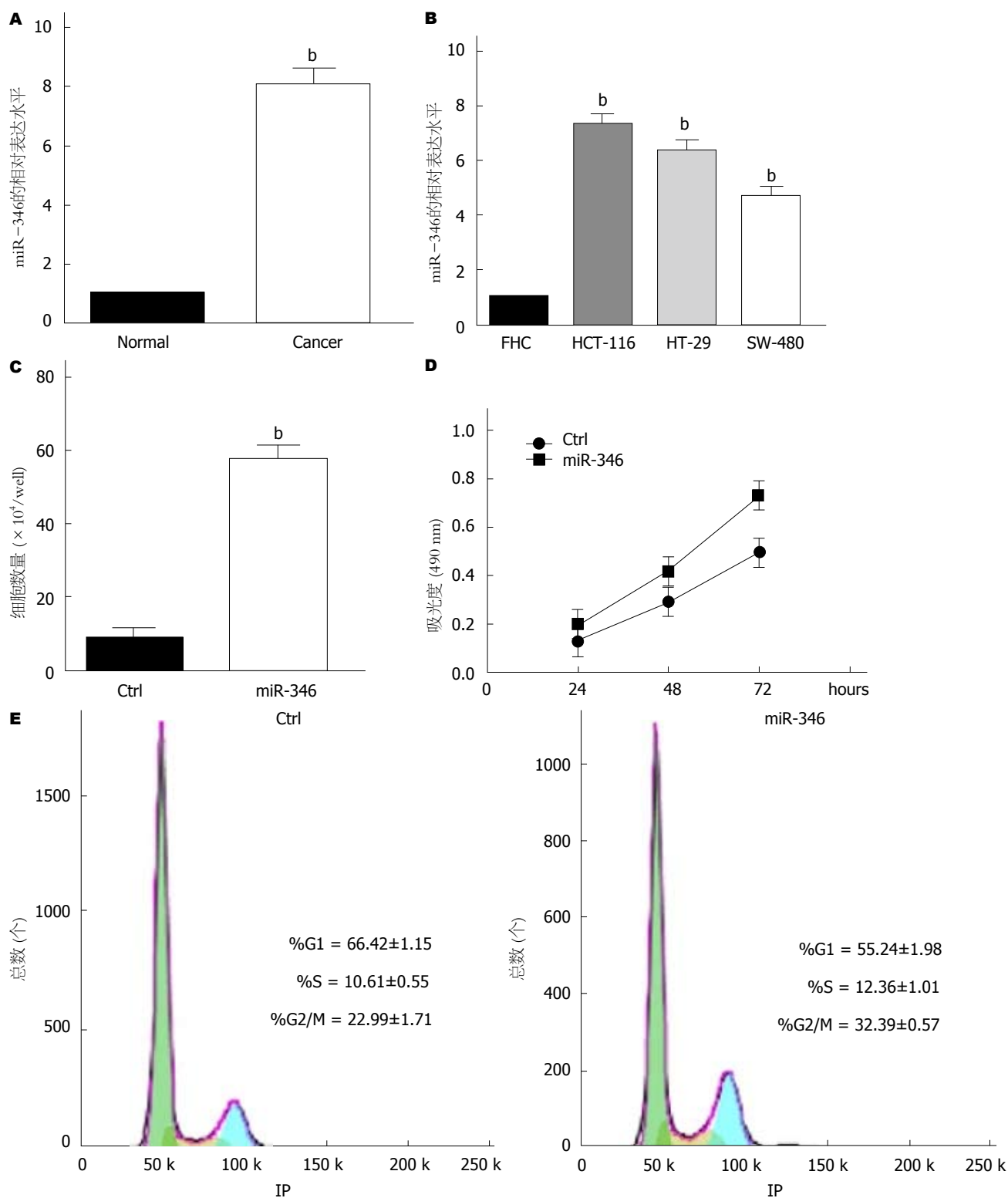


图 1 miR-346在结肠癌中的表达及其在细胞增殖中的作用. A: 与癌旁组织相比, 结肠癌组织中miR-346的表达水平较高, ^b $P<0.01$; B: 三种结肠癌细胞系中miR-346的表达显著高于正常结肠粘膜上皮细胞内的表达, ^b $P<0.01$; C: 转染miR-346 mimics后, miR-346过表达实验组的细胞数多于对照组, ^b $P<0.01$; D: 过表达miR-346可显著促进细胞增殖; E: 过表达miR-346后, G1期细胞比例显著降低, S期和G2/M期细胞比例增加, 实验重复三次, 差异有统计学意义, $P<0.05$, E展示了其中一次的结果.

了确认miR-346通过下调DKK3的表达来调节细胞增殖, 细胞共转染miR-346 mimics和pcDNA-DKK3. 转染miR-346 mimics后, DKK3的mRNA水平显著下降, 这表

明内源性DKK3被抑制. 细胞共转染miR-346 mimics和pcDNA-DKK3后, DKK3的mRNA水平与对照组中的无统计学差异(图4A). miR-346过表达的实验组的细胞数

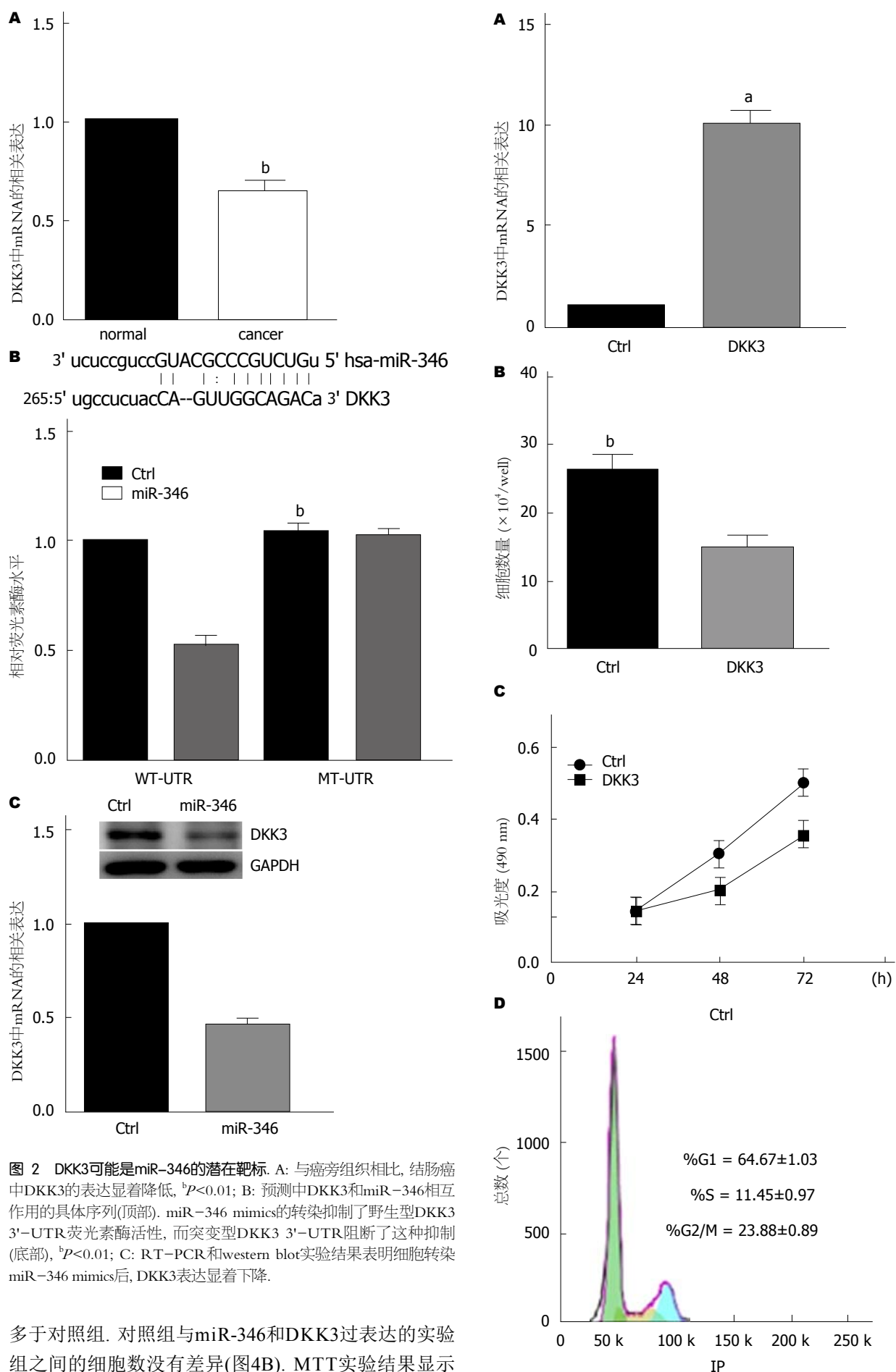


图2 DKK3可能是miR-346的潜在靶标。A: 与癌旁组织相比, 结肠癌中DKK3的表达显著降低, ^b $P < 0.01$; B: 预测中DKK3和miR-346相互作用的具体序列(顶部)。miR-346 mimics的转染抑制了野生型DKK3 3'-UTR荧光素酶活性, 而突变型DKK3 3'-UTR阻断了这种抑制(底部), ^b $P < 0.01$; C: RT-PCR和western blot实验结果表明细胞转染miR-346 mimics后, DKK3表达显著下降。

多于对照组。对照组与miR-346和DKK3过表达的实验组之间的细胞数没有差异(图4B)。MTT实验结果显示

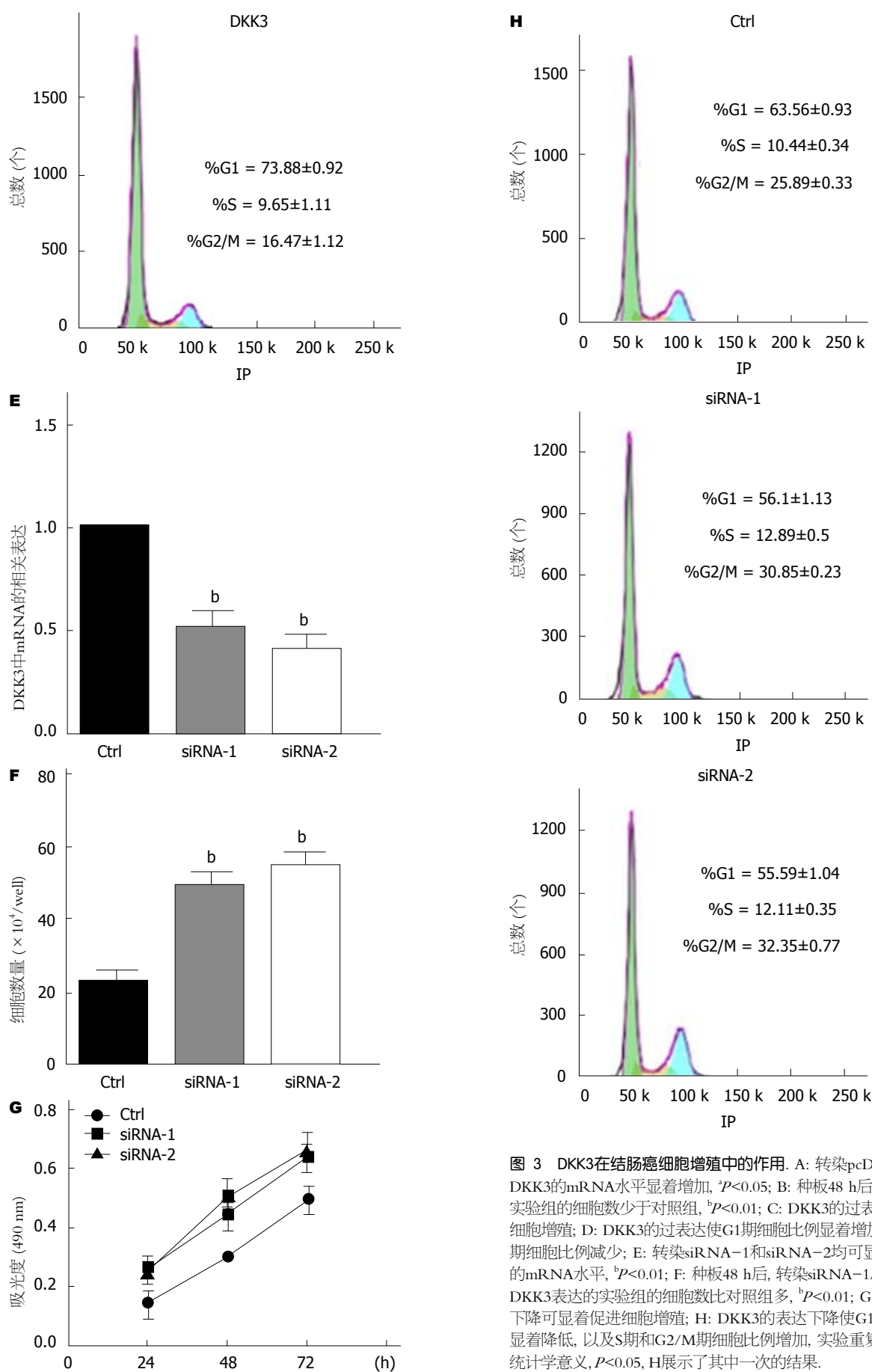


图 3 DKK3在结肠癌细胞增殖中的作用. A: 转染pcDNA-DKK3后, DKK3的mRNA水平显著增加, $P<0.05$; B: 种板48 h后, DKK3过表达实验组的细胞数少于对照组, $^bP<0.01$; C: DKK3的过表达可显著抑制细胞增殖; D: DKK3的过表达使G1期细胞比例显著增加, S期和G2/M期细胞比例减少; E: 转染siRNA-1和siRNA-2均可显著降低DKK3的mRNA水平, $^bP<0.01$; F: 种板48 h后, 转染siRNA-1/siRNA-2干扰DKK3表达的实验组的细胞数比对照组多, $^bP<0.01$; G: DKK3的表达下降可显著促进细胞增殖; H: DKK3的表达下降使G1期的细胞比例显著降低, 以及S期和G2/M期细胞比例增加, 实验重复三次, 差异有统计学意义, $P<0.05$, H展示了其中一次的结果.

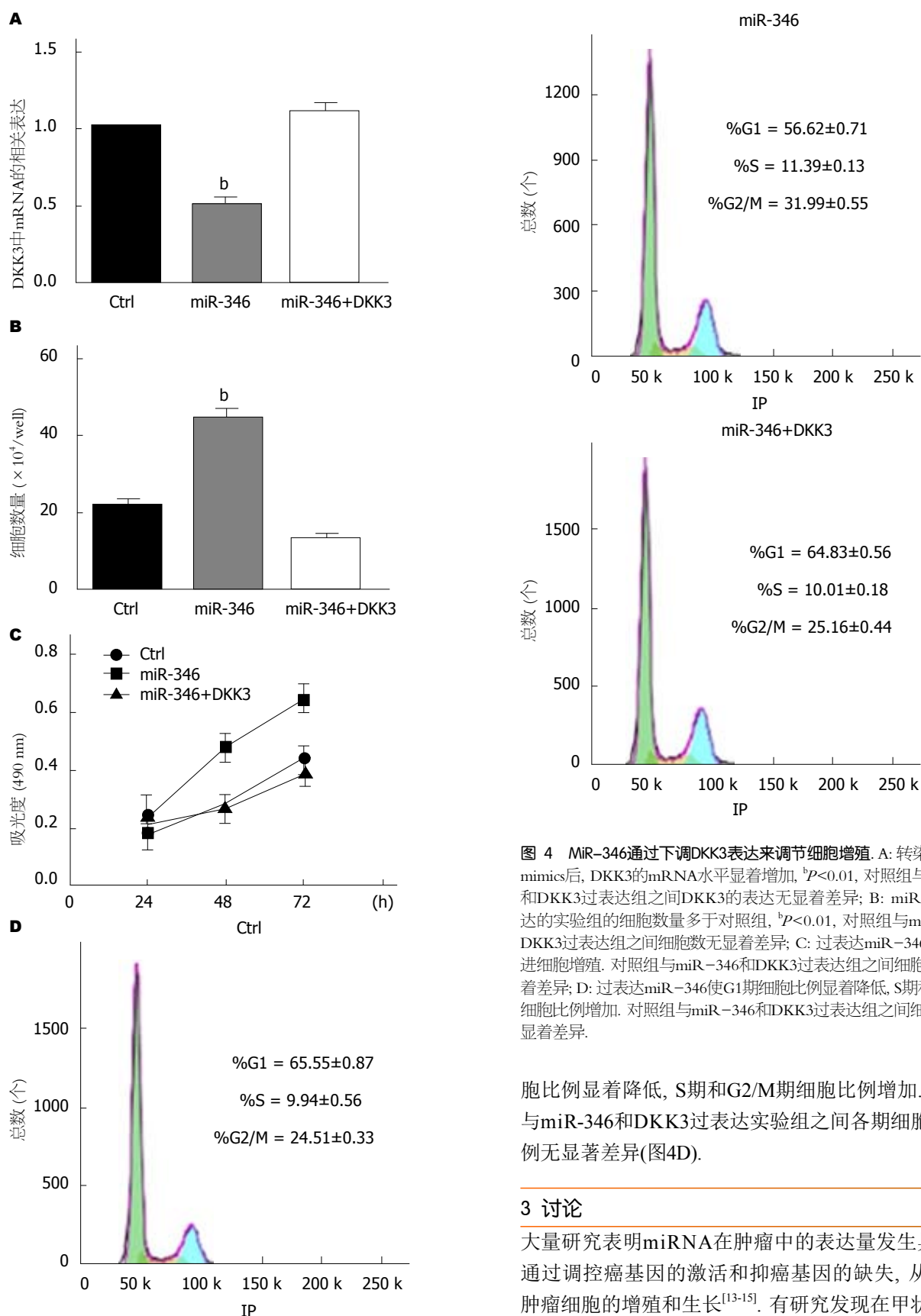


图 4 MiR-346通过下调DKK3表达来调节细胞增殖. A: 转染miR-346 mimics后, DKK3的mRNA水平显著增加, $^bP<0.01$, 对照组与miR-346和DKK3过表达组之间DKK3的表达无显著差异; B: miR-346过表达的实验组的细胞数量多于对照组, $^bP<0.01$, 对照组与miR-346和DKK3过表达组之间细胞数无显著差异; C: 过表达miR-346可显著促进细胞增殖. 对照组与miR-346和DKK3过表达组之间细胞增殖无显著差异; D: 过表达miR-346使G1期细胞比例显著降低, S期和G2/M期细胞比例增加. 对照组与miR-346和DKK3过表达组之间细胞周期无显著差异.

胞比例显著降低, S期和G2/M期细胞比例增加. 对照组与miR-346和DKK3过表达实验组之间各期细胞所占比例无显著差异(图4D).

3 讨论

大量研究表明miRNA在肿瘤中的表达量发生异常, 其通过调控癌基因的激活和抑癌基因的缺失, 从而影响肿瘤细胞的增殖和生长^[13-15]. 有研究发现在甲状腺癌细胞系中, 过表达miR-346会促进细胞增殖, 抑制内源性miR-346表达导致细胞生长停滞^[16]. 此外, miR-346还在甲状腺肿的发展过程中发挥了重要作用^[17]. Alsaleh等^[18]发现miR-346通过调节IL-18参与慢性炎症过程. 另

miR-346的过表达可显著促进细胞增殖. 然而, 同时过表达DKK3会抑制了miR-346过表达对细胞增殖的促进作用(图4C). 进一步实验发现, miR-346的过表达使G1期细

一项研究报道, 在粘膜炎症期间, TNF- α 通过miR-346下调上皮维生素D受体^[19]. Guo等^[20]研究了miR-346在宫颈癌中的作用. 他们发现miR-346在宫颈癌中高表达, 可促进宫颈癌细胞的迁移和侵袭, 并增强Argonaute2的表达. 因此, miR-346可能作为致癌基因参与肿瘤的发生和发展. 本研究发现在结肠癌和结肠癌细胞系中miR-346的表达显著增加. 然后我们在结肠癌细胞系中使用miR-346 mimics来过表达miR-346. 通过一系列实验证明, miR-346可以促进细胞增殖. 那其发挥作用的具体机制是什么?

根据TargetScan和PicTar的预测, DKK3是miR-346的潜在靶基因. DKK3属于DKK家族, 其表达的蛋白是Wnt信号通路的抑制剂^[21]. Wnt信号通路参与细胞增殖、分化、炎症、癌症等多种生理病理过程等. Wnt信号通路的异常激活的情况在多种肿瘤中都有所发现^[22-24]. 最近的研究发现阻断Wnt信号通路可以抑制肿瘤生长. 这表明DKK3可能是肿瘤抑制因子. DKK3在多种人类肿瘤组织和细胞系中表达减弱或消失, 包括前列腺癌、宫颈癌、胃癌、肺癌和结肠癌^[25-30]. 本研究得出了类似的结果. 为了证实DKK3是miR-346的靶基因, 我们进行了双荧光素酶报告实验, 构建了野生型及突变型重组双荧光素酶报告质粒. 与空载体对照组相比, miR-346 mimics的转染明显抑制了野生型DKK3 3'-UTR荧光素酶活性, 而突变型DKK3 3'-UTR破坏了miR-346和DKK3之间的碱基配对, 导致实验组与对照组之间的荧光素酶活性无明显差异. 此外, 细胞转染miR-346 mimics后, DKK3在mRNA和蛋白质水平的表达量显著下降. 这些结果表明DKK3是miR-346的靶基因.

为了研究DKK3在结肠癌细胞增殖中的作用, HCT-116转染了pcDNA-DKK3或siRNA以增加或降低细胞内DKK3的表达. 我们发现DKK3可以显著抑制细胞增殖. 最后, 过表达miR-346可以显著促进细胞增殖. 而DKK3可以抑制miR-346对细胞增殖的促进作用. 于是, 我们猜测miR-346是通过下调DKK3来影响结肠癌的细胞增殖.

总之, 本研究的结果表明miR-346是结肠癌中的致癌基因. 它通过下调DKK3来调控结肠癌的细胞增殖. 这些研究结果表明miR-346/DKK3信号轴是潜在的临床诊断和治疗方法. 然而, 本研究仍存在一些不足之处. 首先, 未进行miR-346对结肠癌细胞的细胞凋亡、侵袭和其他生物学行为影响的实验. 其次, 未进行动物实验进一步验证miR-346在结肠癌中的生物学功能. 这些将在今后的研究中进一步改善.

文章亮点

实验背景

非编码RNA和结肠癌之间的关系一直是医学研究的重点和热点. miR-346被发现参与了多种肿瘤的进展. 但目前尚缺少miR-346与结肠癌的相关研究. 本文拟通过细胞功能实验探究miR-346在结肠癌中的作用及机制.

实验动机

本课题围绕着miR-346在结肠癌细胞中的功能作用进行研究, 揭示miR-346对结肠癌细胞的调控作用.

实验目标

本论文通过研究miR-346对结肠癌细胞增殖功能的调控作用, 及寻找下游的靶基因, 揭示了miR-346在结肠癌发生发展中的作用机制.

实验方法

本文采用了MTT实验研究miR-346对结肠癌细胞功能的影响, 利用流式细胞仪分析miR-346对结肠癌细胞周期的影响, 通过报告基因实验寻找miR-346下游的靶基因, 并验证两者之间的调控作用.

实验结果

本研究达到实验目标. 发现miR-346能够通过抑制下游靶基因DKK3调控结肠癌细胞的增殖能力. 进一步丰富了非编码RNA与结肠癌之间的调控网络.

实验结论

本研究发现miR-346能够促进结肠癌细胞增殖, 以及发现了miR-346新的靶基因DKK3. 本研究提出miR-346通过抑制DKK3促进结肠癌细胞的增殖. 通过干预miR-346-DKK3轴调控结肠癌细胞的功能. miR-346通过抑制DKK3促进结肠癌细胞的增殖. miR-346促进结肠癌细胞增殖, G1期细胞比例显著降低, S期和G2/M期细胞比例增加. 为今后潜在的临床应用提供理论基础.

展望前景

miR-346下游有许多靶基因, DKK3只是其中的一个. 寻找下游靶基因需要报告基因、WB等多个实验进行验证. 进一步研究miR-346对结肠癌细胞迁移、侵袭、凋亡的作用.

4 参考文献

- 1 Purushotham AD, Lewison G, Sullivan R. The state of research and development in global cancer surgery. *Ann Surg* 2012; 255: 427-432 [PMID: 22281701 DOI: 10.1097/

- SLA.0b013e318246591f]
- 2 Sung JJ, Lau JY, Goh KL, Leung WK; Asia Pacific Working Group on Colorectal Cancer. Increasing incidence of colorectal cancer in Asia: implications for screening. *Lancet Oncol* 2005; 6: 871-876 [PMID: 16257795 DOI: 10.1016/S1470-2045(05)70422-8]
- 3 Hong W, Dong L, Stock S, Basharat Z, Zippi M, Zhou M. Prevalence and characteristics of colonic adenoma in mainland China. *Cancer Manag Res* 2018; 10: 2743-2755 [PMID: 30147371 DOI: 10.2147/CMAR.S166186]
- 4 Hutvagner G, McLachlan J, Pasquinelli AE, Bálint E, Tuschl T, Zamore PD. A cellular function for the RNA-interference enzyme Dicer in the maturation of the let-7 small temporal RNA. *Science* 2001; 293: 834-838 [PMID: 11452083 DOI: 10.1126/science.1062961]
- 5 Rosenfeld N, Aharonov R, Meiri E, Rosenwald S, Spector Y, Zepeniuk M, Benjamin H, Shabes N, Tabak S, Levy A, Lebanony D, Goren Y, Silberschein E, Targan N, Ben-Ari A, Gilad S, Sion-Vardy N, Tobar A, Feinmesser M, Kharenko O, Nativ O, Nass D, Perelman M, Yosepovich A, Shalmon B, Polak-Charcon S, Fridman E, Avniel A, Bentwich I, Bentwich Z, Cohen D, Chajut A, Barshack I. MicroRNAs accurately identify cancer tissue origin. *Nat Biotechnol* 2008; 26: 462-469 [PMID: 18362881 DOI: 10.1038/nbt1392]
- 6 Wang X, Wang J, Ma H, Zhang J, Zhou X. Downregulation of miR-195 correlates with lymph node metastasis and poor prognosis in colorectal cancer. *Med Oncol* 2012; 29: 919-927 [PMID: 21390519 DOI: 10.1007/s12032-011-9880-5]
- 7 Ma R, Jiang T, Kang X. Circulating microRNAs in cancer: origin, function and application. *J Exp Clin Cancer Res* 2012; 31: 38 [PMID: 22546315 DOI: 10.1186/1756-9966-31-38]
- 8 Agostini M, Pucciarelli S, Calore F, Bedin C, Enzo M, Nitti D. miRNAs in colon and rectal cancer: A consensus for their true clinical value. *Clin Chim Acta* 2010; 411: 1181-1186 [PMID: 20452339 DOI: 10.1016/j.cca.2010.05.002]
- 9 Cheng H, Zhang L, Cogdell DE, Zheng H, Schetter AJ, Nykter M, Harris CC, Chen K, Hamilton SR, Zhang W. Circulating plasma MiR-141 is a novel biomarker for metastatic colon cancer and predicts poor prognosis. *PLoS One* 2011; 6: e17745 [PMID: 21445232 DOI: 10.1371/journal.pone.0017745]
- 10 Yan HL, Li L, Li SJ, Zhang HS, Xu W. miR-346 promotes migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma cells via targeting BRMS1. *J Biochem Mol Toxicol* 2016; 30: 602-607 [PMID: 27501413 DOI: 10.1002/jbt.21827]
- 11 Yang F, Luo LJ, Zhang L, Wang DD, Yang SJ, Ding L, Li J, Chen D, Ma R, Wu JZ, Tang JH. MiR-346 promotes the biological function of breast cancer cells by targeting SRCIN1 and reduces chemosensitivity to docetaxel. *Gene* 2017; 600: 21-28 [PMID: 27913185 DOI: 10.1016/j.gene.2016.11.037]
- 12 Sun CC, Li SJ, Yuan ZP, Li DJ. MicroRNA-346 facilitates cell growth and metastasis, and suppresses cell apoptosis in human non-small cell lung cancer by regulation of XPC/ERK/Snail/E-cadherin pathway. *Aging (Albany NY)* 2016; 8: 2509-2524 [PMID: 27777383 DOI: 10.18632/aging.101080]
- 13 Yang W, Lee DY, Ben-David Y. The roles of microRNAs in tumorigenesis and angiogenesis. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 2011; 3: 140-155 [PMID: 21760972]
- 14 Osman A. MicroRNAs in health and disease--basic science and clinical applications. *Clin Lab* 2012; 58: 393-402 [PMID: 22783567]
- 15 Roberts AP, Lewis AP, Jopling CL. The role of microRNAs in viral infection. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2011; 102: 101-139 [PMID: 21846570 DOI: 10.1016/B978-0-12-415795-8.00002-7]
- 16 Weber F, Teresi RE, Broelsch CE, Frilling A, Eng C. A limited set of human MicroRNA is deregulated in follicular thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 3584-3591 [PMID: 16822819 DOI: 10.1210/jc.2006-0693]
- 17 Chen J, Tian J, Tang X, Rui K, Ma J, Mao C, Liu Y, Lu L, Xu H, Wang S. MiR-346 regulates CD4⁺CXCR5⁺ T cells in the pathogenesis of Graves' disease. *Endocrine* 2015; 49: 752-760 [PMID: 25666935 DOI: 10.1007/s12020-015-0546-5]
- 18 Alsaleh G, Suffert G, Semaan N, Juncker T, Frenzel L, Gottenberg JE, Sibilia J, Pfeffer S, Wachsmann D. Bruton's tyrosine kinase is involved in miR-346-related regulation of IL-18 release by lipopolysaccharide-activated rheumatoid fibroblast-like synoviocytes. *J Immunol* 2009; 182: 5088-5097 [PMID: 19342689 DOI: 10.4049/jimmunol.0801613]
- 19 Chen Y, Du J, Zhang Z, Liu T, Shi Y, Ge X, Li YC. MicroRNA-346 mediates tumor necrosis factor α -induced downregulation of gut epithelial vitamin D receptor in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2014; 20: 1910-1918 [PMID: 25192497 DOI: 10.1097/MIB.0000000000000158]
- 20 Guo J, Lv J, Liu M, Tang H. miR-346 Up-regulates Argonaute 2 (AGO2) Protein Expression to Augment the Activity of Other MicroRNAs (miRNAs) and Contributes to Cervical Cancer Cell Malignancy. *J Biol Chem* 2015; 290: 30342-30350 [PMID: 26518874 DOI: 10.1074/jbc.M115.691857]
- 21 Veeck J, Dahl E. Targeting the Wnt pathway in cancer: the emerging role of Dickkopf-3. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1825: 18-28 [PMID: 21982838 DOI: 10.1016/j.bbcan.2011.09.003]
- 22 Tai D, Wells K, Arcaroli J, Vanderbilt C, Aisner DL, Messersmith WA, Lieu CH. Targeting the WNT Signaling Pathway in Cancer Therapeutics. *Oncologist* 2015; 20: 1189-1198 [PMID: 26306903 DOI: 10.1634/theoncologist.2015-0057]
- 23 Wagner AH, Devarakonda S, Skidmore ZL, Krysiak K, Ramu A, Trani L, Kunisaki J, Masood A, Waqar SN, Spies NC, Morgensztern D, Waligorski J, Ponce J, Fulton RS, Maggi LB Jr, Weber JD, Watson MA, O'Connor CJ, Ritter JH, Olsen RR, Cheng H, Mukhopadhyay A, Can I, Cessna MH, Oliver TG, Mardis ER, Wilson RK, Griffith M, Griffith OL, Govindan R. Recurrent WNT pathway alterations are frequent in relapsed small cell lung cancer. *Nat Commun* 2018; 9: 3787 [PMID: 30224629 DOI: 10.1038/s41467-018-06162-9]
- 24 Galluzzi L, Spranger S, Fuchs E, López-Soto A. WNT Signaling in Cancer Immunosurveillance. *Trends Cell Biol* 2018 [PMID: 30220580 DOI: 10.1016/j.tcb.2018.08.005]
- 25 Zenzmaier C, Untergasser G, Hermann M, Dirnhofer S, Sampson N, Berger P. Dysregulation of Dkk-3 expression in benign and malignant prostatic tissue. *Prostate* 2008; 68: 540-547 [PMID: 18247400 DOI: 10.1002/pros.20711]
- 26 Lee EJ, Jo M, Rho SB, Park K, Yoo YN, Park J, Chae M, Zhang W, Lee JH. Dkk3, downregulated in cervical cancer, functions as a negative regulator of beta-catenin. *Int J Cancer* 2009; 124: 287-297 [PMID: 19003969 DOI: 10.1002/ijc.23913]
- 27 Park JM, Kim MK, Chi KC, Kim JH, Lee SH, Lee EJ. Aberrant loss of dickkopf-3 in gastric cancer: can it predict lymph node metastasis preoperatively? *World J Surg* 2015; 39: 1018-1025 [PMID: 25604390 DOI: 10.1007/s00268-014-2886-3]
- 28 Yue W, Sun Q, Dacic S, Landreneau RJ, Siegfried JM, Yu J, Zhang L. Downregulation of Dkk3 activates beta-catenin/TCF-4 signaling in lung cancer. *Carcinogenesis* 2008; 29: 84-92 [PMID: 18048388 DOI: 10.1093/carcin/bgm267]

- 29 Stone L. DKK3 loss induces opposing effects. *Nat Rev Urol* 2018; 15: 527 [PMID: 29950591 DOI: 10.1038/s41585-018-0054-5]
- 30 Kardooni H, Gonzalez-Gualda E, Stylianakis E, Saffaran S,

Waxman J, Kypta RM. CRISPR-Mediated Reactivation of DKK3 Expression Attenuates TGF- β Signaling in Prostate Cancer. *Cancers (Basel)* 2018; 10 [PMID: 29843383 DOI: 10.3390/cancers10060165]

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》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内31个省、市、自治区、和香港特别行政区和719位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助.

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括实验背景、实验动机、实验目标、实验方法、实验结果、实验结论、展望前景.

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术.

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病学领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务.



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

