

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2021.01.011

· 临床研究 ·

## 转凝蛋白在结直肠癌组织中的表达及其对SW480细胞恶性生物学行为的影响

陈瑜<sup>1</sup>, 崔发财<sup>2</sup>, 张银苹<sup>1</sup>, 张冰<sup>1</sup>, 王媛媛<sup>1</sup>, 夏庆欣<sup>1</sup> (1. 郑州大学附属肿瘤医院 病理科, 河南 郑州 450008; 2. 河南省人民医院 检验科, 河南 郑州 450003)

**[摘要]** **目的:** 探讨转凝蛋白(transgelin, TAGLN)在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)组织中的表达及其对SW480细胞增殖、迁移及侵袭的影响。**方法:** 选取郑州大学附属肿瘤医院2015年5月至2016年8月收治的97例CRC患者的癌及配对的癌旁组织标本, 以及人CRC细胞系SW620、SW480、HCT116和正常结直肠黏膜细胞株FHC, 用免疫组化染色法检测CRC组织中TAGLN的阳性表达率, 并分析其表达水平与患者临床病理特征的关系。用qPCR法和WB法分别检测CRC细胞中TAGLN mRNA及蛋白的表达水平。采用脂质体法将si-TAGLN、si-Ctrl转染进SW480细胞, 用CCK-8法、划痕愈合实验、Transwell小室法分别检测沉默TAGLN对SW480细胞增殖、迁移及侵袭的影响, 用WB法检测EMT相关蛋白上皮型钙黏蛋白(E-cadherin)、神经型钙黏蛋白(N-cadherin)和波形蛋白(vimentin)的表达水平。**结果:** TAGLN在CRC组织中的阳性表达率明显高于癌旁组织( $P<0.01$ ), 其表达水平与CRC患者的TNM分期、肿瘤分化程度和淋巴结转移相关联( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。TAGLN mRNA及蛋白在SW480细胞中的表达水平显著高于FHC细胞(均 $P<0.01$ )。沉默TAGLN后, SW480细胞的增殖、迁移及侵袭能力均显著降低(均 $P<0.01$ ), 细胞中E-cadherin表达水平升高而N-cadherin和vimentin表达水平降低(均 $P<0.01$ )。**结论:** TAGLN在CRC组织和细胞中高表达, 沉默TAGLN可抑制CRC细胞的增殖、迁移及侵袭能力, 其在CRC的发生发展中起重要作用。

**[关键词]** 转凝蛋白; 结直肠癌; SW480细胞; 增殖; 迁移; 侵袭

**[中图分类号]** R735.3<sup>4</sup>; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)01-0067-07

## Expression of TAGLN in colorectal cancer tissues and its effect on malignant biological behaviors of SW480 cells

CHEN Yu<sup>1</sup>, CUI Facai<sup>2</sup>, ZHANG Yiping<sup>1</sup>, ZHANG Bing<sup>1</sup>, WANG Yuanyuan<sup>1</sup>, XIA Qingxin<sup>1</sup> (1. Department of Pathology, Affiliated Tumor Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450008, Henan, China; 2. Clinical Laboratory, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003, Henan, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression of transgelin (TAGLN) in colorectal cancer (CRC) tissues and its effect on the proliferation, migration and invasion of CRC SW480 cells. **Methods:** Surgically resected CRC tissues and corresponding para-cancerous tissues of 97 CRC patients from May 2015 to August 2016 in the Affiliated Tumor Hospital of Zhengzhou University were collected; In addition, CRC cell lines SW620, SW480, HCT116 and normal colorectal mucosal cell line FHC were also collected for this study. Immunohistochemical staining was used to detect the expression of TAGLN in CRC tissues, and the correlation between TAGLN and patients' clinicopathological features was analyzed. Quantitative Real-time quantitative polymerase chain reaction (qPCR) and Western blotting (WB) were used to detect the mRNA and protein expressions of TAGLN in CRC cell lines. si-TAGLN and si-Ctrl were respectively transfected into SW480 cells by liposome transfection method. The effects of silencing TAGLN on the proliferation, migration and invasion of SW480 cells were detected by CCK-8, Wound-healing assay and Transwell assay, respectively; and the expression of EMT-related proteins E-cadherin, N-cadherin and vimentin were detected by WB. **Results:** The positive expression rate of TAGLN in CRC tissues was significantly higher than that in para-cancerous tissues ( $P<0.01$ ), and TAGLN expression was correlated with TNM stage, degree of tumor differentiation and lymph node metastasis in CRC patients ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). The mRNA and protein expression levels of TAGLN in SW480 cells were significantly higher than those in FHC cells (all  $P<0.01$ ). After TAGLN silence, the proliferation, invasion and migration ability of SW480 cells were significantly reduced (all

**[基金项目]** 河南省医学科技攻关计划资助项目(No. 201702246)。Project supported by the Medical Science and Technology Research Program of Henan Province (No. 201702246)

**[作者简介]** 陈瑜(1986-), 女, 硕士, 主治医师, 主要从事肿瘤的个体化诊断及治疗研究, E-mail: ceyy1111@126.com

**[通信作者]** 夏庆欣(XIA Qingxin, corresponding author), 硕士, 主任医师, 主要从事肿瘤的临床病理诊断研究, E-mail: 13838173710@139.com

$P < 0.01$ ), the expression level of E-cadherin in SW480 cells was increased, while the expression levels of N-cadherin and vimentin were decreased (all  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** TAGLN is highly expressed in CRC tissues and cells. Silencing TAGLN can inhibit the proliferation, invasion and migration of CRC cells, suggesting that TAGLN plays an important role in the occurrence and development of CRC.

**[Key words]** transgelin (TAGLN); colorectal cancer (CRC); SW480 cell; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(1): 67-73. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2021.01.011]

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是一种常见的消化系统恶性肿瘤,目前中国CRC发病率位居所有恶性肿瘤发病率的第3位,病死率位居第5位,且发病年龄亦有年轻化的趋势<sup>[1]</sup>。发病早期且定位局限的CRC可通过手术治疗大大提高患者的生存期,但对于进展期、复发、转移的CRC患者,术后5年生存率仍然不足10%<sup>[2]</sup>,因此深入探究CRC侵袭转移的分子机制和发现新的肿瘤标志物对于CRC的早期诊断及治疗是至关重要的。肌动蛋白细胞骨架在肿瘤发生及侵袭转移过程中发挥重要作用,转凝蛋白(transgelin, TAGLN)是一种具有良好特性的肌动蛋白结合蛋白,可诱导肌动蛋白凝胶化并参与调控肌动蛋白细胞骨架的形成, TAGLN也被认为是一种潜在的致癌因素,参与肿瘤进展过程<sup>[3]</sup>。TAGLN在膀胱癌<sup>[4]</sup>、食管鳞状细胞癌<sup>[5]</sup>、卵巢癌<sup>[6]</sup>及胃癌<sup>[7]</sup>等肿瘤组织中高表达,并与肿瘤患者的临床病理特征及预后密切相关。然而,目前有关TAGLN在CRC中的研究报道较少。本研究旨在探明TAGLN在CRC组织中的表达水平及其与患者临床病理特征的关系,研究沉默TAGLN对CRC细胞SW480增殖、迁移及侵袭能力的影响及可能的作用机制。

## 1 资料与方法

### 1.1 组织标本、细胞系及主要试剂

选取2015年5月至2016年8月郑州大学附属肿瘤医院行CRC根治术的97例患者的癌及对应的癌旁组织(距离肿瘤边缘>5 cm)的石蜡切片,其中男性58例、女性39例,中位年龄58岁(24~78岁)。所有患者术前均未接受放疗,术后病理结果均经2名以上病理医师确认,且都有完整的临床病例资料。

人CRC细胞系SW620、SW480、HCT116和人正常结肠黏膜细胞株FHC均保存于郑州大学附属肿瘤医院中心实验室。胎牛血清(FBS)、RPMI 1640培养基、胰蛋白酶购自美国Gibco公司, RNA提取试剂TRIzol、qPCR试剂盒及逆转录试剂盒购自武汉赛维尔生物科技有限公司,引物由武汉擎科创新生物科技有限公司合成, TAGLN siRNA由上海吉玛基因合成,免疫组织化学试剂盒及DAB显色液,兔抗人多克隆抗体TAGLN、上皮型钙黏蛋白(E-cadherin)、神经型钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(vimentin)和生物

素标记的羊抗兔二抗购自武汉云克隆科技股份有限公司, CCK-8细胞增殖检测试剂盒购自美国Sigma公司, Transwell小室(孔径3.0 μm)购自美国Corning公司, 脂质体转染试剂Lipofectamine™2000购自Invitrogen公司。

### 1.2 免疫组化染色法检测CRC组织中TAGLN表达

制作4 μm厚的石蜡切片,参照免疫组织化学试剂盒说明书的方法进行免疫组织化学分析。实验步骤如下:二甲苯脱蜡,乙醇水化后加抗原修复液(0.01 mmol/L 枸橼酸钠缓冲液)98 °C修复20 min,室温下4% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>阻断10 min, 5% BSA于37 °C封闭1 h,加入TAGLN兔抗人多克隆抗体(1:400)4 °C过夜。生物素标记的羊抗兔二抗(1:500)孵育1 h后加入新鲜配置的DAB液显色,苏木精复染、树胶封片后观察染色情况。染色结果根据阳性细胞数和染色强度进行评价:选取5个高倍镜(×200)视野,计数至少1 000个细胞。阳性细胞数计分:无阳性细胞数为0分, <25%为1分, ≥25%且<50%为2分, ≥50%且<75%为3分, ≥75%为4分。染色强度计分:无染色(-)为0分, 染色弱为(+)为1分, 染色强呈棕黄色(2+)为2分, 染色很强呈深棕色(3+)为3分。阳性细胞数评分与染色强度评分相乘即得最终的染色总分, 1~3分计为TAGLN低表达, 4~12分为TAGLN高表达。

### 1.3 细胞分组与转染

取对数生长期的SW480细胞,以2×10<sup>5</sup>/孔接种至6孔培养板,培养24 h。待细胞汇合度达到70%~80%时,按照Lipofectamine™2000试剂盒说明书的方法将TAGLN siRNA和对照siRNA分别转染SW480细胞,于48 h进行相应的实验。实验分组:阳性转染组(si-TAGLN SW480细胞)、阴性对照组(si-Ctrl SW480细胞)和空白组(未进行任何处理的SW480细胞)。序列信息:si-TAGLN F为5'-CCAAAAUCGAGAAGAAGUA-3', R为5'-UACUUCUUCUCGAUUUUGG-3'; si-Ctrl F为5'-UUCUCCGAACGUGUCACGU-3', R为5'-ACGUGA CACGUUCGGAGAA-3'。

### 1.4 qPCR法检测CRC细胞中TAGLN基因的表达水平

按照TRIzol操作说明书提取CRC细胞中总RNA。根据逆转录试剂盒和荧光定量试剂盒操作说明书进行PCR定量反应。引物序列如下:TAGLN F为

5'-AGTGCAGTCCAAAATCGAGAAG-3', R 为 5'-CTTGCTCAGAATCACGCCAT-3'; GAPDH F 为 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3', R 为 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'。PCR 反应条件为: 逆转录反应 42 °C 60 min, 70 °C 10 min, 冰上降温; PCR 预变性 95 °C 10 min, 然后 95 °C 变性 15 s, 60 °C 退火 60 s, 72 °C 延伸 10 s, 共 40 次循环。根据目的基因 TAGLN 和内参基因 GAPDH 测得的 CT 值差值, 运用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  (RQ) 法计算 TAGLN 的相对表达量。

### 1.5 WB 法检测沉默 TAGLN 对 SW480 细胞中 TAGLN 及 EMT 相关蛋白表达的影响

收集细胞并用细胞裂解液裂解提取细胞总蛋白, 取 50  $\mu\text{g}$  蛋白进行 SDS-PAGE、转 PVDF 膜, 1% BSA 封闭过夜。次日, 加入 TAGLN(1:600)、N-cadherin(1:500)、E-cadherin(1:500)、vimentin(1:400) 及 GAPDH(1:1000) 一抗 37 °C 孵育 2 h, TBST 漂洗, 加入羊抗兔二抗(1:1000) 37 °C 孵育 1 h, 将 PVDF 膜浸于 1 ml 显色液中避光约 10 min 后观察结果, 用凝胶图像处理系统分析蛋白条带的灰度值。

### 1.6 CCK-8 法检测沉默 TAGLN 对 SW480 细胞增殖能力的影响

将 100  $\mu\text{l}$  密度为  $5 \times 10^4/\text{ml}$  的细胞悬液加入 96 孔板中, 在 37 °C、5%  $\text{CO}_2$  的培养箱中培养 24 h。每孔加入 0.5  $\mu\text{l}$  Lipofectamine™ 2000 转染试剂, 分别在转染后 24、48、72 h 加入 110  $\mu\text{l}$  含 10  $\mu\text{l}$  CCK-8 的 RPMI 1640 培养液, 置入细胞培养箱孵育 40 min 后在酶标仪测定波长在 490 nm 处的光密度(D)值, 代表细胞的增殖水平。

### 1.7 Transwell 小室法检测沉默 TAGLN 对 SW480 细胞侵袭和迁移能力的影响

**细胞迁移实验:** 将灭菌的 Transwell 板下室加入含趋化因子的细胞培养液, 细胞以  $5 \times 10^4/\text{ml}$  浓度接种于含人工基底膜成份的 Transwell 小室并套入下室, 37 °C 培养箱孵育 24 h。取出上室, 吸取残液。在下室中添加 4% 甲醛溶液固定 30 min, 常规结晶紫染色 20 min, 在倍光学显微镜( $\times 200$ )下随机选取 5 个视野计数穿膜细胞数。**细胞侵袭实验:** 4 °C 溶解过夜的 Matrigel 基质胶用无血清 RPMI 1640 培养基按 1:7 的体积比例进行稀释后, 加 20  $\mu\text{l}$  于 Transwell 的小室中, 待 Matrigel 基质胶凝固后, 按照细胞迁移实验进行后续操作。

### 1.8 划痕愈合实验检测沉默 TAGLN 对 SW480 细胞迁移能力的影响

用胰酶消化各实验组细胞后以  $5 \times 10^4/\text{ml}$  接种于 6 孔板中, 待细胞汇合度达到 100% 时用 10  $\mu\text{l}$  移液器头在培养孔底部划痕, 空白组作为对照, 48 h 后光镜下观察细胞迁移的距离并拍照, 通过测量多个点划

痕宽度, 计算平均划痕愈合率。划痕愈合率 =  $[(0 \text{ h 划痕宽度} - 48 \text{ h 划痕宽度}) / 0 \text{ h 划痕宽度}] \times 100\%$ 。

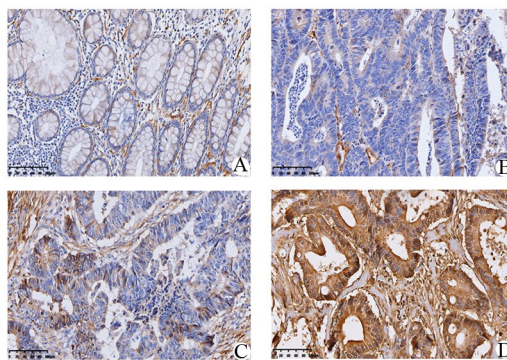
### 1.9 统计学处理

qPCR 法、WB 法、CCK-8 法、Transwell 小室法和划痕愈合等实验均重复 3 次。应用 SPSS17.0 进行统计学分析。正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间均数差异比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 *t* 检验; 采用秩和检验分析 TAGLN 表达水平与 CRC 患者临床病理特征的关系。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 TAGLN 在 CRC 组织中的表达及其与 CRC 患者临床病理特征的关系

免疫组化染色结果(图 1)显示, TAGLN 主要定位于肿瘤细胞的细胞质和细胞核内, 被染色成棕黄色和深黄色, 而在癌旁组织中不表达或弱阳性表达于正常黏膜细胞的细胞质内。TAGLN 在 CRC 组织中阳性表达率显著高于癌旁组织 [53.6% (52/97) vs 36.1% (35/97),  $\chi^2 = 46.37, P < 0.01$ ]。分析 TAGLN 表达与 CRC 患者临床病理特征的关系(表 1)发现, TAGLN 表达与 TNM 分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移相关联 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 而与患者性别、年龄、肿瘤大小、远处转移等无关联 (均  $P > 0.05$ )。



A: TAGLN (negative) in para-cancerous tissues; B: TAGLN (negative) in CRC tissues; C: TAGLN (weakly positive) in CRC tissues; D: TAGLN (strongly positive) in CRC tissues

图 1 TAGLN 在 CRC 及癌旁组织中的表达  
(免疫组化染色,  $\times 200$ )

Fig.1 Expression of TAGLN in CRC tissues and para-cancerous tissues (immunohistochemical staining,  $\times 200$ )

### 2.2 TAGLN mRNA 和蛋白在 CRC 细胞中高表达

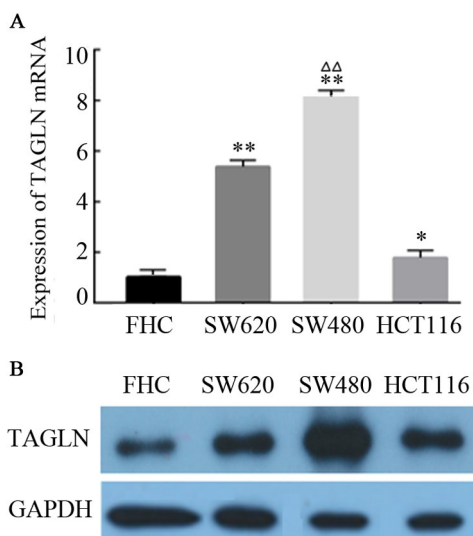
qPCR 法检测结果(图 2A)显示, TAGLN mRNA 在 SW480、SW620 和 HCT116 细胞中的表达水平明显高于 FHC 细胞 ( $F = 779.9, P < 0.01$ ), 以 SW480 细胞表达水平最高。WB 实验结果(图 2B)显示, TAGLN 在 SW480、

SW620和HCT116细胞中表达水平明显高于FHC细胞 ( $7.01 \pm 0.61$ 、 $2.49 \pm 0.36$ 、 $3.10 \pm 0.18$  vs  $1.06 \pm 0.07$ ,  $F=144.2$ ,  $P<0.01$ ), 以SW480细胞表达水平最高。实验结果表明, TAGLN mRNA和蛋白在CRC细胞中均高表达。

表1 TAGLN表达水平与CRC患者临床病理特征的关系

Tab.1 The relationship between TAGLN expression and clinicopathological features of CRC patients

Clinicopathological feature	N	TAGLN expression [n(%)]		$\chi^2$	P
		Low expression	High expression		
Tissue sample				46.366	0.000
Para-cancerous tissues	97	62 (63.92)	35 (36.08)		
Cancerous tissues	97	45 (46.39)	52 (53.61)		
Gender				0.456	0.499
Male	65	31 (47.69)	34 (52.31)		
Female	32	14 (43.75)	18 (56.25)		
Age (t/a)				0.088	0.767
$\leq 60$	38	18 (47.37)	20 (52.63)		
$> 60$	59	27 (45.76)	32 (54.24)		
Tumor diameter (d/cm)				0.15	0.699
$\leq 4$	42	19 (45.24)	23 (54.76)		
$> 4$	55	26 (47.27)	29 (52.73)		
TNM stage				4.872	0.027
I-II	35	19 (54.29)	16 (45.71)		
III-IV	62	26 (41.94)	36 (58.06)		
Differentiation				9.950	0.002
High and moderate	54	29 (53.70)	25 (46.30)		
Poor	43	16 (37.21)	27 (62.79)		
Lymph node metastasis				25.907	0.000
No	38	24 (63.16)	14 (36.84)		
Yes	59	21 (35.59)	38 (64.41)		
Distant metastasis				0.382	0.537
No	63	30 (47.62)	33 (52.38)		
Yes	34	15 (44.12)	19 (55.88)		



\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs FHC cells;  $\Delta\Delta P<0.01$  vs SW620 or HCT116 cells

图2 TAGLN mRNA(A)和蛋白(B)在CRC细胞中的表达  
Fig.2 The mRNA (A) and protein (B) expressions of TAGLN in CRC cells

### 2.3 si-TAGLN 转染降低 SW480 细胞中 TAGLN mRNA 及蛋白的表达水平

qPCR 法检测结果(图 3A)显示,转染 si-TAGLN 后,阳性干扰组 SW480 细胞中 TAGLN mRNA 表达水平显著低于阴性对照组及空白组 ( $t=16.78$ 、 $16.31$ , 均  $P<0.01$ )。WB 实验结果(图 3B)显示,沉默 TAGLN 后,阳性干扰组 SW480 细胞中 TAGLN 表达水平显著低于阴性对照组及空白组 ( $0.14 \pm 0.01$  vs  $0.91 \pm 0.05$ 、 $0.93 \pm 0.08$ ,  $t=24.03$ 、 $16.82$ , 均  $P<0.01$ )。阴性对照组与空白组间 TAGLN mRNA 和蛋白表达水平差异比较无统计学意义(均  $P>0.05$ )。结果表明,沉默 TAGLN 表达显著降低 CRC 细胞中 TAGLN mRNA 和蛋白的表达水平。

### 2.4 沉默 TAGLN 后 SW480 细胞的增殖能力显著下降

CCK-8 法检测结果显示,转染 si-TAGLN 24~72 h 后,阳性转染组 SW480 细胞的增殖能力显著低于阴性对照组和空白组 [24 h:  $0.34 \pm 0.02$  vs  $0.42 \pm 0.01$ 、 $0.44 \pm 0.01$ ; 48 h:  $0.47 \pm 0.01$  vs  $0.58 \pm 0.02$ 、 $0.56 \pm 0.02$ ; 72 h:  $0.53 \pm 0.01$  vs  $0.65 \pm 0.01$ 、 $0.65 \pm 0.04$ ;  $F=43.51$ 、

45.51、21.14, 均  $P < 0.01$ ], 而空白组与阴性对照组间比较差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。结果表明, 沉默 TAGLN 表达可显著抑制 CRC 细胞的增殖能力。

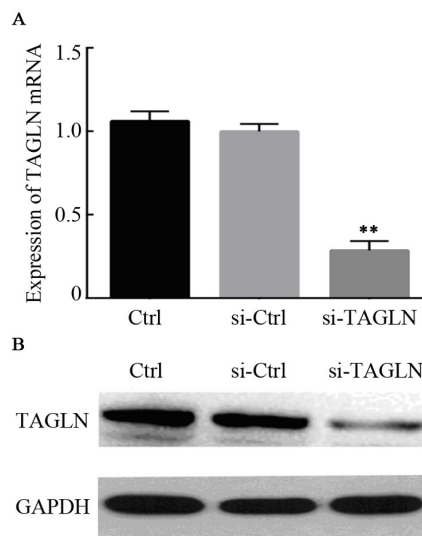
### 2.5 沉默 TAGLN 后 SW480 细胞的侵袭及迁移能力显著下降

转染 si-TAGLN 后, Transwell 小室法实验结果(图 4A)显示, 阳性转染组的侵袭细胞数明显少于阴性对照组和空白组 [(209.33±21.59) vs (290.00±11.53)、(295.33±21.94) 个,  $t=5.71、4.84$ , 均  $P < 0.01$ ]; 迁移实验结果(图 4A)显示, 阳性转染组的穿膜细胞数明显少于阴性对照组和空白组 [(97.33±16.50) vs (157.00±13.08)、(161.67±14.50) 个,  $t=4.91、5.07$ , 均  $P < 0.01$ ]; 划痕愈合实验结果(图 4B)显示, 阳性转染组的划痕愈合率明显低于阴性对照组和空白组 [(33.93±3.45)% vs (63.93±1.25)%、(66.40±3.06)%,  $t=11.24、10.40$ , 均  $P < 0.01$ ]。阴性对照组和空白组间侵袭细胞数、迁移细胞数及划痕愈合率差异比较均无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。结果表明, 沉默 TAGLN 后 CRC 细胞的侵袭、迁移能力显著下降。

### 2.6 沉默 TAGLN 后 SW480 细胞中 E-cadherin 高表达而 N-cadherin 和 vimentin 低表达

WB 法检测结果(图 5)显示, 转染 si-TAGLN 后, 与阴性对照组和空白组比较, 阳性干扰组细胞 E-cadherin 表达水平显著升高( $t=14.90、14.98$ , 均

$P < 0.01$ ), N-cadherin 和 vimentin 表达水平显著降低( $t=33.52、38.67、33.18、20.48$ , 均  $P < 0.01$ )。阴性对照组和空白组之间比较, 上述 3 种蛋白表达水平差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。结果表明, 沉默 TAGLN 可导致 CRC 细胞中 EMT 相关蛋白的表达水平发生显著变化。



\*\* $P < 0.01$  vs si-TAGLN SW480 cells or SW480 cells  
图 3 沉默 TAGLN 后 SW480 细胞中 TAGLN mRNA(A)和蛋白(B)的表达变化

Fig.3 The expression changes of TAGLN mRNA (A) and protein (B) in CRC cells after TAGLN silencing

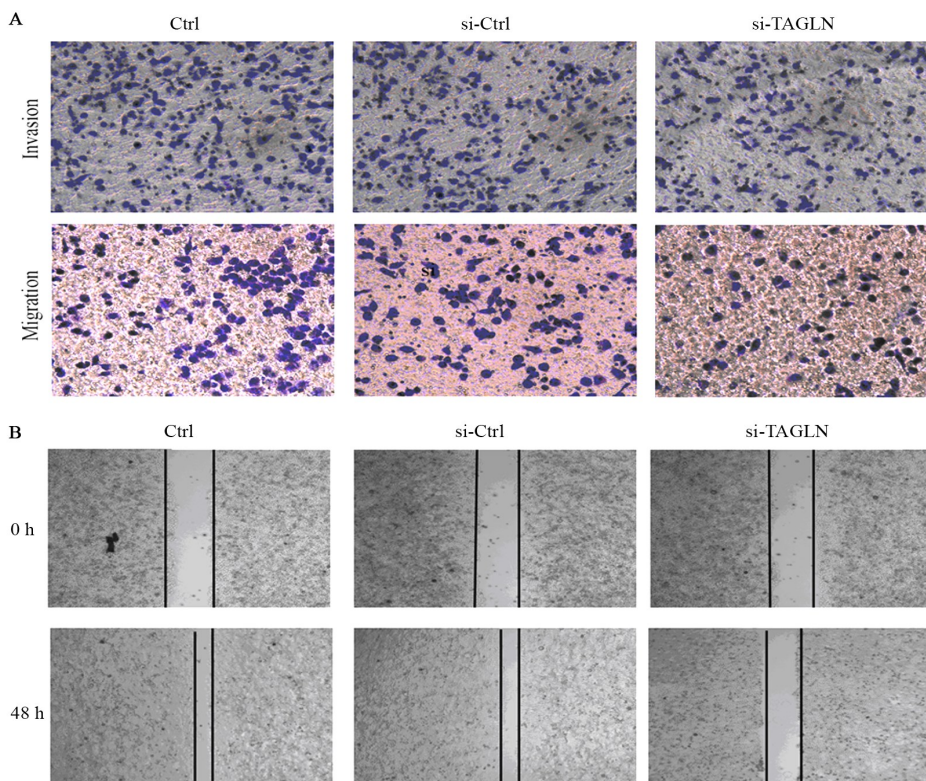
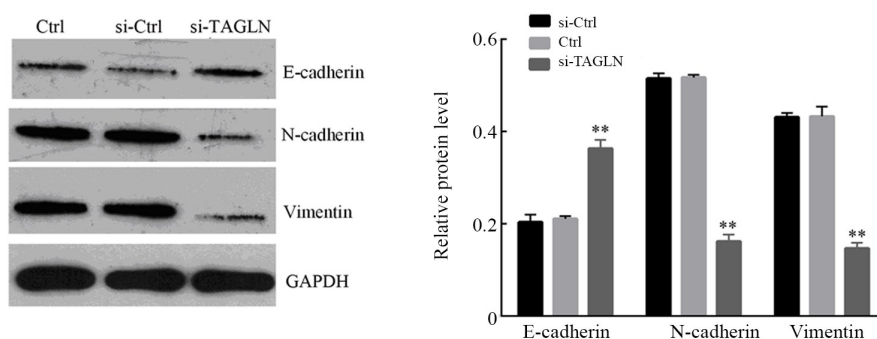


图 4 沉默 TAGLN 对 CRC 细胞侵袭(A, ×200)和迁移(B)的影响  
Fig.4 Effect of TAGLN silencing on the invasion (A, ×200) and migration (B) of CRC cells



\*\* $P < 0.01$  vs si-Ctrl or Ctrl group

图5 沉默TAGLN对SW620细胞E-cadherin、N-cadherin和vimentin表达的影响

Fig.5 Effect of TAGLN silencing on expressions of E-cadherin, N-cadherin and vimentin in SW620 cells

### 3 讨论

TAGLN基因定位于人类染色体11q32.2,其编码的TAGLN是一种细胞骨架蛋白,属于钙调蛋白家族成员之一,该蛋白含有一个单独的N端钙蛋白同源CH结构域和一个CLIK单元,可与钙离子和肌动蛋白结合参与细胞形态形成、迁移、分化、增殖和凋亡等细胞骨架重塑过程<sup>[8-9]</sup>。早期研究<sup>[10-12]</sup>发现,TAGLN表达水平降低及功能失活与肿瘤发生和患者预后具有相关性,因此被认为是一种抑癌基因。然而,DVOŘÁKOVÁ等<sup>[13]</sup>运用二维凝胶电泳技术对比分析12例乳腺癌患者血清差异蛋白后,发现低级别肿瘤中TAGLN表达水平显著高于高级别肿瘤,淋巴结转移患者中TAGLN表达水平明显高于无淋巴结转移患者,指出TAGLN高表达与肿瘤侵袭和转移相关。CHEN等<sup>[14]</sup>研究发现,TAGLN在膀胱癌组织中高表达并与预后相关,在体内外TAGLN通过诱导侵袭细胞形成和EMT促进细胞集落形成和细胞迁移与侵袭。上述研究结果均表明,TAGLN高表达与肿瘤侵袭转移、肿瘤进展及预后不良有关,提示TAGLN在肿瘤进展过程中也可发挥促癌作用。

本研究结果显示,TAGLN在CRC组织的阳性表达率明显高于癌旁组织,并与CRC的TNM分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移相关联,TAGLN mRNA及蛋白在SW480细胞中高表达,提示TAGLN可能促进了CRC的发生发展。为探究TAGLN在CRC中的作用,本研究采用脂质体转染法将TAGLN siRNA转染至SW480细胞,CCK-8法、Transwell小室法和划痕愈合实验检测结果显示转染后的SW480细胞增殖能力、穿膜细胞数及划痕愈合率均显著下降,表明沉默TAGLN能显著降低SW480细胞的增殖、侵袭及迁移能力。肿瘤细胞可发生EMT过程使上皮细胞转化为间充质表型细胞,通过降低E-cadherin及紧密蛋白(occludin)等黏附分子的表达、增加间质分子标志物

N-cadherin、vimentin及纤连蛋白(fibronectin)表达而改变细胞间及细胞与细胞外基质间的紧密连接状态,促进肿瘤细胞的迁移<sup>[15]</sup>。为研究CRC中TAGLN表达与EMT机制的关系,本研究通过WB法检测EMT关键组件E-cadherin、vimentin和N-cadherin在SW480细胞中的表达变化,结果显示转染TAGLN后SW480细胞中E-cadherin高表达、N-cadherin及vimentin低表达,说明TAGLN表达水平与CRC细胞的EMT进程有关。

在CRC研究领域,ZHOU等<sup>[16]</sup>研究发现,激活AKT/JNK信号通路可上调TAGLN表达促进CRC细胞的进展及转移。ELSAFADI等<sup>[17]</sup>研究发现,晚期CRC中TAGLN过表达并与预后生存率相关,P38 MAPK/TGF- $\beta$ 1信号通路介导TAGLN过表达促进了CRC细胞的增殖和转移。此外,TAGLN过表达也被证实与CRC的侵袭性和淋巴结转移相关<sup>[18-19]</sup>。本研究结果与上述研究报道相一致,提示TAGLN过表达与CRC侵袭、转移过程和预后相关。然而,另有研究<sup>[20-21]</sup>发现,TAGLN的表达水平在结直肠癌组织中降低并与肿瘤分化程度、Duke分期和预后生存率呈显著负相关,这种差异化的研究结果提示TAGLN参与CRC发生发展的机制十分复杂,可能作为多种信号通路的关键因子发挥癌基因或抑癌基因作用,本研究中TAGLN具体通过何种机制参与调控EMT进程并介导CRC细胞的侵袭与迁移仍需深入研究。

综上所述,本研究结果表明TAGLN在CRC组织及细胞中高表达,TAGLN siRNA可体外抑制人CRC细胞的增殖、侵袭及迁移能力,提示TAGLN在CRC的发生发展过程中发挥重要的作用。

### [参考文献]

- [1] CHEN W Q, ZHENG R S, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132. DOI: 10.3322/caac.21338.

- [2] PAN Q Z, ZHAO J J, YANG C P, et al. Efficacy of adjuvant cytokine-induced killer cell immunotherapy in patients with colorectal cancer after radical resection[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2020, 9(1): 1752563 [2020-05-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7185208/>. DOI:10.1080/2162402X.2020.1752563.
- [3] HALL A. The cytoskeleton and cancer[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2009, 28(1/2): 5-14. DOI:10.1007/s10555-008-9166-3.
- [4] LI W M, WU W J. Transgelin in bladder cancer: a potential biomarker and therapeutic target[J/OL]. *EBioMedicine*, 2019, 48: 16-17[2020-05-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6838370/>. DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.09.011.
- [5] YAZDIANROBATI R, AHMADI H, RIAHI M M, et al. Comparative proteome analysis of human esophageal cancer and adjacent normal tissues[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2017, 20(3): 265-271. DOI: 10.22038/ijbms.2017.8354.
- [6] ZADEH F H B, ZALI H, DARKHANEH R F, et al. Proteome profiling of low grade serous ovarian cancer[J]. *J Ovarian Res*, 2019, 12(1): 564. DOI: 10.1186/s13048-019-0535-z.
- [7] 解燕川, 刘琼琼, 任利群, 等. 肌动蛋白凝胶蛋白在胃癌组织中的表达及临床意义[J]. *中华实验外科杂志*, 2016, 33(5): 1339-1341. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2016.05.051.
- [8] LI M, LI S T, LOU Z Y, et al. Crystal structure of human transgelin[J]. *J Struct Biol*, 2008, 162(2): 229-236. DOI:10.1016/j.jsb.2008.01.005.
- [9] MATSUI T S, ISHIKAWA A, DEGUCHI S. Transgelin-1 (SM22 $\alpha$ ) interacts with actin stress fibers and podosomes in smooth muscle cells without using its actin binding site[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 505(3): 879-884. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.09.176.
- [10] SAYAR N, KARAHAN G, KONU O, et al. Transgelin gene is frequently downregulated by promoter DNA hypermethylation in breast cancer[J]. *Clin Epigenetics*, 2015, 7(1): 1-16. DOI: 10.1186/s13148-015-0138-5.
- [11] TSUI K H, LIN Y H, CHANG K S, et al. Transgelin, a p53 and PTEN-upregulated gene, inhibits the cell proliferation and invasion of human bladder carcinoma cells in vitro and in vivo[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(19): E4946[2020-05-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6801752/>. DOI:10.3390/ijms20194946.
- [12] ASSINDER S J, STANTON J A, PRASAD P D. Transgelin: an actin-binding protein and tumour suppressor[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2009, 41(3): 482-486. DOI:10.1016/j.biocel.2008.02.011.
- [13] DVOŘÁKOVÁ M, JEŘÁBKOVÁ J, PROCHÁZKOVÁ I, et al. Transgelin is upregulated in stromal cells of lymph node positive breast cancer[J]. *J Proteomics*, 2016, 132: 103-111. DOI:10.1016/j.jprot.2015.11.025.
- [14] CHEN Z C, HE S M, ZHAN Y H, et al. TGF- $\beta$ -induced transgelin promotes bladder cancer metastasis by regulating epithelial-mesenchymal transition and invadopodia formation[J]. *EBioMedicine*, 2019, 47: 208-220. DOI:10.1016/j.ebiom.2019.08.012.
- [15] 程先硕, 杨芳, 董坚, 等. CCL20通过AKT/MMP3轴而非EMT途径诱导结肠癌SW480细胞的侵袭和转移[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(6): 650-655. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2019.06.006.
- [16] ZHOU H M, ZHANG Y M, CHEN Q K, et al. AKT and JNK signaling pathways increase the metastatic potential of colorectal cancer cells by altering transgelin expression[J]. *Dig Dis Sci*, 2016, 61(4): 1091-1097. DOI:10.1007/s10620-015-3985-1.
- [17] ELSAFADI M, MANIKANDAN M, ALMALKI S, et al. Transgelin is a poor prognostic factor associated with advanced colorectal cancer (CRC) stage promoting tumor growth and migration in a TGF $\beta$ -dependent manner[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(5): 341 [2020-05-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7214449/>. DOI:10.1038/s41419-020-2529-6.
- [18] ZHANG J, SONG M Q, ZHU J S, et al. Identification of differentially-expressed proteins between early submucosal non-invasive and invasive colorectal cancer using 2D-DIGE and mass spectrometry[J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2011, 24(4): 849-859. DOI:10.1177/039463201102400404.
- [19] LIN Y, BUCKHAULTS P J, LEE J R, et al. Association of the actin-binding protein transgelin with lymph node metastasis in human colorectal cancer[J/OL]. *Neoplasia*, 2009, 11(9): 864-873[2020-05-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2735797/>. DOI:10.1593/neo.09542.
- [20] BUTTACAVOLI M, ALBANESE N N, ROZ E, et al. Proteomic profiling of colon cancer tissues: discovery of new candidate biomarkers[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9): E3096[2020-05-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7247674/>. DOI: 10.3390/ijms21093096.
- [21] 李里, 彭佳远, 马延磊, 等. Transgelin蛋白在人结直肠癌中的表达及其临床意义[J]. *肿瘤*, 2009, 29(8): 765-771. DOI:10.3781/j.issn.1000-7431.2009.08.013.

[收稿日期] 2020-08-22

[修回日期] 2020-10-03

[本文编辑] 党瑞山