

TIAM1 基因与大肠癌上皮间质转化的相关性及其相关 miRNA 的生物信息学分析

付 静¹, 齐 鲁², 丁彦青³

(1. 北京市海淀区医院病理科, 北京 100080; 2. 南方医科大学基础医学院病理学系, 广州 510515;
3. 南方医科大学南方医院病理科, 广州 510515)

【摘要】目的:对 TIAM1 基因进行生物信息学分析, 探讨 TIAM1 基因在大肠癌细胞中的生物学功能及其在细胞信号网络中的作用。**方法:**通过 miRNA 预测工具预测与 TIAM1 相互作用的 miRNA, 通过 TIAM1 基因敲除的大肠癌细胞株 SW480 表达谱数据分析与 TIAM1 基因缺失相关的 miRNA。综合 2 种分析, 挑选出最可能与 TIAM1 相关的 miRNA。预测此 miRNA 的靶基因, 并对靶基因进行通路富集, 富集结果与 TIAM1 相互作用蛋白通路富集结果进行比较。将 TIAM1 缺失的 SW480 表达谱数据比野生型 SW480 表达谱数据中对数比大于 1 的基因集进行通路富集。对 TIAM1 相互作用蛋白网络中的蛋白进行通路富集。对 TIAM1 间接作用于上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)标志物 E-cadherin 和 Vimentin 的中间传递蛋白进行通路富集。**结果:**直接预测与间接预测均表明 miRNA hsa-mir-340 最可能与 TIAM1 相互作用, 通过通路富集结果的比较也发现 hsa-mir-340 功能上与 TIAM1 协同。对 TIAM1 缺失的 SW480 表达谱数据分析发现, TIAM1 缺失后 P53 信号通路、DNA 损伤的应答反应、Toll 样受体信号通路等表达上调, 表明 TIAM1 缺失可能与抑瘤作用增强相关。对 TIAM1 相互作用蛋白的通路富集可以发现 TIAM1 相互作用蛋白参与了细胞黏附、细胞骨架重构、细胞增殖与生长等信号通路, 与肿瘤的发生发展密切相关。对 TIAM1 与 EMT 标志物 E-cadherin 和 Vimentin 的中间传递蛋白分析发现其主要由转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)受体、雄激素受体、核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)等信号通路的成员构成。说明这些信号通路可能与 TIAM1 促进大肠癌 EMT 的发生相关。**结论:**预测 hsa-mir-340 能够调控 TIAM1 的表达, TIAM1 的缺失可能导致抑瘤作用增强, TIAM1 相互作用蛋白与肿瘤的转移密切相关。TIAM1 可能通过 TGF- β 受体、雄激素受体、NF- κ B、MAPK 等信号通路影响 EMT 标志物 E-cadherin 和 Vimentin 的功能, 进而促进大肠癌 EMT 的发生和转移。

【关键词】TIAM1; 大肠癌; 转移; 生物信息学

【中国图书分类法分类号】R735.3⁴

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-10-11

Relationship between TIAM1 gene and epithelial-mesenchymal transition of colorectal cancer and bioinformatics analysis of TIAM1 gene related-miRNA

FU Jing¹, QI Lu², DING Yanqing³

(1. Department Pathology, Beijing Haidian Hospital; 2. Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences; 3. Department of Pathology, Southern Hospital, Southern Medical University)

【Abstract】Objective: To explore the biological function of TIAM1 gene in colorectal cancer cells and its role in cell signaling network by doing bioinformatics analysis. **Methods:** Firstly, we forecasted the miRNA which interacted with TIAM1 by miRNA predicting tools; then analyzed the miRNA which related with the deletion of TIAM1 by expression profiles of colorectal cancer cell lines SW480 with deleted TIAM1; then selected the miRNA most possibly related with TIAM1 by synthesizing the intersection of the above two analyses. We clarified the signaling pathway participated by these target genes by predicting the target genes of hsa-mir-340 and doing pathway enrichment analysis. We made comparison between enrichment analysis results of target genes and results of proteins related with TIAM1. We clarified the signaling pathway situation which related with the deletion of TIAM1 by selecting the genes in sw480 cell lines with deleted TIAM1, whose expression profile logarithmic ratio was greater than 1 compared with that of wild type sw480 cell lines, and by analyzing the pathway enrichment of these genes. We analyzed the pathway enrichment for the protein in the protein-protein interaction network of TIAM1. We then analyzed the pathway enrichment for the protein which interacted with TIAM1 directly and indirectly to epithelial mesenchymal transition(EMT) markers named E-cadherin and Vimentin. **Results:** Direct and indi-

作者简介:付 静, Email: yxlxfw@126.com,

研究方向: 胃肠道肿瘤病理。

通信作者:丁彦青, Email: dyq@fimmu.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:30370649)。

rect forecast demosterted that microRNA hsa-mir-340 can interact with TIAM1 and coordinate with TIAM1 on the function. Based on the analysis of SW480 with deleted TIAM1, expressions of P53 signal pathway, DNA damage response, and

Toll-like receptor signal pathway were up-regulated, indicating deleted TIAM1 may correlated with tumor inhibitory. According to the pathway analysis results, TIAM1 gene participated in a lot of signaling pathways such as the cell adhesion, cytoskeleton remodeling, cell proliferation and growth, etc and was possibly related with cancer development. TIAM1 and EMT markers E-cadherin and Vimentin regulatory network proteins were the signaling pathway members of transforming growth factor- β (TGF- β) receptor, androgen receptor, nuclear factor- κ B (NF- κ B), mitogen-activated protein kinase (MAPK), etc. These signaling pathways were possibly related with the occurrence of the EMT of colorectal cancer. **Conclusions:** Predicting hsa-mir-340 can regulate the expressions of TIAM1. TIAM1 deletion may correlate with tumor inhibitory and signaling pathway related with TIAM1 has close relationship with cancer metastasis. TIAM1 can influence the function of EMT markers E-cadherin and Vimentin and promote the colorectal cancer occurrence and metastasis by affecting EMT signaling pathways such as TGF- β receptor, androgen receptor, NF- κ B, MAPK.

【Key words】TIAM1; colorectal cancer; metastasis; bioinformatics

TIAM1 基因与多种肿瘤转移密切相关, 已有研究表明 TIAM1 基因的高表达与肿瘤细胞侵袭、运动、迁移、细胞骨架重构及伪足形成相关^[1]。大肠癌是大肠黏膜上皮起源的恶性肿瘤, 是最常见的消化道恶性肿瘤之一。其恶性程度较高, 易经血道、淋巴道转移。转移是大肠癌患者的主要死因。因此明确大肠癌转移的分子机制, 能够更清晰地认识大肠癌转移的方式, 更好地去寻找抑制肿瘤转移的方法。因此研究转移相关基因 TIAM1 在大肠癌转移中的表达调控, 对阐明大肠癌转移机制有着重要作用。

上皮间质转化 (epithelial mesenchymal transition, EMT) 是肿瘤转移中重要的表型变化, 上皮来源的肿瘤通过 EMT 可获得间叶性肿瘤的表型。EMT 可使肿瘤细胞骨架重构, 极性消失, 黏附能力减弱, 侵袭能力增强。研究表明, TIAM1 能通过 EMT 促进大肠癌的转移^[2-3], 其表达会影响 EMT 标志物功能变化^[4-5], EMT 的关键标志物中 E-cadherin 为上皮性的标志物^[6], Vimentin 为间叶性的标志物^[7]。TIAM1 很可能通过影响这 2 种标志物的表达变化促进大肠癌的上皮间质转化, 但 TIAM1 并不是通过直接作用的方式影响 EMT 的标志物发挥作用, 而是通过多个蛋白相互作用传递而间接地影响 EMT 标志物的功能。因此, 研究这些相互作用传递过程中的中间相互作用蛋白所参与的信号通路和功能, 就能阐明 TIAM1 通过哪种通路传递而影响 EMT 标志物的功能。因此通过分析 TIAM1 与 EMT 的分子标志物 E-cadherin 和 Vimentin 之间的关系就能明确 TIAM1 对大肠癌 EMT 的影响。

1 材料和方法

首先通过 DIANA-microT v3.0 工具、miRanda 工具、miRd 工具预测与 TIAM1 相互作用的共同 miRNA。其次, 对敲除 TIAM1 基因的人大肠癌细胞株 SW480 与野生型 SW480 细胞

株进行表达谱芯片分析, 芯片公司为上海晶泰生物技术有限公司。其中敲除 TIAM1 基因的人大肠癌细胞株 SW480 表达谱数据标记为 SW480NULL, 野生型 SW480 细胞株表达谱数据标记为 SW480CONTROL。将 SW480NULL 数据比 SW480CONTROL 的数据中已标记的表达上调与下调的基因作为差异表达基因, 将对数化后比值为 0 的数据作为稳定表达基因。将上述差异表达基因与稳定表达基因通过 DIANA-microT v3.0 工具对差异表达基因的 3'UTR 区域的核酸六聚体的频率进行统计分析。通过多种工具的直接预测以及 TIAM1 缺失相关差异表达基因集的间接预测, 得到与 TIAM1 最相关的 miRNA 为 hsa-miR-340。

将 SW480NULL 数据比 SW480CONTROL 的数据中对数比大于 1 的基因进行通路富集分析, 明确与 TIAM1 缺失相关的信号通路情况。其次通过 VISANT 工具分析 TIAM1 的相互作用蛋白, 并对每个相互作用蛋白进一步展开, 得到 TIAM1 的间接相互作用蛋白, 提取出这些直接或者间接相互作用蛋白数据进行通路富集分析, 明确 TIAM1 所参与的信号调控网络所在的通路情况。通过 DIANA-microT v3.0 工具预测 hsa-miR-340 的靶基因, 对靶基因进行通路富集分析, 明确 hsa-miR-340 调控的靶基因所参与的信号通路情况。通路富集分析工具为 Gene Set Analysis Toolkit V2。

通过 VISANT 工具分析 TIAM1 与 EMT 标志物 E-cadherin 和 Vimentin 之间的蛋白相互作用网络, 然后将每个相互作用蛋白进一步展开, 得到更多相互作用网络, 再计算 TIAM1 间接地连接到 E-cadherin 和 Vimentin 之间的多个中间蛋白节点, 将这些中间蛋白提取出来进行通路富集。明确 TIAM1 影响这 2 种重要 EMT 标志物过程中所涉及的信号通路。

2 结果

2.1 与 TIAM1 相互作用的 miRNA 预测结果

利用 DIANA-microT v3.0^[8] 工具对 TIAM1 基因相互作用 miRNA 进行预测, 总共找到了 29 个 miRNA, 其中得分最高的 miRNA 为 hsa-miR-340。通过 miRGen^[9] 和 miRd^[10] 的预测结果均含有 hsa-miR-340, 说明此 microRNA 为 3 种工具共同预测的靶向 TIAM1 的 microRNA。

对 TIAM1 缺失的大肠癌细胞株表达谱数据中差异表达

基因集的 3'UTR 区域的核酸六聚体的频率进行统计分析, 结果发现核酸六聚体频率较高的几个六聚体分别为: TTATAT、TGTTTA、TGTTTA、ATGTTT、ATTTTT、ATGTTT、TATATT、TTT GTA、TTTATA、TGTTTA、TTTGTA、TTATAT、TATGTT、TGTTTA、TGTTTA。对应于 miRNA 可以发现 hsa-miR-340 所含有相应六聚体的频率很高(表 1), 进一步说明了 TIAM1 为 hsa-miR-340 的靶基因。

2.2 与 TIAM1 相关基因的通路富集分析结果

通过 DIANA-microT v3.0 工具预测 hsa-miR-340 的靶基因。总共可以找到有 3 296 个核酸六聚体作用位点分别位于 1 313 个靶基因中。对这 1 313 个靶基因通过 Gene Set Analysis Toolkit V2 工具综合 KEGG Pathway 和 Wikipathways 数据库进行通路富集分析, 得到的相关性较高的信号通路分别为: focal adhesion、TGF- β receptor signaling pathway、EGFR1 signaling pathway、T cell receptor signaling pathway、integrin-mediated cell adhesion、B cell receptor signaling pathway、wnt signaling pathway、regulation of actin cytoskeleton、MAPK signaling pathway。见表 2。

VISANT 软件可以分析蛋白间的相互作用, 并且这种相互作用均为生物学实验所证实^[1], 通过 VISANT 软件分析 TIAM1 的相互作用蛋白, 并将每个相互作用蛋白展开, 得到与 TIAM1 直接和间接相互作用蛋白总共 2 377 个, 对这些蛋白进行通路富集分析, 可以明确 TIAM1 所参与的细胞信号

通路情况, 用 Gene Set Analysis Toolkit V2 工具得到与 TIAM1 功能相关的信号通路分别为: EGFR1 signaling pathway、T cell receptor signaling pathway、B cell receptor signaling pathway、insulin signaling、MAPK signaling pathway、focal adhesion、TGF- β receptor signaling pathway、regulation of actin cyto-skeleton。见表 2。

通过比较上述 2 种通路富集的结果, 可以发现, hsa-mir-340 的靶基因所参与的信号通路与 TIAM1 相互作用蛋白所参与的信号通路很相似, 说明了 hsa-mir-340 在功能上与 TIAM1 相关。这些信号通路主要参与了细胞黏附、细胞骨架重构、细胞增殖与生长, 与肿瘤的发生发展密切相关。综上所述, 通过多种分析工具的直接预测, 通过 TIAM1 缺失的大肠癌细胞株表达谱数据中差异表达基因集的 3'UTR 区域的核酸六聚体的频率的计算, 以及通过预测出的 hsa-mir-340 的靶基因所参与的信号通路与 TIAM1 相互作用蛋白所参与的信号通路的相似程度, 预测 hsa-mir-340 在 TIAM1 基因对大肠癌转移的作用中可能起到关键作用。

将 SW480NULL 数据比 SW480CONTROL 的数据中对数比大于 1 共 891 个基因通过 Gene Set Analysis Toolkit V2 综合 KEGG pathway 和 Wikipathways 数据库进行通路富集分析。结果可以得出这些基因所参与的信号通路为: p53 signaling pathway、DNA damage response、Toll-like receptor signaling pathway、insulin signaling、EGFR1 signaling pathway、

表 1 差异表达基因中核酸六聚体的富集情况

Tab.1 Enrichment of nucleic acid hexamer in genes with different expressions

miRNA	得分	核酸六聚体 1	核酸六聚体 2	核酸六聚体 3
hsa-miR-410	69.984	TATATT	TTATAT	GTTATA
hsa-miR-340	63.756	TTATAA	TTTATA	CTTTAT
hsa-miR-548c-3p	60.312	TTTTTG	ATTTTT	GATTTT
hsa-miR-543	57.304	ATGTTT	AATGTT	GAATGT
hsa-miR-524-5p	53.838	TTGTAG	TTTGTA	CTTTGT
hsa-miR-520d-5p	53.838	TTGTAG	TTTGTA	CTTTGT
hsa-miR-548d-3p	52.612	TTTTTG	GTTTTT	GCTTTT
hsa-miR-656	51.644	AATATT	TAATAT	ATAATA
hsa-miR-381	49.332	TGTATA	TTGTAT	CTTGTA
hsa-miR-300	49.332	TGTATA	TTGTAT	CTTGTA

表 2 hsa-mir-340 靶基因与 TIAM1 相互作用蛋白的通路富集情况

Tab.2 Pathway enrichment of target genes of hsa-mir-340 and interacting proteins of TIAM1

hsa-mir-340 靶基因通路富集情况	TIAM1 相互作用蛋白通路富集情况
Focal adhesion	Focal adhesion
TGF- β receptor signaling pathway	TGF- β receptor signaling pathway
EGFR1 signaling pathway	EGFR1 signaling pathway
T cell receptor signaling pathway	T cell receptor signaling pathway
B cell receptor signaling pathway	B cell receptor signaling pathway
Regulation of actin cytoskeleton	Regulation of actin cytoskeleton
MAPK signaling pathway	MAPK signaling pathway
Integrin-mediated cell adhesion	Insulin signaling
Wnt signaling pathway	

MAPK signaling pathway、wnt signaling pathway。可以看出部分主要信号通路为 P53 信号通路、DNA 损伤的应答反应、Toll 样受体信号通路。说明这些信号通路在 TIAM1 缺失后表达上调,表明 TIAM1 缺失可能与抑瘤作用增强相关。

2.3 TIAM1 与 EMT 标记物的网络调控关系

首先对 TIAM1 与 EMT 标志物 E-cadherin 和 Vimentin 基因编码区的上游 6 000 个碱基情况通过 BLAST 进行比对,可以发现 TIAM1 上游调控区与 E-cadherin 和 Vimentin 基因均有着不同程度的匹配(图 1),推测 TIAM1 与 E-cadherin 和 Vimentin 基因在表达调控上可能存在着某种联系。

通过 VISANT 工具分析 TIAM1 与 EMT 标志物 E-cadherin 和 Vimentin 之间的蛋白相互作用网络,分别将 TIAM1、E-cadherin、Vimentin 的直接相互作用蛋白展开,得到许多间接相互作用蛋白,然后计算 TIAM1 与 E-cadherin、Vimentin 之间的所有连接路径,将路径中的蛋白节点提取出来,可以找到连接 TIAM1 与 E-cadherin 和 Vimentin 之间的蛋白总共有 277 个,对这些蛋白通过 Gene Set Analysis Toolkit V2 工具中的 Wikipathways^[12]通路分析可以发现这些蛋白主要参与了转化生长因子-β(transforming growth factor-β,TGF-β)受体、雄激素受体、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)/核因子-κB(nuclear factor-κB,NF-κB)、丝裂原活

化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase,MAPK)等信号通路,这些信号通路与大肠癌 EMT 密切相关(表 3)。对位于路径中的 277 个蛋白通过博奥生物有限公司的 MAS3.0 系统进行基因本体论(gene ontology,GO)分析可以发现这些蛋白主要参与生物学调控相关的生物进程,大部分蛋白具有蛋白结合以及催化的功能,说明其主要参与信号通路的传递(图2)。因此进一步说明TIAM1 可能通过这样的网络参与的信号通路来影响大肠癌 EMT 的发生以及大肠癌的侵袭和转移。

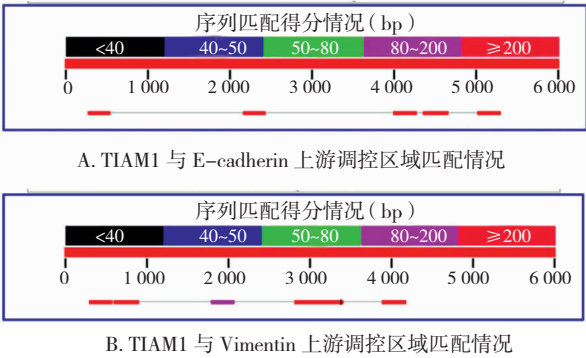


图 1 TIAM1 与 E-cadherin 及 Vimentin 上游调控区域匹配情况
Fig.1 Matches between TIAM1 and E-cadherin and Vimentin upstream regulatory regions

表 3 调控网络中蛋白的通路富集情况
Tab.3 Pathway enrichment of proteins in the network

信号通路	例数(n)	基因
TGF-β receptor signaling pathway	39	EP300 MAPK8 RUNX2 FOXO1 TP53 SMAD7 MEF2A CDKN1A CCND1 CREBBP TP73 JUN RB1 PRKCG
		DAB2 CTNNB1 MYC PRKCD CD44 UBE2D1 CAMK2G SP1 HSPA8 YAP1 ATF3 CAV1 SMAD3 SMAD2 RBL1 PRKCB COPS5 HDAC1 AR ARRB2 ESR1 SMAD4 PRKAR2A BTRC PARD3
Androgen receptor signaling pathway	34	PIAS4 EP300 CASP3 RUNX2 TP53 SRC HSPA1A CCND1 CREBBP JUN RB1 MDM2 CTNNB1 CASP8 STAT3
		RELA NRIP1 SP1 PXN AKT1 NR3C1 CAV1 BRCA1 ESR2 STUB1 PIAS3 SMAD3 AR HDAC1 SVIL RUNX1 YWHAH ESR1 SMAD4
TNF-α/NF-κB signaling pathway	37	CASP3 TRAF2 CSNK2A1 CHUK YWHAH HDAC6 PRKACA SRC SMARCB1 CREBBP IKBKB NFKB1
		HSP90AA1 BCL3 CASP8 GTF2I RELA SMARCE1 CSNK2A2 AKT1 TNFAIP3 GNB2L1 PTK2 CAV1 MARK2 YWHAG PIAS3 IKBKG TRAF1 NFKBIA PRKCZ HDAC1 GSK3B TRAF3 YWHAH HSPB1 BTRC
MAPK signaling pathway	34	MAPK8 CASP3 TRAF2 RAC1 TP53 MAPK8IP3 PRKACA HSPA1A JUN PRKCG MYC PRKCD IKBKB NFKB1
		PAK2 MAPK9 CASP8 AKT1 HSPA8 HSPA5 RASA1 FAS GRB2 IKBKG MAP4K1 PRKCB PRKCZ FASLG SRF ARRB1 HSPB1 ARRB2 MAPK10 MAPT
IL-6 signaling pathway	29	EP300 MAPK8 CASP3 PXN BMX AKT1 FOXO1 RAC1 PTK2 LYN PPP2R1B GRB2 CEBPB CDK5 CREBBP
		JUN RB1 FYN PPP2R1A PRKCD NFKB1 HDAC1 GSK3B AR HSP90AA1 STAT3 HSPB1 HRAS MAPT
EGFR1 signaling pathway	34	MAPK8 FOXO1 EPS8 RAC1 PLD2 CEBPA PRKCA EEF1A1 SRC PKN2 JUN PRKCG MYC PRKCI CREB1
		STAT3 SP1 PXN AKT1 CAV1 CBL BCAR1 RASA1 SMAD3 CEBPB GRB2 SMAD2 PRKCB PRKCZ HDAC1 STAT5A CTNND1 KRT18 HRAS
IL-3 signaling pathway	27	MAPK8 GATA1 PXN BMX AKT1 FOXO1 RAC1 RXRA GNB2L1 PTK2 CBL PRKCA PRKACA LYN SRC GRB2
		FYN PRKCB NFKB1 MAPK9 GSK3B STAT5A CREB1 STAT3 HSPB1 HRAS
B cell receptor signaling pathway	30	MAPK8 AKT1 FOXO1 CHUK PTK2 CBL BCAR1 LYN HDAC5 RASA1 GRB2 JUN PRKCE IKBKG RB1 FYN
		CCNA2 HCLS1 MAP4K1 CTNNB1 PRKCB PRKCD NFKBIA IKBKB GSK3B CREB1 GTF2I STAT3 RELA SYK
Wnt signaling pathway NetPath	27	PIAS4 EP300 MAPK8 RUNX2 AKT1 JUP RAC1 CSNK2A1 APC PRKCA MARK2 MAPK8IP1 SMAD3 JUN CC-
		ND1 PRKCG DAB2 CTNNB1 PRKCB MAPK9 ARRB1 GSK3B ARRB2 SMAD4 BTRC CAMK2G CSNK2A2
Estrogen signaing	23	EP300 AKT1 HDAC3 CHUK BRCA1 ILK HDAC6 PRKACA SRC HDAC5 GRB2 CREBBP JUN CCND1 IKBKG
		NFKB1 MAPK9 IKBKB HDAC1 CREB1 ESR1 HRAS SP1

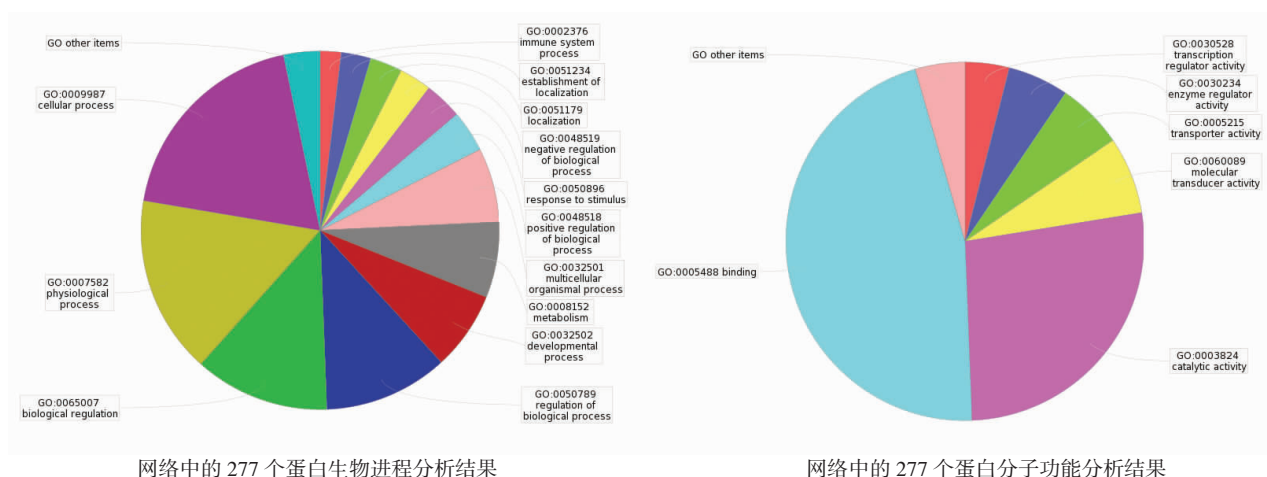


图 2 网络中 277 个蛋白的 GO 分析结果

Fig.2 GO analysis results of 277 proteins in the network

3 讨论

肿瘤的转移极大地危害着患者的生存及预后,抑制肿瘤的转移,能够延长患者生存时间并且有利于手术的切除。因此,明确肿瘤转移过程中的分子机制,对肿瘤治疗有着重要意义。TIAM1 基因已发现在多种肿瘤组织中表达增高,并且与肿瘤的转移、侵袭密切相关^[13]。因此,本文主要对 TIAM1 基因进行生物信息学分析,明确与 TIAM1 相互作用的 miRNA,相互作用蛋白所参与的信号通路,以及 TIAM1 与大肠癌 EMT 的相关关系。发现了 hsa-mir-340 与 TIAM1 可能相互作用的证据并且其功能上可能与 TIAM1 协同,表明 hsa-mir-340 可能为调控 TIAM1 表达的重要 miRNA。本文通过研究与 TIAM1 直接和间接作用的蛋白所在信号通路,预测出 TIAM1 可能参与的信号通路主要为细胞黏附、细胞骨架重构、细胞增殖与生长,与肿瘤的发生发展密切相关。而通过对 TIAM1 敲除后的 SW480 细胞表达谱数据中上调的基因所在通路可以看出, TIAM1 基因缺失以后 P53 通路、DNA 损伤应答反应等参与抑制肿瘤的信号通路高表达,说明 TIAM1 的高表达会抑制这些信号通路的作用,而敲除以后,这些信号通路成员表达升高。有研究表明大肠癌中 TIAM1 基因高表达的情况下间叶性的标志物 Vimentin 表达上调,而上皮性的标志物 E-cadherin 表达下调^[14],说明了 TIAM1 的高表达使得肿瘤细胞获得了更多间叶表型,促进了大肠癌 EMT 的发生,但具体通过何种信号通路作用于 EMT 标志物并未见研究报道。本文通过分析连接 TIAM1 与 EMT 标志物 E-cadherin 和 Vi-

mentin 链接路径中的蛋白节点所在信号通路,预测出 TIAM1 可能通过 TGF- β 受体、雄激素受体、NF- κ B、MAPK 等信号通路作用于 EMT 标志物。而 TGF- β 受体^[15]、雄激素受体^[16]、NF- κ B^[17]、MAPK^[18] 信号通路已被证实与肿瘤的 EMT 密切相关。因此进一步明确了 TIAM1 基因与大肠癌 EMT 的关系。所以 TIAM1 很可能是参与大肠癌转移及 EMT 的关键基因,通过抑制 TIAM1 基因的表达有望增强大肠癌本身的抑癌通路,从而减缓大肠癌的侵袭和转移及 EMT 的发生,因此 TIAM1 有望成为抑制大肠癌转移新的药物作用靶点。

参 考 文 献

- [1] Liu L, Zhang Q, Zhang Y, et al. Lentivirus-mediated silencing of Tiam1 gene influences multiple functions of a human colorectal cancer cell line[J]. Neoplasia, 2006, 8(11): 917-924.
- [2] 王雅娟, 胡洁, 赵海燕, 等. TIAM1 与大肠癌细胞 EMT 的关系[J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(32): 3337-3341.
Wang Y J, Hu J, Zhao H Y, et al. Correlation between TIAM1 expression and epithelial-mesenchymal transition in human colorectal cancer cell lines[J]. World Chinese Journal of Digestology, 2009, 17(32): 3337-3341.
- [3] 吴共发, 胡洁, 王雅娟, 等. 沉默 Tiam1 基因对大肠癌 LoVo 细胞上皮-间质转化的影响[J]. 实用医学杂志, 2011, 27(13): 2321-2324.
Wu G F, Hu J, Wang Y J, et al. Tiam1 gene silencing on epithelial-mesenchymal transition in human colorectal cancer cell line LoVo[J]. The Journal of Practical Medicine, 2011, 27(13): 2321-2324.
- [4] Hu J, Wang Y D, Li Y F, et al. Correlation between T lymphoma invasion and metastasis 1 expression and epithelial-mesenchymal transition in human colorectal carcinomas[J]. Journal of Southern Medical University, 2009, 29(2): 232-235.

STAT3 特异性抑制剂 STA-21 对乳腺癌 MCF-7B 细胞增殖及凋亡的影响

白璐¹, 朱静¹, 田杰², 崔向荣¹, 张春敏¹, 尹耐靖¹

(重庆医科大学附属儿童医院 1. 儿童发育疾病研究省部共建教育部重点实验室; 2. 心血管内科, 重庆 400014)

【摘要】目的:探讨信号传导与转录活化因子 3(signal transducers and activators of transcription 3, STAT3) 特异性抑制剂 STA-21 对乳腺癌 MCF-7B 细胞增殖及凋亡的影响。**方法:**空白组为单独培养 MCF-7B 细胞, 实验组采用不同浓度 STA-21 作用于乳腺癌 MCF-7B 细胞后, 用 MTT 法观察 STA-21 对 MCF-7B 细胞生长抑制的作用; 流式细胞仪检测细胞周期及凋亡; Western blot 检测 MCF-7B 细胞 P-STAT3、STAT3、细胞周期蛋白 D1(CyclinD1)、Bcl-xl 蛋白的表达。**结果:**MCF-7B 细胞经各浓度 STA-21 (10、30、50 $\mu\text{mol/L}$) 作用后, 其细胞增殖的抑制率及细胞凋亡率较空白组明显增加 ($P=0.000$); 流式细胞仪检测发现 STA-21 可导致 MCF-7B 细胞阻滞于 G1 期; Western blot 结果显示与空白组相比, STA-21 可降低 MCF-7B 细胞 P-STAT3、CyclinD1、Bcl-xl 蛋白的表达 ($P=0.000$), 但对 STAT3 蛋白的表达基本无影响 ($P=0.367$)。**结论:**STA-21 可在一定程度上抑制 MCF-7B 细胞的增殖及促进凋亡, 其作用机制可能与抑制 STAT3 活性有关。

【关键词】MCF-7B 细胞; 信号传导与转录活化因子 3; STA-21; 抑制

【中国图书分类法分类号】R737.9

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-12-28

作者简介:白璐, Email: bluebmw85912@sina.com,

研究方向: 骨髓间充质干细胞瘤样转化的规避与机制研究。

通信作者:朱静, Email: zhujing310@yahoo.com.cn。

基金项目:国家自然科学基金资助项目 (编号: 31140035); 重庆市

自然科学基金资助项目 (编号: cstc2011jjA10060)。

[5] 赵海燕, 胡洁, 王雅娟, 等. Tiam1 和 SNAI1 在结直肠癌 EMT 中的意义[J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38(6): 654-657.

Zhao H Y, Hu J, Wang Y J, et al. Significance of Tiam1 and SNAI1 in EMT of human colorectal carcinoma[J]. Cancer Research on Prevention and Treatment, 2011, 38(6): 654-657.

[6] Theys J, Jutten B, Habets R, et al. E-Cadherin loss associated with EMT promotes radioresistance in human tumor cells[J]. Radiother Oncol, 2011, 99(3): 392-397.

[7] Ivaska J. Vimentin: central hub in EMT induction?[J]. Small GTPases, 2011, 2(1): 51-53.

[8] Maragkakis M, Reczko M, Simossis V A, et al. DIANA-microT web server: elucidating microRNA functions through target prediction[J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37(Web server issue): W273-276.

[9] Alexiou P, Vergoulis T, Gleditsch M, et al. miRGen 2.0: a database of microRNA genomic information and regulation[J]. Nucleic Acids Res, 2010, 38(Database issue): D137-141.

[10] Lagana A, Forte S, Giudice A, et al. miRo: a miRNA knowledge base[J]. Database (Oxford), 2009, 2009: 8.

[11] Hu Z, Hung J H, Wang Y, et al. VisANT 3.5: multi-scale network visualization, analysis and inference based on the gene ontology[J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37(Web Server Issue): W115-121.

[12] Kelder T, van Iersel M P, Hanspers K, et al. WikiPathways: build-

ing research communities on biological pathways[J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40(Database issue): D1301-1307.

[13] Xu K, Rajagopal S, Klebba I, et al. The role of fibroblast Tiam1 in tumor cell invasion and metastasis[J]. Oncogene, 2010, 29(50): 6533-6542.

[14] Hu J, Wang Y D, Li Y F, et al. Correlation between T lymphoma invasion and metastasis 1 expression and epithelial-mesenchymal transition in human colorectal carcinomas[J]. Journal of Southern Medical University, 2009, 29(2): 232-235.

[15] Liu D Z, Wang Y S, Ji A G. The role of TGF-beta in the EMT of tumor cells[J]. Progress in Physiological Sciences, 2011, 42(6): 463-466.

[16] Zhu M L, Kyprianou N. Role of androgens and the androgen receptor in epithelial-mesenchymal transition and invasion of prostate cancer cells[J]. FASEB J, 2010, 24(3): 769-777.

[17] Li C W, Xia W, Huo L, et al. Epithelial-mesenchymal transition induced by TNF-alpha requires NF-kappaB-mediated transcriptional upregulation of Twist1[J]. Cancer Res, 2012, 72(5): 1290-1300.

[18] Mulholland D J, Kobayashi N, Ruscetti M, et al. Pten loss and RAS/MAPK activation cooperate to promote EMT and metastasis initiated from prostate cancer stem/progenitor cells[J]. Cancer Res, 2012, 72(7): 1878-1889.

(责任编辑: 冉明会)