

网络出版时间: 2021-9-7 14:57 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210907.1400.008.html>

RBM25 在结直肠癌中的表达及其对细胞增殖的影响

王凤杰, 郭爱军, 龚治忠, 冯成, 纪奥强, 董子鉴, 李超, 刘刚, 刘晓颖

摘要 目的 探究 RNA 结合基序蛋白 25(RBM25) 在结直肠癌组织中的表达及对结直肠癌细胞功能的影响。方法 利用 TCGA 数据库分析 RBM25 在结直肠癌和正常结肠组织中的表达差异及 RBM25 表达水平与患者预后之间的关系; 分别采用 qRT-PCR 和 Western blot 检测结直肠癌组织中 RBM25 在 mRNA 和蛋白水平的表达情况。将 RBM25-siRNAs 转染结直肠癌细胞系 HCT 116, 采用 CCK-8 实验、克隆形成实验检测 RBM25 敲低对结直肠癌细胞生长、增殖的影响; 利用 TCGA 数据库分析 RBM25 mRNA 表达水平与结直肠癌患者预后之间的相关性。结果 对 TCGA 数据库分析显示, RBM25 mRNA 在结直肠癌与正常组织的表达差异无统计学意义($P > 0.05$), 但 RBM25 mRNA 水平与患者的预后呈负相关($P < 0.05$); qRT-PCR 结果显示 RBM25 mRNA 在结直肠癌患者癌组织中高表达, 但差异无统计学意义($P > 0.05$), Western blot 结果显示 RBM25 蛋白在结直肠癌组织中高表达($P < 0.05$); RBM25-siRNAs 敲低导致 HCT 116 细胞生长、增殖能力下降($P < 0.05$)。结论 RBM25 蛋白在结直肠癌组织中高表达, 并促进结肠癌细胞的生长、增殖, 提示 RBM25 可能与结直肠癌的发生、发展相关。

关键词 结直肠癌; RBM25; 增殖; 差异表达

中图分类号 R 735.35; R 735.37

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)11-1713-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.11.007

结直肠癌是最具侵袭性的消化道恶性肿瘤之一, 可向骨、脑、肺等组织转移, 是全球第三大常见癌症。尽管结直肠癌的手术、放疗及化疗等治疗手段有了很大进步, 但患者的 5 年总生存率仍然不佳^[1-3]。因此, 迫切需要筛选有效的结直肠癌诊断和治疗靶点。RNA 结合基序蛋白 25(RNA binding motif protein 25, RBM25) 是一种在真核细胞中高度保守的剪接因子。它含有一个 N-末端 RNA 结合基

2021-07-09 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81772908)

作者单位: 安徽医科大学生命科学学院生物学系, 合肥 230032

作者简介: 王凤杰, 男, 硕士研究生;

刘刚, 男, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: liugang8966@163.com;

刘晓颖, 女, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: liuxiaoying@ahmu.edu.cn

序结构域, 一个中心富含谷氨酸/精氨酸的序列和一个 C-末端的 PWI 结构域(PWI 结构域是一类新型的结合 RNA 的结构域, 对单链和双链的核酸均具有相同的亲和力)^[4]。在真核生物中, RBM25 主要通过与剪接体的相互作用来调控前体 mRNA(pre-mRNA) 剪接、去除非编码内含子序列以产生成熟的 mRNA, 从而在生物体内发挥调控作用^[5]。有关 RBM25 在结直肠癌中的相关研究报道很少, 本课题组前期通过对 10 对结直肠癌组织和配对正常组织进行蛋白组学差异分析及结直肠癌组织芯片免疫组化检测, 结果显示, RBM25 蛋白在结直肠癌组织明显高于相应正常组织, 且 RBM25 的表达水平与结直肠癌患者的临床病理资料的相关性具有统计学意义^[6]。该研究利用 TCGA 数据库分析结直肠癌中 RBM25 mRNA 差异表达及与患者预后之间的相关性; 通过 qRT-PCR 和 Western blot 检测结直肠癌患者组织中 mRNA 和蛋白水平的差异表达, 研究 RBM25 敲低对结直肠癌细胞系 HCT 116 生长、增殖能力的影响, 了解 RBM25 作为结直肠癌发生发展过程中分子靶标的潜能。

1 材料与方法

1.1 组织和细胞 消化道肿瘤细胞系由刘晓颖实验室保存; 结直肠癌患者组织为安徽医科大学第一附属医院手术切除的结直肠癌患者标本, 该研究已与患者签署知情同意书。

1.2 主要仪器与试剂

1.2.1 主要仪器 高速冷冻离心机(Microfuge 20R)(Beckman Coulter 公司); 倒置光学显微镜(TS-100, NIKON); 荧光定量 PCR 仪(Quant Studio™ 6 Flex, Life Technology 公司); 全自动化学发光仪(Flour Chem FC3, Protein Simple 公司); 普通 PCR 仪(T-100, BIO-RAD 公司); BSC-II 级生物安全柜(1300)(Thermo Fischer Scientific 公司)。

1.2.2 主要试剂 胎牛血清购于以色列 Biological Industries(BI) 公司; 胰酶细胞消化液(含 EDTA)、Western 细胞裂解液、苯甲基磺酰氟(PMSF) 购于上海碧云天生物技术有限公司; 改良型 Bradford 法蛋

白浓度测定试剂盒购于生工生物(上海)有限公司; Lipofectamine RNAi MAX Reagent 购于美国 Thermo Fischer Scientific 公司; Total RNA 提取试剂盒购于美国 OMEGA BIO-TEK 公司; Novo Script® Plus All-in-one 1st Strand cDNA Synthesis Super Mix 逆转录试剂盒、Novo Start® SYBR qRT-PCR 试剂盒购于江苏近岸蛋白公司; 0.2 μm PVDF 膜购于 BIO-RAD 公司; Cell Counting Kit-8 试剂盒(CCK-8) 购于东仁化学科技有限公司; RBM25 抗体、β-actin 抗体购于武汉 Proteintech 公司; 辣根酶标记山羊抗兔 IgG、辣根酶标记山羊抗鼠 IgG 购于北京中杉金桥生物有限公司。

1.3 siRNA 及 qRT-PCR 引物 实验所用 qRT-PCR 引物委托通用生物系统(安徽)有限公司合成, 序列见表 1。RBM25 siRNAs 和阴性对照 siRNA 委托上海吉玛生物科技有限公司合成, 序列见表 2。

表 1 qRT-PCR 引物

名称	引物序列(5'-3')
RBM25	F: TTTCCACCTCATTGAAATCGCC R: AGTGGGTACTAACAGACAGTTGGAG
GAPDH	F: GAGAAGTATGACAACAGCCTCAA R: GCCATCACGCCACAGTTT

表 2 靶向 RBM25 的 siRNA 序列

名称	siRNA 序列(5'-3')
si-RBM25-1	F: GGAAAGCAUUUGGGCGCAATT R: UUGCAGCCAAAUCGUUUCCTT
si-RBM25-2	F: CCGAGAAAGCUUCAGACAU R: AUGUCUGAAGCUUUCUCGGTT
si-RBM25-3	F: CGUCGAAUUAGACCAUGGATT R: UCCAUGGUCUAUUCGACGTT

1.4 实验方法

1.4.1 GEPIA 数据库中 RBM25 的表达分析 利用 GEPIA 数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/detail.php>) 分析 RBM25 在结直肠癌组织中的表达水平, 搜索条件如下: Gene = RBM25, | Log2FC | cutoff = 1, P value cutoff = 0.01, Dataset selection = COAD, Log Scale = yes, Matched Normal data = Match TCGA normal data。搜索到的样本总数为 316 例, 其中结直肠癌患者为 275 例, 正常人群为 41 例。利用 GEPIA 数据库, 采用 Log-rank 检验, 运用 Kaplan-Meier 进行 COAD 预后分析(Overall Survival)。参数设置如下: Gene = RBM25, Methods = Overall Survival, Group Cutoff = Custom, Hazards Ratio (HR) = yes, 95% Confidence Interval = yes, Axis Units = Month,

Datasets Selection = COAD。预后生存期的样本总数为 176 例, 其中 RBM25 高表达患者为 108 例, 低表达的患者为 68 例。

1.4.2 结直肠癌组织和结直肠癌细胞蛋白提取及 Western blot 检测 在无菌操作台上, 将结直肠癌患者来源的组织用剪刀剪碎。用组织匀浆机研磨成匀浆状态, 加入适量的含 PMSF(终浓度为 1 mmol/L) 的细胞裂解液 4 °C 混悬 30 min。使用改良型 Bradford 法蛋白浓度测定试剂盒测定总蛋白浓度; 取 30 μg 蛋白加入上样缓冲液并煮沸变性, 用 12% 十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE) 电泳; 将目的蛋白转移到 PVDF 膜上, 置于含 5% 脱脂奶粉的 TBST 中室温封闭 1.5 h, TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min, 4 °C 一抗孵育过夜, 二抗室温孵育 1.5 h, ECL 显影液显影, Image J 图像分析软件分析, 计算蛋白条带的灰度值。

1.4.3 RNA 提取和实时荧光定量 PCR 采用 Total RNA 提取试剂盒从结直肠癌细胞 HCT 116 和结直肠癌患者组织中提取总的 RNA, 然后用逆转录试剂盒将总 RNA 逆转录成 cDNA。以 cDNA 为模板进行实时荧光定量 PCR, mRNA 的表达量用 GAPDH mRNA 进行归一化处理, 使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析各组 mRNA 的表达。

1.4.4 siRNA 转染 HCT 116 细胞 提前一天接种 HCT 116 细胞至 6 孔板中, 使第 2 天细胞汇合度为 40%。用 Opti-MEM 稀释 siRNA 储液使其终浓度为 50 nmol/L, Lipofectamine RNAi MAX Reagent 与 siRNA 的用量为 1 : 1; 6 ~ 8 h 后换为不含抗生素的完全培养液。

1.4.5 克隆形成实验 将 RBM25 siRNA 和阴性对照转染 HCT 116 细胞, 48 h 后胰酶消化, 每组接种 400 ~ 800 个细胞于 6 孔板中, 继续培养 10 ~ 12 d, 显微镜下观察单个克隆细胞数大于 50 个即可染色, 弃培养液后 PBS 清洗 2 遍, 用预冷的甲醇固定 15 min, 结晶紫染色 25 min, 流水缓慢清洗, 烘干, 拍照。

1.4.6 CCK-8 法检测细胞增殖 提前一天将 HCT 116 以 3 000 个/孔接种于 96 孔板中, 转染 4 ~ 6 h 后换为完全培养液。每孔加入 10 μl CCK-8 试剂和 100 μl 完全培养液后继续培养 3 h 后, 用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度(optical density, OD) 值。分别测转染后 0、24、48、72 h 的 OD 值。

1.5 统计学处理 采用 Graphpad Prism 8 和 SPSS 16.0 软件进行统计学分析, 所有计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验比较两组间均数。P < 0.05 为差异

有统计学意义。

2 结果

2.1 TCGA 数据库分析 RBM25 在肠癌中的表达

在 GEPPIA 网页上在线分析 TCGA 数据库中 275 例肠癌组和 41 例正常组 RBM25 mRNA 的表达水平,结果显示 RBM25 在肠癌组织的表达高于正常组织,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。提示 RBM25 可能在转录后和翻译后水平上受到调控,见图 1A。根据 RBM25 mRNA 的表达高低分析 TCGA 数据库中 176 例肠癌患者的总生存期,其中 RBM25 高表达的患者为 108 例,低表达的患者为 68 例。结果显示 RBM25 高表达患者的总生存时间比低表达患者缩短($P < 0.05$),见图 1B。

2.2 结直肠癌患者组织 RBM25 mRNA 和蛋白表达分析

本研究检测了 20 例结直肠癌患者的癌组织与配对正常组织中 RBM25 mRNA 表达水平,分别

为 9.93 ± 19.82 及 6.11 ± 15.44 ,差异无统计学意义($t = 0.3721, P = 0.7226$),见图 2A; 相应的 Western blot 结果显示,癌组织中 RBM25 蛋白表达上调,其在癌组织、配对正常组织中的表达量分别为 0.54 ± 0.42 及 0.22 ± 0.17 ,差异有统计学意义($t = 2.986, P < 0.05$),见图 2B、C。

2.3 RBM25 在结肠癌细胞系中的表达及其在 HCT 116 细胞中的 siRNA 敲低效果 RBM25 在结肠癌细胞系(SW 480、HT 29、HCT 116)中的表达相对于正常肠黏膜细胞系 cu-HIE、正常肌纤维细胞 cu-hsf-1 及其他消化系统癌细胞系(食管癌细胞系 ECA109、KYSE30、KYSE150、TE13、KYSE510,胃癌细胞系 AEG-1、BGC-823、SGC-7901)中的表达是上调的,见图 3。选取 RBM25 高表达的结肠癌细胞系 HCT 116 进行了 RBM25 siRNA 敲低实验,转染 48 h 后,提取各组细胞 mRNA 逆转录成 cDNA 后进行 qRT-PCR 实验。结果表明敲低组相对于阴性对照

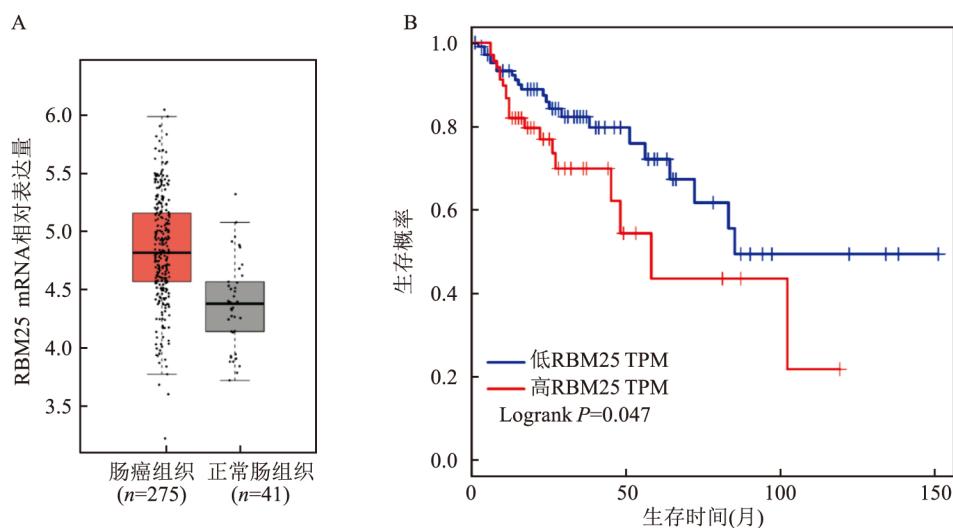


图 1 肠癌中 RBM25 转录水平表达情况及与患者预后的相关性分析
A: TCGA 数据库分析肠癌组织和正常结肠组织中 RBM25 mRNA 的表达; B: TCGA 数据库分析肠癌患者总生存期

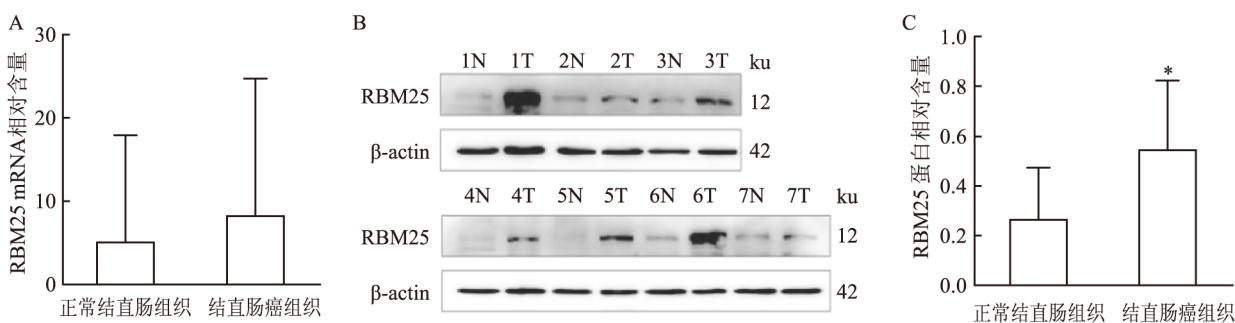


图 2 结直肠癌患者的癌组织与配对正常结直肠组织中 RBM25 mRNA 及蛋白表达分析
A: qRT-PCR 检测 20 对结直肠癌患者的癌组织与配对正常组织中 RBM25 mRNA 表达水平; B: Western blot 检测结直肠癌患者组织中 RBM25 蛋白的表达; N: 结直肠癌患者的配对正常结直肠组织; T: 对应的癌组织; 1~7: 7 名结直肠癌患者; C: 20 对结直肠癌患者癌组织中 RBM25 蛋白表达水平; 与正常结直肠组织比较: * $P < 0.05$

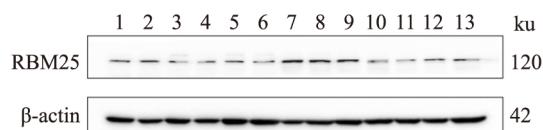


图3 RBM25 蛋白在多种细胞系中的表达

1: cu-HIE; 2: ECA 109; 3: KYSE 30; 4: KYSE 150; 5: TE 13; 6: KYSE 510; 7: SW 480; 8: HT 29; 9: HCT116; 10: AEG-4; 11: BGC-823; 12: SGC-7901; 13: cu-hsf-4

组 mRNA 水平明显降低, 其中阴性对照组与 si1 组比较 ($P = 0.0004, n = 3$) ; 与 si2 组比较 ($P = 0.0004, n = 3$) ; 与 si3 组比较 ($P = 0.0018, n = 3$) , 见图 4A; Western blot 结果显示, 转染 48 h 后, 敲低组 RBM25 的蛋白水平相对于对照组明显下降, 其中阴性对照组与 si1 组比较 ($P = 0.031, n = 3$) ; 与 si2 组比较 ($P = 0.028, n = 3$) ; 与 si3 组比较 ($P = 0.037, n = 3$) , 见图 4B、4C。

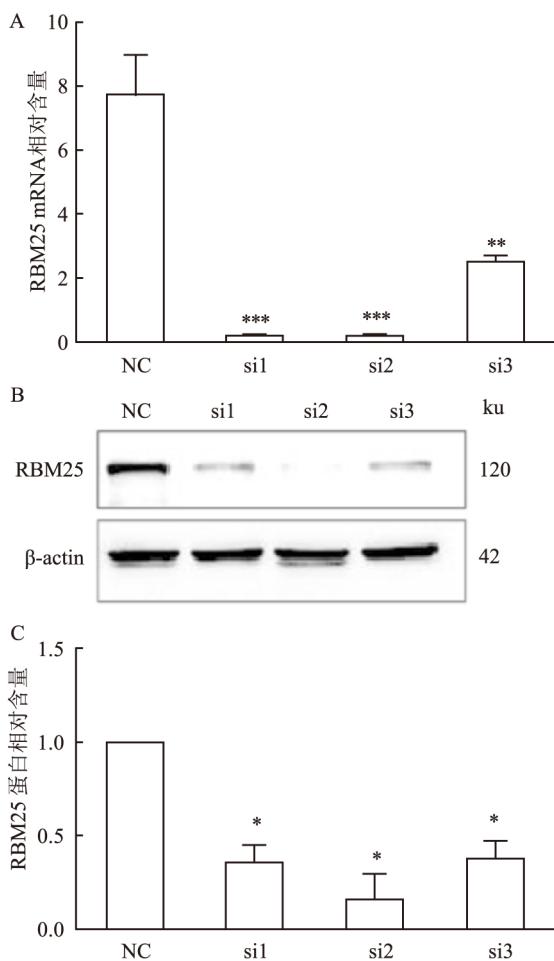


图4 qRT-PCR 和 Western blot 检测 RBM25 在 HCT 116 中 siRNA 敲低效果

A: qRT-PCR 检测 RBM25 mRNA 相对表达量; B: Western blot 检测 RBM25 siRNA 的敲低效果; C: B 图结果的统计学分析; NC: 阴性对照组; si1、si2、si3: siRNA 的第 1~3 条序列; 与 NC 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

2.4 RBM25 敲低抑制 HCT 116 的细胞增殖 为了确认 RBM25 能否促进结肠癌细胞的增殖, 本研究在 HCT 116 细胞中转染 RBM25 siRNA 后分别进行 CCK-8 实验和克隆形成实验。结果显示, 敲低组相对于阴性对照组的吸光度值明显降低。与阴性对照组相比, si1 组 ($P = 0.0192, n = 3$) 、 si2 组 ($P = 0.0176, n = 3$) 、 si3 组 ($P = 0.0063, n = 3$) 差异有统计学意义, 见图 5A。该实验表明 RBM25 敲低能够明显抑制 HCT 116 的增殖能力。克隆形成实验结果显示, RBM25 敲低组相对于阴性对照组细胞克隆团的数量明显降低。与阴性对照组比较, si1 组 ($P = 0.0234, n = 3$) 、 si2 组 ($P = 0.0012, n = 3$) 、 si3 组 ($P = 0.0034, n = 3$) 差异有统计学意义。该实验表明 RBM25 能够促进 HCT 116 的增殖能力, 见图 5B、5C。

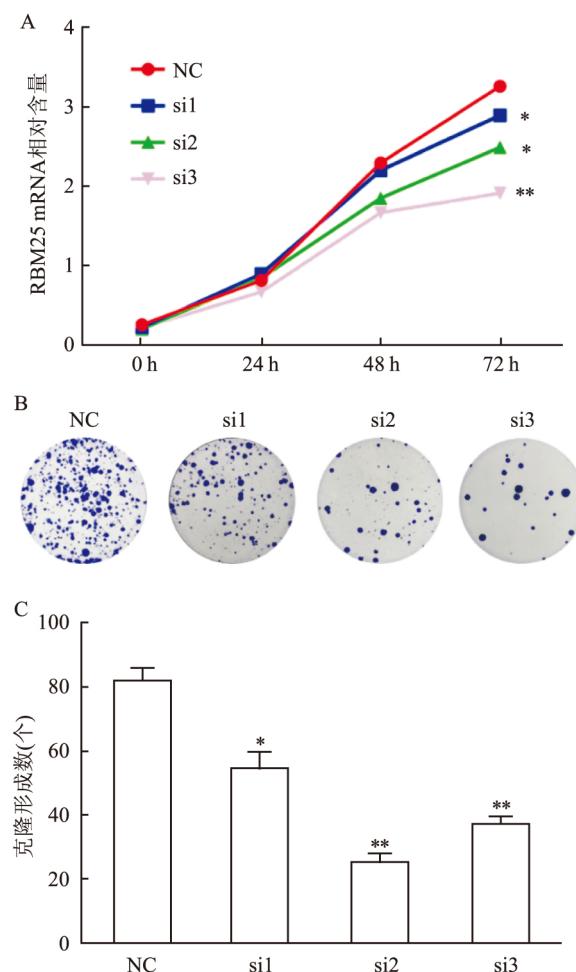


图5 RBM25 促进结肠癌细胞系 HCT 116 的细胞增殖能力

A: CCK-8 实验检测 RBM25 siRNA 敲低后 0~72 h 的 OD 值; 与 NC 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; B: RBM25 siRNA 敲低的克隆形成实验结果; C: 克隆形成实验结果的统计学分析; 与 NC 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3 讨论

RBM25 是一种细胞核内的 RNA 结合蛋白, 主要与剪接体相互作用调控前体 mRNA 的剪接进而发挥生物学作用。RBM25 对于许多细胞系的增殖是必不可少的^[4]。RBM25 以前曾被认为与人类心力衰竭的特定剪接事件有关^[7], 也是拟南芥中植物生长和非生物胁迫的关键因子^[8]。高通量测序显示, RBM25 基因的敲除显著改变了转录组, 特别是编码代谢过程和线粒体成分的蛋白质基因; RBM25 能够广泛协调整个基因组的基因表达, 同时主要影响细胞代谢^[9-10]。在急性髓系淋巴细胞白血病中, RBM25 作为肿瘤抑制因子调控疾病的发生发展, 主要通过调控凋亡调节因子 Bcl-X 基因和 MYC 抑制剂 BIN1 基因的剪接, RBM25 通过促进 BIN1 前体 mRNA 的剪切, 抑制 MYC 基因影响其下游靶分子发挥相应的促癌作用, 从而调控疾病的发生发展^[11]。

本课题组有关 RBM25 在肠癌中的研究有着不同的发现, 即 RBM25 的表达上调能够促进肠癌的发生和发展。前期通过对 10 对结直肠癌与配对正常组织(5 对转移性和 5 对非转移性结直肠癌)的蛋白组学分析对比, 从中筛选差异表达蛋白, 其中 RBM25 在结直肠癌组织中高表达^[6]。目前对 RBM25 的具体功能了解还很少, 但已有研究^[12]表明 RBM25 结合 p53 下调 E-钙黏着蛋白和上调波形蛋白, 促进前列腺癌的生长和转移。为了进一步确定 RBM25 能否作为结直肠癌的预后和诊断分子标志物, 本课题组通过对由 154 个独立患者的结直肠癌组织构建的微阵列进行免疫组织化学分析, 结果显示, RBM25 在结直肠癌组织中表达上调。且 RBM25 的表达强度与结直肠癌的肿瘤分化程度呈正相关($P < 0.05$)。本研究利用 TCGA 数据库分析显示, 肠癌中 RBM25 mRNA 的表达水平普遍高于相应正常组织, 但差异无统计学意义; 但 RBM25 的 mRNA 水平与肠癌患者的预后存在相关性。本研究分析了 20 对结直肠癌患者的癌组织与配对正常组织中 RBM25 蛋白和 mRNA 的表达, 结果显示结直肠癌组织 RBM25 蛋白水平上调($P < 0.05$), 但 mRNA 水平的表达差异无统计学意义, 表明 RBM25 在结直肠癌组织中的表达上调可能是翻译水平或翻译后水平的调节。结合 RBM25 在结肠癌细胞系中的表达上调结果, 对进一步揭示 RBM25 调控结直肠癌发生发展的分子机制有着重要的提示作用^[12]。为了在细胞水平上验证 RBM25 的生物学功能, 本研究

选取了 RBM25 高表达的结肠癌细胞系 HCT 116 进行 siRNA 敲低实验, CCK-8 和克隆形成实验结果一致表明, RBM25 能够促进 HCT 116 的细胞增殖, 提示 RBM25 对促进结直肠癌的发生发展发挥重要作用。

综上所述, 本研究证明了 RBM25 作为结直肠癌筛选、预后的分子靶标的潜能, 为 RBM25 在结直肠癌中作用机制的探索奠定了基础。本研究的不足之处在于收集样本数过少, 需要进一步扩大样本量确定结论的可靠性。

参考文献

- [1] Zhou R, Zhang J, Zeng D, et al. Immune cell infiltration as a biomarker for the diagnosis and prognosis of stage I – III colorectal cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2019, 68(3): 433 – 42.
- [2] Benson A B, Venook A P, Al-Hawary M M, et al. NCCN guidelines insights: Colorectal cancer, version 2. 2018 [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2018, 16(4): 359 – 69.
- [3] Sung J J, Lau J Y, Goh K L, et al. Increasing incidence of colorectal cancer in Asia: implications for screening [J]. *Lancet Oncol*, 2005, 6(11): 871 – 6.
- [4] Carlson S M, Soulette C M, Yang Z, et al. RBM25 is a global splicing factor promoting inclusion of alternatively spliced exons and is itself regulated by lysine mono-methylation [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(32): 13381 – 90.
- [5] Chen H, Luo J, Guo J. Identification of an alternative splicing signature as an independent factor in colorectal cancer [J]. *BMC Cancer*, 2020, 20(1): 904.
- [6] Guo A J, Wang F J, Ji Q, et al. Proteome analyses reveal S100A11, S100P and RBM25 are tumor biomarkers in colorectal cancer [J]. *Proteomics Clin Appl*, 2021, 15(1): e2000056.
- [7] Gao G, Dudley S C Jr. RBM25/LUC7L3 function in cardiac sodium channel splicing regulation of human heart failure [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2013, 23(1): 5 – 8.
- [8] Cheng C, Wang Z, Yuan B, et al. RBM25 mediates abiotic responses in plants [J]. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 292.
- [9] Xiao R, Chen J Y, Liang Z, et al. Pervasive chromatin-RNA binding protein interactions enable RNA-based regulation of transcription [J]. *Cell*, 2019, 178(1): 107 – 21.
- [10] Huang X, Liu J, Mo X, et al. Systematic profiling of alternative splicing events and splicing factors in left-and right-sided colorectal cancer [J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(19): 8270 – 93.
- [11] Ge Y, Schuster M B, Pundhir S, et al. The splicing factor RBM25 controls MYC activity in acute myeloid leukemia [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 172.
- [12] Yang Z, Qu C B, Zhang Y, et al. Dysregulation of p53-RBM25-mediated circAMOTL1L biogenesis contributes to prostate cancer progression through the circAMOTL1L-miR-493a-5p-Pcdha pathway [J]. *Oncogene*, 2019, 38(14): 2516 – 32.

网络出版时间: 2021-9-7 14:45 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210907.1400.007.html>

DEHP 促进酒精结合高脂饮食诱导大鼠酒精性脂肪肝的机制

徐 强^{1 2 3}, 黄 松^{1 2 3}, 季 珂^{1 2 3}, 徐维平^{4 5}, 魏 伟^{1 2 3}

摘要 目的 研究邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP)促进酒精结合高脂饮食诱导的酒精性脂肪肝的作用机制。方法 将60只SD大鼠随机分为6组:正常组、模型组(酒

2021-07-01 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 51672004); 安徽省自然科学基金(编号: 1608085MH176)

作者单位: ¹安徽医科大学临床药理研究所, 合肥 230032

²抗炎免疫药物教育部重点实验室, 合肥 230032

³抗炎免疫药物安徽省协同创新中心, 合肥 230032

⁴中国科学技术大学附属第一医院生命科学与医学部, 合肥 230001

⁵肿瘤免疫与营养治疗安徽省重点实验室, 合肥 230001

作者简介: 徐 强 男 硕士研究生;

魏 伟 男 教授 博士生导师, 责任作者, E-mail: wwei@ahmu.edu.cn;

徐维平 男 教授 博士生导师, 责任作者, E-mail: xu_weiping666@163.com

精)、酒精+DEHP 0.05 mg/kg 组、酒精+DEHP 5 mg/kg 组、酒精+DEHP 500 mg/kg 组以及 DEHP 500 mg/kg 对照组。取大鼠血清及肝脏组织, 用生化分析血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)的水平, HE 切片观察大鼠肝脏损伤状态, 用 Western blot 检测肝组织中 P-AMPK 及 lipin-1 蛋白的表达水平。结果 DEHP 促进了血清中 ALT、AST 的积累, 加剧了酒精结合高脂饮食诱导的小鼠病理状态, 同时上调了 lipin-1 蛋白水平, 抑制了 P-AMPK 蛋白水平。结论 DEHP 可能通过介导 lipin-1 和 P-AMPK 蛋白水平, 加重大鼠酒精性脂肪肝的病理过程。

关键词 脂肪肝; 酒精性; 邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯; lipin-1; P-AMPK

中图分类号 R 575.5; R 996

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)11-1718-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.11.008

酒精性脂肪肝(alcoholic fatty liver, AFL) 是酒

The expression of RBM25 in colorectal cancer and its effect on cell proliferation

Wang Fengjie, Guo Aijun, Gong Zhizhong, et al

(Dept of Biology, School of Life Science, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the expression of RNA binding motif protein 25 (RBM25) in colorectal cancer (CRC) tissues and further explore its effects on the function of CRC cells. **Methods** The TCGA database was used to analyze the differential expression of RBM25 in CRC and corresponding normal tissues, and the correlation between the expression of RBM25 mRNA and the prognosis of CRC patients. QRT-PCR and Western blot were conducted to determine the expression of RBM25 in the mRNA and protein levels in clinical CRC tissues and paired normal tissues, respectively. CRC cell line HCT 116 was transfected with RBM25-siRNAs, and then CCK-8 experiments and colony formation experiments were performed to investigate the effects of RBM25 knockdown on the growth and proliferation of CRC cells. **Results** TCGA database analysis showed that the differential expression of RBM25 mRNA between CRC tissues and corresponding normal tissues was not statistically significant ($P > 0.05$), but the level of RBM25 mRNA was negatively correlated with the patient's prognosis ($P < 0.05$); The results of qRT-PCR showed that RBM25 mRNA was higher in CRC tissues than that in paired normal tissues, but the differential expression was not statistically significant ($P > 0.05$). Western blot results showed that RBM25 was upregulated in CRC tissues ($P < 0.05$); RBM25-siRNA knockdown retarded the growth and proliferation of CRC cell line HCT 116 ($P < 0.05$). **Conclusion** The upregulation of RBM25 protein promotes the growth and proliferation of CRC cells, suggesting that RBM25 may be related to the occurrence and progression of CRC.

Key words colorectal cancer; RBM25; proliferation; differential expression