

网络出版时间: 2021-4-2 16:13 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210402.1340.014.html>

## 下调 PMEPA1 表达对肝癌细胞 HepG2 增殖与转移的影响

张涛<sup>1</sup> 陈强<sup>2</sup> 杜卫东<sup>2</sup> 吴正升<sup>2</sup>

**摘要** 目的 观察沉默前列腺跨膜雄激素诱导蛋白 1 (PMEPA1) 对肝癌细胞 HepG2 增殖和迁移的影响。方法 应用 qRT-PCR、免疫组化染色和 Western blot 方法检测 PMEPA1 在肝癌细胞 HepG2 中 mRNA 和蛋白表达情况。分析 PMEPA1 在肝细胞性肝癌 (HCC) 组织中的表达及其与临床病理特征的关系。使用 siRNA 干扰肝癌细胞 HepG2 中 PMEPA1 的表达,并应用 MTT 法、Transwell 法检测肝癌细胞 HepG2 的增殖及迁移能力。结果 PMEPA1 蛋白在 HCC 组织中表达高于正常肝组织。肝癌组织内 PMEPA1 蛋白表达与 HCC 患者肿瘤大小 ( $P=0.0366$ ) 和淋巴结转移 ( $P=0.0358$ ) 密切相关。与 HCC 患者性别、年龄、AFP 水平高低、脉管浸润、组织学分级及 TNM 分期等均无相关性。PMEPA1-siRNA 肝癌细胞 HepG2 PMEPA1 蛋白及 mRNA 表达均下调 ( $P<0.01$ )。siPMEPA1 转染细胞增殖能力及迁移能力均降低 ( $P<0.01$ )。结论 PMEPA1 表达可能促进 HCC 的增殖和迁移。

**关键词** 肝细胞癌; PMEPA1; 免疫组化; 细胞增殖; 转移  
中图分类号 R 735.7

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)05-0741-05  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.05.013

2020-08-11 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81472493、81972472); 安徽省转化医学研究院科研基金项目(编号: 2017zhys37)

作者单位: <sup>1</sup> 安徽医科大学第一附属医院病理科, 合肥 230032

<sup>2</sup> 安徽医科大学病理学教研室, 合肥 230032

作者简介: 张涛, 男, 硕士研究生;

吴正升, 男, 博士, 教授, 责任作者, E-mail: woozson@126.com

肝细胞性肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是全世界癌症相关死亡的四大死亡原因之一, 也是最常见的恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>。尽管目前外科手术、消融治疗等技术日益发展, 但由于肿瘤复发和肝内转移导致 HCC 患者的 5 年生存率仍然很低<sup>[2]</sup>。因此, 探索肝癌生物学的发生发展机制, 对寻找新的治疗靶点以改善目前 HCC 的治疗方式有着重要意义。前列腺跨膜雄激素诱导蛋白 1 (prostate transmembrane protein androgen induced 1, PMEPA1) 是一种 I b 型膜蛋白, 其在细胞内主要定位于溶酶体膜、核内体膜和高尔基复合体膜上<sup>[3]</sup>。PMEPA1 最初是在前列腺中被发现, 并证实为雄激素诱导上调基因。相关研究<sup>[4-6]</sup>表明, PMEPA1 在乳腺癌、结肠癌和肺癌等多种类型肿瘤中呈高度表达, 因此, PMEPA1 也被称为实体肿瘤相关基因 1 (solid tumor associated gene 1, STAG1)。PMEPA1 对 HCC 发生发展的影响及作用机制目前尚不清楚。该实验通过转染 siRNA 沉默 PMEPA1 在肝癌细胞株 HepG2 中的表达, 并分析对其增殖和转移的影响, 为进一步探讨 HCC 发生发展机制提供新的依据。

### 1 材料与方法

**1.1 材料与试剂** 收集来自安徽医科大学第一附属医院病理科 2014 年 1 月—2018 年 12 月 HCC 石蜡包埋标本 112 例, 癌旁非肿瘤肝组织石蜡包埋标

weeks of induction, the toluidine blue staining showed that the miR-205 overexpression group stained strongly positively in dark blue staining, while the control group and miR-NC group were weakly light blue. Immunocytochemical staining showed that the cells and extracellular matrix of miR-205 overexpression group were strongly positive brown-yellow staining, while those of the control group and miR-NC group were weakly positive yellowish staining. Immunofluorescence staining showed that the red fluorescence intensity of miR-205 overexpression group was stronger, and the red fluorescence intensity of control group and miR-NC group was dim. The toluidine blue staining in the control group and miR-NC group was weak light blue. The relative expression levels of Cbfa-1 mRNA and protein in the miR-205 overexpression group were lower than those in the control group and miR-NC group, and the relative expression levels of Smad3, TGF- $\beta$ 1, Col II mRNA and protein in the miR-205 overexpression group were higher than those in the control group and miR-NC group ( $P<0.05$ ). **Conclusion** MiR-205 overexpression can promote hASCs cell proliferation and differentiation towards chondrocytes, which may play a regulatory role by inhibiting Cbfa-1 and activating TGF- $\beta$ 1/Smad3 signaling pathway.

**Key words** human adipose-derived stem cells; chondrocyte differentiation; microRNA-205; core-binding factor  $\alpha$ -1

本 86 例。所有结果均由 2 位病理科医师采用双盲原则进行评判且所有患者并未进行术前放化疗。从 UALCAN 数据库中检索数据,其中正常肝组织 50 例,HCC 组织 371 例。人肝癌细胞株 HepG2(美国 ATCC 细胞库);鼠抗人  $\beta$ -actin 抗体、兔抗人 PMEPA1 抗体(武汉三鹰生物公司);RNA 反转录试剂、实时荧光定量 PCR 试剂(北京全式金生物公司);Transwell 小室、Lipofectamine 3000 转染试剂、0.25% 胰蛋白酶、蛋白裂解液(上海碧云天生物公司);无血清培养基 OPTI-MEM、RPMI 1640 培养基、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(美国 GIBCO 公司);免疫组化使用通用型 EnVision 两步法试剂盒及 DAB 显色剂(北京中杉金桥公司)。根据实验步骤进行操作,同时以 PBS 缓冲液作为阴性对照。

## 1.2 方法

**1.2.1 免疫组化染色** HCC 组织及正常肝组织标本使用福尔马林溶液(10%)固定,石蜡包埋,切成约 4  $\mu$ m 的连续切片,采用 EnVision 两步法对肝癌及正常肝组织中 PMEPA1 的表达水平进行检测,操作方法严格按照试剂盒说明书进行。

**1.2.2 结果判定** 将免疫组化染色强度分为以下 3 类:0 分:细胞无着色;1 分:细胞着色为淡黄色;2 分:细胞着色为深棕色;3 分。同时将阳性细胞百分比分为以下 4 类:0 分:无阳性细胞;1 分:阳性细胞  $\leq 20\%$ ;2 分:阳性细胞 21%~50%;3 分:阳性细胞 51%~75%;4 分:阳性细胞  $>75\%$ 。最终将染色强度分值与阳性细胞百分比分值相乘得出结果并分为以下 3 组:0 分:阴性组;1~4 分:低表达组;6~12 分:高表达组。

**1.2.3 细胞培养** 肝癌细胞株 HepG2 培养于 DMEM 培养基中(10% FBS、1% 青霉素-链霉素)并放置于 37  $^{\circ}$ C,含有 5%  $\text{CO}_2$  的培养箱中培养,1~2 d 后更换培养基,若细胞长满,则进行细胞传代。

**1.2.4 转染 siRNA** 购买 PMEPA1 的 siRNA (siPMEPA1 和 siPMEPA2) 和阴性对照(NC) (上海吉玛生物公司)。siRNA 序列如下:siPMEPA1 上游:5'-GCAACUGCAAACGCUCUUUTT-3';siPMEPA1 下游:5'-AAAGAGCGUUUGCAGUUGCTT-3';siPMEPA2 上游:5'-GAGCAAAGAGAAGGAUAAATT-3';siPMEPA2 下游:5'-UUUAUCCUUCUCUUUGCUCTT-3';NC 上游:5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3';NC 下游:5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'。将购买的 HepG2 细胞培养传代后,选取对数生长期的细胞接种于 6 孔板中,平均 6 孔板每孔接种  $2 \times 10^5$

个细胞密度进行过夜培养,依据转染试剂 Lipofectamine 3000 的说明书转染 siPMEPA1 和 NC 后收集细胞,然后采用 Western blot 及 qRT-PCR 法检测转染效率。

**1.2.5 收取蛋白进行 Western blot 检测** 收集待检测细胞,裂解液裂解细胞后提取总蛋白,使用 10% SDS-PAGE 凝胶电泳,在恒流 300 mA,转 90 min 的条件下转至 PVDF 膜上,再使用 5% 牛奶封闭 1 h,随后使用一抗 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜,第 2 天使用 PBST 溶液洗膜后孵育二抗 1 h 后,再次使用 PBST 溶液进行洗涤,最后加入显影液进行曝光并采集图像,结果进行灰度分析后进行数据统计。

**1.2.6 qRT-PCR 检测** 收集细胞,先使用 TRIzol 试剂从细胞中提取总 RNA,再使用 RNA 反转录试剂盒按照操作说明进行反转录 cDNA。在预变性 95  $^{\circ}$ C、40 s;95  $^{\circ}$ C、5 s;60  $^{\circ}$ C、30 s;95  $^{\circ}$ C、15 s;60  $^{\circ}$ C、57 s;95  $^{\circ}$ C、15 s 下完成,退火后采集荧光信号。本实验每组设置 3 个平行副孔,取平均值后将所得数据导出 Excel,并绘制柱状图。GAPDH 引物序列如下:上游:5'-TGCACCACCAACTGCTTAGC-3',下游:5'-GGCATGGACTGTGGTCATGAG-3'。PMEPA1 引物序列如下:上游:5'-GTCTGCACGCTCCTTCATCAGC-3';下游:5'-GCACTATCCATCAGGTCAGTGTCTG-3'。以上引物序列均由上海生工公司合成。

**1.2.7 MTT 检测细胞增殖能力** 先用胰酶消化细胞并计数。实验使用 96 孔板,每孔接种 HepG2 细胞  $1 \times 10^3$  个,每 1 组设置 6 个平行副孔,连续测定 5 d。检测时,现将 96 孔板中的培养基弃去,待测孔每孔加入 100  $\mu$ l 混合液(MTT 液与培养基按 1:9 比例混合)后放置于 37  $^{\circ}$ C 温箱孵育 2 h,弃去混合液后待测孔每孔加入 100  $\mu$ l DMSO 并置于摇床上避光摇 25 min。最后使用酶标仪检测 OD570,得出数值取平均值后作图。

**1.2.8 Transwell 实验检测细胞转移能力** 先用胰酶消化细胞并计数。Migration 实验使用 24 孔板,每孔先加入 800  $\mu$ l 的含有 FBS 的培养基,培养基上方置入 Transwell 小室,小室中加入总体积 200  $\mu$ l 的无血清重悬的细胞  $5 \times 10^4$  个,放置于 37  $^{\circ}$ C 温箱 6 h 后,拿出小室。使用 1  $\times$  PBS 溶液清洗小室内壁,再用 90% 的乙醇固定 30 min 后使用 0.1% 结晶紫染色 15 min。染色结束后,用细水流清洗小室内壁,用棉签清除剩余的结晶紫。每组随机选取 3 个视野在荧光倒置显微镜下观察后计数并作图。

**1.2.9 UALCAN 数据库** 根据 UALCAN 数据库

(<http://ualcan.path.uab.edu/index.html>) 中 RNA-seq 和肝癌类型的临床数据,分析 PMEPA1 mRNA 在人肝正常组织和 HCC 组织中的表达。根据数据库数据进行统计,作图。

**1.3 统计学处理** 本实验结果采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。定量资料使用  $\bar{x} \pm s$  表示,来源于 3 次独立实验。定性资料使用  $\chi^2$  检验 2 组间比较采用  $t$  检验,多组间比较采用  $F$  检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PMEPA1 在正常肝组织及 HCC 中的表达

通过 UALCAN 数据库检测在 50 例正常肝组织和 371 例 HCC 组织中 PMEPA1 的表达,结果显示: HCC 组织中 PMEPA1 表达的中位值高于正常肝组织( $P < 0.01$ ,见图 1)。通过免疫组化染色方法,检测 112 例 HCC 组织以及 86 例肝正常组织 PMEPA1 蛋白表达,结果表明 PMEPA1 蛋白定位于细胞质,以弥漫均质淡黄色至棕褐色颗粒作为阳性。每张切片随机选取 5 个高倍视野观察,采用半定量评分标准判断<sup>[7]</sup>。免疫组化结果显示 PMEPA1 蛋白在 HCC 组织呈阳性反应,见图 2,与正常肝组织相比,差异有统计学意义( $\chi^2 = 28.94$ ,  $P < 0.05$ ),见表 1。

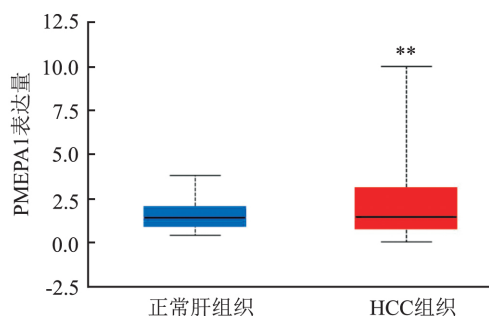


图 1 PMEPA1 在正常肝组织及 HCC 组织中的表达  
与正常肝组织比较: \*\*  $P < 0.01$

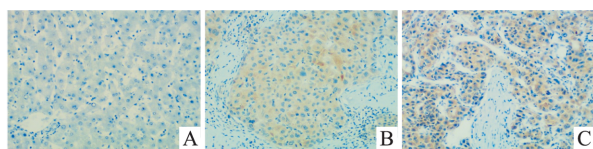


图 2 检测 PMEPA1 在不同肝组织中的表达状况 DAB  $\times 100$

A: 正常肝组织中 PMEPA1 阴性; B: PMEPA1 低表达 HCC 组织;  
C: PMEPA1 高表达肝癌组织

表 1 PMEPA1 在 HCC 组织和正常肝组织中表达 [ $n(\%)$ ]

组别	<i>n</i>	阳性表达	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
HCC 组织	112	93 (83.04)	28.94	< 0.05
正常肝组织	86	15 (17.44)		

**2.2 PMEPA1 蛋白在 HCC 组织中的表达与临床病理参数之间的关系** 通过分析 112 例 HCC 组织与 86 例正常肝组织的临床病理参数,发现 PMEPA1 蛋白表达与患者肿瘤直径 ( $\chi^2 = 4.3698$ ,  $P < 0.05$ ) 和淋巴结转移密切相关 ( $\chi^2 = 4.4069$ ,  $P < 0.05$ ),但与患者性别、年龄、AFP 水平高低、脉管浸润、组织学分级、TNM 分期均无相关性。见表 2。

表 2 PMEPA1 在肝癌组织中的表达与临床病理特征的关系 [ $n(\%)$ ]

临床病理参数	<i>n</i>	PMEPA1 高表达	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
性别				
男	57	44 (77.19)	0.087 2	0.767 8
女	55	48 (87.27)		
年龄(岁)				
>55	47	38 (80.85)	0.061 6	0.804 0
≤55	65	51 (78.46)		
肿瘤大小(cm)				
<5	65	31 (47.69)	4.369 8	0.036 6
≥5	47	44 (93.62)		
AFP (ng/ml)				
≤400	72	33 (45.83)	1.053 1	0.304 8
>400	40	27 (67.50)		
脉管浸润				
是	46	20 (82.61)	1.122 1	0.289 5
否	66	43 (80.95)		
淋巴转移				
是	79	59 (86.96)	4.406 9	0.035 8
否	33	12 (66.67)		
Edmondson 组织学分级				
I ~ II	74	42 (64.00)	1.401 4	0.236 5
III ~ IV	38	15 (83.87)		
TNM 分期				
I ~ II	69	41 (65.57)	1.086 3	0.297 3
III ~ IV	43	19 (92.45)		

**2.3 PMEPA1 在 HepG2 细胞中的表达** 随后检测 PMEPA1 在 HepG2 细胞中的表达,通过转染 PMEPA1 特异性的 siRNA 后,应用 qRT-PCR 检测 PMEPA1 的 mRNA 水平表达。与 NC 组相比,PMEPA1-siRNA 组中的 mRNA 表达水平下调,NC 组与 PMEPA1-siRNA 组差异有统计学意义( $F = 76.06$ ,  $P < 0.01$ ),见图 3A。同时通过 Western blot 检测,结果显示: PMEPA1-siRNA 组的 PMEPA1 的蛋白表达下调,差异有统计学意义( $F = 144.9$ ,  $P < 0.01$ ),见图 3B。

**2.4 下调 PMEPA1 对 HepG2 细胞活力的影响** 使用已转染 siPMEPA1 的 HepG2 细胞,应用 MTT 实验检测 PMEPA1 对 HepG2 细胞增殖的影响,结果显示第 5 天 siPMEPA1 转染组的细胞增殖低于 NC 组,且差异有统计学意义( $F = 163.5$ ,  $P < 0.01$ ) 见图 4。

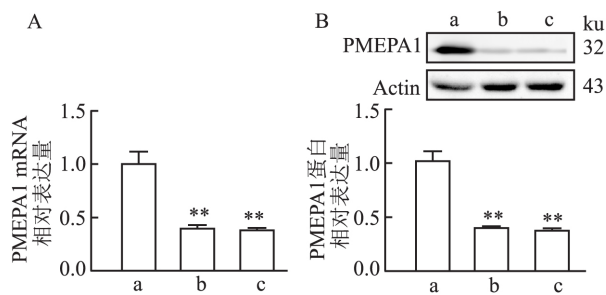


图3 转染 siPMEPA1 后 PMEPA1 表达量

A: qPCR 检测转染 siPMEPA1 后在 HepG2 细胞中的 mRNA 表达; B: Western blot 检测转染 siPMEPA1 后在 HepG2 细胞中的蛋白表达; a: NC 组; b: PMEPA1-siRNA1 组; c: PMEPA1-siRNA2 组; 与 NC 组比较: \*\*  $P < 0.01$

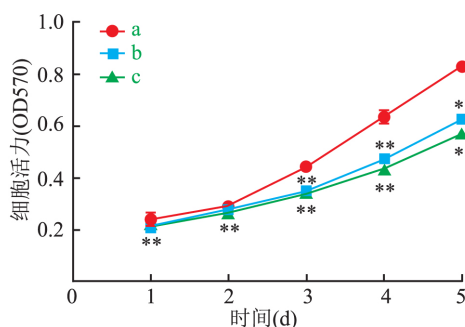


图4 使用 MTT 检测转染 siPMEPA1 后对 HepG2 细胞增殖能力的影响

a: NC 组; b: PMEPA1-siRNA1 组; c: PMEPA1-siRNA2 组; 与 NC 组比较: \*\*  $P < 0.01$

**2.5 下调 PMEPA1 抑制 HepG2 细胞迁移** 使用上述转染后的细胞,应用 Transwell 实验检测 PMEPA1 对 HepG2 细胞迁移能力的影响。实验结果表明,10 倍镜下观察,与 NC 组相比,PMEPA1-siRNA1 组和 PMEPA1-siRNA2 组细胞的迁移能力降低,且差异有统计学意义( $F = 161.3$ ,  $P < 0.01$ )。见图 5。

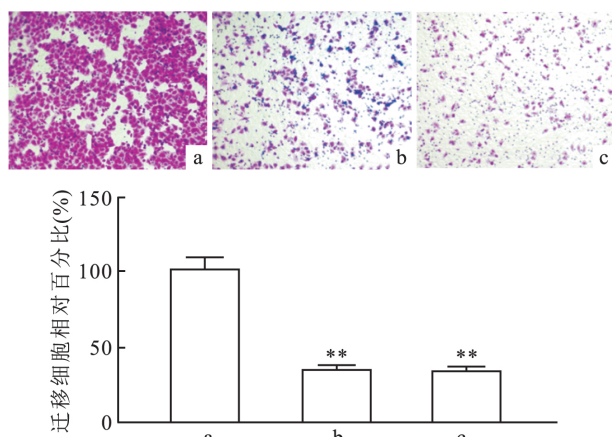


图5 使用 Transwell 法检测转染 siPMEPA1 后对 HepG2 细胞迁移的影响

a: NC 组; b: PMEPA1-siRNA1 组; c: PMEPA1-siRNA2 组; 与 NC 组比较: \*\*  $P < 0.01$

### 3 讨论

PMEPA1 基因定位于人染色体 20q13.31 ~ q13.33。该基因长度约为 62 kb,含有 5 个外显子和 3 个内含子<sup>[8]</sup>。PMEPA1 对肿瘤细胞的转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 起到诱导作用,进而影响肿瘤细胞的上皮间质转化(epithelial-mesenchymal-transition, EMT)过程<sup>[8]</sup>,EMT 是恶性肿瘤细胞发生侵袭和迁移的重要生物学过程,而 TGF- $\beta$  在 EMT 的发生过程中起到关键作用<sup>[9]</sup>。同时,TGF- $\beta$  可作为胚胎和癌症发展的重要调节剂,与细胞生长、分化和迁移密切相关<sup>[10-12]</sup>。

本研究首先通过检索 UALCAN 数据库,对数据库内 371 例 HCC 组织以及 50 例正常肝组织 PMEPA1 表达进行分析。结果显示:HCC 组织中 PMEPA1 表达中位值明显高于正常肝组织( $P < 0.01$ )。通过免疫组化染色方法,检测 112 例 HCC 组织以及 86 例肝正常组织,表明 PMEPA1 蛋白定位于 HCC 细胞质,呈弥漫均质淡黄色至棕褐色颗粒状。与肝正常组织内 PMEPA1 表达相比,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。另外,HCC 组织内 PMEPA1 蛋白表达与肿瘤大小( $P = 0.0366$ )和淋巴结转移( $P = 0.0358$ )密切相关。与性别、年龄、AFP 水平高低、脉管浸润、组织学分级和 TNM 分期均无相关性。体外实验显示,经 PMEPA1-siRNA 转染的肝癌细胞系 HepG2 的 PMEPA1 蛋白及其 mRNA 表达均下调( $P < 0.01$ )。siPMEPA1 转染 HepG2 细胞增殖能力以及转染 siPMEPA1 HepG2 细胞迁移能力均明显降低( $P < 0.01$ )。这一现象说明 PMEPA1 可以促进肝癌细胞的增殖和迁移。其作用机制目前尚不清楚。推测潜在的分子生物学机制包括:① PMEPA1 通过促进 TGF- $\beta$  受体溶酶体降解抑制 TGF- $\beta$  信号通路,促进肺癌的发生发展,影响着肺癌细胞的增殖、侵袭和迁移<sup>[13]</sup>;② PMEPA1 通过抑制 Smad3/4-e-Myc-p21 Cip1 信号通路促进雄激素受体阴性的前列腺癌细胞增殖<sup>[14]</sup>;③ PMEPA1 分子受经典 TGF- $\beta$ /Smad 信号途径的作用发生显著上调,沉默 PMEPA1 的表达能显著抑制乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的迁移能力,并使细胞形态由间质样向上皮样转变<sup>[15]</sup>。

### 参考文献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68

- ( 6 ) : 394 – 424.
- [2] Llovet J M , Burroughs A , Bruix J. Hepatocellular carcinoma [J]. *Lancet* 2003 , 362( 9399 ) : 1907 – 17.
- [3] Xu L L , Shi Y H , Petrovics G , et al. PMEPA1 , an androgen-regulated NEDD4-binding protein , exhibits cell growth inhibitory function and decreased expression during prostate cancer progression [J]. *Cancer Res* 2003 , 63( 15 ) : 4299 – 304.
- [4] Xu L L , Shanmugam N , Segawa T , et al. A novel androgen-regulated gene , PMEPA1 , located on chromosome 20q13 exhibits high level expression in prostate [J]. *Genomics* 2000 , 66( 3 ) : 257 – 63.
- [5] Giannini G , Ambrosini M I , Di Marcotullio L , et al. EGF- and cell-cycle-regulated STAG1/PMEPA1/ERG1. 2 belongs to a conserved gene family and is overexpressed and amplified in breast and ovarian cancer [J]. *Mol Carcinog* 2003 , 38( 4 ) : 188 – 200.
- [6] Rae F K , Hooper J D , Nicol D L , et al. Characterization of a novel gene , STAG1/PMEPA1 , upregulated in renal cell carcinoma and other solid tumors [J]. *Mol Carcinog* 2001 , 32( 1 ) : 44 – 53.
- [7] Wang L , Zhang J , Yang X , et al. SOX4 is associated with poor prognosis in prostate cancer and promotes epithelial-mesenchymal transition in vitro [J]. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2013 , 16( 4 ) : 301 – 7.
- [8] Rae F K , Hooper J D , Nicol D L , et al. Characterization of a novel gene , STAG1/PMEPA1 , upregulated in renal cell carcinoma and other solid tumors [J]. *Mol Carcinog* 2001 , 32( 1 ) : 44 – 53.
- [9] Christiansen J J , Rajasekaran A K. Reassessing epithelial to mesenchymal transition as a prerequisite for carcinoma invasion and metastasis [J]. *Cancer Res* 2006 , 66( 17 ) : 8319 – 26.
- [10] 刘 昕 , 李鹏云 , 高峻峻 , 等. TGF- $\beta$ 1 通过调节 HMGAI 表达抑制人滋养层 HTR-8/SVneo 细胞侵袭 [J]. *安徽医科大学学报* , 2019 , 54( 10 ) : 1584 – 9.
- [11] Qi X X , Li T G , Hao J , et al. BMP4 supports self-renewal of embryonic stem cells by inhibiting mitogen-activated protein kinase pathways [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 , 101( 16 ) : 6027 – 32.
- [12] 张传海 , 张鹤松 , 桂 阳 , 等. miR-7 与肝细胞性肝癌 EMT 及临床病理特征之间的相关性研究 [J]. *安徽医科大学学报* 2019 , 54( 3 ) : 429 – 32.
- [13] Bai X , Jing L , Li Y , et al. TMEPA1 inhibits TGF- $\beta$  signaling by promoting lysosome degradation of TGF- $\beta$  receptor and contributes to lung cancer development [J]. *Cell Signal* 2014 , 26( 9 ) : 2030 – 9.
- [14] Liu R , Zhou Z , Huang J , et al. PMEPA1 promotes androgen receptor-negative prostate cell proliferation through suppressing the Smad3/4-c-Myc-p21 Cip1 signaling pathway [J]. *J pathol* 2011 , 223( 5 ) : 683 – 94.
- [15] 邹远康 , 张一萌 , 王 婷 , 等. 跨膜前列腺激素诱导蛋白 1 ( PMEPA1 ) 促进乳腺癌细胞迁移并维持乳腺癌细胞的间质样特性 [J]. *细胞与分子免疫学杂志* 2016 , 32( 2 ) : 158 – 62.

## Effect of silencing PMEPA1 expression on proliferation and migration of HepG2 HCC cells

Zhang Tao<sup>1</sup> , Chen Qiang<sup>2</sup> , Du Weidong<sup>2</sup> , et al

(<sup>1</sup>Dept of Pathology , The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University , Hefei 230032;

<sup>2</sup>Dept of Pathology , Anhui Medical University , Hefei 230032)

**Abstract Objective** To observe the effect of silencing prostate transmembrane protein , androgen induced 1 ( PMEPA1 ) on proliferation and migration of HepG2 hepatocellular carcinoma ( HCC ) cells. **Methods** qRT-PCR , immunohistochemistry , and Western blot were used to detect the mRNA and protein expression of PMEPA1 in HepG2 HCC cells. Besides , the relationship between the expression of PMEPA1 in liver cancer and its clinicopathological features was analyzed. Additionally , siRNA was employed to interfere with the expression of PMEPA1 in HepG2 HCC cells. MTT and Transwell methods were adopted to detect the proliferation and migration of HepG2 HCC cells. **Results** The expression of PMEPA1 protein in liver cancer was higher than that in normal liver , which was correlated with tumour size (  $P=0.036$  ) and lymph node metastasis (  $P=0.035$  ) . Meanwhile , it had no correlation with gender , age , AFP level , vascular infiltration , histological grade , and TNM stage of HCC patients. Moreover , the PMEPA1 protein and mRNA expression of PMEPA1-siRNA HepG2 HCC cells was down-regulated (  $P<0.01$  ) , and the proliferation and migration of transfected cells in siPMEPA1 both decreased (  $P<0.01$  ) . **Conclusion** The expression of PMEPA1 may promote the proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cells.

**Key words** hepatocellular carcinoma; PMEPA1; immunohistochemistry; proliferation; migration