

MiR-192/-215 靶向 *BIVM* 基因调控胃癌细胞生物学功能

林慧娟¹, 张江宇¹, 杨梦婷², 陈文静¹, 李辉斌¹, 王 健¹, 张小静²

(1. 广州医科大学附属广东省妇儿医院病理科, 广东 广州 510000; 2. 深圳大学医学部基础医学院病理学系, 广东 深圳 518060)

摘要:【目的】研究 miR-192/-215 通过靶基因 *BIVM* 调控人胃癌发生发展的机制。【方法】首先利用靶基因预测网站、基因芯片、实时荧光定量 PCR 技术筛选出 miR-192/-215 的靶基因 *BIVM*, 然后构建双荧光素酶报告质粒, 验证 *BIVM* 为 miR-192/-215 靶基因。随后通过转染 *BIVM*-siRNA 干扰 *BIVM* 表达后, 检测其对胃癌细胞增殖、凋亡的作用。8 只裸鼠随机分为 *BIVM*-siRNA 实验组和 NSC-siRNA 对照组, 将转染 *BIVM*-siRNA 的胃癌细胞种植于裸鼠皮下, 观察 *BIVM* 对胃癌细胞体内成瘤能力的影响。【结果】基因芯片及荧光定量 PCR 筛选出 *BIVM* 为 miR-192/-215 的靶基因, 双荧光素酶报告系统确认 miR-192/-215 靶定 *BIVM*。细胞增殖实验发现 *BIVM* 可促进胃癌细胞增殖 ($P<0.05$), 流式细胞凋亡实验显示 *BIVM* 能抑制胃癌细胞凋亡 ($P<0.05$), 小鼠成瘤实验证实 *BIVM* 可促进胃癌细胞体内生长 ($P<0.05$)。【结论】*BIVM* 在胃癌中发挥致癌基因的作用, miR-192/-215 调控 *BIVM* 表达从而促进胃癌的发展进程。

关键词: 胃癌; miR-192/-215; *BIVM*

中图分类号: R735.2

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2018)03-0349-07

MiR-192/-215 Regulates the Biological Functions of Gastric Cancer Cells by Targeting *BIVM*

LIN Hui-juan¹, ZHANG Jiang-yu¹, YANG Meng-ting², CHEN Wen-jing¹, LI Hui-bin¹, WANG Jian¹, ZHANG Xiao-jing²

(1. Department of Pathology, Guangdong Women and Children Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510000, China; 2. Department of Pathology, School of Medicine, Health Science Center, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China)

Corresponding to: ZHANG Jiang-yu, E-mail: superchina2000@foxmail.com

Abstract: 【Objective】 To investigate the molecular mechanism of miR-192/-215 targeting *BIVM* in human gastric cancer. 【Methods】 First, *BIVM* was the target gene of miR-192/-215 screened by the target gene prediction in silico and gene microarrays. Real-time quantitative PCR verified the results of the microarrays. Then the double-luciferase reporter plasmids were constructed to test that *BIVM* was the target gene of miR-192/-215. Subsequently, *BIVM*-siRNA was transfected, to know the effects of *BIVM*-siRNA on proliferation and apoptosis of gastric cancer cells. 8 nude mice were randomly divided into two groups: *BIVM*-siRNA experimental group and NSC-siRNA control group. Gastric cancer cells transfected with *BIVM*-SiRNA were implanted under the skin of nude mice to observe the effect of *BIVM* on the tumorigenicity of gastric cancer cells. 【Results】 *BIVM* was screened as miR-192/-215 target gene by gene microarrays and quantitative PCR. Double-luciferase reporting assays were performed to identify the *BIVM* as miR-192/-215 target gene. The cell proliferation assays showed that *BIVM* promoted the proliferation of gastric cancer cells ($P<0.05$). Test of flow cytome-

收稿日期: 2018-02-26

基金项目: 广东省自然科学基金(2017A030313479)

作者简介: 林慧娟, 在读研究生, 研究方向: 肿瘤病理, E-mail: linhuijuan21@163.com; 张江宇, 通信作者, 博士, 教授, 主任医师, 研究方向: 肿瘤病理, E-mail: superchina2000@foxmail.com

try showed that *BIVM* inhibited the apoptosis of gastric cancer cells ($P<0.05$). Mouse tumorigenesis test confirmed that *BIVM* could promote gastric cancer cells growth in vivo ($P<0.05$). 【Conclusion】 *BIVM* plays a role in the carcinogenesis of gastric cancer, and miR-192/-215 targeting *BIVM* promotes the development of gastric cancer.

Key words: gastric cancer; miR-192/-215; *BIVM*

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2018, 39(3): 349-355]

WHO全球报告统计,胃癌的发病率排恶性肿瘤第五,病死率居第三,每年造成72万多人死亡,其中一半的病例发生在亚洲东部国家^[1]。在我国胃癌的发病率和死亡率均高居第二,仅次于支气管肺癌^[2],给患者家庭、社会带来沉重的经济负担。胃癌的发生与HP感染、饮食、吸烟等等密切相关。然而,其发病机制尚未完全明确,进一步探索胃癌的发生、发展过程,寻找与疾病的早期发现、诊断、治疗、预后判断相关的分子标志物,将对人类产生重要意义。微小RNA (microRNAs, miRs)最早发现于秀丽小杆线虫^[3],是一类大小为17~25个碱基的内源性非编码小RNA。miRs通过与靶基因mRNA 3'UTR区完全或不完全互补结合后,降解mRNA或者抑制蛋白质翻译从而负向调控蛋白质表达^[4-5]。miRs参与细胞生命的诸多过程,包括细胞增殖、分化、凋亡等等,越来越多的证据表明miRs调节肿瘤细胞多种重要的生物学行为,与肿瘤的发生、进展和预后密切相关,是肿瘤基因诊断与治疗的潜在分子。大量文献报道发现miRs在人类癌症中存在差异性表达,提示miRs可能发挥致癌或抑癌作用。miR-192和miR-215为同源RNA,含有高度同源序列^[6]。研究发现,miR-192/-215在胃癌组织中表达明显上调,促进肿瘤细胞增殖和迁移^[7-9]。但是,其具体的作用机制和途径尚不清楚。碱性免疫球蛋白样可变区域(basic, immunoglobulin-like variable motif containing, *BIVM*)定位于人类第13号染色体的q32-q33区域,编码由503个氨基酸组成的碱性蛋白质^[10]。*BIVM*广泛分布于人体正常组织,其5'UTR末端含一个CpG岛,因此被认为是“管家基因”^[10],但是有关*BIVM*的表达、功能知之甚少,其与胃癌的关系也不甚明确。在本文中,我们提出假设,miR-192/-215通过调控靶基因*BIVM*促进胃癌细胞生长。

1 材料与方 法

1.1 细胞培养与主要试剂

人正常胃黏膜上皮细胞HFE145,人胃癌细胞BGC-823、SGC-7901均为本实验室自存。胃细胞株用含10%血清(Gibco,美国)的DMEM高糖(Hyclone,美国)培养基置于37℃,5%CO₂恒温箱中培养。所有培养基均加入100 U/mL青霉素和100 mg/mL链霉素(Invitrogen,美国)。miR-192/-215拟似物(miR-192/-215 mimics, miR-192/-215 mim)、miR-192/-215抑制剂(miR-192/-215 inhibitors, miR-192/-215 inh)及其相应的非特异性对照均购自美国Dharmacon公司;Lipofectamine RNAiMAX、*BIVM*-siRNA、NSC-siRNA购自美国Invitrogen公司;蛋白裂解液2×Laemmli sample buffer购自美国BIO-RAD公司;*BIVM*和GAPDH抗体购自美国Cell Signaling Technology公司;逆转录、实时荧光定量PCR试剂盒、*NotI*酶、*XhoI*酶、*E.coli* JM109感受态细胞均购自日本TaKaRa公司;psiCHECK-2质粒为本实验室前期自存;CCK-8试剂盒购自日本Dojindo公司。

1.2 Western Blotting

细胞转染前一天,按照30%密度将细胞均匀接种至6 cm皿并于恒温箱中培养24 h。按60 nmol/L的浓度将miR-192/-215 mim、NSC-mim转染至HFE145细胞,miR-192/-215 inh、NSC-inh转染至BGC-823细胞。48 h后收集细胞,置于冰上以2×Laemmli sample buffer裂解细胞10~20 min,离心后取上清,荧光酶标仪(TECAN)测定总蛋白质浓度。取30 μg蛋白质样品加入10%聚丙烯酰胺凝胶上样孔,110 V恒压电泳,随后将蛋白质转至PVDF膜。封闭后一抗*BIVM*(1:1 000)和GAPDH(1:3 000)4℃摇床孵育过夜。TBST洗膜后二抗(1:3 000)室温孵育1 h,发光工作液显色,凝胶成像仪读取图像。

1.3 qRT-PCR

按上述转染方法处理 HFE145、BGC-823 和 NCI-N87 细胞 48 h 后, TRIzol 提取总 RNA 并测量其浓度和纯度, 按照试剂盒说明书进行逆转录反应。以 cDNA 为模板, 采用 SYBR Green II 荧光染料法检测 *BIVM* mRNA 相对表达量, GAPDH 作为内参。*BIVM* 正向引物: 5'-GATTGAAAGATGAATCGCTG-GCTTA-3'; *BIVM* 反向引物: 5'-TCCCCTGCTGAAT-GCTTTATTAGC-3'; GAPDH 正向引物: 5'-GACTCA-TGACCACAGTCCATGC-3'; GAPDH 反向引物: 5'-AGAGGCAGGGATGATGTTCTG-3', 重复 3 次实验。

1.4 质粒构建

从正常胃黏膜上皮细胞 HFE145 中提取基因组 DNA, 以正向引物: 5'-ccgctcgagCATTAATAG-GAGCAGATCTTGTGG-3' 及反向引物: 5'-aaggaaa-aaagcggccgcATCTCCAGGATCAGTTTCTTGAGTC-3' 进行 PCR 反应扩增大小为 526 bp 的野生型 *BIVM*-3'UTR, 产物电泳、切胶回收。NotI、XhoI 同时 37 °C 过夜双酶切 *BIVM*-3'UTR 产物和 psiCHECK-2 双荧光素酶报告质粒, T4 连接酶 16 °C 过夜连接 *BIVM*-3'UTR 及 psiCHECK-2。连接产物转化感受态大肠杆菌, 摇菌、提质粒及基因测序, 得到野生型 *BIVM*-3'UTR 质粒 (psi-*BIVM*-wt)。随后以突变型 *BIVM*-3'UTR 正向引物: 5'-AATTGGGGCCTT-CGATTTCTAGTTTTCACTCACGGTTAACAC-3', 反向引物: 5'-TTTAAATGCGTGTTAACCGTGAGT-GAAAAGTAGAAATCGAAG-3' 按上述方法构建突变型 *BIVM*-3'UTR 质粒 (psi-*BIVM*-mut)。

1.5 细胞增殖实验

实验前一天将 BGC-823 和 SGC-7901 胃癌细胞按照 30% 密度均匀接种于 6 孔细胞培养板, 并设置 5 个复孔, 共 3 板。细胞过夜贴壁后取其中 1 板, 更换 100 μ L 新鲜培养基后向每个实验孔加入 11 μ L CCK-8 试剂, 置于 37 °C 培养箱中孵育合适时间后取出, 使恢复常温后酶标仪测定读数作为空白组。另外 2 板按上述方法转染 60 nmol/L *BIVM*-siRNA (实验组) 和 NSC-siRNA (对照组) 后, 37 °C 分别培养 48 h、72 h 后更换 100 μ L 新鲜培养基, 加入 11 μ L CCK-8 试剂于酶标仪测定读数。实验重复 3 次, 计算细胞存活率 = [(实验组-空白组)/(对照组-空白组)] \times 100%, 作出生长曲线图。

1.6 细胞凋亡检测

依据前述方法将 *BIVM*-siRNA、NSC-siRNA 均

分别转染至 HFE145 和 BGC-823 细胞。48 h 后, ACCUTASE 消化贴壁细胞并离心, $1\times$ Annexin-binding buffer 重悬细胞至 1×10^6 个/mL。取 5 μ L Annexin V-FITC 染液及 1 μ L 100 μ g/mL PI 染液加入 100 μ L 细胞悬液, 混匀后室温静置 15 min。分别设置空白对照管、Annexin V-FITC 单染对照管、PI 单染对照管、双染阴性对照管, 准备好样品后流式细胞仪上机检测。实验重复 3 次。

1.7 小鼠体内成瘤实验

4~5 周龄健康雌性 BALB/c-nu 裸鼠 8 只购买自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物生产许可证编号为 SCXK(京 2012-0001), 本实验获得了深圳大学医学部实验动物伦理委员会批准。全部裸鼠饲养于深圳大学实验动物中心 SFP 级动物房, 随机分成 NSC-siRNA 组、*BIVM*-siRNA 组, 每组各 4 只。按照前述方法分别转染 60 nmol/L NSC-siRNA 和 *BIVM*-siRNA 至 SCG-7091 胃癌细胞, 48 h 后收集细胞, 预冷 PBS 稀释成 5×10^6 个/mL 单细胞悬液, 半小时内将细胞悬液注射至裸鼠右下背侧皮下, 细胞总数约为 1×10^6 个。每隔 3~4 d 测量瘤体大小, 按公式“长径 \times 短径 \times 短径/2”计算肿瘤体积, 连续观察 30 d。

1.8 统计学处理

采用 SPSS 16.0 和 GraphPad Prism 5 统计软件分析数据, 两组间均数比较先进行正态分布和方差齐性检验, 方差齐采用独立样本 *t* 检验, 方差不齐采用校正的 *t* 检验。动物实验采用析因设计资料的方差分析, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。qRT-PCR 结果以 $Folds=2^{-\Delta\Delta Ct}$ 比较目的基因表达水平, 其中 $\Delta\Delta Ct=(Ct_{(目的基因)}-Ct_{(内参)})_{实验组}-(Ct_{(目的基因)}-Ct_{(内参)})_{对照组}$ 。

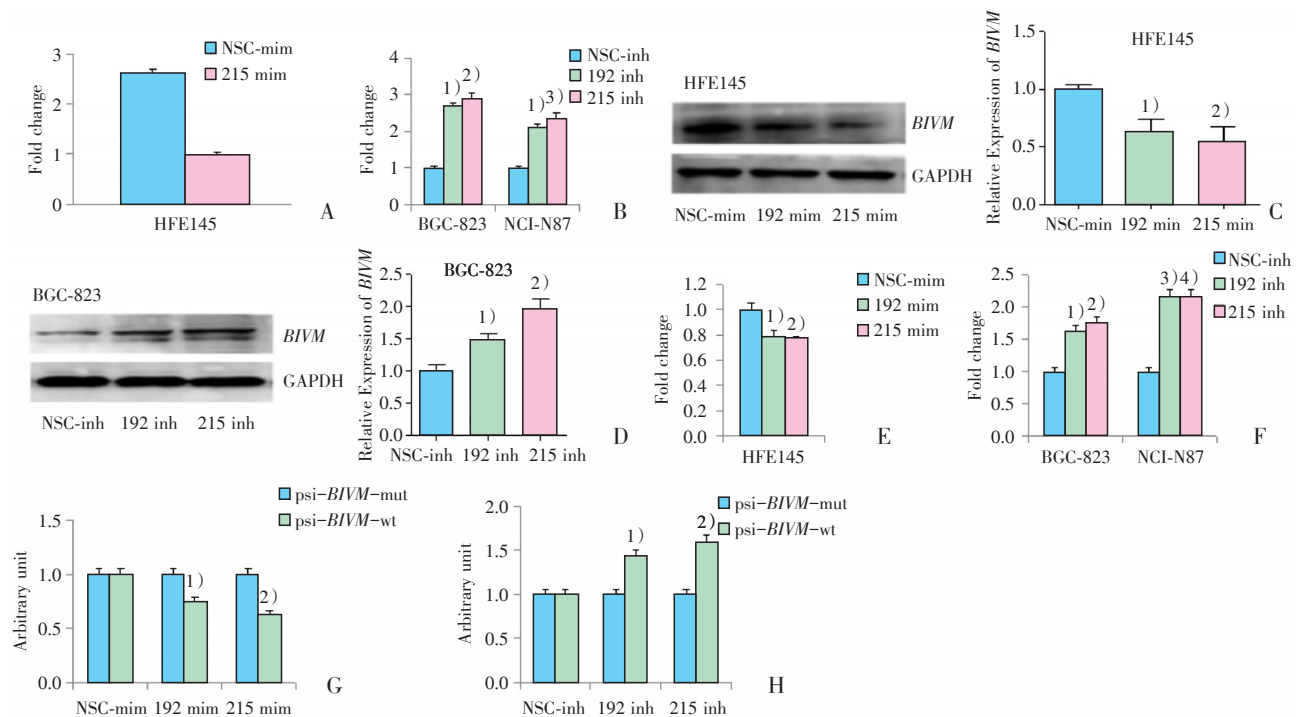
2 结果

2.1 *BIVM* 是 miR-192/-215 靶基因

本课题组首先在 miRBase (<http://microrna.sanger.ac.uk/cgi-bin/targets/v4/search.pl>), TargetScan (http://www.targetscan.org/vert_40/), PicTar (<http://pictar.bio.nyu.edu/>), microRNA.org (<http://www.microrna.org/microrna/home.do>) 等相关搜索引擎预测 miR-192/-215 靶基因。随后, 分别转染 miR-192/-215 mim 至 HFE145、转染 miR-192/-215 inh 至 BGC-823 和 NCI-N87 细胞中, 利用基因表达谱芯片测试比较胃细胞株中 *BIVM* mRNA 表达水平,

发现转染 miR-215 mim 后 *BIVM* mRNA 表达下调, 差异具有统计学意义 ($P=0.004$; 图 1A), 转染 miR-192 mim 后 *BIVM* mRNA 表达无明显变化(数据未显示), 而转染 miR-192/-215 inh 后 *BIVM* mRNA 表达水平均明显提高, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$ 图 1B), 由此初步筛选出 *BIVM* 为 miR-192/-215 的潜在靶基因。此外, 通过分别转染 miR-192/-215 mim 至 HFE145、转染 miR-192/-215 inh 至 BGC-823 和 NCI-N87 细胞中检测 *BIVM* 蛋白质与 mRNA 表达量, 我们发现与对照组相比, 转染 miR-192/-215 mim 后, *BIVM* 蛋白质及 mRNA 表达水平均明显下调, 而转染 miR-192/-215 inh 后, *BIVM* 蛋白质和 mRNA 表达均显著增加, 差异均具有统计学意义 ($P<0.05$; 图 1C-F)。这些结果说明 miR-192/-215 可调控 *BIVM* 蛋白质和 RNA 的表

达。随后, 我们构建了双荧光素酶报告质粒以进一步验证 *BIVM* 是 miR-192/-215 靶基因。结果显示, 在 HFE145 细胞中共转染 psi-*BIVM*-wt 和 miR-192/-215 mim 后, miR-192/-215 能抑制 *BIVM* 蛋白表达, 从而使荧光素酶活性均显著降低, 而共转染 psi-*BIVM*-mut 及 miR-192/-215 mim 后荧光素酶活性改变不明显, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$; 图 1G)。在 BGC-823 细胞中共转染 psi-*BIVM*-wt 和 miR-192/-215 inh 后, miR-192/-215 对 *BIVM* 的抑制作用减弱, 从而使荧光素酶活性均明显增高, 共转染 psi-*BIVM*-mut 及 miR-192/-215 inh 后荧光素酶活性则无明显改变, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$; 图 1H)。上述结果说明 miR-192/-215 可直接结合 *BIVM* 3' UTR 进而调控 *BIVM* mRNA 表达, 即 *BIVM* 是 miR-192/-215 的靶基因。



A: $t=-16.541$, $P=0.004$ vs. NSC-mim. B: BGC-823 cells: $t=9.735$, 1) $P=0.001$ vs. NSC-inh; $t=-22.620$, 2) $P<0.001$ vs. NSC-inh; NCI-N87 cells: $t=-9.673$, 1) $P=0.001$ vs. NSC-inh; $t=-7.542$, 3) $P=0.002$ vs. NSC-inh. C: $t=4.724$, 1) $P=0.042$ vs. NSC-mim; $t=5.081$, 2) $P=0.037$ vs. NSC-mim. D: $t=-62.321$, 1) $P<0.001$ vs. NSC-inh; $t=-8.788$, 2) $P=0.013$ vs. NSC-inh. E: $t=4.623$, 1) $P=0.01$ vs. NSC-mim; $t=8.20$, 2) $P=0.001$ vs. NSC-mim. F: BGC-823 cells: $t=-6.395$, 1) $P=0.024$ vs. NSC-inh; $t=-3.467$, 2) $P=0.026$ vs. NSC-inh; NCI-N87 cells: $t=-5.968$, 3) $P=0.004$ vs. NSC-inh; $t=-8.696$, 4) $P=0.001$ vs. NSC-inh. G: 192 mim, $t=2.864$, 1) $P=0.011$ vs. psi-*BIVM*-mut; 215 mim, $t=3.875$, 2) $P=0.001$ vs. psi-*BIVM*-mut. H: 192 inh, $t=-3.257$, 1) $P=0.005$ vs. psi-*BIVM*-mut; 215 inh, $t=-5.604$, 2) $P<0.001$ vs. psi-*BIVM*-mut. $n=3$

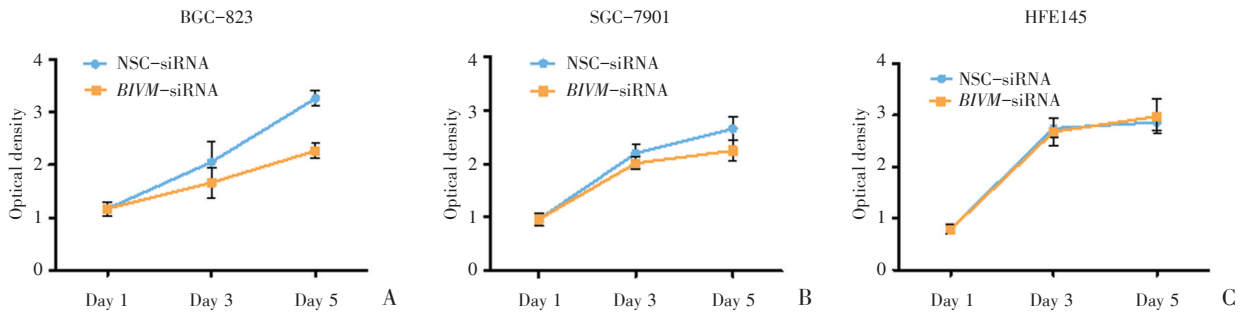
图 1 *BIVM* 是 miR-192/-215 靶基因

Fig.1 *BIVM* is the target gene of miR-192/-215

2.2 *BIVM*促进胃癌细胞增殖

*BIVM*在胃细胞中的生物学功能尚不清楚,本课题组通过在HFE145、BGC-823、SGC-7901细胞株中转染*BIVM*-siRNA干扰*BIVM*的正常表达,探究*BIVM*在胃细胞中扮演的角色。结果显示,与对照组NSC-siRNA相比,下调*BIVM*表达使BGC-

823 ($P=0.005$;图2A)和SGC-7901 ($P=0.036$;图2B)胃癌细胞增殖明显受抑。在正常胃黏膜上皮细胞HFE145中,下调*BIVM*表达对细胞增殖无显著影响($P>0.05$;图2C)。因此我们初步认为*BIVM*在胃癌中是一个促癌基因。



A: BGC-823 cells, $t=11.257$, $P=0.005$; B: SGC-7901, $t=3.362$, $P=0.036$; C: HFE145 cells, $t=-0.534$, $P>0.05$. $n=3$

图2 CCK-8试剂盒检测*BIVM*对胃细胞增殖能力的影响

Fig.2 Effect of *BIVM* on the proliferation of gastric cells by CCK-8 kit

2.3 *BIVM*抑制胃癌细胞凋亡

为了研究*BIVM*在细胞凋亡方面所起的作用,本课题组在BGC-823和HFE145细胞中分别转染60 nmol/L *BIVM*-siRNA和NSC-siRNA 48 h后利用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。我们发现转染*BIVM*-siRNA后,BGC-823细胞中早期凋亡和晚期凋亡的细胞数比对照组显著增多,差异具有统计学意义($P=0.001$;图3A),而在HFE145细胞中转染*BIVM*-siRNA与NSC-siRNA后,细胞凋亡数无明显差异($P>0.05$;图3B)。这些结果提示*BIVM*可通过抑制胃癌细胞凋亡,进而发挥致癌的作用。

2.4 *BIVM*促进体内成瘤

既然体外实验显示*BIVM*可促进胃癌的发生、发展,那其在体内是否也产生同样的作用呢?本课题组将*BIVM*-siRNA和NSC-siRNA分别转染至SCG-7091细胞,收集细胞并移植于裸鼠皮下,记录小鼠肿瘤体积(表1)。析因设计资料的方差分析结果显示:NSC-siRNA和*BIVM*-siRNA两组间肿瘤体积有显著性差异($F=44.905$, $P<0.001$),生长时间水平有显著性差异($F=23.045$, $P<0.001$),时间与分组之间交互效应显著($F=8.203$, $P<0.001$)。两两比较后发现,*BIVM*-siRNA组裸鼠肿瘤的生长速度较NSC-siRNA组偏慢,且体积明显减小,差异具

有统计学意义($P<0.05$;图4)。结果说明*BIVM*-siRNA能抑制胃癌细胞在裸鼠体内的皮下成瘤能力,进一步证明*BIVM*促胃癌形成的作用。

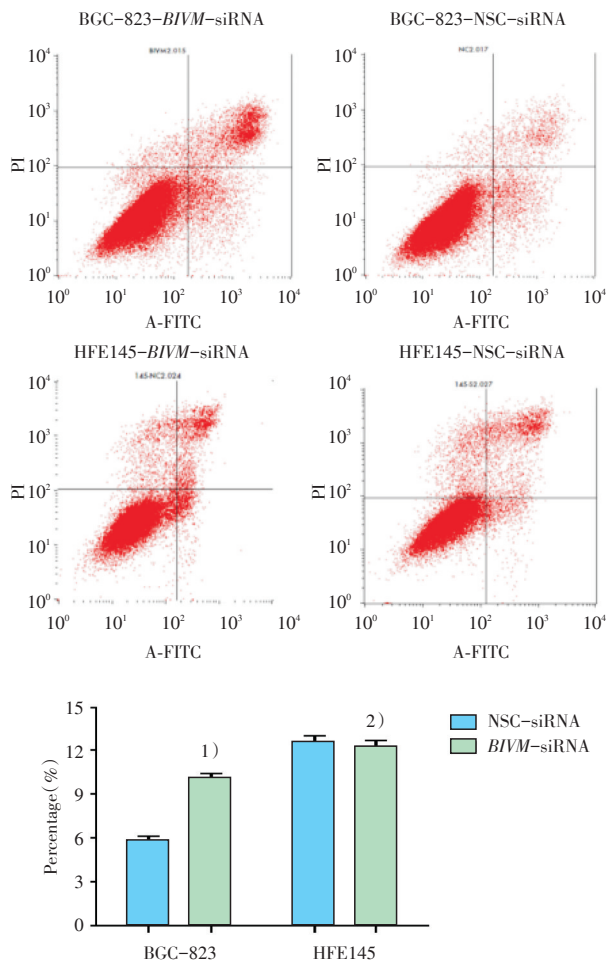
表1 不同处理组比较裸鼠肿瘤体积的差异

Table 1 Comparison of tumor volume between different treatment groups in nude mice ($\bar{x} \pm s$)

Day	NSC-siRNA	<i>BIVM</i> -siRNA	<i>P</i> value
1	0	0	/
7	7.834±3.756	0.8445±0.07	<0.0001
11	26.71±13.00	3.515±1.04	0.0017
15	57.96±21.26	10.95±3.89	0.0196
19	163.7±79.57	25.73±7.56	0.0029
23	296.1±128.42	74.06±24.62	0.0225
28	615.3±345.30	140.3±49.31	0.0095
32	911.4±324.41	231.5±87.39	0.041

3 讨论

miRs是肿瘤发病机制研究中的一大发现,深入研究miRs的生物学功能使我们更全面了解肿瘤发生发展,为寻找新的生物标志物和治疗靶点提供基础。一个miRs家族可以靶定多个基因,同一个mRNA也可以被一个或多个miRs靶向结合^[11]。

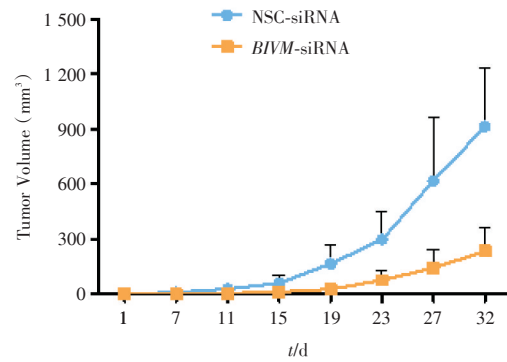
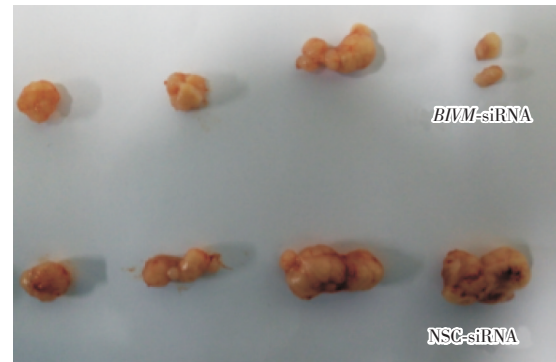


BGC-823 cells, $t=-7.814$, 1) $P=0.001$ vs. NSC-siRNA; HFE145 cells, $t=0.543$, 2) $P>0.05$ vs. NSC-siRNA. $n=3$

图3 流式细胞仪检测 *BIVM* 对细胞凋亡的影响

Fig.3 The effects of *BIVM* on the apoptosis of cells by flow cytometry

miR-192 和 miR-215 同属于 miR-192 家族,其基因序列仅相差 2 个碱基^[6]。miRs 的表达具有组织特异性,在不同组织中可以扮演致癌 miRs 或者抑癌 miRs 的角色。研究报道 miR-192/-215 在食管鳞状细胞癌^[12]、神经胶质瘤^[13]、肝癌^[14]、胰腺导管腺癌^[15]中异常升高,具有促癌作用;在结肠癌^[16]、肾细胞癌^[17]、膀胱癌^[18]、多发性骨髓瘤^[19]中则表达下调,抑制肿瘤进程。在胃癌研究方面,多个课题组^[7,9,20]报道 miR-192/-215 在胃癌组织中高表达,可促进胃癌生长。本课题组首先通过靶基因预测引擎及芯片技术初步筛选出 *BIVM* 为 miR-192/-215 潜在靶基因。在上调 miR-192/-215 表达后可发现 *BIVM* 蛋白质及 mRNA 表达均受到抑制,相反,下调 miR-192/-215 使 *BIVM* 蛋白质和 mRNA



BIVM-siRNA vs. NSC-siRNA, $n=4$, $t=3.265$, $P<0.05$

图4 动物实验观察 *BIVM* 对胃癌细胞体内成瘤能力的影响

Fig.4 Effect of *BIVM* on the tumorigenicity of gastric cancer cells in vivo

表达显著增加,这些结果强烈提示 miR-192/-215 可调控 *BIVM* 的表达。最后,双荧光素酶报告系统证实 *BIVM* 为 miR-192/-215 调控靶点。目前对 *BIVM* 的研究甚少,Yoder 等^[10]在 2002 年报道 *BIVM* 为“管家基因”,其蛋白定位于细胞核和细胞浆,提示它可能通过与其他蛋白质或 DNA 相互作用而调控细胞生物过程。由此我们推测 miR-192/-215 通过靶基因 *BIVM* 调控胃细胞生物学功能。在细胞增殖实验中我们发现,下调 *BIVM* 表达可抑制胃癌细胞生长,而对正常胃黏膜上皮细胞无明显作用,这可能是由于 *BIVM* 在胃癌细胞与正常细胞中的表达量不一致导致的。同样,细胞凋亡实验也显示抑制 *BIVM* 表达可使胃癌细胞凋亡明显增加而不影响正常胃黏膜上皮细胞。另外,我们还检测了 *BIVM* 对细胞周期的作用,结果表明 *BIVM* 并不影响细胞周期(数据未显示)。综合上述体外细胞实验,我们认为 *BIVM* 在胃癌中发挥了促癌基因的作用。最后通过构建小鼠成瘤模型,从体内实验进一步验证了我们的猜想,即 miR-192/-215 通

过调控靶基因 *BIVM* 促进胃癌的发生发展。

尽管现代医疗水平不断提高,但胃癌对人类健康造成的危害较大,胃癌的治疗及预后并不乐观,探索胃癌早期发现、有效治疗、判断预后的方

法是我们不断前进的目标。本课题组通过一系列实验提出一个新的胃癌发病机制,即 miR-192/-215 通过调控靶基因 *BIVM* 促进胃癌发生、进展,将为寻找胃癌分子标志物提高新的思路与方向。

参考文献

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in Globocan 2012 [J]. *Int J cancer*, 2015, 136(5): e359-386.
- [2] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA*, 2016, 66(2): 115-132.
- [3] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14* [J]. *Cell*, 1993, 75(5): 843-854.
- [4] Bartel DP. MicroRNAs: Target recognition and regulatory functions [J]. *Cell*, 2009, 136(2): 215-233.
- [5] Garzon R, Calin GA, Croce CM. MicroRNAs in cancer [J]. *Annu Rev Med*, 2009, 60(1): 167-179.
- [6] Sun Y, Koo S, White N, et al. Development of a micro-array to detect human and mouse microRNAs and characterization of expression in human organs [J]. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32(22): 37-42.
- [7] Chen Q, Ge X, Zhang Y, et al. Plasma miR-122 and miR-192 as potential novel biomarkers for the early detection of distant metastasis of gastric cancer [J]. *Oncol Rep*, 2014, 31(4): 1863-1870.
- [8] Jin Z, Selaru FM, Cheng Y, et al. MicroRNA-192 and -215 are upregulated in human gastric cancer in vivo and suppress ALCAM expression in vitro [J]. *Oncogene*, 2011, 30(13): 1577-1585.
- [9] Xu YJ, Fan Y. MiR-215/192 participates in gastric cancer progression [J]. *Clin Transl Oncol*, 2015, 17(1): 34-40.
- [10] Yoder JA, Hawke NA, Eason DD, et al. *BIVM*, a novel gene widely distributed among deuterostomes, shares a core sequence with an unusual gene in *Giardia lamblia* [J]. *Genomics*, 2002, 79(6): 750-755.
- [11] Garzon R, Marcucci G, Croce CM. Targeting microRNAs in cancer rationale, strategies and challenges [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9(10): 775-789.
- [12] Li S, Li F, Niu R, et al. Mir-192 suppresses apoptosis and promotes proliferation in esophageal squamous cell carcinoma by targeting Bim [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(7): 8048-8056.
- [13] Tong YQ, Tan BH, Liu B, et al. MiR-215, an activator of the CTNNBIP1- β -catenin pathway, is a marker of poor prognosis in human glioma [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(28): 25024-25033.
- [14] Gui J, Tian Y, Wen X, et al. Serum microRNA characterization identifies miR-885-5p as a potential marker for detecting liver pathologies [J]. *Clin Sci*, 2011, 120(5): 183-193.
- [15] Zhao C, Zhang J, Zhang S, et al. Diagnostic and biological significance of microRNA-192 in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2013, 30(1): 276-284.
- [16] Braun CJ, Zhang X, Savelyeva I, et al. p53-Responsive microRNAs 192 and 215 are capable of inducing cell cycle arrest [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(24): 10094-10104.
- [17] Khella HW, Bakhet M, Allo G, et al. miR-192, miR-194 and miR-215: A convergent microRNA network suppressing tumor progression in renal cell carcinoma [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(10): 2231-2239.
- [18] Jin Y, Lu J, Wen J, et al. Regulation of growth of human bladder cancer by miR-192 [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(5): 3791-3797.
- [19] Pichiorri F, Suh SS, Rocci A, et al. Downregulation of p53-inducible microRNAs 192, 194, and 215 impairs the p53/MDM2 autoregulatory loop in multiple myeloma development [J]. *Cancer Cell*, 2010, 18(4): 367-381.
- [20] Deng Y, Huang Z, Xu Y, et al. MiR-215 modulates gastric cancer cell proliferation by targeting RB1 [J]. *Cancer Letters*, 2014, 342(1): 27-35.

(编辑 孙慧兰)