

JNK 通路在高糖促人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖中的作用

王琼, 王佑民, 毋飞飞, 胡红琳

摘要 目的 探讨 c-Jun 氨基末端激酶(JNK) 信号通路在高糖促进人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖中的作用。方法 体外培养人乳腺癌 MCF-7 细胞,分为低糖组(葡萄糖浓度为 5.5 mmol/L);高糖组(葡萄糖浓度为 25 mmol/L);加药组:高糖 + 不同浓度特异性 JNK 信号转导通路抑制剂 SP600125(10、20、40、80 μ mol/L)。四甲基偶氮唑盐(MTT) 比色法检测各组作用 24、48、72 h 细胞增殖水平;倒置显微镜下观察细胞形态;Annexin V-FITC/PI 染色结合流式细胞技术检测作用 24 h 后细胞凋亡率;Western blot 检测作用 24 h 后细胞内 JNK1/2 及磷酸化 JNK1/2(p-JNK1/2) 蛋白的表达水平。结果 ① MTT 检测结果显示:与低糖组比较,高糖能够促进 MCF-7 细胞增殖($P < 0.05$),SP600125 可以抑制高糖对 MCF-7 细胞的促增殖作用($P < 0.05$);② 凋亡检测结果显示:低糖组与高糖组凋亡率差异无统计学意义,SP600125 呈浓度依赖性促进高糖环境下 MCF-7 细胞的凋亡($P < 0.05$);③ Western blot 检测结果显示:与低糖组比较,高糖组 MCF-7 细胞 p-JNK1/2 蛋白表达量增加($P < 0.05$),且 p-JNK/JNK 比值上升($P < 0.05$);与高糖组相比,不同浓度的 SP600125 可以明显降低 p-JNK1/2 蛋白的表达($P < 0.05$),并下调 p-JNK/JNK 的比值($P < 0.05$)。结论 抑制 JNK 信号通路后可以抑制高糖所诱导的 MCF-7 增殖,并诱导其凋亡。

关键词 c-jun 氨基末端激酶 1/2; SP600125; 乳腺癌; 细胞凋亡; 增殖

中图分类号 R 587.1; R 737.9

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)02-0149-06

糖尿病与一些人类常见的恶性肿瘤如子宫内膜癌、胰腺癌、结直肠癌、膀胱癌、乳腺癌等具有密切联系。流行病学资料^[1]显示,糖尿病患者乳腺癌的发生风险增加。c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun NH₂-terminal kinase, JNK) 是跨细胞核膜蛋白激酶,属于有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK) 家族成员之一,是细胞内调控增殖与凋亡的重要信号转导通路^[2]。目前糖尿病导致乳腺癌

患病率增加的机制并未完全明确,长期的高血糖状态可能是机制之一。故该研究以人乳腺癌 MCF-7 细胞为模型,研究高血糖对细胞生长动力学的影响,并使用 JNK 信号通路特异性抑制剂 SP600125 阻断 MCF-7 细胞的 JNK 信号通路,观察其对高糖环境下细胞增殖及凋亡的影响,以初步探讨 JNK 信号通路在高糖环境下乳腺癌细胞增殖中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料、主要仪器与试剂 人乳腺癌 MCF-7 细胞(中国科学院上海细胞库); SP600125、四甲基偶氮唑盐(MTT) (美国 Sigma 公司); 兔抗人 JNK 及 p-JNK 单克隆抗体(美国 Cell Signaling 公司); 膜联蛋白(Annexin) V-异硫氰酸(FITC) 凋亡检测试剂盒、流式细胞仪(美国 BD 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人乳腺癌 MCF-7 细胞用含 10% 胎牛血清、葡萄糖、100 U/ml 青霉素、100 U/ml 链霉素的 DMEM 培养基,在体积分数为 5% CO₂、37 °C 培养箱中培养 2~3 d 传代一次。

1.2.2 实验分组及干预 低糖组:葡萄糖浓度为 5.5 mmol/L;高糖组:葡萄糖浓度为 25 mmol/L;加药组按照药物浓度分为 4 组:高糖 + 10 μ mol/L SP600125 组、高糖 + 20 μ mol/L SP600125 组、高糖 + 40 μ mol/L SP600125 组、高糖 + 80 μ mol/L SP600125 组。

1.2.3 MTT 法检测细胞增殖情况 收集对数生长期的细胞消化制成单细胞悬液,调整密度为 2×10^4 个/ml,每孔 200 μ l 接种于 96 孔板中。贴壁培养 12 h 后,按实验设计加入不同处理因素,作用 24、48、72 h 后每孔加入 5 mg/ml MTT 20 μ l,孵育 4 h,弃上清液,每孔加入 150 μ l DMSO,在摇床上振荡 10 min,使结晶物充分溶解,后用酶联免疫检测仪在 490 nm 波长下检测每孔的吸光度值(OD_{490 nm})。每组设 4 个复孔,独立重复 3 次。计算 MCF-7 细胞的生长抑制率:抑制率(%) = (高糖组 OD 值 - 加药组 OD 值) / 高糖组 OD 值 $\times 100\%$ 绘制生长抑制曲线。

1.2.4 流式细胞术检测细胞凋亡率 取对数生长期细胞以 1×10^5 个/ml 接种于 6 孔板,每孔 2 ml 培

2013-09-12 接收

基金项目:安徽省科技攻关项目(编号:1206c0805034);安徽省高校省级科学研究项目(编号:KJ2013Z126)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院内分泌科,安徽省内分泌代谢病省级实验室,合肥 230022

作者简介:王琼,女,硕士研究生;

王佑民,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: youminwang@21.cn.com

养至对数生长期,换无血清培养液培养 12 h 使细胞周期同步化,加入上述处理因素 5% CO₂ 培养细胞 24 h 后,0.25% 胰酶消化制成单细胞悬液,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,冷 PBS 洗涤 2 次。按照 AnnexinV-FITC/PI 双标试剂盒说明操作,分别收集各组细胞重悬于 100 μl Binding Buffer。加入 5 μl AnnexinV-FITC 及 5 μl PI,避光反应 15 min,再加入 400 μl Binding Buffer,计算各组细胞 AnnexinV-FITC 和 PI 染色细胞百分含量,实验重复 3 次。

1.2.5 Western blot 检测 JNK 蛋白表达 将细胞接种于 6 孔板,贴壁培养 12 h 后,加入不同的干预剂,培养 24 h 后,吸去细胞培养基,加入细胞裂解液,冰上裂解,刮下细胞,12 000 r/min、4 °C 离心 10 min,取上清液。采用 BCA 蛋白质定量后分别取蛋白 50 μg 加入上样缓冲液,95 °C 变性 5 min。SDS-PAGE 凝胶每条泳道上样 50 μg 蛋白,50 V 恒定电压使溴酚蓝染料从 5% 浓缩胶进入 10% 分离胶后,以 75 V 恒定电压电泳至溴酚蓝迁移到分离胶底端,然后以 18 V 恒压将蛋白电转移至硝酸纤维素膜 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉封闭 3 h,加入 1:1 000 稀释的一抗(JNK、p-JNK、β-actin) 4 °C 孵育过夜,经 TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,后再加入相应的的二抗,室温孵育 2 h, TBST 洗涤 3 次,每次 10 min。以免疫印迹化学发光自显影。用 Quantity One 凝胶成像分析软件对免疫印迹条带进行半定量分析,并用同一张膜上相应泳道的 β-actin 条带灰度进行校正。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用独立样本 *t* 检验。

2 结果

2.1 SP600125 对 MCF-7 细胞增殖活性的影响

MTT 结果显示,与低糖组比较,高糖组 24、48、72 h 细胞 OD_{490 nm} 明显升高 ($P < 0.05$),并随作用时间的延长更加明显。SP600125 作用 24、48、72 h 后,除 10 μmol/L 的 SP600125 作用 24 h 的 OD 值与高糖组之间差异无统计学意义外,其余各浓度组均可以明显抑制乳腺癌细胞的增殖,其 OD 值与高糖组比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。且随着作用时间及浓度的增加,其增殖抑制率增加。每个时间段内浓度组之间抑制率差异有统计学意义 ($F_{24h} = 165.429, P < 0.01; F_{48h} = 37.357, P < 0.01; F_{72h} = 128.659, P < 0.01$); 每个浓度不同时间段之间抑制率差异有统计学意义 ($F_{10\mu mol/L} = 16.59, P < 0.01$;

$F_{20\mu mol/L} = 51.202, P < 0.01; F_{40\mu mol/L} = 61.305, P < 0.01; F_{80\mu mol/L} = 52.03, P < 0.01$)。见图 1、2。

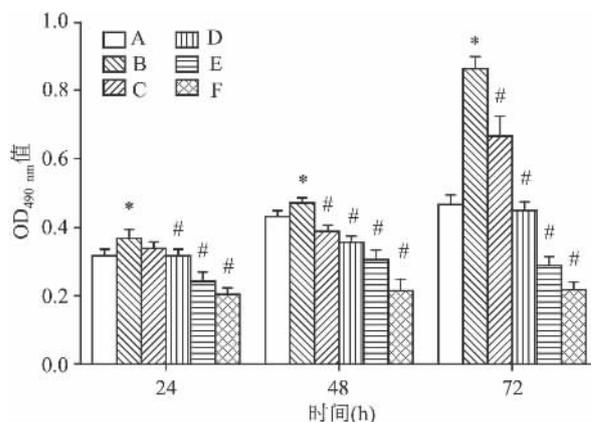


图 1 高糖环境下不同浓度 SP600125 对 MCF-7 细胞生长增殖的影响

A: 低糖组; B: 高糖组; C: 高糖 + 10 μmol/L SP600125 组; D: 高糖 + 20 μmol/L SP600125 组; E: 高糖 + 40 μmol/L SP600125 组; F: 高糖 + 80 μmol/L SP600125 组; 同一时间段内,与低糖组比较: * $P < 0.05$; 与高糖组比较: # $P < 0.05$

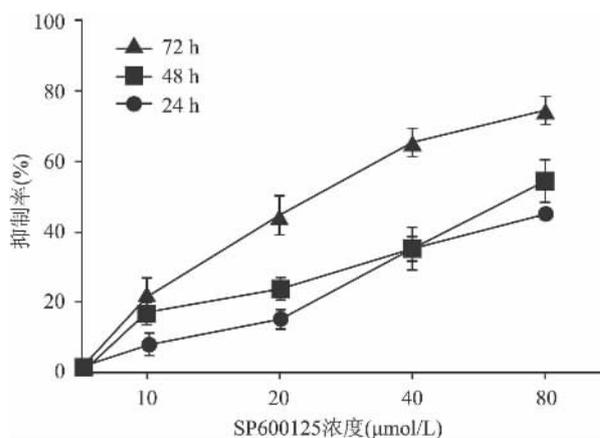


图 2 不同浓度 SP600125 作用于 MCF-7 细胞的生长抑制曲线

2.2 不同干预对 MCF-7 细胞形态学影响 倒置显微镜下观察细胞,低糖组细胞与高糖组细胞均贴壁生长,呈多角形,排列均匀,两组细胞形态无明显差异;SP600125 作用细胞 24 h 后,低浓度组细胞贴壁不良,高浓度组细胞变圆变小,培养液中出现大量漂浮细胞,见图 3。

2.3 高糖环境下不同浓度 SP600125 对 MCF-7 细胞凋亡的影响 流式细胞仪检测结果显示,与低糖组比较,高糖组凋亡率(早期凋亡率 + 晚期凋亡率)无明显的变化;与高糖组比较,SP600125 干预后明显促进了乳腺癌细胞的凋亡,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),且随着 SP600125 浓度的增加,细胞凋

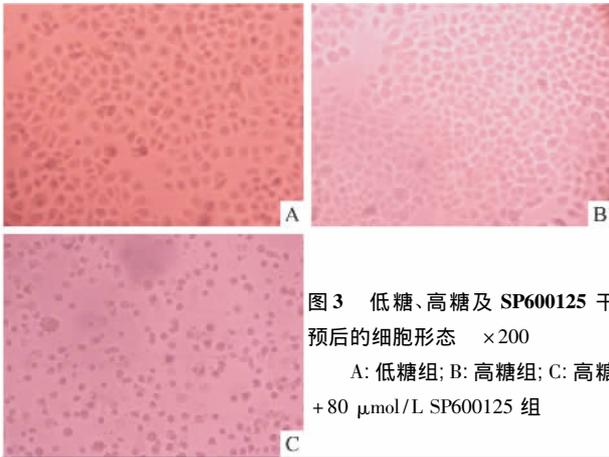


图3 低糖、高糖及 SP600125 干预后的细胞形态 ×200
A: 低糖组; B: 高糖组; C: 高糖 + 80 μmol/L SP600125 组

亡率增加,各浓度组间差异有统计学意义 ($F = 305.666, P < 0.01$)。见图4、表1。

表1 高糖环境下不同浓度 SP600125 干预 MCF-7 细胞对凋亡的影响 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	凋亡率 (%)
低糖	1.45 ± 0.34
高糖	2.53 ± 0.65
高糖 + 10 μmol/L SP600125	6.32 ± 0.47 **
高糖 + 20 μmol/L SP600125	13.27 ± 1.17 **
高糖 + 40 μmol/L SP600125	22.82 ± 1.74 **
高糖 + 80 μmol/L SP600125	28.34 ± 1.45 **

与高糖组比较: ** $P < 0.01$

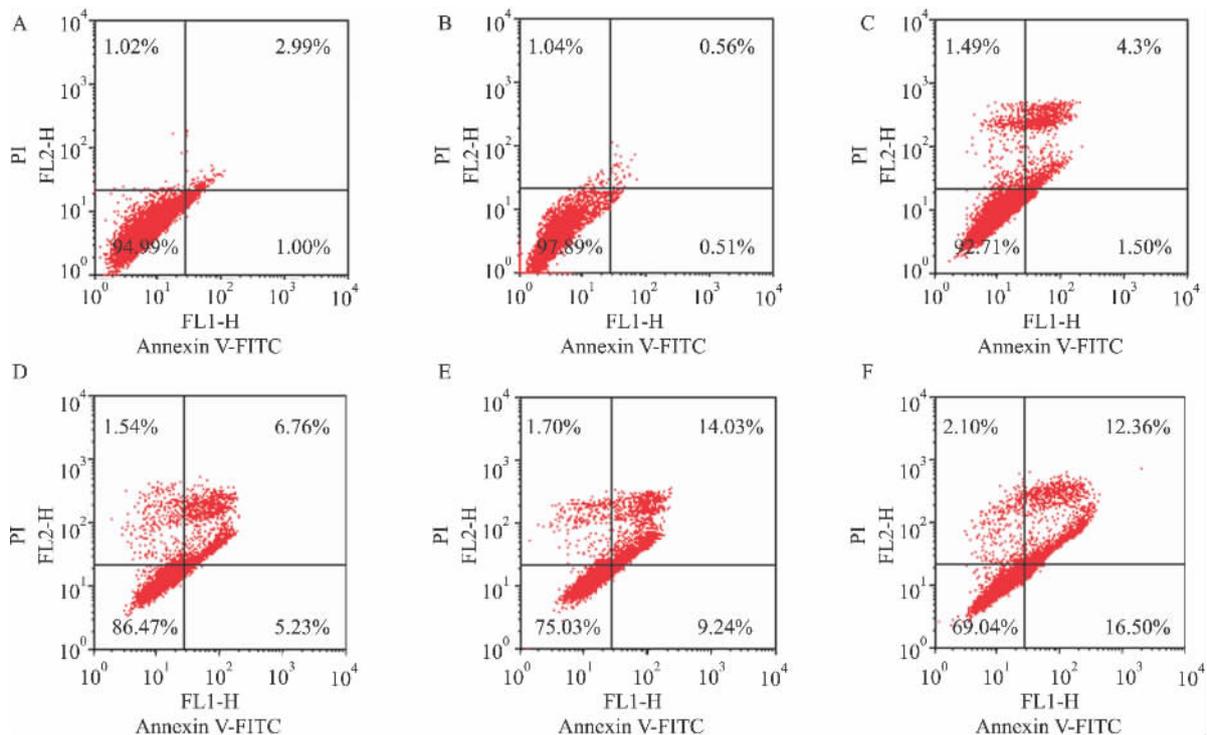


图4 不同浓度 SP600125 对 MCF-7 细胞凋亡的影响

A: 低糖组; B: 高糖组; C: 高糖 + 10 μmol/L SP600125 组; D: 高糖 + 20 μmol/L SP600125 组; E: 高糖 + 40 μmol/L SP600125 组; F: 高糖 + 80 μmol/L SP600125 组

2.4 高糖环境下, SP600125 对 MCF-7 细胞 JNK1/2、p-JNK1/2 蛋白表达的影响 Western blot 检测结果显示,与低糖组比较,高糖组 p-JNK1/2 蛋白表达增加,且 p-JNK/JNK 比值增加,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。JNK 的表达无明显差异。与高糖组比较,10 μmol/L 及 20 μmol/L 的 SP600125 对 JNK1/2 的表达没有影响,40 μmol/L 及 80 μmol/L 的 SP600125 可以减少 JNK1/2 的表达 ($P < 0.05$)。与高糖组比较,SP600125 各浓度组均可以减少 p-JNK1/2 蛋白的表达以及 p-JNK/JNK 比值,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),且随着 SP600125 浓度的增加, p-JNK/JNK 的比值进一步下降。各浓度组间差异有统计学意义 ($F_{p-JNK1/JNK1} = 73.028, P < 0.01$; $F_{p-JNK2/JNK2} = 164.252, P < 0.01$)。见图5。

3 讨论

糖尿病和乳腺癌是威胁人类生命健康的两大疾病,二者具有密切联系。Michels et al^[1]发现糖尿病女性患乳腺癌的风险明显增加,在绝经期妇女更为显著。Buttros Dde et al^[3]认为绝经后的乳腺癌患者比无乳腺癌的女性有更高的罹患糖尿病的风险。研究^[4-6]显示糖尿病患者的高血糖状态可能参与肿瘤的发生发展。长期的高血糖一方面可以为肿瘤细胞

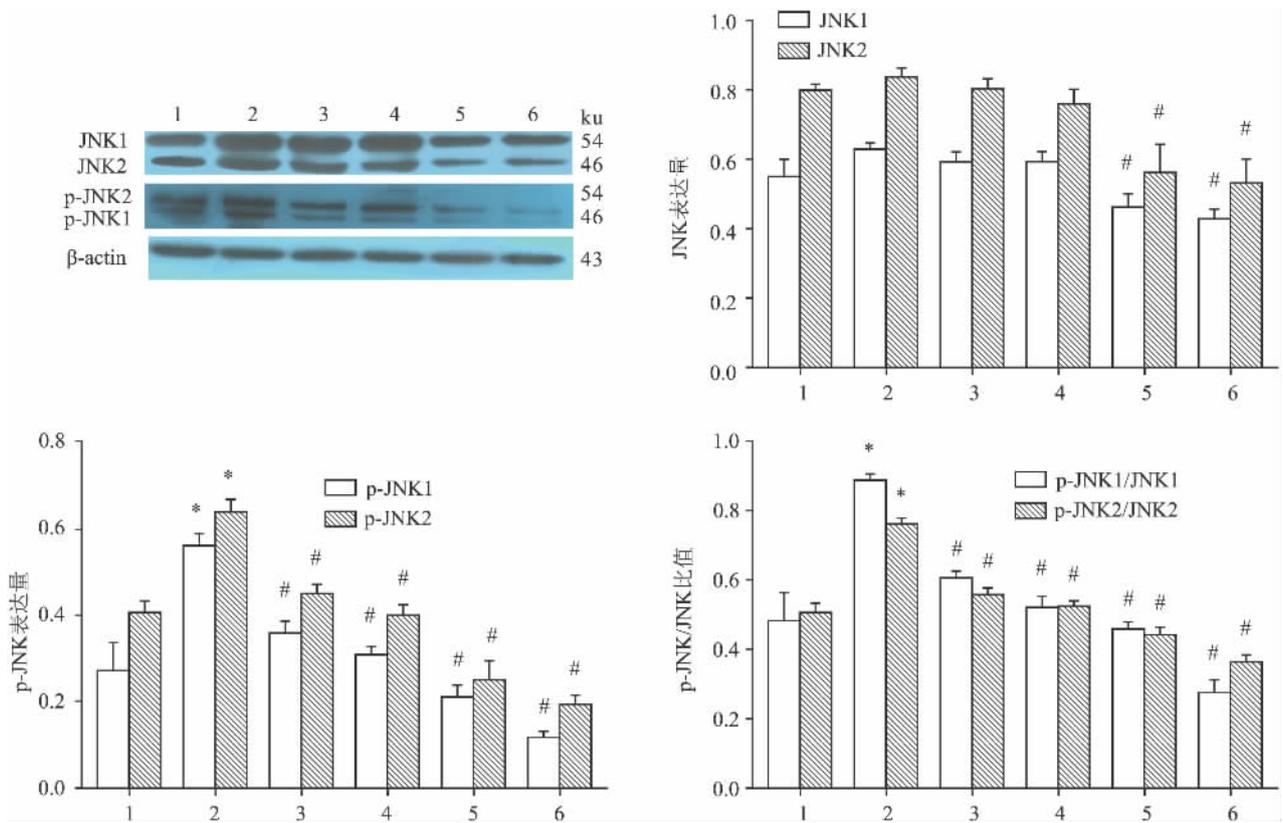


图5 各组对 MCF-7 细胞 JNK1/2、p-JNK1/2 蛋白表达的影响

1: 低糖组; 2: 高糖组; 3: 高糖 + 10 μmol/L SP600125 组; 4: 高糖 + 20 μmol/L SP600125 组; 5: 高糖 + 40 μmol/L SP600125 组; 6: 高糖 + 80 μmol/L SP600125 组; 与低糖组比较: * P < 0.05; 与高糖组比较: # P < 0.05

提供能量,促进细胞生长^[4],另一方面会破坏线粒体的呼吸酶系统,增加无氧酵解,还可以促使正常细胞转变为糖酵解能力较强的肿瘤细胞以适应高血糖^[5]。Gupta et al^[7]以 5 mmol/L 的低糖及 25 mmol/L 的高糖对乳腺癌细胞进行干预,发现高糖可以降低 MCF-7 细胞的活性,而促进 MDA-MB-231 细胞的增殖。本研究以 25 mmol/L 的高糖培养基对 MCF-7 细胞进行干预,体外模拟高糖血症状态,结果显示与低糖组比较,高糖组可以明显促进 MCF-7 细胞的增殖,且具有时间依赖性,而两组的凋亡率无明显差异。这与 Gupta et al^[7]的结果存在差异。

长期的高糖状态可以增加葡萄糖自身氧化及蛋白质糖化作用,激活多元醇途径,导致氧自由基产生过多,抗氧化能力减弱,引发氧化应激和慢性炎症,激活机体的应激信号通路,如 JNK。JNK 信号通路参与细胞生长、分化、癌基因转化及凋亡等病理生理过程。研究^[8]表明减少 MCF-7 细胞 JNK1/2 的表达,可以降低细胞生长速率,抑制集落形成,促进细胞凋亡。另一项研究^[9]显示 JNK 活性升高降低了乳腺癌患者的生存率。相反, Brosseau et al^[10]发现

1,25 二羟维生素 D3 可以激活 JNK 通路而诱导 MCF-7 细胞凋亡。Amin et al^[11]发现, JNK 的激活可以负性调节胰岛素样生长因子 IGF-1 所诱导的 MCF-7 细胞增殖。因此, JNK 通路对乳腺癌细胞的增殖与凋亡存在双重效应。

为探讨高糖对乳腺癌细胞增殖的影响是否有 JNK 参与,本研究进一步采用 SP600125 对高糖环境下 MCF-7 细胞进行干预,结果显示高糖可以使 MCF-7 细胞中 JNK 的活化形式 p-JNK 在总 JNK 中所占比例上升,提示高糖环境可以激活 JNK 通路。SP600125 各浓度组均可以明显降低 p-JNK 的表达及 p-JNK/JNK 的比值,均有效抑制了高糖环境下 MCF-7 细胞 JNK 通路的活化,并抑制细胞增殖、促进细胞凋亡。且随着 SP600125 浓度的增加,对 JNK 通路的抑制进一步加深,对 MCF-7 细胞的增殖抑制及促进凋亡作用进一步加强。结果提示 JNK 信号通路可能参与高糖环境下 MCF-7 细胞的增殖。至于 40、80 μmol/L SP600125 引起总 JNK 表达变化的机制尚不清楚,有待进一步探讨。目前 JNK 通路参与乳腺癌细胞增殖的机制并未完全明确。JNK 可

以增加生长因子受体结合蛋白关联蛋白 2 (GAB2) 的表达,影响磷脂酰肌醇-3 的磷酸化,促进鼠的乳腺肿瘤的生长和转移^[12];可以通过细胞外信号调节激酶促进乳腺癌上皮细胞与间质细胞之间的形态转化^[13];增强 c-Jun 的转录活性,下调凋亡相关基因的转录及凋亡蛋白的表达;促进肿瘤血管的形成。

综上所述,本研究显示高糖可以促进乳腺癌 MCF-7 细胞增殖, JNK 信号通路的激活可能是其中的机制之一,干预 JNK 通路有望成为乳腺癌治疗的新方向。

参考文献

- [1] Michels K B, Solomon C G, Hu F B, et al. Type 2 diabetes and subsequent incidence of breast cancer in the nurses health study [J]. Diabetes Care, 2003, 26(6): 1752-8.
- [2] Weston C R, Davis R J. The JNK signal transduction pathway [J]. Curr Opin Cell Biol, 2007, 19(2): 142-9.
- [3] Buttros Dde A, Nahas E A, Vespoli Hde L, et al. Risk of metabolic syndrome in postmenopausal breast cancer survivors [J]. Menopause, 2013, 20(4): 448-54.
- [4] Shams M E, Al-Gayyar M M, Barakat E A. Type 2 diabetes mellitus-induced hyperglycemia in patients with NAFLD and normal LFTs: relationship to lipid profile, oxidative stress and pro-inflammatory cytokines [J]. Sci Pharm, 2011, 79(3): 623-34.
- [5] Zhou J, Huang W, Tao R, et al. Inactivation of AMPK alters gene expression and promotes growth of prostate cancer cells [J]. Oncogene, 2009, 28(18): 1993-2002.
- [6] Yang X, Ko G T, So W Y, et al. Associations of hyperglycemia and insulin usage with the risk of cancer in type 2 diabetes: the Hong Kong diabetes registry [J]. Diabetes, 2010, 59(5): 1254-60.
- [7] Gupta C, Tikoo K. High glucose and insulin differentially modulates proliferation in MCF-7 and MDA-MB-231 cells [J]. J Mol Endocrinol, 2013, 51(1): 119-29.
- [8] Parra E, Ferreira J. Knockdown of the c-Jun-N-terminal kinase expression by siRNA inhibits MCF-7 breast carcinoma cell line growth [J]. Oncol Rep, 2010, 24(5): 1339-45.
- [9] Yeh Y T, Hou M F, Chung Y F, et al. Decreased expression of phosphorylated JNK in breast infiltrating ductal carcinoma is associated with a better overall survival [J]. Int J Cancer, 2006, 118(11): 2678-84.
- [10] Brosseau C M, Pirianov G, Colston K W. Involvement of stress activated protein kinases (JNK and p38) in 1,25 dihydroxyvitamin D3-induced breast cell death [J]. Steroids, 2010, 75(13-14): 1082-8.
- [11] Amin S, Kumar A, Nilchi L, et al. Breast cancer cells proliferation is regulated by tyrosine phosphatase SHP1 through c-jun N-Terminal kinase and cooperative induction of RFX-1 and AP-4 transcription factors [J]. Mol Cancer Res, 2011, 9(8): 1112-25.
- [12] Nasrazadani A, Van Den Berg C L. c-Jun n-terminal kinase 2 regulates multiple receptor tyrosine kinase pathways in mouse mammary tumor growth and metastasis [J]. Genes Cancer, 2011, 2(1): 31-45.
- [13] Wang J, Kuitatse I, Lee A V, et al. Sustained c-Jun-NH2-kinase activity promotes epithelial-mesenchymal transition, invasion, and survival of breast cancer cells by regulating extracellular signal-regulated kinase activation [J]. Mol Cancer Res, 2010, 8(2): 266-77.

Role of JNK signaling pathway in the proliferation of human breast cancer cell line MCF-7 induced by high glucose

Wang Qiong, Wang Youmin, Wu Feifei, et al

(Dept of Endocrinology, Institute of Endocrinology and Metabolism, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the role of c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling pathway in the proliferation of human breast carcinoma cell line MCF-7 induced by high glucose. **Methods** MCF-7 cells were cultured *in vitro* and then treated with SP600125, a specific JNK inhibitor. The experiment was divided into low glucose group, and high glucose group, high glucose + 10 $\mu\text{mol/L}$ SP600125 group, high glucose + 20 $\mu\text{mol/L}$ SP600125 group, high glucose + 40 $\mu\text{mol/L}$ SP600125 group, and high glucose + 80 $\mu\text{mol/L}$ SP600125. The cell growth inhibitory rate was detected by Methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay; the cell morphological changes were observed by invert microscope; the apoptosis rate was analyzed by using Annexin V-FITC/PI fluorescence staining together with flow cytometry; the expressions of JNK1/2 and p-JNK1/2 were examined by Western blot. **Results** High glucose could promote the proliferation of MCF-7 cells compared with low glucose group ($P < 0.05$). Western blot implicated that high glucose increased the the expressions of p-JNK and p-JNK/JNK compared with low glucose ($P < 0.05$).

RNA 干扰沉默 HOXA2 基因表达对肝癌细胞株行为的影响

胡晓璐¹, 王一成², 欧 伶¹

摘要 目的 研究同源异型盒 A2 (HOXA2) 基因对肝癌细胞生长、细胞周期及凋亡的影响, 探讨其作为潜在肝癌治疗靶点的可行性。方法 采取实时定量 PCR 和逆转录 PCR 检测 HOXA2 基因的表达情况; siRNA 干扰 HOXA2 基因在肝癌细胞株 PLC/PRF/5、MHCC-97L 中表达, 通过 CCK-8 评价肝癌细胞增殖情况, 采用软琼脂克隆形成试验评价锚泊非依赖生长情况, 流式细胞术分析细胞周期及细胞凋亡。结果 实时定量 PCR 和逆转录 PCR 检测结果显示 HOXA2 基因在肝癌组织中表达上调 ($P < 0.05$)。针对 HOXA2 基因设计合成 siRNAs 能够特异性沉默 HOXA2 基因在肝癌细胞株 PLC/PRF/5、MHCC-97L 中的表达, 在干扰了 HOXA2 基因表达后肝癌细胞株的软琼脂克隆形成能力和肝癌细胞增殖能力均受到不同程度的抑制。流式细胞结果表明, 干扰 HOXA2 基因表达能够减缓细胞周期进展, 使肝癌细胞阻滞于 G₁ 期, 并且 S 期减少。Annexin V 和 PI 双染色细胞凋亡实验表明, 干扰 HOXA2 基因能促进肝癌细胞凋亡。结论 HOXA2 基因可以较显著影响肝癌细胞增殖和凋亡。

关键词 RNA 干扰; 同源异型盒基因; 肝癌; 细胞周期; 细胞凋亡

中图分类号 Q 291

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)02-0154-06

肝细胞肝癌的发生发展多伴有逐步增加的遗传不稳定性, 包括基因组不稳定性 and 微卫星不稳定性^[1-2]。同源异型盒基因 (homeobox genes, HOX),

在生物发育过程中发挥重要作用, 其异常表达参与人类多种恶性肿瘤的发生、发展及预后^[3-4]。HOX 基因分为 HOX A、HOX B、HOX C 和 HOX D 四簇, 各簇分别定位于不同染色体的特定区域, 其中 HOX A 定位于 7p15.3^[5-6]。该基因表达蛋白具有 DNA 结合及转录因子活性, 通过结合在 DNA 相应位置并启动相关基因转录从而调控胚胎及成体细胞增殖、分化。该基因异常表达会导致异常形态结构的形成, 进而导致细胞恶性转化为肿瘤^[7-8]。该文通过对 HOXA2 基因在肝癌中功能研究, 为进一步研究可能的肝癌分子标志物或肝癌治疗靶点提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2006 年 1 月 ~ 2011 年 11 月无锡市人民医院部分住院肝癌患者手术切取病灶及周围 5 cm 以外的组织分别作为癌组织和相应的癌旁组织, 放入液氮中并移至 -80 °C 冰箱保存。所获取的原发性癌灶及癌旁的诊断均以病理诊断为最终依据。依据埃德曼 (Edmondson) 分级标准, 临床手术获得的肝癌样本大多数为 II ~ III 级。本研究所用到的组织样本 (约 1 cm³) 均来源于患者的原发性癌灶和癌旁组织, 共 63 例, 男 52 例, 女 11 例, 年龄 30 ~ 75 (60 ± 8) 岁。每例样本的获得均符合相关的伦理学规定。

1.2 方法

1.2.1 组织 RNA 抽提 首先将匀浆所用器皿进行去除 RNA 酶处理, 用焦碳酸二乙酯 (DEPC) 水浸泡数分钟后, 200 °C 烘干 4 h; 待器皿冷却至室温后, 加入液氮预冷。将组织从液氮中迅速取出研磨成粉末

2013-08-08 接收

基金项目: 上海市自然科学基金 (编号: 07ZR14082)

作者单位: ¹华东理工大学生物工程学院, 上海 200237

²上海南方模式生物研究中心, 上海 201203

作者简介: 胡晓璐, 女, 硕士研究生;

欧 伶, 男, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: ouling@ecust.edu.cn

SP600125 remarkably inhibited the activation of JNK1/2 and increased the cell growth inhibitory rate and apoptosis rate in MCF-7 cells induced by high glucose compared with those treated with high glucose only. **Conclusion** High glucose can stimulate the proliferation of MCF-7 cells *in vitro*. Inhibition of JNK signaling pathway in MCF-7 cells can significantly inhibit cell proliferation and promote apoptosis. JNK signaling pathway may play an important role in the high glucose-induced proliferation of MCF-7 cells.

Key words c-jun N-terminal kinase (JNK 1/2); specific JNK inhibitor (SP600125); breast cancer; cell apoptosis; proliferation