

本文引文格式:王居平,赵静,周青宏,等.下调肿瘤源性免疫球蛋白 G 表达对胃癌细胞增殖的影响及其机制研究[J].右江民族医学院学报,2021,43(1):1-5,16.

【论著与临床报道】

下调肿瘤源性免疫球蛋白 G 表达对胃癌细胞增殖的影响及其机制研究

王居平¹,赵静¹,周青宏¹,巫祥生¹,农安娜¹,华浩铭¹,杨树琳¹,陈丽莹¹,任瑞华²,彭慧¹

(1. 右江民族医学院,广西 百色 533000;
2. 赣南医学院,江西 赣州 341000)

摘要:目的 探索肿瘤源性免疫球蛋白 G(IgG)表达对胃癌细胞增殖的影响和 Na⁺-K⁺-ATP 酶在其中所扮演的角色。方法 用 siRNA 干扰技术下调胃癌细胞 SGC-7901 和 HGC-27 中 IgG 表达后:①用免疫印迹和 RT-qPCR 技术在蛋白水平和 mRNA 水平检测 IgG 表达情况;②分别用 CCK-8 法和镜下细胞拍照计数法检测以上胃癌细胞的增殖能力;③建立稳定表达 Control shRNA 和 IGHG1 shRNA 的 HGC-27 胃癌细胞系,完成裸鼠成瘤实验;④用比色法检测以上细胞中总 ATP 酶和 Na⁺-K⁺-ATP 酶的活性。**结果** 体内外实验表明,IgG 表达下调使胃癌细胞增殖受到抑制,胃癌细胞中总 ATP 酶和 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性显著降低($P < 0.05$)。**结论** 肿瘤源性 IgG 可能通过增强 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性促进胃癌细胞增殖。

关键词:免疫球蛋白 G;胃肿瘤;增殖;Na⁺-K⁺-ATP 酶

中图分类号:R735.2 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2021)01-0001-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2021.01.001

Effect of down-regulating the expression of tumor-derived immunoglobulin G on proliferation of gastric cancer cells and related mechanism

Wang Juping¹, Zhao Jing¹, Zhou Qinghong¹, Wu Xiangsheng¹, Nong Anna¹,
Hua Haoming¹, Yang Shulin¹, Chen Liying¹, Ren Ruihua², Peng Hui¹

(1. Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
2. Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi, China)

Abstract: **Objective** To explore the effect of tumor-derived immunoglobulin G (IgG) expression on the proliferation of gastric cancer cells and the role of Na⁺-K⁺-ATPase. **Methods** After the siRNA interference was used to down-regulate IgG expression in gastric cancer cells SGC-7901 and HGC-27. ① Western blotting and RT-qPCR were used to detect the expression of IgG at the protein and mRNA levels. ② CCK-8 method and microscopic cell photo-counting were used to detect the proliferation ability of the above gastric cancer cells. ③ Gastric cancer cell lines HGC-27 with stable expressions of Control shRNA and IGHG1 shRNA was established to complete the tumorigenesis experiment in nude mice. ④ The activity of total ATPase and Na⁺-K⁺-ATPase

基金项目:国家自然科学基金项目(81760513、82060528);广西自然科学基金项目(2017JJA10351、2019JJA140532);广西高校中青年教师基础能力提升项目(2017KY0520);广西高等学校重点实验室科学研究开放课题(kfkt2017005);广西学术学位硕士研究生创新课题(YCSW2020232);广西壮族自治区区级大学生创新创业训练计划项目(201810599043、201810599036、202010599011、202010599025);右江民族医学院校级科研项目(yy2016bsky02)

第一作者简介:王居平(1976-),男,博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向:肿瘤免疫,E-mail:juping0128@163.com

通讯作者简介:彭慧(1982-),女,在读硕士研究生,检验师,研究方向:表观遗传学,E-mail:1933752059@qq.com

in the above cells were detected by colorimetry. **Results** *In vivo* and *in vitro* experiments showed that down-regulation of IgG expression inhibited the proliferation of gastric cancer cells, and the activities of total ATPase and $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ in gastric cancer cells significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Tumor-derived IgG may promote the proliferation of gastric cancer cells by enhancing $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity.

Key words: immunoglobulin G; gastric cancer; proliferation; $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$

胃癌是消化系统常见的恶性肿瘤,占我国癌症发病率的第四位,并呈上升趋势。早期多无明显临床症状,往往就诊时已到中晚期,且大多数患者因发生转移而失去手术的最佳时机^[1-2]。因此,了解胃癌的发生发展机制并寻求特异的疗法是当务之急。免疫球蛋白(Ig)是人体中极其重要的蛋白质,广泛存在于血浆、组织液和分泌液中,参与机体的免疫反应。传统的免疫学理论认为,只有B淋巴细胞和浆细胞才能产生和分泌Ig,但近年来国内外多个研究组发现胃癌、乳腺癌、肺癌、宫颈癌等多种癌细胞也能表达Ig,特别是IgG^[3-6]。更重要的是,与经典IgG不同,非B细胞来源的IgG参与多种肿瘤的发生发展过程^[7-11]。近年来许多研究显示,ATP酶中的P-ATP酶如 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 、 $\text{H}^+ / \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 不仅参与正常的细胞活动,如维持细胞内外钠、钾离子的生理分布,也参与了包括胃癌在内的多种肿瘤的发生发展^[12-15]。本研究旨在通过探讨 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 在肿瘤源性IgG促进胃癌细胞增殖中的作用和机制研究,为胃癌的诊断和防治提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞株和裸鼠 人胃癌细胞SGC-7901和HGC-27购于武汉普诺赛生命科技有限公司,12只4~5周龄BALB/c裸鼠购于北京维通利华实验动物技术有限公司。

1.2 主要试剂 DMEM培养基、胎牛血清和0.25%胰酶购于Gibco公司;Control siRNA片段序列正义链为5' UUCUCCGAACGUGUCACGUTT3',反义链为5' ACGUGACACGUUCGGAGAATT3',IGHG1siRNA片段序列正义链为5' CCAAGGACACCUCUAUGAUTT3',反义链为5' AUCAUGAGGGUGUCCUUGGTT3',siRNA片段和shRNA质粒载体购于上海吉玛制药技术有限公司;转染试剂Lipofectamine™2000购于美国Invitrogen公司;10XRI-PA裂解缓冲液购于美国Upstate公司;CCK-8试剂盒购于北京索莱宝科技有限公司;ATP酶试剂盒购于南京建成生物工程研究所;BCA蛋白质浓度测定试剂盒购于上海碧云天生物技术有限公司;鼠抗人IgG(γ 链特异性)抗体购于美国Sigma公司;ECL发光液购于美国Merck Millipore公司;遗传霉素G418和兔抗人 β -actin抗体购于生工生物工程(上海)股份有限公

司;RT-qPCR相关试剂购于宝生物工程(大连)有限公司;免疫组化试剂购于北京索莱宝生物技术公司。

1.3 细胞培养和 siRNA 干扰实验 将SGC-7901细胞置于含有10%胎牛血清、100 U/ml青链霉素的DMEM培养基中,将HGC-27细胞置于含有20%胎牛血清、100 U/ml青链霉素的RPMI 1640培养基中,在37℃、5% CO₂的培养箱中培养。当细胞贴壁达80%时,用0.25%的胰酶消化细胞,进行传代培养,取对数生长期细胞进行实验。转染前使细胞在六孔板中达到50%~60%的融合,用Lipofectamine™2000将IGHG1 siRNA和Control siRNA片段转染进入以上两种细胞,72 h后收细胞进行后续实验。

1.4 胃癌稳转细胞系的建立和裸鼠成瘤实验 将Control shRNA和IGHG1 shRNA质粒载体转染到HGC-27细胞中,用G418筛选出最佳药物浓度后并处理细胞,经过4~6周的筛选,最终得到稳定表达Control shRNA和IGHG1 shRNA的单克隆细胞系。将此细胞 5×10^7 个溶于200 μ l PBS中,注射到裸鼠的皮下,实验组和对照组裸鼠各6只。8周后将以上裸鼠麻醉处死,取出裸鼠肿瘤并拍照。对于裸鼠肿瘤组织,在完成HE染色后用免疫组化技术检测以上组织增殖相关标志物PCNA和Ki67的表达。

1.5 免疫印迹实验 收集siRNA干扰后的细胞样品,裂解后测定细胞蛋白浓度,每个样品取50 μ g蛋白经SDS-PAGE凝胶电泳分离后转移到硝酸纤维素膜上。用5%牛奶封闭2 h,PBST洗膜后,加入一定稀释倍数的一抗,4℃孵育过夜,第2天用PBST洗膜后在室温孵育HRP标记的二抗1 h,PBST洗膜后加入ECL发光液在暗室用胶片曝光,以 β -actin为内参照。

1.6 RT-qPCR 用RNAsio Plus试剂提取细胞总RNA后,按照PrimeScript™RT reagent Kit with gDNA Eraser试剂盒说明书将总RNA逆转录成cDNA。根据TB Green® Premix Ex Taq™ II (TliRNaseH Plus)试剂盒说明书,加入相应反应体系,用罗氏Lightcycler96荧光定量PCR仪检测CT值。使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析IGHG1在mRNA水平的相对表达量。

1.7 细胞增殖实验 在SGC-7901和HGC-27细胞中均转染Control siRNA和IGHG siRNA片段,将转染Control siRNA片段的细胞定为对照组,转染IGHG1 siRNA片段的细胞定为实验组。转染6 h后,

胰酶消化并进行细胞计数,每孔 2000 个细胞,在 96 孔板中接种细胞悬液(100 微升/孔),72 h 后,根据细胞增殖检测试剂盒说明书,向细胞中加入 10 μ l CCK-8 试剂,放入细胞培养箱中继续培养 1 h,在 Bio-Rad 酶标仪上测定 490 nm 波长处的吸光度值。在实验过程中设置空白对照组,每组细胞做 6 个重复。

1.8 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性测定 转染 72 h 后将细胞收集加入 500 μ l 生理盐水,用超声破碎仪破碎细胞,400 安培 10 秒/次,间隙 20 s,反复 5~10 次,1000 r/min,离心 5 min,取上清液测量细胞蛋白浓度以及总 ATP 酶和 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性。根据酶促反应释放的无机磷含量测定 ATP 酶活性,按照试剂盒说明书要求逐项加入试剂,最后用紫外分光光度计在 636 nm 处测定样品吸光度。

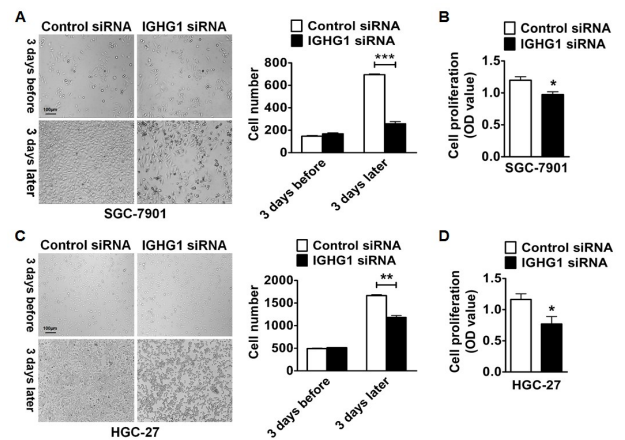
1.9 统计学方法 每组实验重复 3 次,所有数据采用 SPSS 19.0 统计学软件进行处理,以上实验所得计量资料数据用($\bar{x} \pm s$)表示,两组间的比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 应用 siRNA 干扰技术下调胃癌细胞中 IgG 表达

在 SGC-7901 和 HGC-27 细胞中均转染 Control siRNA 片段(对照组)和 IGHG1 siRNA 片段(实验组)。转染 72 h 后收细胞,用免疫印迹技术和 RT-qPCR 技术分别检测以上细胞中 IgG 的表达。结果表明,与对照组细胞相比,实验组细胞中 IgG 在蛋白(见图 1A 和图 1C)和 mRNA 水平(见图 1B 和图 1D)的表达降低($P < 0.01$)。

细胞增殖 在 SGC-7901 和 HGC-27 细胞中均转染 Control siRNA 片段(对照组)和 IGHG1 siRNA 片段(实验组)。在转染前和转染 3 d 后,分别用显微镜观察并进行拍照,随机取以上两种细胞的 10 个不同视野,对每个视野的细胞进行计数并进行方差分析。结果显示,转染 3 d 后,与对照组细胞相比,实验组细胞数量显著减少($P < 0.01$)(见图 2A 和图 2C)。在以上细胞中分别转染 Control siRNA(对照组)和 IGHG1 siRNA(实验组)片段,72h 后用 CCK-8 法检测细胞增殖情况。结果表明,与对照组细胞相比,实验组细胞 IgG 表达下调抑制胃癌细胞 SGC-7901(见图 2B)和 HGC-27(见图 2D)增殖。



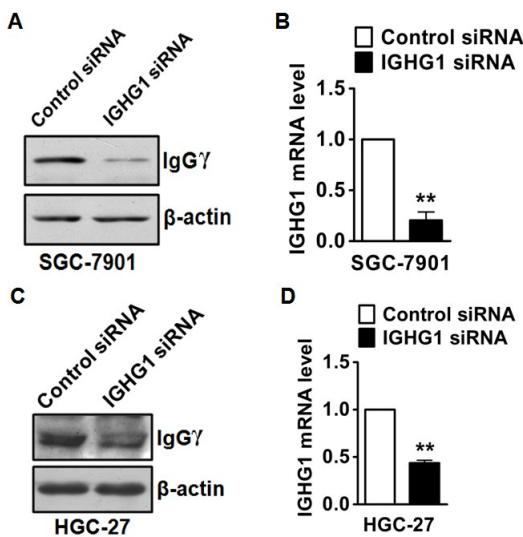
注:图 2A, $P < 0.001$;图 2B, $P = 0.033$;图 2C, $P = 0.003$;图 2D, $P = 0.023$; * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$, *** 表示 $P < 0.001$ 。

图 2 下调 IgG 表达对胃癌细胞增殖的影响

2.3 体内实验证明敲低肿瘤源性 IgG 表达阻碍胃癌细胞增殖

本实验通过 G418 筛选构建了稳定表达 Control shRNA(对照组)和 IGHG1 shRNA(实验组)的 HGC-27 胃癌细胞系并检测了 IgG 在蛋白和 mRNA 水平的表达,随后将以上稳转细胞注射进 BALB/c 裸鼠背部两侧皮下,8 周后测量裸鼠瘤体大小,摘除肿瘤组织后完成 HE 染色,检测与肿瘤增殖相关的标志物 PCNA、Ki67 和阴性对照 PBS 表达水平。结果表明,以上稳转细胞中 IgG 在蛋白和 mRNA(见图 3A 和图 3B)水平的表达都降低($P < 0.01$)。与对照组相比,实验组裸鼠肿瘤体积减少(见图 3C),PCNA 和 Ki67 的表达也降低($P < 0.05$)(见图 3D)。

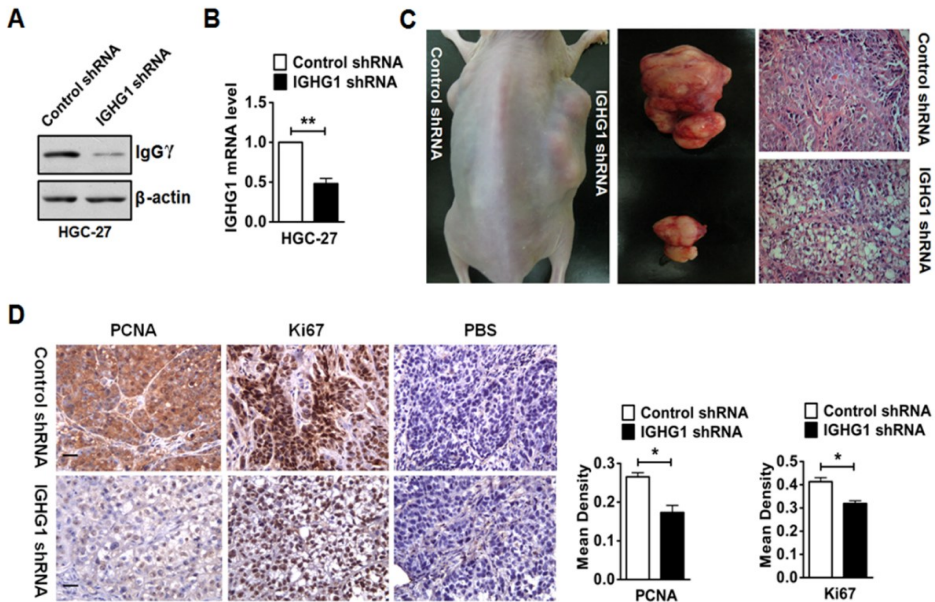
2.4 肿瘤源性 IgG 表达下调降低胃癌细胞中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性 转染 72 h 后收集细胞并用超声裂解细胞,取上清分别检测总 ATP 酶和 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性。结果表明,与对照组细胞相比,实验组细胞中以上 2 种 ATP 酶活性均降低($P < 0.05$)(见图 4A 和图 4B)。



注:图 1B, $P = 0.002$;图 1D, $P = 0.003$; ** 表示 $P < 0.01$ 。

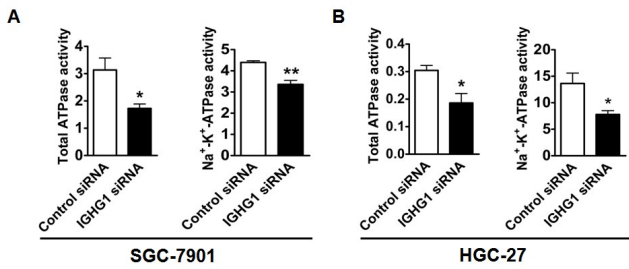
图 1 应用 siRNA 干扰技术下调胃癌细胞中 IgG 表达

2.2 体外实验证明肿瘤源性 IgG 表达下调抑制胃癌



注:图 3B, $P=0.001$;图 3D, $P_{PCNA}=0.013$, $P_{Ki67}=0.011$; * 表示 $P<0.05$, ** 表示 $P<0.01$
比例尺 20 μm (每组比例尺相同,故每组只画了第一张图片)。

图 3 下调 IgG 表达对胃癌细胞增殖的影响



注:图 4A, $P=0.04$, $P=0.007$;图 4B, $P=0.039$,
 $P=0.049$; * 表示 $P<0.05$, ** 表示 $P<0.01$ 。

图 4 下调 IgG 表达对胃癌细胞中 ATP 酶活性的影响

3 讨论

ATP 在生物体内各种生命活动中发挥重要作用。目前发现至少有三类 ATP 酶,分别为:P-ATP 酶、F-ATP 酶、V-ATP 酶^[16]。P-ATP 酶分布在真核细胞的质膜、少数细胞器膜和大肠杆菌、链球菌的内膜^[17]。F-ATP 酶是一类结构最复杂、研究最深入的质子泵 ATP 酶,存在于细菌内膜、叶绿体的类囊体和线粒体内膜的内侧^[18]。V-ATP 酶存在于真核细胞内的空泡型细胞器上,如酵母、真菌的空泡,植物的液泡,动物的溶酶体、笼蛋白衣被小泡、嗜铬颗粒、突触小泡和分泌小泡等^[18-19]。 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP 酶}$ 属于 P-ATP 酶,能维持线粒体膜电化学梯度,是线粒体功能、结构变化的灵敏指标^[20]。 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP 酶}$ 为三羧酸循环的关键酶,由 α 、 β 和 γ 3 个亚单位组成。其中 α -亚单位是一种跨膜蛋白,可促进细胞内外 K^+ 和 Na^+ 之间交换,进而调节体内外离子间的动态平衡^[21]。由于 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP 酶}$

酶在机体内扮演多种重要的角色,因此 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP 酶}$ 表达和活性改变将诱发多种疾病^[22],并且癌细胞中 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP 酶}$ 表达和活性改变将影响其(其代表癌细胞)发生发展^[23]。有报道指出^[24],下调 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP 酶}$ (同前,均为 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP 酶}$) $\alpha 1$ 亚基的表达抑制非小细胞肺癌的增殖和迁移。使用 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP 酶}$ 抑制剂将抑制肝癌细胞 HepG2 的增殖,并诱导细胞凋亡^[25]。Li L 等^[26]发现 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP 酶}$ $\beta 3$ 亚基在人的胃癌组织中显著升高,并通过 PI3/AKT 信号通路促进胃癌细胞的发生发展和预后。我们认为 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP 酶}$ 可能通过 PI3/AKT 信号通路影响细胞增殖。除此之外, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP 酶}$ 的活性取决于细胞内的磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)和胆固醇。有研究表明^[27-30],PS 能够稳定 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP 酶}$ 的表达,卵磷脂(phosphatidylcholine, PC)和脑磷脂(phosphatidylethanolamine, PE)能够和 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP 酶}$ 相互作用进而增强其活性。Habeck M 等^[31]研究发现, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP 酶}$ 的功能被 PS 和胆固醇(PC、PE)调节,此过程取决于磷脂的结构特异性、特异的结合位点和特定的动力学机制。我们推测,癌源性 IgG 可能通过调节 PS 和胆固醇(PC、PE)来增强 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP 酶}$ 的活性进而促进胃癌细胞增殖,我们将在后续的实验验证这一推论。

本研究从体内和体外两方面证明,下调胃癌细胞中 IgG 表达后,细胞增殖明显受到抑制,进一步探究其机制,我们发现在以上胃癌细胞增殖受到抑制的同时, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP 酶}$ 和总 ATP 酶的活性均显著降低,该

结果与以前报道的结果相一致。此外, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶已被证实促进胃癌细胞增殖^[26,32]。

综上所述,我们认为 IgG 可能通过增强胃癌细胞中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性促进细胞增殖(见图 5)。下一步,我们将就 IgG 是否确实通过影响 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性促进胃癌细胞增殖做进一步探索。

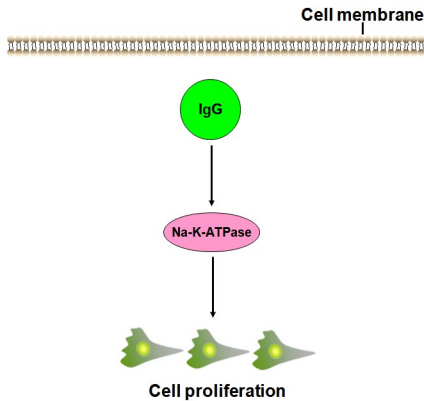


图 5 肿瘤源性 IgG 促进胃癌细胞增殖机制图

参考文献:

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] Coburn NG. Lymph nodes and gastric cancer [J]. J Surg Oncol, 2009, 99(4): 199-206.
- [3] Ma C, Wang Y, Zhang G, et al. Immunoglobulin G expression and its potential role in primary and metastatic breast cancers[J]. Curr Mol Med, 2013, 13(3): 429-437.
- [4] Yang BK, Ma CC, Chen ZS, et al. Correlation of immunoglobulin G expression and histological subtype and stage in breast cancer[J]. PLoS One, 2013, 8(3): e58706.
- [5] Jiang CF, Huang T, Wang Y, et al. Immunoglobulin G expression in lung cancer and its effects on metastasis[J]. PLoS One, 2014, 9(5): e97359.
- [6] Wang J, Lin D, Peng H, et al. Cancer-derived immunoglobulin G promotes tumor cell growth and proliferation through inducing production of reactive oxygen species [J]. Cell Death Dis, 2013, 4(12): e945.
- [7] Qiu XY, Zhu XH, Zhang L, et al. Human epithelial cancers secrete immunoglobulin g with unidentified specificity to promote growth and survival of tumor cells[J]. Cancer Res, 2003, 63(19): 6488-6495.
- [8] Liu YX, Chen ZS, Niu N, et al. IgG gene expression and its possible significance in prostate cancers [J]. Prostate, 2012, 72(6): 690-701.
- [9] Niu N, Zhang J, Huang T, et al. IgG expression in human colorectal cancer and its relationship to cancer cell behaviors[J]. PLoS One, 2012, 7(11): e47362.
- [10] Wan X, Lei Y, Li Zh, et al. Pancreatic expression of immunoglobulin G in human pancreatic cancer and associat-

ed diabetes[J]. Pancreas, 2015, 44(8): 1304-1313.

- [11] Sheng ZZ, Liu Y, Qin CP, et al. IgG is involved in the migration and invasion of clear cell renal cell carcinoma[J]. J Clin Path, 2016, 69(6): 497-504.
- [12] 王柏琦,程爱兰. 穿心莲内酯对人鼻咽癌细胞增殖以及 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性的影响 [J]. 当代医学, 2012, 18(26): 27-28.
- [13] Lee S, Baek M, Yang H, et al. Identification of genes differentially expressed between gastric cancers and normal gastric mucosa with cDNA microarrays[J]. Cancer Lett, 2002, 184(2): 197-206.
- [14] Espineda C, Seligson DB, Ball Jr W, et al. Analysis of the Na, K-ATPase alpha-and-beta-subunit expression profiles of bladder cancer using tissue microarrays[J]. Cancer, 2003, 97(8): 1859-1868.
- [15] Kometiani P, Liu L, Askari A. Digitalis-induced signaling by $\text{Na}^+ / \text{K}^+ - \text{ATP}$ ase in human breast cancer cells[J]. Mol Pharmacol, 2005, 67(3): 929-936.
- [16] 彭陈,何冰,郭士伟,等. 植物中的 P-ATP 酶[J]. 植物生理学通讯, 2010, 46(7): 637-642.
- [17] Chan H, Babayan V, Blyumin E, et al. The p-type ATPase superfamily[J]. J Mol Microbiol Biotechnol, 2010, 19(1-2): 5-104.
- [18] Bernardi P, Lippe G. Editorial: Structure and Function of F- and V-ATPases[J]. Front Physiol, 2019, 10: 358.
- [19] Graner M. V-ATPase expression in gliomas-Not your grandparents' proton pump[J]. EBioMedicine, 2019, 41: 13-14.
- [20] Cui XY, Xie ZJ. Protein interaction and Na/K-ATPase-mediated signal transduction [J]. Molecules, 2017, 22(6): 990.
- [21] Esmann M, Fedosova NU, Olesen C. Na, K-ATPase structure/function relationships probed by the denaturant urea [J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1848(5): 1212-1223.
- [22] Zuo JH, Lei MS, Wen ML, et al. Overexpression of ATP5b promotes cell proliferation in asthma[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(5): 6946-6952.
- [23] Wang HF, Zuo YG, Ding MX, et al. LASS2 inhibits growth and invasion of bladder cancer by regulating ATPase activity[J]. Oncol Lett, 2017, 13(2): 661-668.
- [24] Mijatovic T, Roland I, Quaquebeke EV, et al. The alpha1 subunit of the sodium pump could represent a novel target to combat non-small cell lung cancers[J]. J Pathol, 2007, 212(2): 170-179.
- [25] Xu ZW, Wang FM, Gao MJ, et al. Targeting the $\text{Na}^+ / \text{K}^+ - \text{ATP}$ ase alpha1 subunit of hepatoma HepG2 cell line to induce apoptosis and cell cycle arresting [J]. Biol Pharm Bull, 2010, 33(5): 743-751.

(下转第 16 页)

- damage response pathways in hepatocellular carcinoma [J]. *Biomed Res Int*, 2014; 153867.
- [2] Cox J, Weinman S. Mechanisms of doxorubicin resistance in hepatocellular carcinoma [J]. *Hepat Oncol*, 2016, 3(1): 57-59.
- [3] 惠起源, 魏晓萍. 上皮间质转化在肿瘤发生发展中的作用 [J]. *中国肿瘤*, 2013, 22(3): 219-222.
- [4] Hou Z, Xu X, Zhou L, et al. The long non-coding RNA MALAT1 promotes the migration and invasion of hepatocellular carcinoma by sponging miR-204 and releasing SIRT1 [J]. *Tumor Bio*, 2017, 39(7): 1010428317718135.
- [5] 黎梨. LncRNA H19 影响肝癌细胞 HepG2/ADM 的多药耐药性及苦参素逆转肝癌耐药作用新机制研究 [D]. 百色: 右江民族医学院, 2019.
- [6] 陈淑卿, 葛飞敏, 华育晖. 塞来昔布下调 sirtuin 1 表达抑制转化生长因子- β 1 诱导人胃癌细胞 SGC-7901 上皮细胞-间充质转化过程的研究 [J]. *中国药师*, 2019, 22(6): 1020-1025.
- [7] Zhou MG, Wang HD, Zeng XY, et al. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. *Lancet*, 2019, 394(10204): 1145-1158.
- [8] Kiesslich T, Pichler M, Neureiter D. Epigenetic control of epithelial-mesenchymal-transition in human cancer [J]. *Mol Clin Oncol*, 2013, 1(1): 3-11.
- [9] Zhao R, Gong L, Li L, et al. nm23-H1 is a negative regulator of TGF- β 1-dependent induction of epithelial-mesenchymal transition. [J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319(5): 740-749.
- [10] 李为. miR-491 调控上皮间质转化抑制肝癌侵袭转移的影响 [D]. 昆明: 昆明医科大学, 2019.
- [11] 张露. RBM3 对肝癌细胞 EMT 的影响及其与肝癌预后的相关性研究 [D]. 重庆: 重庆大学, 2019.
- [12] 龚婷. 丙泊酚通过上调 miR-219-5p 抑制肝癌生长和转移的作用与机制研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2019.
- [13] 邓通元, 黄桂柳, 黄赞松, 等. 苦参素对肝癌细胞增殖、侵袭和迁移能力的影响及机制 [J]. *山东医药*, 2018, 58(10): 5-8.
- [14] 黄桂柳, 黎梨, 黄赞松, 等. 苦参素促进肝癌 HepG2 细胞凋亡及其分子机制 [J]. *右江民族医院学报*, 2017, 39(1): 10-13.
- [15] 胡高裕, 黄赞松, 周喜汉, 等. 苦参碱增强顺铂抗人肝癌裸鼠移植瘤作用及其对 survivin/casp-ase-3 表达的影响 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2015, 23(9): 669-674.
- [16] 王甜, 尚牧禾, 王祥虎, 等. Linc-RoR/miR-204/MDM2 轴参与抑制食管鳞癌细胞凋亡的作用机制研究 [C]. 沈阳: 环境与健康学术会议——精准环境健康: 跨学科合作的挑战, 2018.
- [17] 郝军舰, 郝丽娟. miR-204-5p 通过靶向 HMGB1 抑制甲状腺乳头状癌 K1 细胞增殖、侵袭和迁移 [J]. *第三军医大学学报*, 2019, 41(16): 1559-1565.
- [18] 闫洪亮, 李杨, 靳翠平, 等. miR-204 靶向 BDNF 调控上皮性卵巢癌细胞抗失巢凋亡的实验研究 [J]. *现代妇产科进展*, 2019, 28(9): 647-650, 656.
- [19] 苏珂, 杨旭光. miR-204 对乳头状甲状腺癌细胞增殖、迁移和凋亡能力的影响 [J]. *国际医药卫生导报*, 2019, 25(13): 2024-2026, 2034.
- [20] 王建民, 张加宾, 刘杰慧, 等. miR-204 过表达抑制视网膜细胞瘤细胞的增殖与侵袭及其可能的机制 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(8): 791-796.
- [21] 苏杰, 马春梅, 赵丽莉, 等. miR-204 通过内质网应激抑制视网膜母细胞瘤生长作用及机制的研究 [J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2019, 33(4): 105-108.
- [22] Liu ZK, Wang YF, Dou CG, et al. Hypoxia-induced up-regulation of VASP promotes invasiveness and metastasis of hepatocellular carcinoma [J]. *Theranostics*, 2018, 8(17): 4649-4663.

收稿日期: 2020-11-20; 修回日期: 2020-12-21

(上接第 5 页)

- [26] Li L, Feng R, Xu Q, et al. Expression of the β 3 subunit of Na⁺/K⁺-ATPase is increased in gastric cancer and regulates gastric cancer cell progression and prognosis via the PI3/AKT pathway [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(48): 84285-84299.
- [27] Wheeler KP, Whittam R. The involvement of phosphatidylserine in adenosine triphosphatase activity of the sodium pump [J]. *J Physiol*, 1970, 207(2): 303-328.
- [28] Cornelius F. Cholesterol modulation of molecular activity of reconstituted shark Na⁺, K⁺-ATPase [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1235(2): 205-212.
- [29] Haviv H, Cohen E, Lifshitz Y, et al. Stabilization of Na⁺, K⁺-ATPase purified from *Pichia pastoris* membranes by specific interactions with lipids [J]. *Biochemistry*, 2007, 46(44): 12855-12867.
- [30] Kapri-Pardes E, Katz A, Haviv H, et al. Stabilization of the α 2 isoform of Na, K-ATPase by mutations in a phospholipid binding pocket [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(50): 42888-42899.
- [31] Habeck M, Kapri-Pardes E, Sharon M, et al. Specific phospholipid binding to Na, K-ATPase at two distinct sites [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(11): 2904-2909.
- [32] Wang SH, Wang KL, Yang WK, et al. Expression and potential roles of sodium-potassium ATPase and E-cadherin in human gastric adenocarcinoma [J]. *PLoS One*, 2017, 18(2): e0183692.

收稿日期: 2020-11-13; 修回日期: 2020-12-24