

RAB10 对胰腺癌细胞生物学功能的影响及临床意义

匡 鹏¹,张钦泉¹,程 盛¹,董 毅²,王理承²,张思璐²,叶家欣²,马丹丹²,李中虎²,张智勇^{1,2}

摘要 目的 研究 RAS 癌基因家族成员 RAB10 在胰腺癌中的表达情况及其对人胰腺癌细胞系 SW1990 细胞的增殖、迁移、侵袭和凋亡的影响。方法 利用癌症基因数据库 GEPIA 和 TCGA 中胰腺癌的数据分析 RAB10 mRNA 在胰腺癌组织中的表达;Cox 回归分析 RAB10 mRNA 表达水平与胰腺癌患者预后关系;靶向 RAB10 的小干扰 RNA (RAB10-siRNA) 作为沉默组,构建过表达 RAB10 质粒(RAB10-OE)作为过表达组;使用 Q-PCR 检测沉默及过表达效果;Western blot 实验检测蛋白表达水平;EdU 细胞增殖实验、划痕实验、Transwell 实验、流式细胞实验分别分析 RAB10 对 SW1990 增殖、迁移、侵袭和凋亡的影响。结果 胰腺癌组织中 RAB10 mRNA 的表达量明显高于正常胰腺组织($P < 0.05$);EdU 细胞增殖实验结果显示,RAB10-OE 组的 SW1990 细胞的增殖率明显高于对照组,RAB10-siRNA 组 SW1990 细胞的增殖率低于对照组($P < 0.05$);Transwell 实验和划痕实验结果显示,RAB10-OE 组细胞侵袭率及迁移率均高于对照组,RAB10-siRNA 组细胞迁移率及侵袭率均低于对照组($P < 0.05$);流式细胞实验结果显示,RAB10-OE 组细胞凋亡率低于对照组,RAB10-siRNA 组细胞凋亡率高于对照组($P < 0.05$);RAB10 高表达组生存时间低于 RAB10 低表达组($P < 0.05$);单因素 Cox 回归分析结果显示,临床分级、T 分期、M 分期及 RAB10 mRNA 表达水平与胰腺癌患者预后相关($P < 0.05$)。多因素 Cox 回归分析结果显示,RAB10 mRNA 的表达水平为影响胰腺癌患者预后的独立危险因素($P < 0.05$)。结论 RAB10 在胰腺癌组织中高表达,是胰腺癌患者预后的独立危险因素且能够促进胰腺癌细胞的增殖、侵袭和迁移,并抑制胰腺癌细胞的凋亡。**关键词** 胰腺癌;RAB10;增殖;凋亡;迁移;侵袭;预后

中图分类号 R 657.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)12-2038-07
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.12.008

2023-10-08 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81902501);湖北省自然科学基金(编号:2022CFD112)

作者单位:¹ 武汉科技大学医学院,武汉 430070

² 中国人民解放军中部战区总医院普通外科,武汉 430070

作者简介:匡 鹏,男,硕士研究生;

张智勇,男,副主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:ptwkzy@163.com;

马丹丹,女,主管技师,责任作者,E-mail:tjmadandan@163.com

胰腺癌是一种恶性程度极高的消化系统肿瘤,5 年生存率约为 10%^[1],据美国肿瘤研究机构^[2]估计,截止 2022 年,约 49 830 例患者死于胰腺癌,在所有恶性肿瘤中占比 8.2%。作为预后极差的消化道恶性肿瘤,胰腺癌临床诊治困难,手术干预效果不佳^[3]。近些年来一些新型的治疗方法,如免疫抑制、分子靶向、联合放化疗均效果不佳^[4-5],早期手术切除仍是目前唯一有效的治疗方法^[1]。因此,寻找与胰腺癌有关的基因,基因检测手段的使用对胰腺癌的早期诊断、改善其生存和预后显得尤为重要。RAB10 基因位于人染色体 2p23.3^[6],国内外研究^[7-10]表明 RAB10 在胶质瘤、骨肉瘤、宫颈癌、肝癌等多种恶性肿瘤的发展中表现出癌基因特征。RAB10 在胰腺癌组织中的表达水平可能影响胰腺癌细胞的生物学功能。该研究旨在探讨 RAB10 在胰腺癌组织中的表达情况,并研究沉默、过表达 RAB10 对胰腺癌细胞生物学功能的影响以及 RAB10 的表达水平对胰腺癌患者临床相关预后的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器 RAB10、GAPDH 单克隆抗体及辣根过氧化物酶标记的二抗购自美国 Abcam 公司(货号:ab237703、ab245357、ab263962)。L15 购自上海 iCell 公司(货号:iCell-0009)。FBS 购自美国 Gibco 公司(货号:10091-148)。EdU 细胞增殖检测试剂盒购自上海碧云天生物科技有限公司(货号:C0071S)。凋亡检测试剂盒购自北京 Solarbio 公司(货号:CA1020)。Transwell 小室购自美国 Corning 公司(货号:3422)。Matrigel 胶购自美国 BD 公司(货号:356234)。BCA 蛋白定量试剂盒购自江苏康为世纪生物科技有限公司(货号:CW0014S)。ECL 化学发光检测试剂盒购自苏州 UElandy 公司(货号:S6009M)。荧光显微镜购自日本奥林巴斯公司(型号:CX-1)。流式细胞仪购自美国贝克曼库尔特生命科学公司(型号:CytoFLEX S)。CO₂ 培养箱购自美国 Thermo 公司(型号:Forma 3111)。人胰腺癌 SW1990 细胞株购自中国科学院细胞库。

1.2 方法

1.2.1 生物信息学分析 ① GEPIA 数据库分析 *RAB10* 在胰腺癌及正常胰腺组织中的基因表达差异:在 GEPIA 数据库中条件设置为:“gene: *RAB10*”、“cancer type:PAAD”,“Match TCGA normal and GTEx data”可获得 *RAB10* 在正常胰腺组织与胰腺癌组织中的表达差异。② 不同 *RAB10* mRNA 表达水平胰腺癌患者的相关临床数据收集与分析:下载癌基因数据库 TCGA 中 *RAB10* 在胰腺癌中的基因表达量和临床相关性数据,将 *RAB10* mRNA 表达量的中位数定为分界线,把胰腺癌患者分为 *RAB10* 低表达组和 *RAB10* 高表达组,并对临床相关数据进行统计分析。

1.2.2 细胞的培养、转染与检测 ① 细胞的培养:将 SW1990 细胞系培养于 DMEM 培养基(其中含 10% 的 FBS),放置在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h,至细胞达到 80%~90% 融合度;② 细胞转染:将细胞悬液接种于培养板,待接种细胞贴壁后,将过表达 *RAB10* 质粒转染至 SW1990 细胞作为实验组(*RAB10*-OE),将空质粒转染 SW1990 细胞作为其对照组(pcDNA3.1);针对 *RAB10* 序列合成 3 条小干扰 RNA(siRNA)分别转染 SW1990 细胞作为实验组(*RAB10*-siRNA-1、2、3),将随机阴性对照序列 siRNA 作为其对照组(NC-siRNA)。③ 细胞的检测:使用 Q-PCR 实验检测沉默效果及过表达效果,挑选干扰效果最好的 siRNA 进行后续实验。使用 BCA、ECL 试剂盒按说明书进行 Western blot 实验,检测蛋白表达情况。

1.2.3 EdU 细胞增殖实验 在 24 孔板中铺板,接种转染后的四组细胞并配制 20 μmol/L EdU 工作液,将上述 EdU 工作液预热至 37 °C,浓度稀释至 10 μmol/L,继续培养细胞,将 EdU 工作液加入细胞中,待 EdU 标记完成后加入固定液固定 15 min,去除固定液,使用 PBS 洗涤细胞后加入通透液继续培养 15 min,去除通透液,每孔加入 0.5 ml Clik 反应液,避光培养 30 min 后洗涤细胞,每孔加入 10 μmol/L Hoechst 33342 溶液 1 ml,培养 10 min 后洗涤,完成核染色。在荧光显微镜下对细胞进行拍照和处理数据,该实验重复 3 次。

1.2.4 流式细胞实验 调整转染后四组细胞的浓度为 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个/ml。吸取上述 1 ml 细胞,4 °C、1 000 r/min 离心机离心 10 min 后去除上清液。加入预冷 PBS 液 1 ml,轻摇试管使细胞悬浮,4 °C、1 000 r/min 离心机离心 10 min,去除上清液,若存

在贴壁细胞,则先用胰酶消化,再加入 PBS 洗涤处理。将细胞重悬于 200 μl Binding Buffer 缓冲液中,向上述液中加入 10 μl PI 与 10 μl Annexin V-FITC,轻晃混匀液体,避光在室温下反应 15 min 后再加入 300 μl Binding Buffer 缓冲液。使用流式细胞仪检测,该实验重复 3 次。使用 FlowJo 10 处理数据作图。

1.2.5 Transwell 实验 Transwell 小室放置于 24 孔板中。将无血清的 L15 与 Matrigel 胶按 8:1 稀释至 60 μl,置入培养箱中 5 h 后,待上室胶凝固并吸除残余液体,再加入 100 μl 的无血清 L15 培养基,放入培养箱中水化 20 min。胰酶消化转染后的四组细胞,把无血清 L15 重悬制备成细胞悬液,使用血球计数板计数。取上述 1×10^4 个实验细胞接种至上室,含有 10% FBS 的 L15 培养基接种于下室。放入 37 °C、5% CO₂ 培养箱中进行培养。待 24 h 后吸干孔板里面的培养基,再使用 4% 的多聚甲醛固定 20 min、结晶紫染色 25 min,最后使用 PBS 清洗 3 次,在显微镜下拍照。该实验重复 3 次。

1.2.6 划痕实验 接种约 5×10^5 个转染后的四组细胞至 6 孔板;24 h 贴壁后用使用移液器枪头对着直尺进行划线,使用 PBS 冲洗细胞 3 次,除去划下的细胞,加入 L15 培养基、FBS 血清,置入 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。于培养的 0、24、48 h 时显微镜下拍照。该实验重复 3 次。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 25.0 统计软件进行数据分析。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料以百分比(%)表示,细胞实验数据两组间的比较采用独立样本 *t* 检验,采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,采用 Cox 回归进行单因素和多因素分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 胰腺癌组织及正常胰腺组织中的 *RAB10* mRNA 表达情况 GEPIA 数据库共包含 171 个正常胰腺组织样本及 179 个胰腺癌组织样本。结果显示胰腺癌组织中 *RAB10* mRNA 的表达量明显高于正常胰腺组织($P < 0.05$)。见图 1。

2.2 细胞转染效果验证 Q-PCR 实验结果如图 2A、B 所示,在 SW1990 细胞中,*RAB10* mRNA 表达在 siRNA-1 组与 siRNA-2 组中明显降低($t_{\text{siRNA-1}} = 13.494$, $t_{\text{siRNA-2}} = 19.939$, 均 $P < 0.001$; $t_{\text{siRNA-3}} = 0.78$, $P = 0.48$),且 siRNA-2 组沉默效果更好,故后续实验均选用 siRNA-2 组;*RAB10*-OE 组 *RAB10* mRNA

表达明显高于 pcDNA3.1 组 ($t = 23.08, P < 0.01$); Western blot 实验结果如图 2C 所示,与 NC-siRNA 组比较,RAB10-siRNA1、2、3 组蛋白表达量均减少,其中 RAB10-siRNA-2 减少最明显;与 pcDNA3.1 组比较,RAB10-OE 组蛋白表达量增加。表示均转染成功。

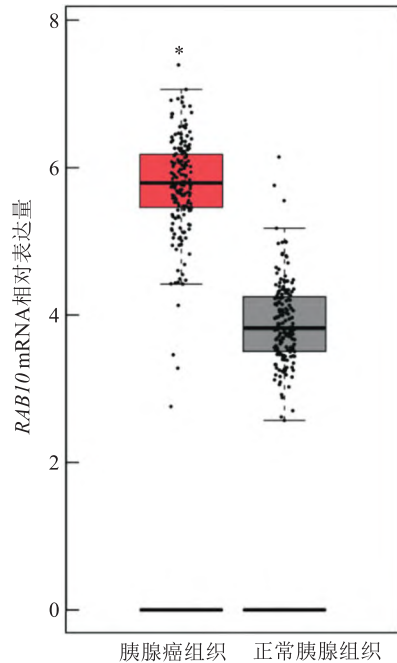


图 1 RAB10 在胰腺癌组织和正常胰腺组织中的表达比较
与正常胰腺组织比较: * $P < 0.05$

2.3 RAB10 对细胞增殖的影响 如图 3 所示,与 NC-siRNA 组相比,RAB10-siRNA-2 组 SW1990 细胞的增殖能力明显降低 ($t = 32.03, P < 0.0001$);与 pcDNA3.1 组相比,RAB10-OE 组 SW1990 细胞的增

殖能力明显升高 ($t = 8.02, P = 0.0013$)。表明沉默 RAB10 能够抑制 SW1990 细胞的增殖,过表达 RAB10 能够促进 SW1990 细胞的增殖。

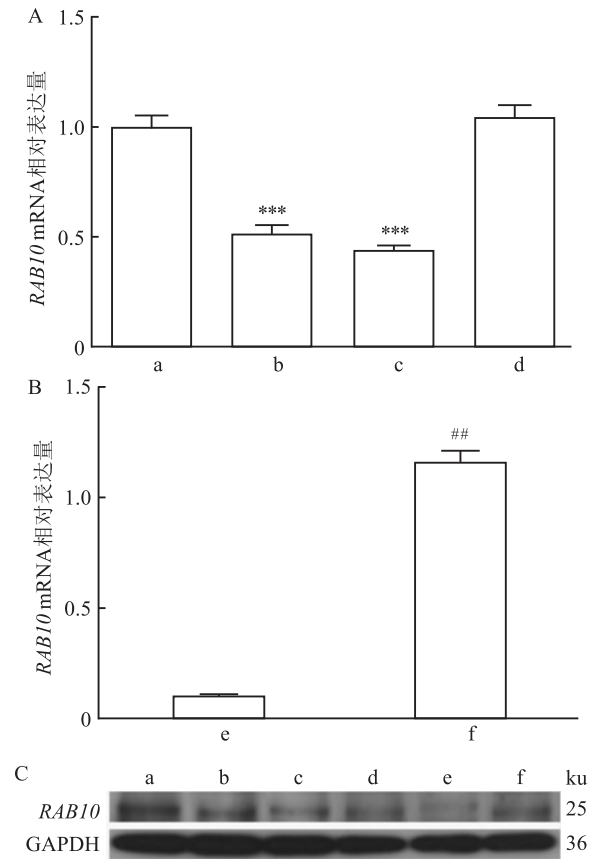


图 2 RAB10 mRNA 表达和蛋白表达

A、B:各组 RAB10 mRNA 相对表达量;C:RAB10 蛋白的表达水平;a: NC-siRNA 组;b: RAB10-siRNA-1 组;c: RAB-siRNA-2 组;d: RAB10-siRNA-3 组;e: pcDNA3.1 组;f: RAB-OE 组;与 NC-siRNA 组比较:*** $P < 0.001$;与 pcDNA3.1 组比较:## $P < 0.01$

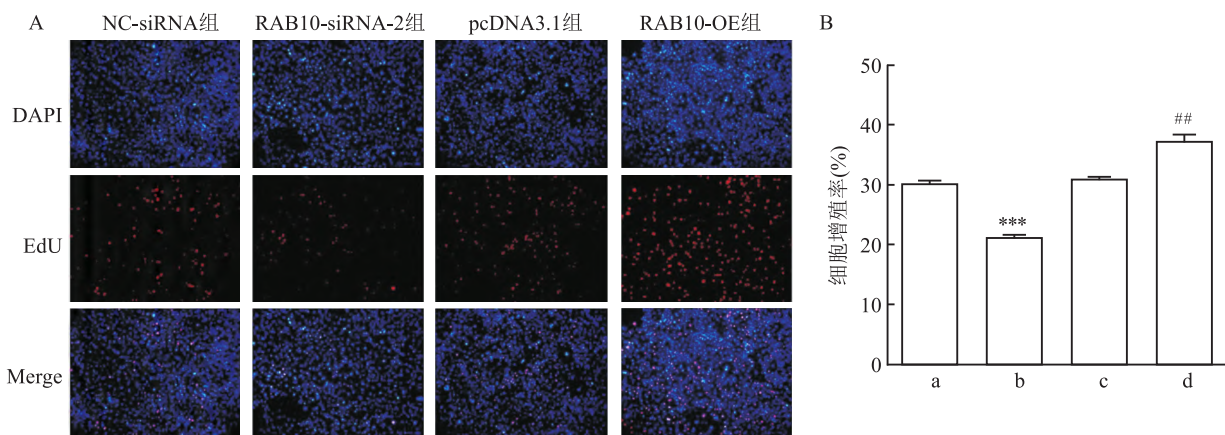


图 3 各组细胞的细胞增殖率

A:EdU 增殖荧光显影 $\times 200$;B:SW1990 细胞增殖率;a:NC-siRNA 组 b:RAB10-siRNA-2 组;c:pcDNA3.1 组;d:RAB10-OE 组;与 NC-siRNA 组比较:*** $P < 0.001$;与 pcDNA3.1 组比较:## $P < 0.01$

2.4 RAB10 对细胞凋亡的影响 如图 4 所示,与 NC-siRNA 组相比, RAB10-siRNA-2 组 SW1990 细胞的凋亡细胞数量明显增加 ($t = 35.73, P < 0.01$); 与 pcDNA3.1 组相比, RAB10-OE 组 SW1990 细胞的凋亡细胞数量明显减少 ($t = 21.39, P < 0.001$)。表明沉默 *RAB10* 能够增强 SW1990 细胞的凋亡, 过表达 *RAB10* 能够抑制 SW1990 细胞的凋亡。

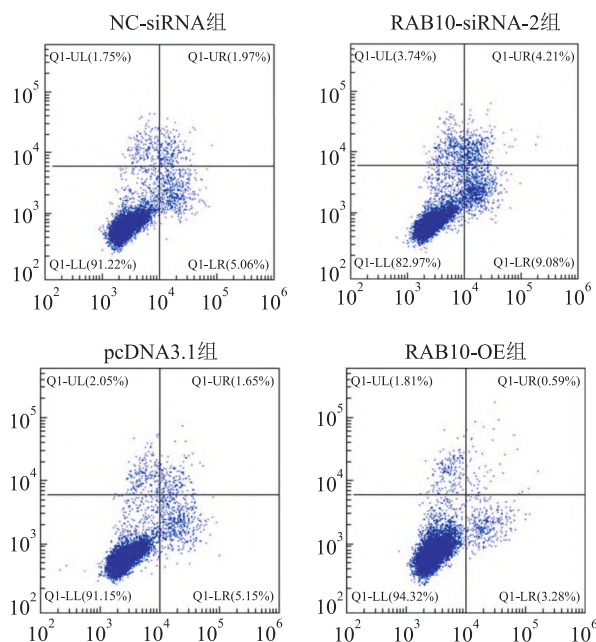


图 4 各组细胞凋亡情况

Q1-UL 区:机械损伤;Q1-UR 区:晚期凋亡或坏死;Q1-LR 区:早期凋亡细胞;Q1-LL 区:正常存活

2.5 RAB10 对细胞侵袭能力的影响 如图 5 所示,与 NC-siRNA 组相比, RAB10-siRNA-2 组 SW1990 细胞的侵袭能力明显降低 ($t = 11.01, P = 0.0004$); 与 pcDNA3.1 组相比, RAB10-OE 组 SW1990 细胞的侵袭能力明显增强 ($t = 7.18, P = 0.002$)。表明沉默 *RAB10* 能够抑制 SW1990 细胞的侵袭能力, 过表达 *RAB10* 能够增强 SW1990 细胞的侵袭能力。

2.6 RAB10 对细胞迁移能力的影响 实验结果如图 6、表 1 所示,与 NC-siRNA 组相比, RAB10-siRNA-2 组 SW1990 细胞的迁移能力明显减弱 (48 h: $t = 33.94$,

表 1 划痕实验未迁移率 ($n = 3$)

分组	48 h 未迁移率 (%)	t 值	P 值
NC-siRNA	36.30 ± 0.36	33.94	<0.001
RAB10-siRNA-2	59.52 ± 1.13		
pcDNA3.1	38.32 ± 0.55	61.46	<0.001
RAB10-OE	12.47 ± 0.48		

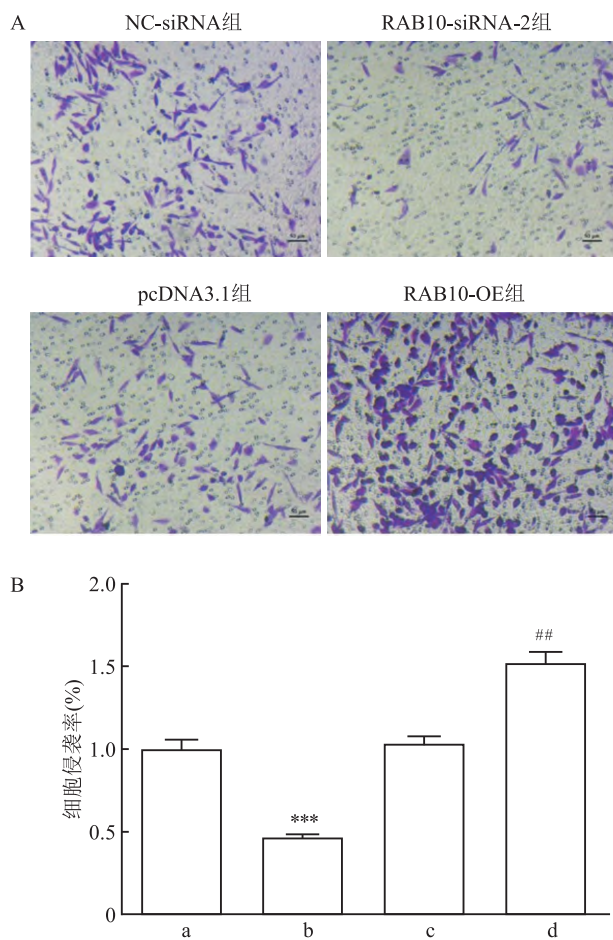


图 5 各组细胞侵袭能力

A:Transwell 检测 SW1990 细胞侵袭 $\times 200$; B:各组 SW1990 细胞侵袭率; a: NC-siRNA 组; b: RAB10-siRNA-2 组; c: pcDNA3.1 组; d: RAB10-OE 组; 与 NC-siRNA 组比较: *** $P < 0.001$; 与 pcDNA3.1 组比较: ** $P < 0.01$

$P < 0.001$); 与 pcDNA3.1 组相比, RAB10-OE 组 SW1990 细胞的迁移能力明显增强 (48 h: $t = 61.46, P < 0.001$)。表明沉默 *RAB10* 抑制 SW1990 细胞的迁移能力, 过表达 *RAB10* 增强 SW1990 细胞的迁移能力。

2.7 RAB10 mRNA 表达水平与胰腺癌患者预后的关系 根据癌症基因数据库 TCGA 中下载的 *RAB10* 临床相关数据进行统计学分析, 将 *RAB10* mRNA 表达量的中位数定为分界线, 把胰腺癌患者分为 *RAB10* 低表达组和 *RAB10* 高表达组。利用 Kaplan-Meier 法绘制胰腺癌患者生存曲线图。结果如图 7 所示, *RAB10* 低表达组生存时间明显高于 *RAB10* 高表达组 (1 059 d vs 485 d, $\chi^2 = 14.420, P < 0.001$)。Log-rank 检验结果显示 *RAB10* 低表达组生存时间明显高于 *RAB10* 高表达组 ($P < 0.001$)。

2.8 Cox 单因素、多因素回归分析结果 下载 TCGA

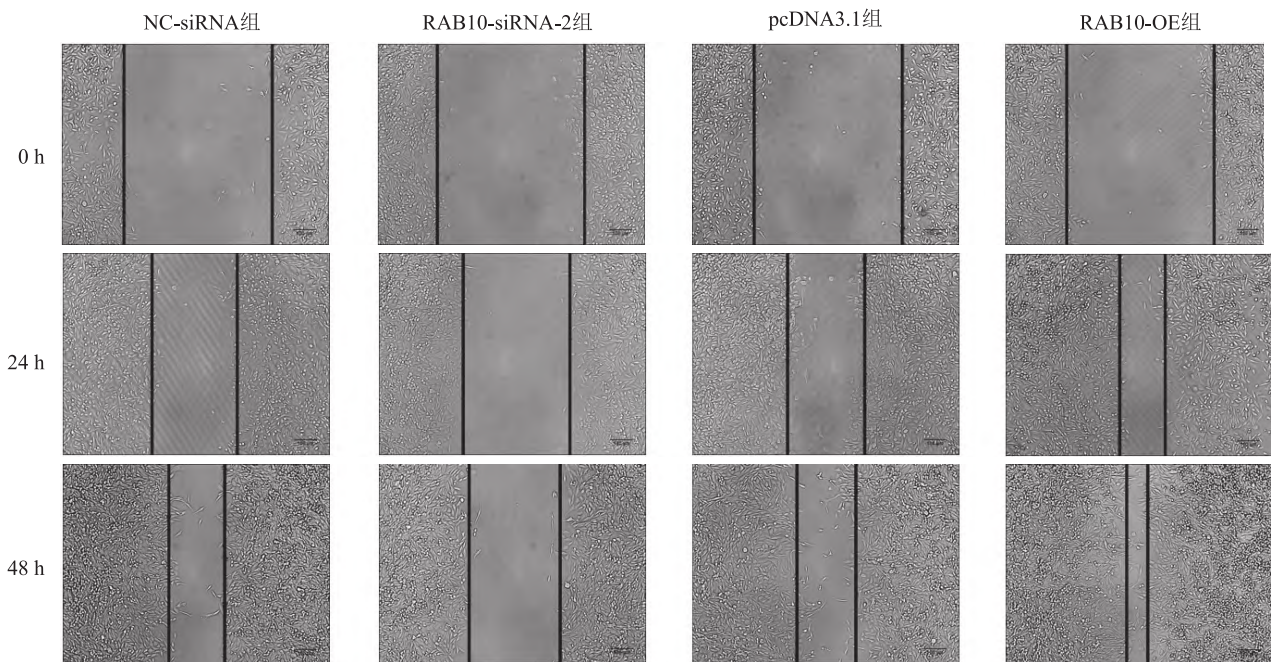


图6 各组细胞迁移能力 ×40

表2 Cox 回归分析 RAB10 mRNA 表达水平与胰腺癌患者生存时间的关系

临床病理参数	单因素分析			多因素分析		
	HR	95% CI	P 值	HR	95% CI	P 值
年龄(岁)	1.440	0.914 ~ 2.269	0.115			
性别	1.220	0.810 ~ 1.837	0.342			
临床分级	1.393	1.064 ~ 1.824	0.016	1.213	0.912 ~ 1.613	0.184
病理分期	1.312	0.897 ~ 1.920	0.161			
T 分期	1.561	1.008 ~ 2.419	0.046	1.120	0.675 ~ 1.858	0.661
N 分期	1.028	0.246 ~ 4.297	0.970			
M 分期	2.105	1.253 ~ 3.537	0.005	1.705	0.989 ~ 2.939	0.055
RAB10 mRNA 表达水平	2.226	1.457 ~ 3.401	<0.001	1.815	1.179 ~ 2.794	0.007

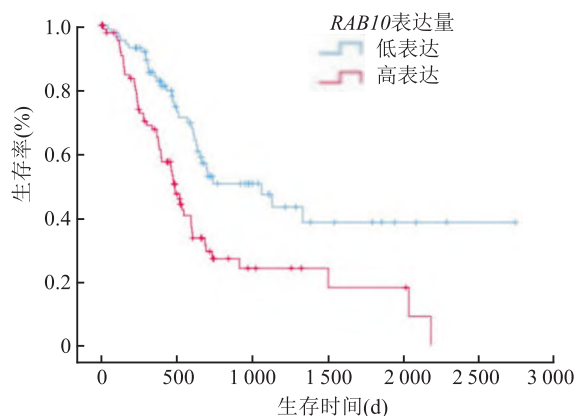


图7 RAB10 高、低表达组生存时间与生存率的关系

数据库中胰腺癌临床数据,将胰腺癌患者临床病理特征进行 Cox 回归分析。结果显示,临床分级、T 分

期、M 分期及 RAB10 mRNA 表达水平与胰腺癌患者生存时间明显相关(均 $P < 0.05$)。将具有统计学意义的单因素 Cox 回归分析影响因素纳入多因素 Cox 回归分析,结果显示,RAB10 mRNA 的表达水平为影响胰腺癌患者生存时间的唯一独立危险因素($P < 0.05$)。见表 2。

3 讨论

恶性肿瘤具有细胞分化和增殖异常、生长失去控制、浸润性和转移性等生物学特征,其发生是一个多因子、多步骤的复杂过程。人体中几乎所有的细胞都可能由于突变而发生改变,从而发展成癌症,其中基因突变是重要的影响因素。同时恶性肿瘤的发生是癌细胞不受人体调节机制控制,逐渐侵袭正常组织的渐进过程。上述过程往往受到原癌基因以及

抑癌基因的调控。

RAB10 是一种蛋白质编码基因,其编码的 GTP 结合蛋白 *RAB10* 属于 RAS 超家族的小 GTP 酶。*RAB10* 主要分布于胞吐、胞吞区室,介入调节细胞内囊泡运输,是细胞内膜运输的关键调节因子,参与从运输囊泡的形成到与膜的融合。*RAB10* 在 Rabs 活性 GTP 结合形式与非活性 GDP 结合形式之间循环,能够将直接负责囊泡形成,运动,拴系和融合的不同下游效应子集招募到膜中^[11]并参与信号转导、细胞凋亡^[12],影响细胞增殖和肿瘤进展。这种调控因子的作用使得 *RAB10* 具有潜在的研究价值。

本研究通过生信分析显示 *RAB10* mRNA 的表达水平与胰腺癌患者的生存时间相关,*RAB10* 高表达患者的生存时间明显降低,在单因素 Cox 回归分析中显示 *RAB10* mRNA 表达水平与胰腺癌患者临床分级、T 分期、M 分期相关,多因素 Cox 回归分析显示出 *RAB10* mRNA 表达水平是胰腺癌患者预后的独立危险因素。Wang et al 研究^[9]表明 *RAB10* 低表达的肝癌患者生存时间明显高于高表达患者,Cox 回归分析显示 *RAB10* 高表达是肝癌患者根治术后总生存期的独立危险因素。Dai et al 研究^[7]表明 *RAB10* 在骨肉瘤细胞中高表达也与患者生存率降低有关,Cox 分析显示 *RAB10* 的高表达与骨肉瘤肺转移以及 TNM 分期呈正相关。国内外文献与本研究显示 *RAB10* 的表达水平与肿瘤患者的生存期相关。

本研究通过体外细胞实验显示 *RAB10* 可以促进胰腺癌细胞的增殖、侵袭、迁移,并诱导其凋亡。Jiang et al 研究^[13]表明,在骨肉瘤细胞中沉默 *RAB10* 能够明显抑制肿瘤细胞的生长和迁移。Dai et al^[7]发现 *RAB10* 在骨肉瘤细胞在骨肉瘤组织中的蛋白表达远高于非肿瘤性骨组织。Zhang et al^[10]发现 *RAB10* 在脑胶质瘤细胞中表现出明显的促进增殖和侵袭能力。本研究的结果显示,*RAB10* 在胰腺癌中高表达,并且能够促进胰腺癌细胞的增殖、侵袭和迁移能力。因此,*RAB10* 可能与癌细胞的恶性功能相关。

总之,本研究使用癌症基因数据库及细胞功能实验说明了 *RAB10* 可能具有促进胰腺癌细胞恶性功能行为的作用。未来将继续收集胰腺癌患者临床相关数据进行数据分析,并在公共数据库数据中验

证,进一步研究 *RAB10* 在胰腺癌细胞中可能的调控通路。

参考文献

- [1] Klein A P. Pancreatic cancer epidemiology: understanding the role of lifestyle and inherited risk factors[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol,2021,18(7):493-502.
- [2] National Cancer Institute. Cancer stat facts: pancreatic cancer [DB/OL]. (2022-12-12)[2023-02-28]. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/pancreas.html>.
- [3] 中国抗癌协会胰腺癌专业委员会. 中国胰腺癌综合诊治指南(2020版)[J]. 中华外科杂志; 2021,59(2):81-100.
- [4] Huang X, Tang T, Wang X, et al. Calreticulin couples with immune checkpoints in pancreatic cancer[J]. Clin Transl Med, 2020,10(1):36-44.
- [5] Iacobuzio-donahue C A, Fu B, Yachida S, et al. DPC4 gene status of the primary carcinoma correlates with patterns of failure in patients with pancreatic cancer[J]. J Clin Oncol,2009,27(11):1806-13.
- [6] Yan T, Wang L, Gao J, et al. Rab10 phosphorylation is a prominent pathological feature in Alzheimer's disease[J]. J Alzheimers Dis,2018,63(1):157-65.
- [7] Dai S, Li N, Zhou M, et al. LncRNA EBLN3P promotes the progression of osteosarcoma through modifying the miR-224-5p/Rab10 signaling axis[J]. Sci Rep,2021,11(1):1992.
- [8] Han H, Shao Q, Liu X. LINC00441 promotes cervical cancer progression by modulating miR-450b-5p/*RAB10* axis[J]. Cancer Cell Int,2020,20:368.
- [9] Wang W, Jia W D, Hu B, et al. *RAB10* overexpression promotes tumor growth and indicates poor prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. Oncotarget,2017,8(16):26434-47.
- [10] Zhang X, Wang S, Lin G, et al. Down-regulation of circ-PTN suppresses cell proliferation, invasion and glycolysis in glioma by regulating miR-432-5p/*RAB10* axis[J]. Neurosci Lett, 2020, 735:135153.
- [11] Hhtagalung A H, Novick P J. Role of Rab GTPases in membrane traffic and cell physiology[J]. Physiol Rev,2011,91(1):119-49.
- [12] Zhang Y J, Pan Q, Yu Y, et al. MicroRNA-519d induces autophagy and apoptosis of human hepatocellular carcinoma cells through activation of the AMPK signaling pathway via Rab10[J]. Cancer Manag Res,2020,12:2589-602.
- [13] Jiang W, Liu J, Xu T, et al. MiR-329 suppresses osteosarcoma development by downregulating *Rab10*[J]. FEBS Lett,2016,590(17):2973-81.

Effect of *RAB10* on biological function of pancreatic cancer cells and its clinical significance

Kuang Peng¹, Zhang Qinquan¹, Cheng Sheng¹, Dong Yi², Wang Licheng²,
Zhang Silu², Ye Jiaxin², Ma Dandan², Li Zhonghu², Zhang Zhiyong^{1,2}

(¹*School of Medicine, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430070;*

²*Dept of General Surgery, General Hospital of Central Theater Command of
the Chinese People's Liberation Army, Wuhan 430070)*

Abstract *Objective* To investigate the expression of Member RAS Oncogene Family (*RAB10*) in pancreatic cancer (PAAD) and its effects on the proliferation, migration, invasion and apoptosis of SW1990 cells (human pancreatic cancer cells). *Methods* The expression of *RAB10* mRNA in PAAD tissues was analyzed by the cancer gene database GEPIA (Gene Expression Profiling Interactive Analysis) and TCGA (The Cancer Genome Atlas). Cox regression analysis was used to detect relationship between *RAB10* mRNA expression and the prognosis of pancreatic cancer patients. We targeted small interfering RNA (*RAB10*-siRNA) targeting *RAB10* as the silence group, and constructed an overexpression plasmid (*RAB10*-OE) for overexpression of *RAB10* as the overexpression group. The effects of silencing and overexpression were detected by Q-PCR; protein expression levels were detected by Western blot. EdU cell proliferation test, wound healing test, Transwell test and flow cytometry test were used to determine the effects of *RAB10* on the proliferation, migration, invasion and apoptosis of SW1990 pancreatic cancer cells. **Results** *RAB10* mRNA expression in PAAD tissues was higher than that in normal pancreatic tissues ($P < 0.05$). The results of EdU cell proliferation test showed that the proliferation rate of SW1990 cells in the *RAB10*-OE group was higher than that in the control group, and the proliferation rate of SW1990 cells in the *RAB10*-siRNA group was lower than that in the control group ($P < 0.05$). The results of the Transwell test and wound healing test showed that the invasion rate and mobility rate of *RAB10*-OE group were higher than those of the control group, and the mobility and invasion rate of *RAB10*-siRNA group were lower than those of the control group ($P < 0.05$). The results of flow cytometry test showed that the apoptosis rate was lower in the *RAB10*-OE group than the control group, and the apoptosis rate in the *RAB10*-siRNA group was higher than the control group ($P < 0.05$). The median survival time of *RAB10* high expression group was significantly lower than that of *RAB10* low expression group ($P < 0.05$). Cox regression analysis showed that clinical grade, T stage, M stage and *RAB10* mRNA expression were related to survival and prognosis of pancreatic cancer patients ($P < 0.05$). Multivariate Cox regression analysis showed that the expression level of *RAB10* mRNA was the independent risk factor affecting the prognosis of pancreatic cancer patients ($P < 0.05$). **Conclusion** *RAB10* is highly expressed in PAAD tissues and *RAB10* can promote the proliferation of pancreatic cancer cells, accelerate the ability to invade and migrate, and inhibit the apoptosis of pancreatic cancer cells. *RAB10* is an independent risk factor for survival prognosis in patients with pancreatic cancer.

Key words pancreatic cancer; *RAB10*; proliferation; apoptosis; migration; invasion; prognosis