

网络出版时间:2025-10-28 13:32:35 网络出版地址:<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20251027.1514.027>

核糖体蛋白 L26 对胃癌细胞凋亡及增殖的影响

王 倩¹, 杨 芳², 聂 微², 胡里花¹, 张茂林¹, 赵理想¹, 金相任³, 严芝强^{1,3}

(¹ 贵州医科大学研究生院, 贵阳 550004;

贵州医科大学附属医院² 临床检验中心、³ 胃肠外科, 贵阳 550004)

摘要 目的 探讨核糖体蛋白 L26 (RPL26) 在胃癌细胞 (GC) 中的表达及其对肿瘤细胞凋亡、增殖的影响。方法 Western blot 检测胃黏膜上皮细胞 GES-1 和 GC 细胞株中 *RPL26* 的表达情况。选择 GC 细胞 HGC-27 构建过表达 *RPL26* 稳转细胞株, GC 细胞 HGC-27、AGS 构建敲低 *RPL26* 稳转细胞株, 并用 Western blot 检测 *RPL26* 过表达及敲低效率。细胞计数试剂盒 8 (CCK-8) 法和克隆形成实验及 Transwell 实验检测过表达和敲低 *RPL26* 后对 GC 细胞增殖、迁移能力的影响; Western blot 检测过表达和敲低 *RPL26* 稳转细胞株中磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (AKT) 信号通路相关因子 PI3K、AKT、磷酸化 PI3K (p-PI3K)、磷酸化 AKT (p-AKT) 及下游因子凋亡相关蛋白 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 及细胞周期蛋白 A (Cyclin A)、G₁/S 特异性周期蛋白-D1 (Cyclin D1)、细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 4、CDK2 的表达。结果 与 GES-1 相比, *RPL26* 在 HGC-27 中呈高表达 ($t_{HGC-27} = 4.97$; $P < 0.01$), 在 AGS 中表达升高, 但差异无统计学意义。在 HGC-27、AGS 细胞中: CCK-8、克隆形成实验提示, 敲低 *RPL26* 后细胞的增殖能力下降; Transwell 实验提示敲低 *RPL26* 后细胞迁移能力减弱; Western blot 实验显示, 敲低 *RPL26* 后 HGC-27、AGS 细胞中 Bcl-2 表达下降 ($t_{HGC-27} = 11.50$, $t_{AGS} = 4.77$; $P < 0.001$, $P < 0.01$), Bax 表达升高 ($t_{HGC-27} = 9.63$, $t_{AGS} = 4.05$; $P < 0.001$, $P < 0.05$); 在 HGC-27 细胞中, 敲低 *RPL26* 后 p-PI3K/PI3K 和 p-AKT/AKT 的比值降低 ($t_{p-PI3K/PI3K} = 3.86$, $t_{p-AKT/AKT} = 8.29$; $P < 0.05$, $P < 0.01$), 细胞周期蛋白 Cyclin A、Cyclin D1、CDK4、CDK2 表达均下降 ($t = 9.61, 5.10, 11.64, 7.81$; $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 而在 HGC-27 细胞中过表达 *RPL26* 则呈现相反趋势。结论 敲低 *RPL26* 可能通过抑制 PI3K/AKT 信号通路, 使细胞周期阻滞于 G₁/S 期, 从而抑制细胞增殖并促进凋亡。

关键词 胃癌; 核糖体蛋白 L26; PI3K/AKT 信号通路; 细胞增殖; 细胞凋亡

中图分类号 R 735.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)11-2043-09

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.11.008

胃癌 (gastric cancer, GC) 是消化道常见肿瘤, 2022 年全球新增病例约 97 万^[1]; 在中国, GC 发病率第 5, 病死率第 3^[2]。由于其隐匿性, 早期诊断率低, 多数患者确诊时已到中晚期, 错过最佳手术期, 术后生活质量较差, 病死率极高^[3-4]。深入解析 GC 分子机制, 发掘新治疗靶点, 是当前研究重点。

核糖体蛋白 L26 (ribosomal protein L26, RPL26) 属于核糖体蛋白 L24P 家族, 参与多种生物学过程。其过表达可通过调控 MDM2-p53/p73 轴促进细胞凋亡^[5]。然而, 在胰腺癌^[6] 和乳腺癌^[7] 研究中, RPL26 蛋白表达升高却与不良预后相关; 沉默

RPL26 基因后, 细胞增殖被显著抑制, 且细胞凋亡进一步增加。这一矛盾现象与 RPL26 蛋白通过激活 p53 和 p73 促进凋亡的结论相悖, 提示其在肿瘤中的作用及机制存在复杂性。目前, RPL26 在 GC 中的生物学功能尚不明确。该研究探讨 RPL26 对 GC 细胞凋亡与增殖的影响, 旨在为进一步揭示其在 GC 细胞中的作用机制提供实验基础与理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞系及试剂 人胃癌细胞系 AGS、MKN-45、HGC-27、胃黏膜上皮细胞 GES-1、人胚胎肾细胞 HEK-293T 均购自中国科学院细胞库; DH-5 α 大肠埃希菌细胞购自生工生物工程 (上海) 有限公司; 目的质粒、包装质粒 pMD2. G、psPAX2 购自广州艾基生物技术有限公司; 胎牛血清购自以色列 Bioind 公司; 0.25% Trypsin-EDTA、DMEM、RPMI-1640 基础培养基购自美国 Gbico 公司; 质粒提取试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司; Lipofectamine 2000TM 转染试剂购自上海碧云天生物技术有限公司。

2025-10-03 接收

基金项目: 贵州省科技计划项目 (编号: 黔科合基础-ZK[2024]一般 196); 贵州省卫生健康委科学技术基金 (编号: gzwkj2021-168); 贵州医科大学博士科研启动基金 (编号: gyfybsky-2021-31, gyfybsky-2021-66)

作者简介: 王 倩, 女, 硕士研究生;
严芝强, 男, 副教授, 硕士生导师, 通信作者, E-mail:
936458581@qq.com

司;PEG8000 购自西格玛奥德里奇(上海)公司;G-418 遗传霉素硫酸盐、1% 结晶紫染液、5×蛋白上样缓冲液、高效细胞或组织 RIPA 裂解液、蛋白酶抑制剂(phenyl methane sulfonyl fluoride, PMSF)、聚氰基丙烯酸正丁酯(butyleyanocrylate, BCA)蛋白浓度测定试剂盒购自北京索莱宝公司;多聚甲醛购自北京雷根公司;细胞计数试剂盒 8 (cell counting kit-8, CCK-8) 试剂购自大连美仑公司;Transwell 小室购自美国 Corning 公司;RPL26 重组抗体购自美国 Thermo 公司;一抗:兔抗人甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glycer-aldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)购自南京巴傲得公司;B 淋巴细胞瘤-2 基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)购自武汉 Proteintech 公司;细胞周期蛋白 A(Cyclin A)、G₁/S 特异性周期蛋白-D1(G₁/S-specific cyclin D1, Cyclin D1)、周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDK)4、CDK2 购自沈阳万类生物;蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)、磷酸化 AKT(phosphorylated AKT, p-AKT)购自美国 CST 公司;磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)、磷酸化 PI3K(phosphorylated PI3K, p-PI3K)购自北京博奥森生公司;辣根过氧化物酶山羊抗兔二抗购自上海雅酶公司;聚偏二氟乙烯膜购自美国 Millipore 公司。

1.2 蛋白质谱分析 收集构建好的 β 内酰胺酶(β -Lactamase, LACTB)敲低及相应的对照 AGS 稳转细胞株细胞沉淀, 提取总蛋白, Bradford 试剂盒测蛋白浓度。取 20 μ g 蛋白进行 SDS-PAGE 电泳, 电泳结束后考马斯亮蓝 R-250 染色进行蛋白质检测; 将蛋白样品进行 MTM 标记; 使用 L-3000HPLC 系统, 色谱柱为 Waters BEH C18 进行洗脱并收集馏分; 将每个馏分上清液各取 1 μ g 进样, 使用 Q ExactiveTM HF-X 质谱仪进行质谱检测并生成质谱检测原始数据。使用软件 Proteome Discoverer 2.4 (PD2.4, Thermo) 进行数据分析。蛋白质谱分析实验委托北京诺禾致源科技股份有限公司完成。

1.3 细胞培养 细胞于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 和 DMEM 培养基中, 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。

1.4 过表达、敲低 **RPL26** 稳定细胞系的构建

RPL26 过表达慢病毒 pCDH-CMV-MCS-EF1-Neo 载体、**RPL26** 小发夹 RNA(shRNA)慢病毒 PLKO.1-Neo 载体和相对应的对照组慢病毒载体由广州艾基生物技术有限公司构建。将构建好的质粒经 DH-

5 α 转化、平板涂布、菌液扩增, 随后将所得的菌液根据质粒提取步骤进行质粒提取; 将目的质粒与包装质粒 psPAX2、pMD2.G, 在 Lipo8000TM 转染试剂下将其转入 HEK-293T 细胞中, 6 h 后换液处理, 随后收集 24、48、72 h 的上清液即病毒液, 向其加入 1×PEG8000 NaCl 进行病毒液浓缩。用上述浓缩病毒液感染 HGC-27、AGS 细胞, 将获得的 shRNA 病毒感染目的细胞 HGC-27、AGS, 将细胞分为对照组(sh-NC)和敲低组(sh-RPL26), 用 G-418(5 mg/mL)筛选稳转细胞株。以同样的方法构建过表达 **RPL26** 的 HGC-27 细胞, 细胞分为对照组(Vector)和过表达组(OE-RPL26)。

1.5 CCK-8 法检测细胞增殖 取对数生长细胞悬液, 向 96 孔板中, 每孔 100 μ L/5 000 个细胞, 分别在 0、24、48、72 h 再每孔加入 10 μ L CCK-8 试剂孵育 2 h, 用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度, 每组设置 3 个复孔并重复 3 次。

1.6 克隆形成实验 取对数生长细胞悬液, 接种于 6 孔板中, 每孔 2 mL/1 000 个细胞, 37 °C、5% CO₂ 培养箱中孵育 14 d; 多聚甲醛固定 30 min, 0.1% 结晶紫染色 20 min, 自然静置风干计数细胞克隆数。

1.7 Transwell 细胞迁移实验 上室加入 HGC-27 细胞 200 μ L/80 000 个细胞、AGS 细胞 200 μ L/50 000 个细胞的不含血清的培养基, 下室加入 650 μ L 含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基, 37 °C、5% CO₂ 培养箱中(HGC-27 细胞孵育 48 h、AGS 细胞孵育 24 h); 取出细胞小室, 多聚甲醛固定 30 min, 0.1% 结晶紫染色 20 min, 棉签擦去滤膜内层的细胞, 自然静置风干, 显微镜下拍照(100 \times)。

1.8 Western blot 收集细胞沉淀, 向沉淀中加入 RIPA 裂解液(裂解液: PMSF = 100:1), 冰上裂解 30 min, 超声破碎仪充分裂解, 4 °C、12 000 r/min 离心 20 min, 取上清液, BCA 试剂盒测蛋白浓度。加入 1/4 蛋白原液体积的 5×蛋白上样缓冲液混匀并加热变性。取 30 μ g 蛋白进行 SDS-PAGE 电泳, 恒流转印到聚偏二氟乙烯膜上, 5% 脱脂牛奶封闭 2 h, 放入相应的一抗, GAPDH(1:10 000)、RPL26(1:5 000)、Bax(1:1 000)、Bcl-2(1:1 000)、CyclinA(1:500)、CyclinD1(1:500)、CDK4(1:500)、CDK2(1:500)、PI3K(1:1 000)、p-PI3K(1:10 000)、AKT(1:1 000)、p-AKT(1:1 000), 置于 4 °C 摆床过夜。次日洗膜 4 次, 二抗(1:10 000)室温孵育 2 h, 洗膜 4 次, 曝光显影。

1.9 统计学处理 利用 Graphpad Prism 9.5 进行

分析,计量资料用均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较使用t检验;多组间数据采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 蛋白质谱分析结果 蛋白质谱分析结果显示34个基因的表达量改变,其中18个基因上调,16个基因下调,最终筛选出RPL26作为靶基因。见图1。

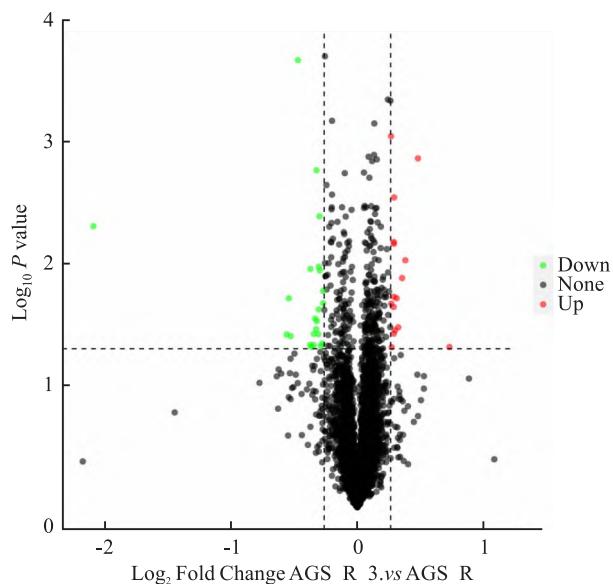


图1 差异基因火山图

Fig. 1 Volcano plot of differentially expressed genes

2.2 RPL26 在 GC 细胞中的表达 Western blot 检测GC细胞株RPL26的蛋白表达水平,与GES-1相比,RPL26在MKN45、HGC-27中呈高表达($t_{MKN45} = 4.56$, $t_{HGC-27} = 4.97$; $P < 0.05$, $P < 0.01$),在AGS细胞中表达升高,但差异无统计学意义。见图2。

2.3 RPL26 过表达稳转细胞株及 RPL26 敲低稳细胞转株构建结果 Western blot 检测结果显示,在HGC-27细胞中:OE-RPL26组的RPL26蛋白表达水平较Vector组升高($t = 7.99$, $P < 0.01$;图3A、D);sh-RPL26组的RPL26蛋白表达水平较sh-NC组降低($t = 12.62$, $P < 0.001$;图3B、D)。在AGS细胞中,sh-RPL26组的RPL26蛋白表达水平较sh-NC组降低($t = 11.10$, $P < 0.001$;图3C、D)。提示RPL26过表达及敲低稳转细胞株构建成功。

2.4 敲低 RPL26 对 GC 细胞的增殖能力的影响

CCK-8显示:在72 h时OE-RPL26组的吸光度与Vector组趋于一致(图4A),而sh-RPL26组的吸光

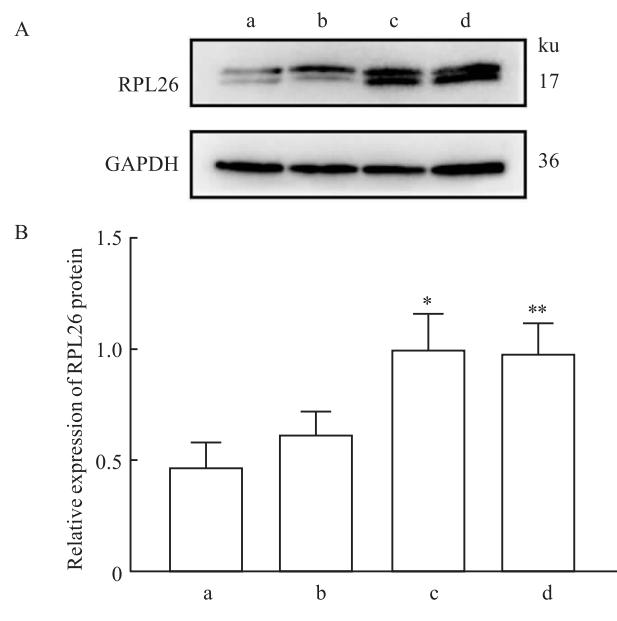


图2 GC 细胞与正常细胞中 RPL26 的表达水平

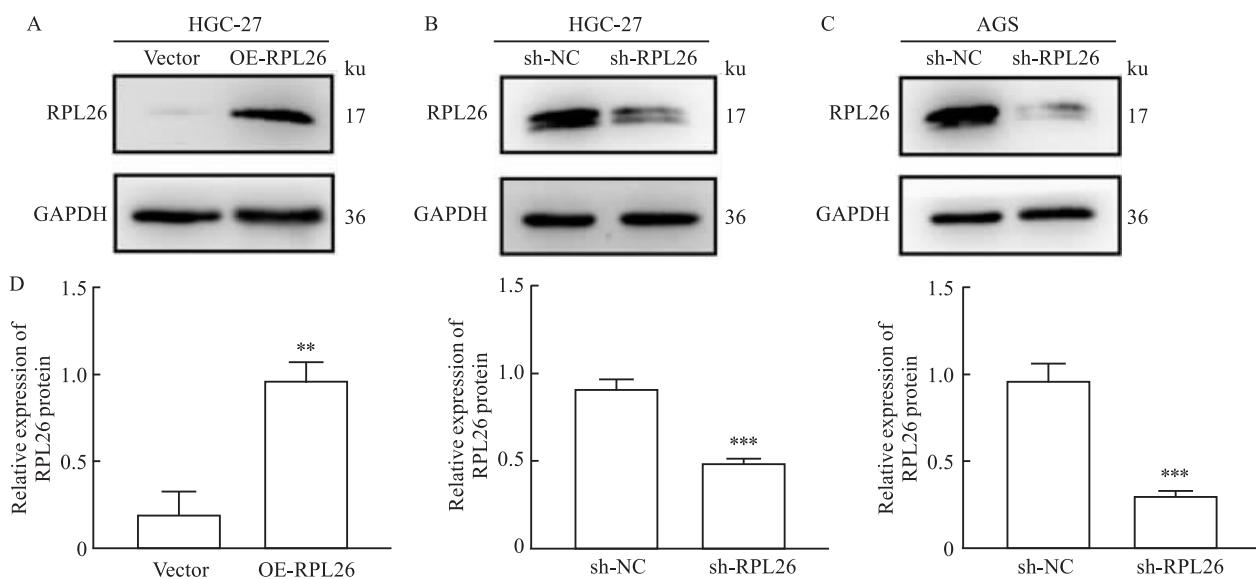
Fig. 2 The expression level of RPL26 in GC cells and normal cells

A: The relative expression of RPL26 in gastric cancer cells was detected by Western blot; B: Histogram of protein expression statistics; a: GES-1; b: AGS; c: MKN-45; d: HGC-27; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs GES-1 group.

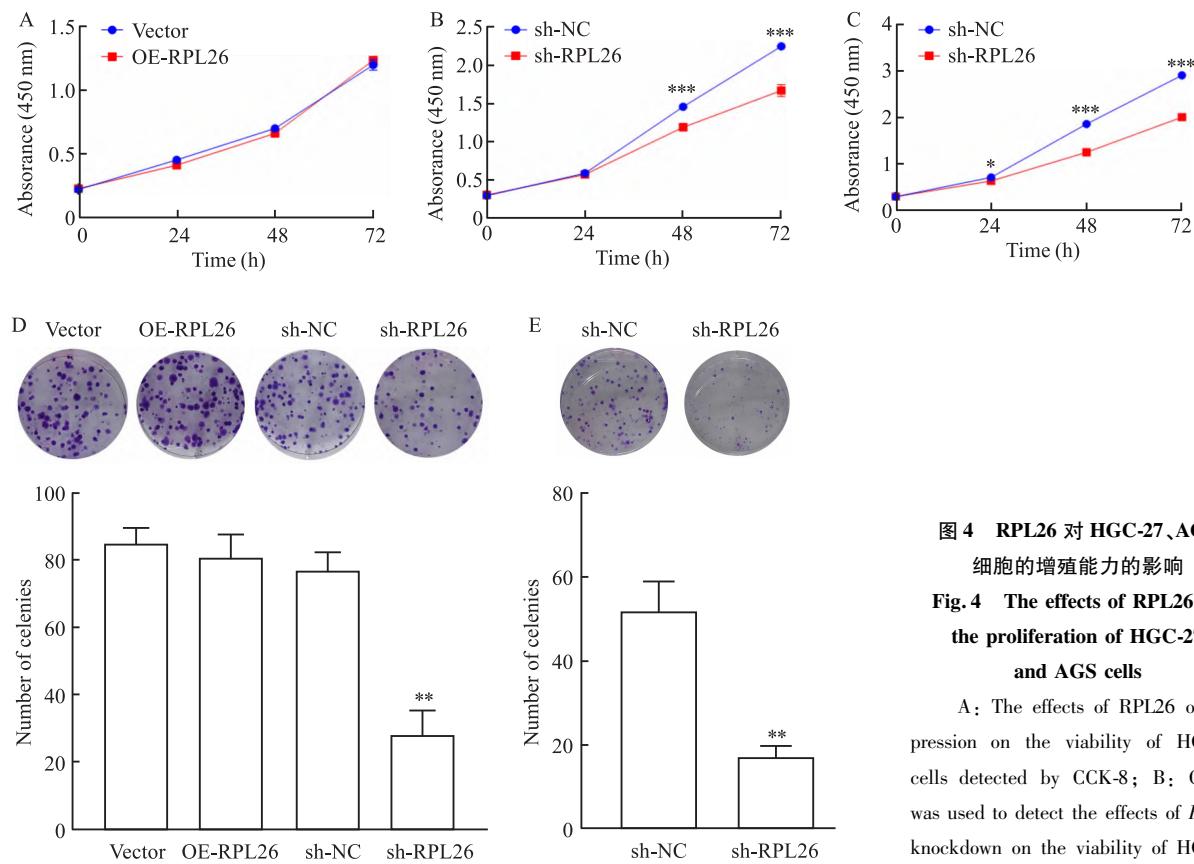
度较sh-NC组降低($t_{HGC-27} = 11.29$, $t_{AGS} = 33.19$, $P < 0.001$;图4B、C)。克隆形成实验显示:OE-RPL26组的细胞克隆数目与Vector组趋于一致(图4D),而sh-RPL26组的细胞克隆数目明显减少($t_{HGC-27} = 9.31$, $t_{AGS} = 6.74$, $P < 0.01$;图4D、E)。以上结果提示:敲低RPL26后细胞的增殖能力下降,过表达RPL26后细胞增殖能力未发生明显改变。

2.5 敲低 RPL26 对 GC 细胞迁移能力的影响 Transwell细胞迁移实验显示:在HGC-27细胞中,OE-RPL26组细胞穿过小室的数目高于Vector组($t = 9.48$, $P < 0.001$;图5A);在HGC-27、AGS细胞中,sh-RPL26组细胞穿过小室的数目低于sh-NC组($t_{HGC-27 sh-RPL26} = 31.00$, $t_{AGS sh-RPL26} = 36.07$, $P < 0.0001$;图5B、C)。以上结果提示:敲低RPL26后细胞迁移能力减弱。

2.6 敲低 RPL26 对 GC 细胞凋亡的影响 通过Western blot检测,在HGC-27细胞中:与Vector组相比,OE-RPL26组中的促凋亡相关标志物Bax表达下降,抗凋亡相关蛋白Bcl-2表达升高($t_{Bax} = 13.61$, $t_{Bcl-2} = 4.56$; $P < 0.001$, $P < 0.05$,图6A);与sh-NC

图 3 *RPL26* 过表达及敲低稳细胞转株构建结果Fig. 3 Construction of *RPL26* overexpression and knockdown stable cell lines

A: The overexpression efficiency of *RPL26* in HGC-27 cells was detected by Western blot; **B**: The knockdown efficiency of *RPL26* in HGC-27 cells was detected by Western blot; **C**: The knockdown efficiency of *RPL26* in AGS cells was detected by Western blot; **D**: *RPL26* protein expression statistical histogram; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ compared between two groups.

图 4 *RPL26* 对 HGC-27、AGS 细胞的增殖能力的影响Fig. 4 The effects of *RPL26* on the proliferation of HGC-27 and AGS cells

A: The effects of *RPL26* overexpression on the viability of HGC-27 cells detected by CCK-8; **B**: CCK-8 was used to detect the effects of *RPL26* knockdown on the viability of HGC-27 cells; **C**: The effects of *RPL26* knock-

down on AGS cell viability was detected by CCK-8; **D**: Colony formation assay was used to detect the effects of *RPL26* on the colony formation ability of HGC-27 cells $\times 2$; **E**: Colony formation assay was used to detect the effects of the knockdown of *RPL26* on colony formation ability of AGS $\times 2$; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs sh-NC group.

组相比,sh-RPL26 组中 Bax 表达升高,Bcl-2 表达下降($t_{Bax} = 9.63, t_{Bcl-2} = 11.50; P < 0.001$,图 6B);在 AGS 细胞中,与 sh-NC 组相比,sh-RPL26 组中 Bax 表达升高,Bcl-2 表达下降($t_{Bax} = 4.05, t_{Bcl-2} = 4.77; P < 0.05, P < 0.01$,图 6C)。以上结果提示:敲低 RPL26 可能促进 GC 细胞的凋亡。

2.7 敲低 RPL26 对 PI3K/AKT 细胞信号通路的影响 Western blot 检测 RPL26 对 PI3K/AKT 信号通路中相关蛋白 PI3K、AKT、p-PI3K、p-AKT 的影响,结果显示:与 Vector 组相比,OE-RPL26 组的 p-PI3K/PI3K 和 p-AKT/AKT 的比值增加($t_{p-PI3K/PI3K} = 3.61, t_{p-AKT/AKT} = 7.99, P < 0.05$;图 7A);与 sh-NC 组

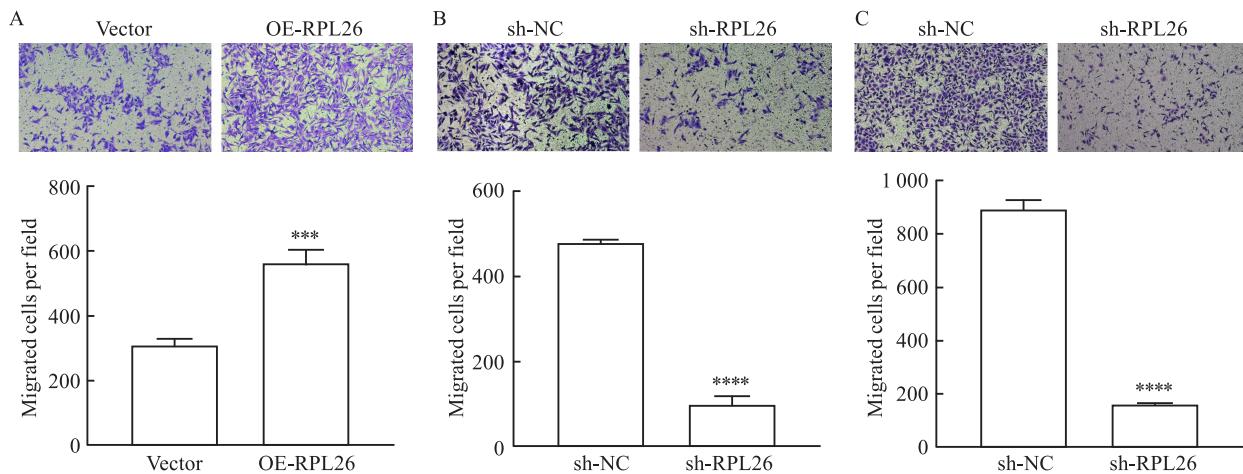


图 5 RPL26 对 HGC-27、AGS 细胞迁移能力的影响 $\times 100$

Fig. 5 The effects of RPL26 on the migration of HGC-27 and AGS cells $\times 100$

A: The effects of RPL26 overexpression on the migration of HGC-27 cells was detected by Transwell; B: The effects of RPL26 knockdown on the migration of HGC-27 cells was detected by Transwell; C: The effects of RPL26 knockdown on the migration ability of AGS cells was detected by Transwell; *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ compared between two groups.

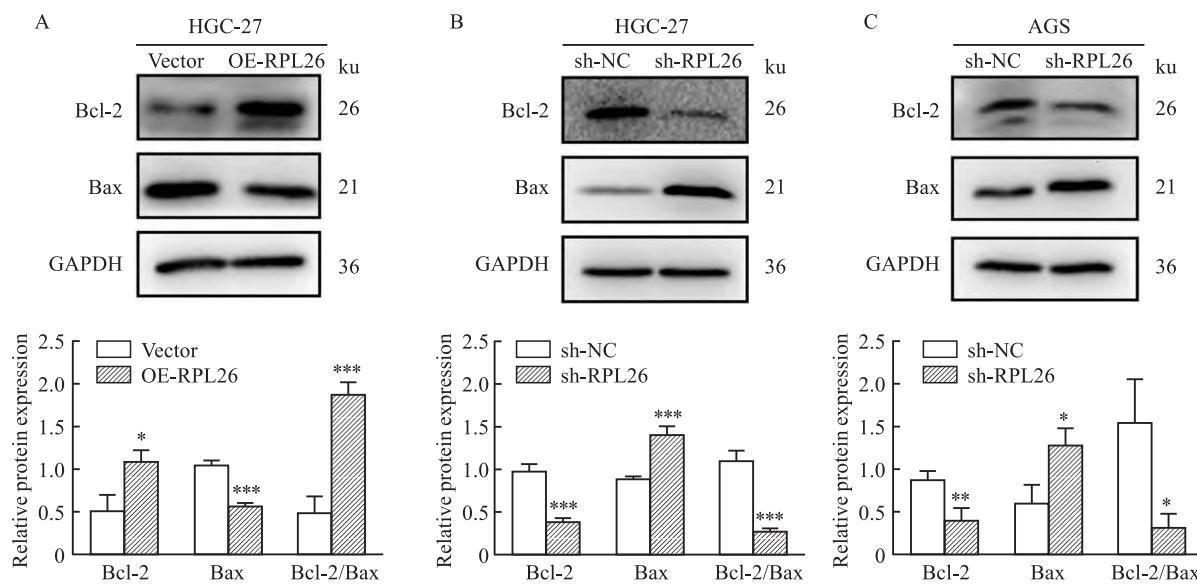


图 6 RPL26 对 HGC-27、AGS 细胞凋亡的影响

Fig. 6 The effects of RPL26 on the apoptosis of HGC-27 and AGS cells

A: Western blot was used to detect the effects of RPL26 overexpression on the apoptosis of HGC-27 cells and the statistical histogram of protein expression was shown; B: Western blot was used to detect the effects of the knockdown of RPL26 on the apoptosis of HGC-27 cells and the statistical histogram of protein expression was shown; C: Western blot was used to detect the effects of the knockdown of RPL26 on AGS cell apoptosis and the protein expression statistical histogram was shown; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ compared between two groups.

相比, sh-RPL26 组的 p-PI3K/PI3K 和 p-AKT/AKT 的比值降低 ($t_{p\text{-PI3K/PI3K}} = 3.86$, $t_{p\text{-AKT/AKT}} = 8.29$; $P < 0.05$, $P < 0.01$; 图 7B)。过表达 *RPL26* 可激活 PI3K/AKT 信号通路, 敲低 *RPL26* 可抑制 PI3K/AKT 信号通路。以上结果提示: 在 GC 细胞中 *RPL26* 蛋白表达水平与 PI3K/AKT 信号通路相关蛋白呈正相关。

2.8 敲低 *RPL26* 对 HGC-27 细胞周期的影响

Western blot 检测显示: 与 Vector 组相比, OE-RPL26 组中周期相关蛋白 Cyclin A、Cyclin D1、CDK4、CDK2 表达均升高 ($t_{\text{Cyclin A}} = 5.37$; $t_{\text{Cyclin D1}} = 5.06$; $t_{\text{CDK4}} = 6.00$; $t_{\text{CDK2}} = 6.35$; $P < 0.01$, 图 8A); 与 sh-NC 组相比, sh-RPL26 组中周期相关蛋白 Cyclin A、Cyclin D1、CDK4、CDK2 表达均下降 ($t_{\text{Cyclin A}} = 9.61$, $t_{\text{Cyclin D1}}$

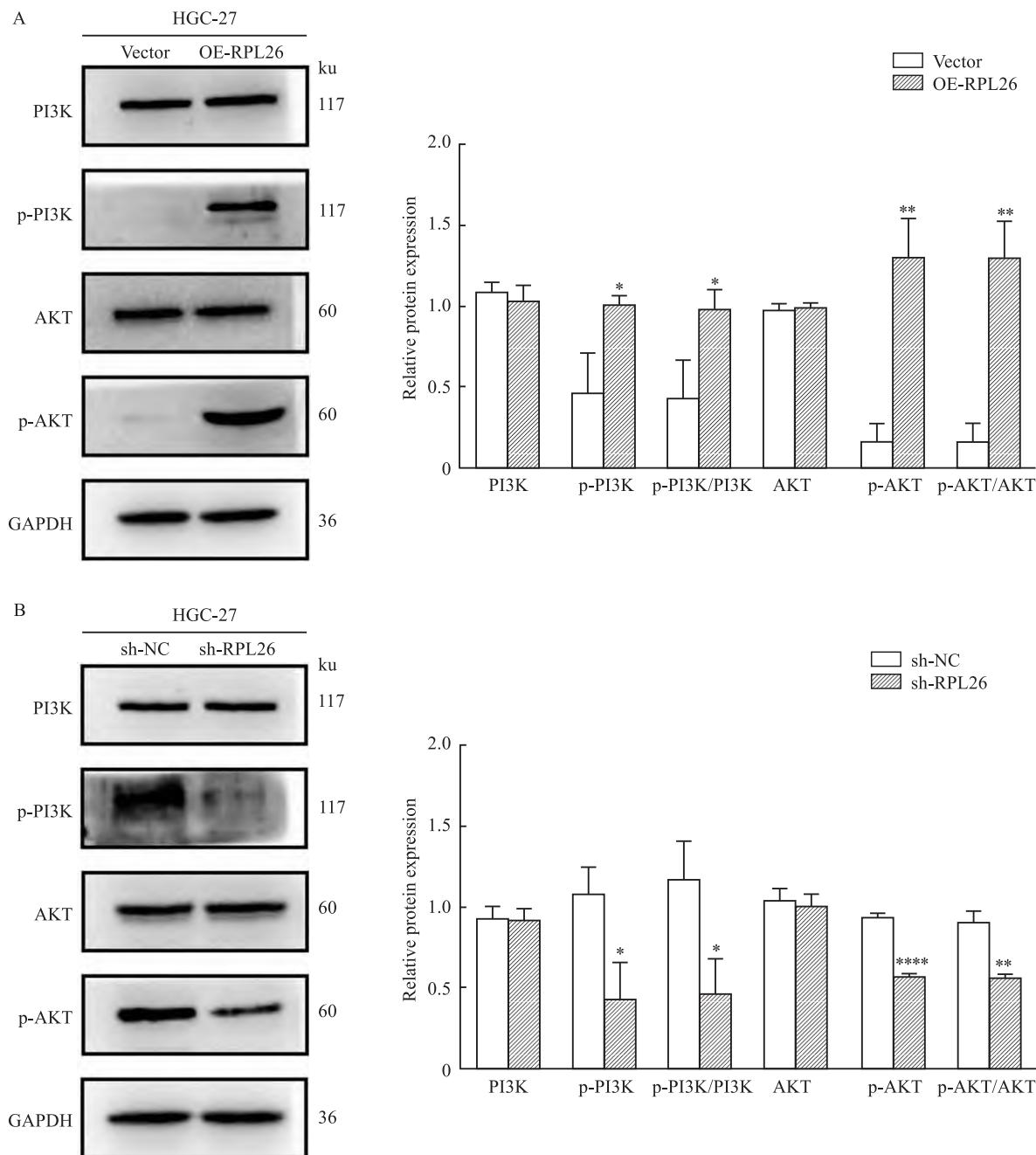


图 7 *RPL26* 对 PI3K/AKT 信号通路的影响

Fig. 7 The impact of *RPL26* on the PI3K/AKT signaling pathway

A, B: Western blot was used to detect the effects of *RPL26* overexpression, knockdown on PI3K/AKT signaling pathway proteins in HGC-27 cells and the protein expression statistical histogram was shown; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.0001$ compared between two groups.

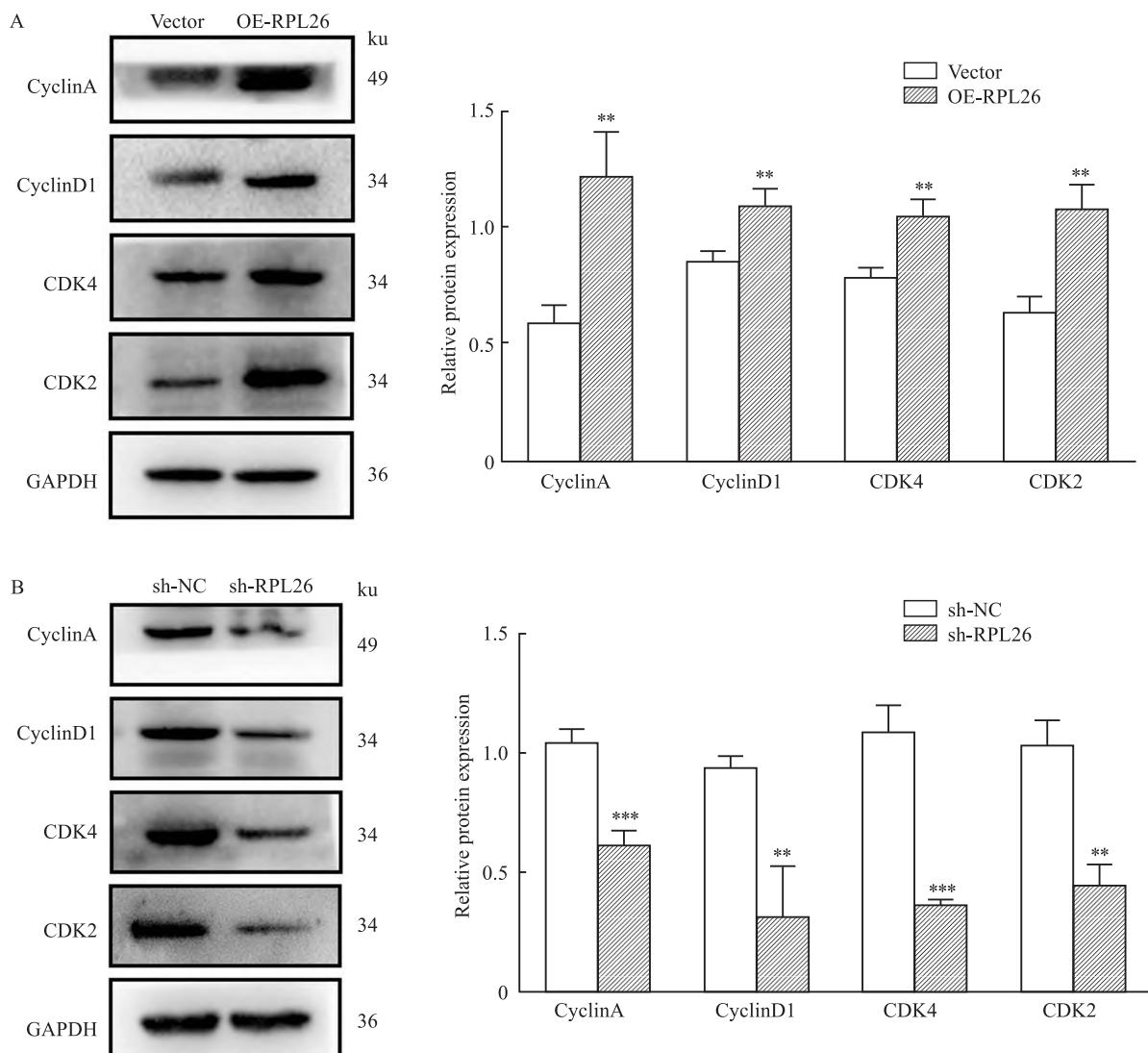


图 8 RPL26 对 HGC-27 细胞周期的影响
Fig. 8 The effects of RPL26 on cell cycle of HGC-27 cells

A, B: Western blot was used to detect the effects of RPL26 overexpression, knockdown on cyclins in HGC-27 cells and the protein expression statistical histogram was shown; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs compared between two groups.

$=5.10, t_{CDK4} = 11.64, t_{CDK2} = 7.81; P < 0.01$ 或 $P < 0.001$, 图 8B)。以上结果提示:敲低 RPL26 可通过抑制 PI3K/AKT 信号通路活性,使细胞周期阻滞于 G₁/S 期,从而抑制细胞增殖并促进凋亡。

3 讨论

RPL26 是核糖体大亚基 60S 的组成元件,属于核糖体蛋白 L24P 家族,定位于细胞质,参与细胞内蛋白质合成过程。同时, RPL26 也是泛素化的生物靶标,在维持泛素化稳态和内质网蛋白平衡中起到功能连接作用^[8]。研究^[5]表明, RPL26 可通过激活 p53 和 p73 抑制细胞增殖,因此该基因在部分肿瘤

中可能发挥抑癌基因功能。本课题组前期通过蛋白质谱分析筛选出 RPL26 作为靶基因,Western blot 实验证实其在胃癌细胞系 MKN45 和 HGC-27 中呈现高表达,这与胰腺癌^[6]及乳腺癌^[7]研究中 RPL26 蛋白的表达特征一致。该细胞实验观察到,敲低 RPL26 能显著抑制胃癌细胞增殖,而过表达 RPL26 后细胞增殖能力未发生明显改变。该现象可能与特定基因需维持阈值水平有关:当基因表达超过阈值时未能触发显著变化;而敲低该基因则打破稳态平衡,从而引发表型改变。该研究中过表达 RPL26 可增强胃癌细胞迁移能力,敲低 RPL26 则减弱其迁移能力,这与鼻咽癌研究中发现的转移细胞 RPL26 与

RPL16 蛋白表达上调现象相吻合^[9]。

PI3K/AKT 信号通路失调与多种病理状态密切相关。在 GC 中, 该通路的异常激活可抑制细胞凋亡, 诱导细胞增殖、耐药、转移及血管生成; 而 AKT 蛋白表达升高后, 其磷酸化形式会进一步诱导细胞周期失调并抑制凋亡^[10]。细胞凋亡由抗凋亡蛋白 Bcl-2 与促凋亡蛋白 Bax 的相互作用共同决定^[11-12]。Bax/Bcl-2 比值失衡可进一步激活 CyclinD1^[13]。CyclinD1 通过与 CDK4 和(或)CDK6 相互作用, 精确调控细胞周期进程^[14]。已有研究表明, CyclinD1 参与 GC 细胞 G₀/G₁ 期周期调控^[15]; 而在乳腺癌中, CyclinD1 上调直接导致 G₁/S 检查点功能失调^[16]。

在其他肿瘤中, RPL26 与 PI3K/AKT 信号通路的关联已获得初步研究证实。在乳腺癌中, 敲低 RPL26 可抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR) 及其磷酸化形式(phosphorylated mTOR, p-mTOR) 的表达, 并诱导自噬, 最终触发细胞凋亡^[7]。因此, RPL26 可能通过调控 PI3K/AKT/mTOR 信号通路, 影响 GC 细胞的自噬与凋亡进程, 从而促进 GC 的发生和发展。

该研究 Western blot 结果显示, 过表达 RPL26 后 p-PI3K 和 p-AKT 表达显著增加, 其 p-PI3K/PI3K 和 p-AKT/AKT 比值均高于 Vector 组; 而敲低 RPL26 后 p-PI3K 和 p-AKT 表达明显降低, 两者比值均低于 sh-NC 组。这表明 RPL26 蛋白表达水平与 PI3K/AKT 信号通路关键指标呈正相关。进一步检测下游蛋白发现, 敲低 RPL26 后促凋亡蛋白 Bax 表达升高, 抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达下降, 同时周期蛋白 Cyclin A、Cyclin D1、CDK4 和 CDK2 表达均下降; 过表达 RPL26 则呈现相反趋势。以上结果提示, 在 GC 细胞中敲低 RPL26 可通过抑制 PI3K/AKT 信号通路活性, 使细胞周期阻滞于 G₁/S 期, 从而抑制细胞增殖并促进凋亡。

综上所述, RPL26 在 HGC-27 和 MKN-45 细胞中呈高表达状态; 敲低 RPL26 可显著抑制细胞增殖与迁移能力; 其诱导细胞周期阻滞于 G₁/S 期, 并进一步促进细胞凋亡, 机制可能是通过 PI3K/AKT 信号通路调控 GC 细胞的凋亡与增殖进程。该研究可能为 GC 的诊断及治疗提供新的思路方向, 但仍需结合更多研究及临床实践加以深入验证。

参考文献

- Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229–63. doi: 10.3322/caac.21834.
- 郑荣寿, 陈 茹, 韩冰峰, 等. 2022 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2024, 46(3): 221–31. doi: 10.3760/cma.j.cn112152–20240119–00035.
- Zheng R S, Chen R, Han B F, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2022[J]. *Chin J Oncol*, 2024, 46(3): 221–31. doi: 10.3760/cma.j.cn112152–20240119–00035.
- Yang K, Lu L, Liu H, et al. A comprehensive update on early gastric cancer: defining terms, etiology, and alarming risk factors [J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 15(3): 255–73. doi: 10.1080/17474124.2021.1845140.
- Akbarpour E, Sadjadi A, Derakhshan M H, et al. Gastric cancer in Iran: an overview of risk factors and preventive measures[J]. *Arch Iran Med*, 2021, 24(7): 556–67. doi: 10.34172/aim.2021.79.
- Kang J, Brajanovski N, Chan K T, et al. Ribosomal proteins and human diseases: molecular mechanisms and targeted therapy[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 323. doi: 10.1038/s41392–021–00728–8.
- Li C, Ge M, Yin Y, et al. Silencing expression of ribosomal protein L26 and L29 by RNA interfering inhibits proliferation of human pancreatic cancer PANC-1 cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 370(1): 127–39. doi: 10.1007/s11010–012–1404–x.
- Yan H, Xu J J, Ali I, et al. CDK5RAP3, an essential regulator of checkpoint, interacts with RPL26 and maintains the stability of cell growth[J]. *Cell Prolif*, 2022, 55(5): e13240. doi: 10.1111/cpr.13240.
- DaRosa P A, Penchev I, Gumbin S C, et al. UFM1 E3 ligase promotes recycling of 60S ribosomal subunits from the ER[J]. *Nature*, 2024, 627(8003): 445–52. doi: 10.1038/s41586–024–07073–0.
- Yang X Y, Ren C P, Wang L, et al. Identification of differentially expressed genes in metastatic and non-metastatic nasopharyngeal carcinoma cells by suppression subtractive hybridization[J]. *Cell Oncol*, 2005, 27(4): 215–23. doi: 10.1155/2005/108490.
- Morgos D T, Stefani C, Miricescu D, et al. Targeting PI3K/AKT/mTOR and MAPK signaling pathways in gastric cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(3): 1848. doi: 10.3390/ijms25031848.
- Morana O, Wood W, Gregory C D. The apoptosis paradox in cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1328. doi: 10.3390/ijms23031328.
- Hafezi S, Rahmani M. Targeting Bcl-2 in cancer: advances, challenges, and perspectives[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(6): 1292. doi: 10.3390/cancers13061292.
- 郝艳娇, 李志宇, 常明智, 等. PI3K-AKT 信号通路在胃癌中的作用机制及研究进展[J]. *神经药理学报*, 2021, 11(6): 53–9. doi: 10.3969/j.issn.2095–1396.2021.06.009.
- Hao Y J, Li Z Y, Chang M Z, et al. The mechanism and research progress of PI3K-AKT signaling pathway in gastric cancer[J].

- Acta Neuropharmacol, 2021, 11 (6): 53 – 9. doi:10.3969/j.issn.2095 – 1396.2021.06.009.
- [14] Slattery M L, Mullany L E, Sakoda L C, et al. The PI3K/AKT signaling pathway: associations of miRNAs with dysregulated gene expression in colorectal cancer[J]. Mol Carcinog, 2018, 57(2): 243 – 61. doi: 10.1002/mc.22752.
- [15] Wang X, Tian J, Jiao X, et al. The novel mechanism of anticancer effect on gastric cancer through inducing G₀/G₁ cell cycle ar-
- rest and caspase-dependent apoptosis *in vitro* and *in vivo* by methionine enkephalin[J]. Cancer Manag Res, 2018, 10: 4773 – 87. doi: 10.2147/cmar.s178343.
- [16] Kavarthapu R, Anbazhagan R, Dufau M L. Crosstalk between PRLR and EGFR/HER2 signaling pathways in breast cancer[J]. Cancers (Basel), 2021, 13 (18): 4685. doi: 10.3390/cancers13184685.

Effect of ribosomal protein L26 on apoptosis and proliferation of gastric cancer cells

Wang Qian¹, Yang Fang², Nie Wei², Hu Lihua¹, Zhang Maolin¹, Zhao Lixiang¹, Jin Xiangren³, Yan Zhiqiang^{1,3}

(¹Graduate School of Guizhou Medical University, Guiyang 550004; ²Center for Clinical Laboratories,

³Dept of Gastrointestinal Surgery, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004)

Abstract **Objective** To investigate the expression of ribosomal protein L26 (RPL26) in gastric cancer cells (GC) and its effect on cell apoptosis and proliferation. **Methods** The expression of RPL26 in GES-1 and GC cell lines was detected by Western blot. GC cell line HGC-27 was used to construct *RPL26* overexpression cell line, and GC cell lines HGC-27 and AGS cells were used to construct *RPL26* knockdown cell line. The overexpression and knockdown efficiency of RPL26 were detected by Western blot. Cell counting kit-8 (CCK-8), colony formation assay and Transwell assay were used to detect the effects of the overexpression and knockdown of *RPL26* on the proliferation and migration of GC cells. Western blot was used to detect the expression of Phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)/protein kinase B (AKT) signaling pathway related factors PI3K, AKT, phosphorylated phosphatidylinositol-3-kinase (p-PI3K), phosphorylated protein kinase B (p-AKT) and downstream factors B-Cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax) and Cyclin A, G₁/S-specific Cyclin D1 (Cyclin D1), Cyclin-dependent kinases (CDK)4 and CDK2 in overexpression and knockdown of *RPL26* stably transfected cell lines. **Results** Compared with GES-1, RPL26 was highly expressed in HGC-27 cells ($t_{HGC-27} = 4.97$; $P < 0.01$) and elevated in AGS, but the difference was not statistically significant. In HGC-27 and AGS cells, CCK-8 and colony formation assays showed that the proliferation ability of cells decreased after the knockdown of *RPL26*. Transwell assay showed that the migration ability of cells decreased after the knockdown of *RPL26*. Western blot showed that Bcl-2 expression was decreased in HGC-27, AGS cells after the knockdown of *RPL26* ($t_{HGC-27} = 11.50$, $t_{AGS} = 4.77$; $P < 0.001$, $P < 0.01$), and Bax expression increased ($t_{HGC-27} = 9.63$, $t_{AGS} = 4.05$; $P < 0.001$, $P < 0.05$). In HGC-27 cells, the ratios of p-PI3K/PI3K and p-AKT/AKT significantly decreased after the knockdown of *RPL26* ($t_{p-PI3K/PI3K} = 3.86$, $t_{p-AKT/AKT} = 8.29$; $P < 0.05$, $P < 0.01$). Cyclin A, Cyclin D1, CDK4, CDK2 protein expressions decreased ($t = 9.61$, 5.10 , 11.64 , 7.81 ; $P < 0.01$ or $P < 0.001$), while the overexpression of *RPL26* in HGC-27 cells showed the opposite trend. **Conclusion** The knockdown of *RPL26* may arrest the cell cycle in G₁/S phase by inhibiting the PI3K/AKT signaling pathway, thereby inhibiting cell proliferation and promoting apoptosis.

Key words gastric cancer; ribosomal protein L26; PI3K/AKT; cell proliferation; cell apoptosis

Fund programs Scientific and Technological Project of Guizhou Province (No. Guizhou Kehe Foundation-ZK [2024]G196); Scientific and Technological Project of Guizhou Health Commission (No. gzwkj2021-168); Doctoral Start-up Foundation of Guizhou Medical University (Nos. gyfybsky-2021-31, gyfybsky-2021-66)

Corresponding author Yan Zhiqiang, E-mail: 936458581@qq.com