网络出版时间:2022 - 05 - 28 14:48 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20220526.1017.013.html

miR-409-3p 和 Rab10 在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中的表达和临床意义

蔡青照,艾丽梅

摘要 **目的** 探讨 miR-409-3p 和 Rab10 对弥漫大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)的影响。**方法** qRT-PCR 检测转染 miR-409-3p 模拟物(miR-409-3p mimic)、无关序列模拟物(mimic NC)、miR-409-3p 抑制物(miR-409-3p inhibitor)、无关序列抑制物(inhibitor NC)和空白对照组(control 组)后 miR-409-3p 的表达水平,使用 Targetscan 7.2 和 miRNA 靶基因预测数据库(miRDB)预测 miR-409-3p 的下游靶基因,Western blot 检测 Rab GTP 酶 10(Rab10)的表达,细胞计数试剂盒-8(CCK-8)和流式细胞仪用来检测细胞增殖和凋亡,然后使用免疫组化(IHC)检测石蜡包埋组织中 Rab10 的表达水平并进一步分析 Rab10 与 DLBCL 患者临床特征的关系。**结果** miR-409-3p 可以促进细胞凋亡,抑制细胞增殖;过表达 miR-409-3p 后 Rab10 的表达增加;Rab10 在 DLBCL 组织中的表达水平高于淋巴结反应性增生(RHL)组织,高水平乳酸脱氢酶(LDH)、高水平 β2 微球蛋白(β2-MG)和淋巴瘤国际预后评分(IPI)高的患者 Rab10 的表达相对较高。**结论** miR-409-3p 可以促进细胞凋亡及 Rab10 的表达,Rab10 与患者的不良预后有关。

关键词 DLBCL;miR-409-3p;Rab10;增殖;凋亡;不良预后
中图分类号 R 733.4
文献标志码 A **文章编号** 1000 - 1492(2022)06 - 0914 - 06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2022.06.013

2022 - 03 - 23 接收
基金项目:辽宁省自然科学基金(编号:20180550001)
作者单位:锦州医科大学附属第一医院血液内科,锦州 121001
作者简介:蔡青照,女,硕士研究生;
艾丽梅,女,博士,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail:alm121001@163.com

弥漫大 B 细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma,DLBCL)是一种形态上中等至大的 B 细胞淋巴瘤,约占全球新诊断淋巴瘤的 1/3,是非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma,NHL)中最常见的类型[1]。miRNA 是一种长链非编码 RNA,通过与下游基因的 3′-UTR 结合抑制转录后的翻译[2]。研究表明 miRNA 已经成为癌症进展中的重要参与者,可以

expression of LINC01224, and to explore the effect of down-regulating the expression of LINC01224 on cell apoptosis. ***Methods*** The GEPIA2 database was used to analyze the expression of LINC01224 in colorectal cancer tissues; qPCR method was used to detect the expression of LINC01224 in 10 human colorectal cancer cells. Three different LINC01224 siRNAs were respectively transfected into human colorectal cancer LoVo cells, and the LINC01224 shRNA lentiviral vector was constructed with the siRNA sequence with the most obvious inhibitory effect of LINC01224 expression. Recombinant lentiviral particles were packaged in HEK293T cells and then infected with LoVo and SW620 cells. After selection by puromycin, the monoclonal cells that stably interfere with LINC01224 were obtained by limiting dilution method. MTS method detects cell proliferation ability, and flow cytometry detects cell apoptosis rate. ***Results*** The expression of LINC01224 in colorectal cancer tissues was higher than that in normal colorectal tissues, and its expression in 10 types of colorectal cancer cells was also higher than that in normal colorectal epithelial cells HCOEPic. The inhibition rate of siRNA-3 on the expression of LINC01224 in LoVo cells was higher than that of siRNA-1 and siRNA-2. Therefore, siRNA-3 was chosen to design LINC01224 shRNA. Compared with the control group (sh-NC group), the expression level of LINC01224 in the LoVo and SW620 cells of the stable interference LINC01224 group (sh-LINC01224 group) was reduced ($P<0.01$), and the cell growth rate was slowed down ($P<0.01$), the rate of apoptosis also increased ($P<0.01$). ***Conclusion*** The shRNA lentiviral interference vector of LINC01224 is successfully constructed, which can stably infect LoVo and SW620 cells, down-regulate the expression of LINC01224 and induce cell apoptosis.

Key words colorectal cancer;long non-coding RNA;lentivirus;apoptosis

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

抑制或促进肿瘤的发展,在肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭、迁移和分化等多种生物学过程中都发挥重要作用,但 miR-409-3p 在 DLBCL 中的研究较少报道。因此,该研究通过调节 miR-409-3p 在 DLBCL 细胞中的表达,来检测其对肿瘤细胞凋亡能力以及 Rab10 表达水平的影响,然后进一步检测 Rab10 在 DLBCL 和淋巴结反应性增生(reactive hyperplasia of lymph nodes, RHL)组织中的表达差异并分析 Rab10 与 DLBCL 患者临床特征的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 *临床患者数据和细胞株来源* 选取该院初诊为 DLBCL 的患者 83 例,其中男性 35 例,女性 48 例,年龄(61.6 ± 12.7)岁,所有病例术前均未行放化疗或任何其他抗肿瘤治疗,所有患者都有完整的临床和随访数据。对照组是对同时段在该院血液科诊断为 RHL 的 20 例患者,无任何恶性肿瘤病史,所有患者在参与研究前都必须签署知情同意书,人 DLBCL 细胞株 OCI-ly7 购自江苏凯基生物技术股份有限公司。

1.1.2 *主要试剂* miR-409-3p mimic、mimic NC、miR-409-3p inhibitor 和 inhibitor NC 购自江苏凯基生物技术股份有限公司,Lipofectamine3000、Opti-MEM 细胞培养基和 TRIzol 购自美国 Thermo Fisher 科技公司,三氯甲烷和异丙醇购自南京化学试剂有限公司,cDNA 第一链合成试剂盒、One Step TB Green™ PrimeScript™ RT-PCR Kit II (SYBR Green)、Mir-X™ miRNA First-Strand Synthesis and TB Green ® qRT-PCR User Manual 和 TB Green ® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) 购自日本 TaKaRa 公司,CCK-8 和 Annexin V-APC/7-AAD 凋亡检测试剂盒购自江苏凯基生物技术股份有限公司,Rab10 兔抗人多克隆抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司,SP 试剂盒和 DAB 显色试剂盒购自北京中杉金桥技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 *转染* 使用 Lipofectamine3000 转染 OCI-ly7 细胞,转染前 1 d,接种细胞至 6 孔板中,每孔加入不含抗生素的培养基,使转染时的细胞密度能够达到 70% ~80%。将使用无血清培养基 Opti-MEM 稀释过的 miRNA 和 Lipo3000 混合,室温孵育 20 min 后加入到含有细胞的培养孔中,培养 4 ~6 h 后将孔中含 miRNA-lipo3000 混合液的培养基移去,更换新鲜培养基,最后将培养板置于 37 ℃的 CO_2 培养箱中继续培养 48 h 后收集细胞进行下一步实验。

1.2.2 *荧光定量 PCR(qRT-PCR)实验* 用 TRIzol 从转染后收集的细胞中提取总 RNA,在分光光度计上测量 RNA 浓度及纯度,OD_{260}/OD_{280} 在 1.8 ~2.1 视为抽提的 RNA 的纯度很高。然后以总 RNA 为模板,逆转录合成 cDNA 产物,最后通过使用实时荧光定量 PCR 仪 95 ℃ 5 min × 1 个周期,95 ℃、15 s,60 ℃、20 s 和 72 ℃、40 s × 40 个周期,分别以 U6 和 GAPDH 为内参,绘制 PCR 产物的扩增曲线和熔解曲线。数据使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 miRNA 或 mRNA 的相对表达量。实验中用到的引物见表 1。

表 1 qRT-PCR 实验中使用到的引物

基因名称	引物序列(5′-3′)
miR-409-3p	F:CGGAATGTTGCTCGGTGA
	R:AGTGCAGGGTCCGAGGTATT
U6	F:CTCGCTTCGGCAGCACA
	R:AACGCTTCACGAATTTGCGT
Rab10	F:GCGTTCCTCACGTTAGCTGAAG
	R:CGCCTCCTCCACTGCTGATAT
GAPDH	F:AGATCATCAGCAATGCCTCCT
	R:TGAGTCCTTCCACGATACCAA

1.2.3 *Western blot 实验* 分别取空白对照组(control 组)、miR-409-3p mimic 组、mimic NC 组、miR-409-3p inhibitor 组和 inhibitor NC 组转染 48 h 后的细胞,加入蛋白酶抑制剂和 RIPA 裂解液提取总蛋白,使用 Bradford 法进行蛋白定量。然后开始配分离胶和浓缩胶,待胶成形后拔掉梳子加入适量蛋白和 Marker 到上样孔中,开始电泳。参照预染 Marker 的位置,待目的条带进入凝胶最佳分离区(大约凝胶的 2/3)时,停止电泳,开始转膜,转膜结束后使用 5% 脱脂奶粉封闭、TBST 洗涤 3 次后加入一抗 4 ℃孵育过夜。次日 TBST 洗涤后加入 5% 脱脂奶粉稀释后的二抗,反应结束后 TBST 洗涤最后进行蛋白显影。

1.2.4 *CCK-8 实验* 将细胞配成 5×10^4 个/ml 的细胞悬液,在 96 孔细胞培养板中每孔加入 100 μl 细胞悬液;将 96 孔细胞培养板置于 37 ℃,5% CO_2 培养箱中培养 48 h 后每孔加入 10 μl CCK-8,在培养箱继续培养 2 h,酶标仪检测 450 nm 处每孔的 OD 值,计算抑制率,抑制率(%) = (阴性对照组 - 实验组)/阴性对照组。

1.2.5 *流式细胞仪检测细胞凋亡* 转染 48 h 后收集 5×10^5 个细胞,加入 500 μl 的 Binding Buffer 悬浮

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

细胞,然后加入 5 μl Annexin V-APC 混匀后,加入 5 μl 7-AAD,混匀;室温、避光、反应 10 min;用流式细胞仪检测细胞凋亡的情况。

1.2.6 免疫组化(immunohistochemical,IHC)实验 石蜡切片首先置于 60 ℃烤片机中烘烤 40 min,然后经二甲苯和梯度乙醇脱蜡至水,枸橼酸钠进行抗原修复,自然冷却至室温后加入过氧化物酶阻断剂室温孵育 15 min,PBS 冲洗,滴加封闭用正常山羊血清室温孵育 20 min,勿洗滴加一抗湿盒中 4 ℃孵育过夜,次日取出湿盒室温下复温 40 min,PBS 冲洗,滴加生物素标记山羊抗兔 IgG 聚合物孵育 20 min,PBS 冲洗,滴加辣根过氧化物酶标记链霉卵白素工作液室温孵育 20 min,PBS 冲洗后滴加新鲜配置的 DAB 显色液 5 min,自来水冲洗,显微镜下观察染色结果,苏木精染液复染,盐酸乙醇分化,最后经逆浓度乙醇脱水,二甲苯透明后中性树胶封固。

1.2.7 IHC 结果判定 分别在 100 倍和 200 倍显微镜下为每个样本随机选择了至少 3 个高质量染色区域,并由 2 名经验丰富的病理学家以盲法评估载玻片,Rab10 的表达用半定量免疫反应性评分(IRS)法对染色结果进行评估[3],每张切片染色深浅程度为:无着色,0 分;浅黄色,1 分;棕黄色,2 分;深棕色,3 分。蛋白阳性表达的细胞比例为无阳性表达 0 分,阳性表达小于 25% 记 1 分,阳性表达 25% ~50% 记 2 分,阳性表达大于 50% 记 3 分。最终得分 = 染色程度得分 × 蛋白阳性表达的细胞比例得分,最终得分≤3 分为低表达,得分 >3 分为高表达。

1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism 8.0.2 和 SPSS 25.0 对所有数据进行统计分析,两组间比较采用 t 检验,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,定性资料采用 χ^2 检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OCI-Ly7 细胞转染后 miR-409-3p 和 Rab10 的表达变化 转染 mimic NC ($t=1.952$, $P=0.067\ 8$)和 inhibitor NC($t=1.179$, $P=0.099\ 4$)较 control 组差异无统计学意义;而转染 miR-409-3p mimic 后与 mimic NC 组相比,miR-409-3p 的表达增加($t=24.98$, $P<0.000\ 1$);转染 miR-409-3p inhibitor 后与 inhibitor NC 组相比,miR-409-3p 的表达降低($t=28.67$, $P<0.000\ 1$)。过表达 miR-409-3p 后 Rab10 的 mRNA($t=21.54$, $P<0.000\ 1$)和蛋白($t=13.53$, $P=0.000\ 2$)表达量较 mimic NC 组增加,而沉默 miR-409-3p 的表达后 Rab10 的 mRNA($t=12.69$, $P<0.000\ 1$)和蛋白($t=8.909$, $P=0.000\ 9$)表达量较 inhibitor NC 组则降低($P<0.000\ 1$),差异均有统计学意义。见图 1。

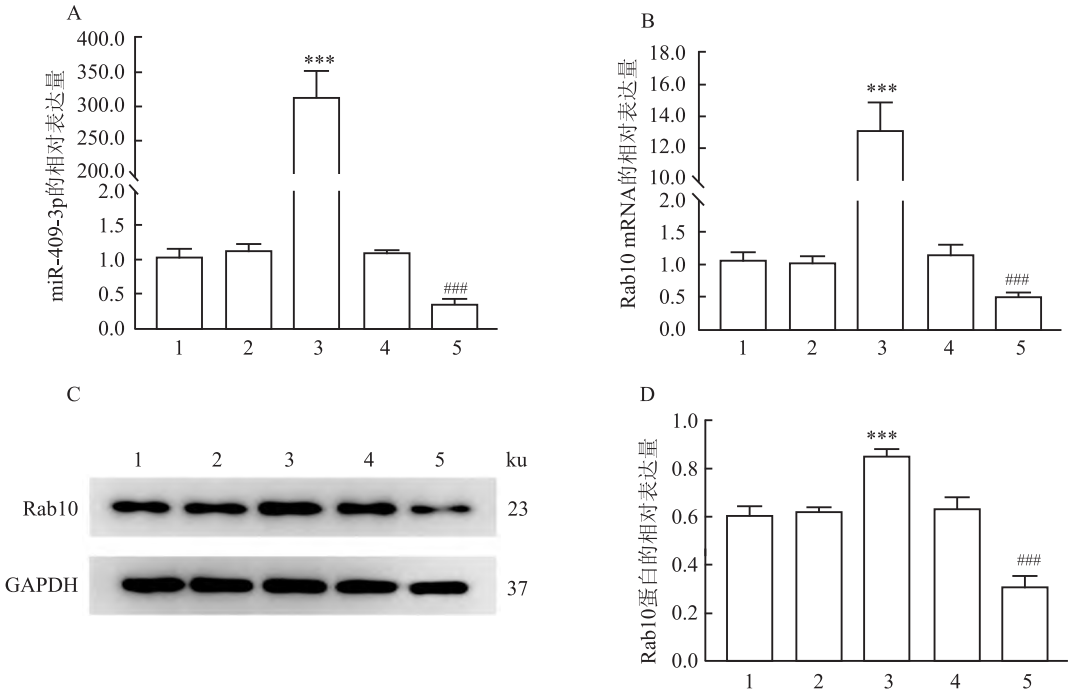

图 1 miR-409-3p 的转染效率及对 Rab10 的影响

A:转染后 miR-409-3p 的表达;B:转染后 Rab10 mRNA 水平;C、D:转染后 Rab10 蛋白水平;1:control 组;2:mimic NC 组;3:mimic 组;4:inhibitor NC 组;5:inhibitor 组;与 mimic NC 组比较:$^{***}P<0.001$;与 inhibitor NC 组比较:$^{\#\#\#}P<0.001$

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2 miR-409-3p 对 OCI-Ly7 细胞增殖的影响

过表达 miR-409-3p 抑制细胞生长，吸光度较 mimic NC 组降低（$t=33.44$，$P<0.000\ 1$）；沉默 miR-409-3p 促进细胞生长，吸光度较 inhibitor NC 增加（$t=26.30$，$P<0.000\ 1$）。见图 2。

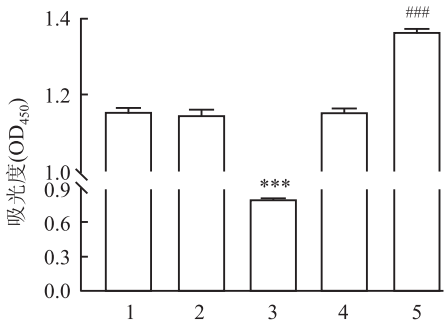

图 2 miR-409-3p 对 DLBDL 细胞增殖能力的影响

1：control 组；2：mimic NC 组；3：mimic 组；4：inhibitor NC 组；5：inhibitor 组；与 mimic NC 组比较：$^{***}P<0.001$；与 inhibitor NC 组比较：$^{\#\#\#}P<0.001$

2.3 miR-409-3p 对 OCI-Ly7 细胞凋亡的影响

转染 miR-409-3p mimic 后细胞的凋亡率与转染 mimic NC 组相比增加（$t=64.34$，$P<0.000\ 1$）；转染 miR-409-3p inhibitor 组的细胞凋亡率比转染 inhibitor NC 组低，差异有统计学意义（$t=8.579$，$P=0.001$）。见图 3。

2.4 Rab10 在 DLBCL 和 RHL 患者组织中的表达差异

Rab10 在各种膜结构、囊泡和细胞骨架中（https://www.uniprot.org/）表达，表现为棕黄色颗粒，大小形态不等（图 4），在 DLBCL 组织中的高表达率为 54.2%（45/83），在 RHL 组织中的高表达率为 25%（5/20），差异有统计学意义（$P=0.019$）。见表 2。

表 2 Rab10 在 DLBCL 和 RHL 患者中的表达[n(%)]

组别	n	Rab10 的表达量		χ^2 值	P 值
		低表达	高表达		
DLBCL	83	38(45.8)	45(54.2)	5.508	0.019
RHL	20	15(75.0)	5(25.0)		

2.5 Rab10 的表达与临床病理特征的关系

高水平的 LDH 和 β2 微球蛋白水平以及 IPI 评分高的患者 Rab10 表达量高，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见表 3。

3 讨论

尽管利妥昔单抗时代到来之后，DLBCL 患者的治愈率得到了显著提高，但仍有 20% ~ 30% 的患者治疗后会出现复发[4]。miRNA 作为一种新的

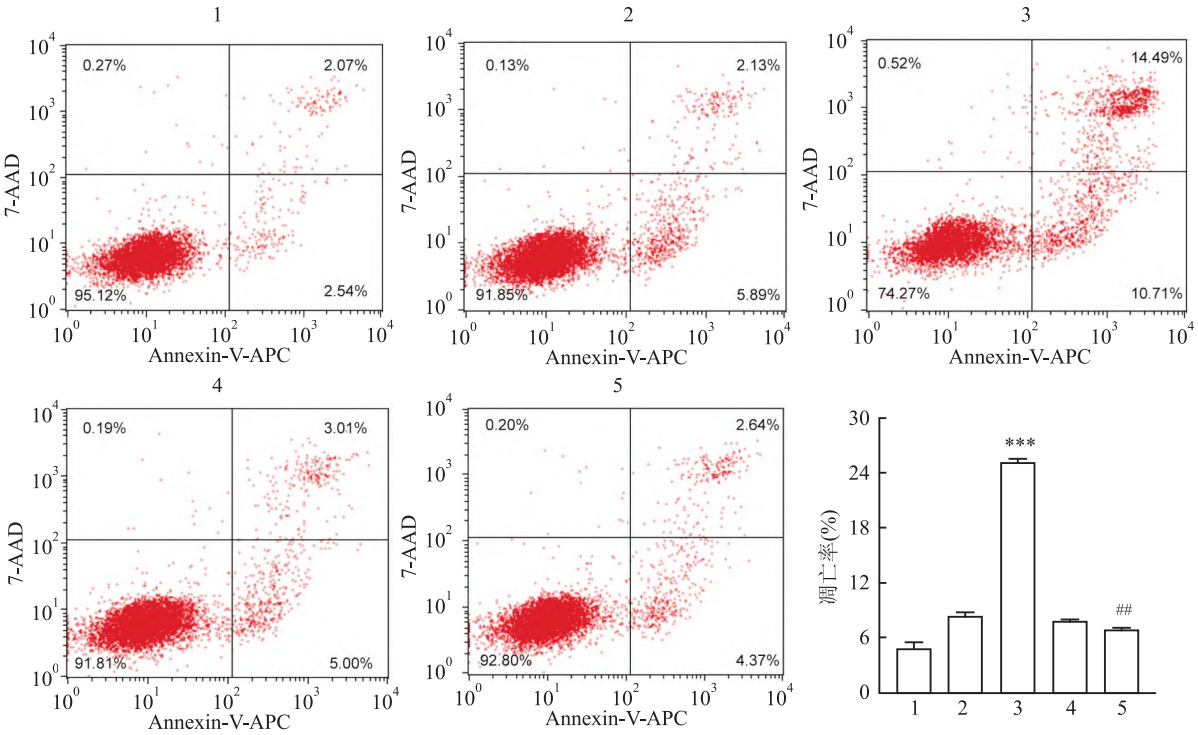

图 3 miR-409-3p 对 DLBDL 细胞凋亡能力的影响

1：control 组；2：mimic NC 组；3：mimic 组；4：inhibitor NC 组；5：inhibitor 组；与 mimic NC 组比较：$^{***}P<0.001$；与 inhibitor NC 组比较：$^{\#\#}P<0.01$

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

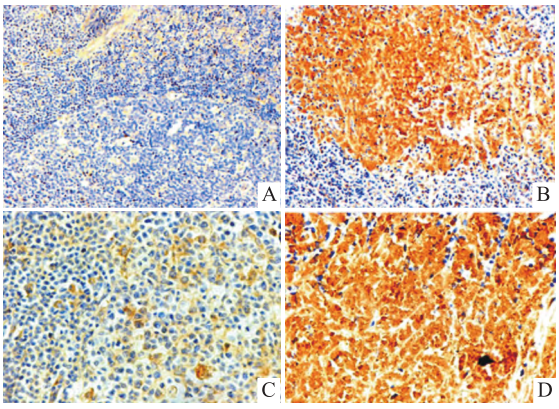

图 4 Rab10 在 DLBCL 和 RHL 组织中的表达

A、C:Rab10 在 RHL 组织中的表达;B、D:Rab10 在 DLBCL 组织中的表达;A、B:SP×100;C、D:SP×200

表 3 Rab10 与 DLBCL 患者临床特征的关系[n(%)]

项目	n=83	Rab10		χ^2 值	P 值
		低表达(38)	高表达(45)		
性别				3.223	0.073
男	35(42.2)	12(34.3)	23(65.7)		
女	48(57.8)	26(54.2)	22(45.8)		
年龄(岁)				2.299	0.129
≤60	32(38.6)	18(56.3)	14(43.8)		
>60	51(61.4)	20(39.2)	31(60.8)		
淋巴瘤分期				3.795	0.051
Ⅰ+Ⅱ	28(33.7)	17(60.7)	11(39.3)		
Ⅲ+Ⅳ	55(66.3)	21(38.2)	34(61.8)		
LDH(U/L)				7.748	0.005
正常	43(51.8)	26(60.5)	17(39.5)		
升高	40(48.2)	12(30.0)	28(70.0)		
免疫分型				0.184	0.668
GCB	26(31.3)	11(42.3)	15(57.7)		
nonGCB	57(68.7)	27(47.4)	30(52.6)		
IPI 评分(分)				4.794	0.029
0~2	46(55.4)	26(56.5)	20(43.5)		
3~5	37(44.6)	12(32.4)	25(67.6)		
β2-MG(mg/L)				4.034	0.045
正常	36(43.4)	21(58.3)	15(41.7)		
升高	47(56.6)	17(36.2)	30(63.8)		
B 症状				0.184	0.668
有	26(31.3)	11(42.3)	15(57.7)		
无	57(68.7)	27(47.4)	30(52.6)		

肿瘤标志物在肿瘤的多种生物学功能中都发挥着重要作用,它通过与下游靶基因的特定序列结合抑制靶基因的表达。有报道[5]表明在复发的 DLBCL 患者中 miR-409-3p 的水平下降,miR-409-3p 可以促进 DLBCL 细胞对利妥昔单抗和阿霉素的药物敏感性,但 miR-409-3p 对 DLBCL 细胞增殖和凋亡能力及机制研究还未见报道,该研究使用 TargetScan 7.2 和 miRDB 预测 miR-409-3p 的下游靶基因,结果显示 miR-409-3p 与 Rab10 存在互补序列,说明 Rab10 可能是 miR-409-3p 的下游靶基因,Rab10 可能接受 miR-409-3p 的调控。Rab10 作为 RAS 超家族中的成员,是细胞内膜运输的关键调节剂。以往的研究[6]主要集中在 Rab10 在囊泡运输中的作用,近年来 Rab10 在肿瘤的研究开始得到重视,有研究[7]表明 Rab10 在肝癌细胞中高表达,并且与肝癌患者的不良预后相关。此外 Rab10 在宫颈癌[8]、神经胶质瘤[9]和食管鳞状细胞癌[10]中都起到致癌基因的作用,但 Rab10 在 DLBCL 中表达和临床关系尚不清楚。有研究[11]显示 Rab10 在白血病中表达增加,参与了白血病细胞的生长;DLBCL 是一种起源于血液系统的有高度异质性的恶性肿瘤,它的发病机制和治疗靶点与其他血液恶性疾病有许多共通之处,因此,该研究进一步分析了 Rab10 与 DLBCL 患者的关系。

该研究首先在细胞水平上过表达和沉默 miR-409-3p 来观察细胞生长活性的变化,结果显示 miR-409-3p 能促进肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤细胞的增殖。这与以往的研究[12]结果一致,miR-409-3p 在绝大多数肿瘤中都被认为是抑癌基因,例如 miR-409-3p 在宫颈癌、卵巢癌、甲状腺乳头状癌、非小细胞肺癌等都表现为抑癌作用。进一步分析 miR-409-3p 和 Rab10 的关系,表明 miR-409-3p 对 Rab10 有促进作用。

为了更好地探讨 Rab10 与 DLBCL 患者的关系,分别检测在 DLBCL 和 RHL 患者中的 Rab10 水平,结果显示 Rab10 在 DLBCL 患者的表达上调,进一步分析 Rab10 和患者的临床资料的关系,表明在高水平的 LDH、高水平 β2 微球蛋白及 IPI 评分高的患者中 Rab10 的表达量都有相对较高的趋势,LDH 水平[13]和 IPI 评分[14]与淋巴瘤患者的预后密切相关,血清 β2 微球蛋白是影响淋巴瘤预后的独立危险因素[15],这说明高水平 Rab10 的 DLBCL 患者肿瘤负荷更重、预后更差,这与以往的研究[16]结果也是一致的,Rab10 在肿瘤患者的表达升高,与远期并发症和不良预后有关。

参考文献

[1] Carreras E, Dufour C, Mohty M, et al. The EBMT handbook: hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies [M]. Cham (CH): Springer, 2019:633-41.

[2] Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay [J]. Nat Rev Genet, 2010,11(9):597-610.

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[3] Jiang Y, Wang Q, Xu Q, et al. Predictive value of S100A9 for lymph node metastasis in cervical cancer[J]. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2020,45(6):701 -8.
[4] Chaganti S, Illidge T, Barrington S, et al. Guidelines for the management of diffuse large B-cell lymphoma[J]. Br J Haematol, 2016,174(1):43 -56.
[5] Leivonen S K, Icay K, Jäntti K, et al. MicroRNAs regulate key cell survival pathways and mediate chemosensitivity during progression of diffuse large B-cell lymphoma[J]. Blood Cancer J, 2017,7(12):1 -11.
[6] 贾 伟,王 伟. Rab10 蛋白及其在肿瘤中的研究进展[J]. 国际肿瘤学杂志,2017,44(2):118 -21.
[7] 杨大业,唐世磊,李宏武. RAB10 在人肝癌组织中的表达及对患者预后的影响[J]. 中西医结合肝病杂志,2021,31(4):331 -4.
[8] Han H, Shao Q, Liu X. LINC00441 promotes cervical cancer progression by modulating miR-450b-5p/Rab10 axis[J]. Cancer Cell Int, 2020,20:1 -14.
[9] Shen G, Mao Y, Su Z, et al. PSMB8-AS1 activated by ELK1 promotes cell proliferation in glioma *via* regulating miR-574-5p/Rab10[J]. Biomed Pharmacother, 2020,122:109658.
[10] Zhou Z, Huang F. Long non-coding RNA LINC00152 regulates cell proliferation, migration and invasion in esophageal squamous cell carcinoma *via* miR-107/Rab10 axis[J]. Onco Targets Ther, 2019,12:8553 -67.
[11] Li Q, Wang J. LncRNA TUG1 regulates cell viability and death by regulating miR-193a-5p/Rab10 axis in acute myeloid leukemia[J]. Onco Targets Ther, 2020,13:1289 -301.
[12] Wu L, Zhang Y, Huang Z, et al. MiR-409-3p inhibits cell proliferation and invasion of osteosarcoma by targeting zinc-finger E-box-binding homeobox-1[J]. Front Pharmacol, 2019,10:137.
[13] 赵志强,郑楚楚,王列样,等. 弥漫大 B 细胞淋巴瘤 355 例预后影响因素分析[J]. 肿瘤研究与临床,2020,32(12):849 -53.
[14] 韩 颖,秦 燕,何小慧,等. 370 例晚期弥漫大 B 细胞淋巴瘤的临床特征和预后分析[J]. 中华肿瘤杂志,2018,40(6):456 -61.
[15] 代冠荣,夏瑞祥,刘沁华. 原发胃肠道弥漫大 B 细胞淋巴瘤的临床预后因素分析[J]. 安徽医科大学学报,2021,56(9):1496 -9.
[16] 单长民,刘同慎,李 娟,等. 人肝细胞癌中 PCNA 和 RAB10 水平上调 miR-224 表达下调[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,2020,29(1):41 -5.

Expression and clinical significance of miR-409-3p and Rab10 in diffuse large B cell lymphoma

Cai Qingzhao, Ai Limei

(*Dept of Hematology, First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou* 121001)

Abstract ***Objective*** To investigate the effects of Rab10 and miR-409-3p in diffuse large B-cell lymphoma(DLBCL). ***Methods*** qRT-PCR was used to determine miR-409-3p levels following transfection with miR-409-3p mimic, mimic NC, miR-409-3p inhibitor, inhibitor NC and blank control group(control group). Targetscan 7.2 and miRNA target prediction Database(miRDB) software were used to predict the target gene of miR-409-3p. Western blot assay was performed to investigate the expression levels of Rab GTPase10(Rab10). Cell counting Kit-8 (CCK-8) and flow cytometry assays were performed to determine the levels of cell viability and apoptosis. Finally, the expression of Rab10 in paraffin-embedded tissues was detected by immunohistochemical(IHC)method, and then the relationship between Rab10 and clinical characteristics in patients with DLBCL was compared. ***Results*** miR-409-3p could promote the apoptosis and inhibit proliferation of tumor cells . Overexpression of miR-409-3p increased the Rab10 mRNA and protein levels in DLBCL cells. The expression of Rab10 in DLBCL was higher than that in reactive hyperplasia of lymph nodes, and the level of it was positively correlated with lactate dehydrogenase(LDH), β2-microglobulin(β2-MG) and international prognostic score for lymphoma(IPI) of DLBCL patients. ***Conclusion*** miR-409-3p can promote the apoptosis of tumor cells and the expression of Rab10, Rab10 is associated with the adverse prognosis in DLBCL.

Key words DLBCL; miR-409-3p; Rab10; proliferation; apoptosis; poor prognosis

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net