

PAQR4 在肝细胞癌中的表达及其对 HepG2 细胞生物学特性的影响

董庆泰^{1,2}, 林振宇^{1,2}, 李中虎², 张智勇², 马丹丹², 蔡 逊^{1,2}

摘要 目的 探究 PAQR4 在肝细胞癌(HCC)中的表达、预后及其对 HepG2 细胞的增殖、侵袭、迁移和凋亡的影响。方法 利用 TCGA 数据库中 HCC 的数据分析 PAQR4 mRNA 在 HCC 组织中的表达及对患者的预后意义。构建 pcDNA3.1-PAQR4 实验组与 pcDNA3.1-vector 对照组的 HepG2 细胞株。采用 CCK-8 法检测过表达 PAQR4 对 HepG2 细胞增殖的影响。通过细胞划痕实验和 Transwell 侵袭实验分别检测过表达 PAQR4 对 HepG2 细胞迁移和侵袭能力的影响。利用 PI 和 Annexin V 双染实验观察过表达 PAQR4 对 HepG2 细胞凋亡的影响。**结果** TCGA 数据库数据分析结果显示 PAQR4 mRNA 在 HCC 组织中的表达高于癌旁组织 ($P < 0.05$),且 PAQR4 mRNA 高表达组 HCC 患者的总体生存率低于低表达组 ($P = 0.012$)。单因素回归分析显示 PAQR4 mRNA 表达水平 ($HR: 1.104, 95\% CI: 1.051 \sim 1.160, P < 0.001$)、T 分期 ($HR: 1.816, 95\% CI: 1.442 \sim 2.287, P < 0.001$)、M 分期 ($HR: 3.924, 95\% CI: 1.230 \sim 12.519, P = 0.021$)、病理分期 ($HR: 1.879, 95\% CI: 1.466 \sim 2.408, P < 0.001$)对 HCC 患者的预后存在显著影响。多因素回归分析显示 PAQR4 mRNA 表达水平 ($HR: 1.396, 95\% CI: 1.081 \sim 1.804, P = 0.011$)是 HCC 患者预后的独立危险因素。CCK-8 实验、划痕实验和 Transwell 侵袭实验结果表明,与对照组相比,实验组中 HepG2 细胞的增殖、迁移、侵袭能力均明显得到促进 ($P < 0.05$)。细胞凋亡实验结果显示过表达 PAQR4 可以抑制 HepG2 细胞凋亡 ($P < 0.05$)。**结论** PAQR4 在 HCC 组织中高表达且与预后相关,过表达 PAQR4 促进 HepG2 细胞的增殖、侵袭、迁移并抑制 HepG2 细胞的凋亡。PAQR4 有可能成为 HCC 诊断和预后的新标志物。

关键词 PAQR4;肝细胞癌;增殖;侵袭;迁移;凋亡

中图分类号 R 735.7

2021-10-12 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81902501);湖北省卫生健康委员会联合基金项目(编号:WJ2019H104)

作者单位:¹南方医科大学第一临床医学院,广州 510515

²中国人民解放军中部战区总医院普通外科,武汉 430070

作者简介:董庆泰,男,硕士研究生;

蔡 逊,男,主任医师,责任作者,E-mail: caiwenqian@ sina.com;

马丹丹,女,主管技师,责任作者,E-mail: tjmadandan@ 163.com

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2022)01-0026-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.01.006

原发性肝癌是临床上最常见的恶性肿瘤之一。在 2018 年公布的全球 36 种恶性肿瘤数据中,肝癌患者占恶性肿瘤新发病例数 4.7%,位居第 7 位;肝癌患者占死亡病例数 8.2%,位居第 2 位^[1]。原发性肝癌中 85%~90% 病理分型为肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)^[2]。目前 HCC 最有效的治疗手段是早期手术,且早期诊疗患者的 5 年生存率超过 70%,远高于晚期(低于 16%)^[3]。但 HCC 起病隐匿,大多数患者首次诊断即为中晚期,错过了最佳手术时机^[4]。因此,寻找对 HCC 敏感且特异性高的新型生物标志物和新的肿瘤基因治疗靶点有重大意义。

Progesterin and adipoQ receptor family member 4 (PAQR4) 属于 PAQR 基因组家族 (PAQR1-PAQR11) 中的一员,定位于人类染色体 16p13.3,包含 3 个外显子^[5]。已有研究表明 PAQR4 参与人体恶性肿瘤的发生发展,如乳腺癌^[6]、非小细胞肺癌^[7-8]、前列腺癌^[9]、胃癌^[10],且 PAQR4 都表现出癌基因的特性。但目前 PAQR4 在 HCC 中的表达及其对 HepG2 细胞生物学特性影响的研究报道甚少。

1 材料与方法

1.1 生物信息学分析 收集 TCGA(the cancer genome atlas)数据库中 PAQR4 在 HCC 中的基因表达数据和临床数据,利用 R 语言整理两组数据,并分析 PAQR4 在 HCC 中的表达差异及临床预后。

1.2 细胞培养及转染 肝癌 HepG2 细胞株购自中国典型培养物保藏中心。HepG2 细胞培养于 10% 胎牛血清(FBS)、1% 双抗(青霉素/链霉素)的 Dulbecco 改良的 Eagle 培养基(Dulbecco's modified eagle medium, DMEM)中,置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中。细胞接种于 6 孔培养板,待贴壁后,使用阳离子脂质载体 Lipofectamine 2000 将 pcDNA3.1-PAQR4 质粒转染 HepG2 细胞作为实验组,将空载体 pcD-

NA3.1-vector 转染 HepG2 细胞作为其对照组。转染 48 h 后收集细胞,通过 RT-PCR (Real-time PCR) 测定法评估转染效率。

1.3 CCK-8 实验 取对数生长期 HepG2 细胞接种于 96 孔板,24 h 后转染,分为实验组和对照组。设置复孔 4 个/组,分别于培养 24、48、72 h 后加入 CCK-8 试剂,每孔 10 μ l,放入 37 $^{\circ}$ C 培养箱孵育 2 h。最后进行检测(酶标仪波长 450 nm),记录吸光度值。

1.4 Transwell 实验 胰酶消化对照组和实验组细胞,调整细胞密度为 1.0×10^8 个/L,并接种到含有无血清培养基的 Transwell 小室上层中,加入细胞悬液 100 μ l/孔。下室内加入 600 μ l 新鲜培养基。置入配养箱中培育 24 h 后,在室温下每孔加入 4% 多聚甲醛 1 ml 固定 10 min,甲醇对细胞通透处理 20 min,0.1% 结晶紫染液染色 20 min,棉签擦去上室未迁移细胞,自然风干后在显微镜下以 200 倍放大观察染色细胞。设置复孔 3 个/组。

1.5 划痕实验 取对数生长期的对照组和实验组细胞,分别用胰酶消化后铺于 6 孔板中,接种细胞约 5×10^5 个/孔。继续培养至细胞铺满贴壁,用 10 μ l 消毒枪头垂直划痕,PBS 冲洗 3 遍,加入无血清 DMEM 培养基置于培养箱中培养。分别于 0、24、48 h 拍摄显微镜放大 200 倍下的图片。

1.6 流式细胞仪检测细胞凋亡 用胰酶消化对照组和实验组的细胞,制成细胞悬浮液,调整密度为 1.0×10^5 个/ml,接种于 96 孔板中培养 48 h 后,PBS 清洗 2 次,低温下加入 Binding Buffer 重悬细胞。室温避光条件下取 100 μ l 结合缓冲液重悬细胞加入 5 μ l 的 AnnexinV-FITC 反应 10 min,再加入 5 μ l 的碘化丙啶(propidium iodide, PI)反应 10 min。最后加入 400 μ l Binding Buffer 缓冲液,流式细胞仪检测细胞凋亡。设置复孔 3 个/组。

1.7 统计学处理 本研究中 TCGA 数据库中数据分析使用 R(v. 4. 0. 2) 完成,两组间的比较用 Wilcoxon signed-rank 检验,多组连续型独立样本的比较用 Kruskal-Wallis 检验;Kaplan-Meier 法绘制生存率曲线,细胞实验数据分析使用 SPSS 26.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数的比较用独立样本 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PAQR4 mRNA 在 HCC 组织和癌旁组织中的表达差异 收集整理出 TCGA 数据库中关于 HCC 共 424 个样本,包括 50 个癌旁组织和 374 个癌组织,PAQR4 mRNA 在癌组织中的表达水平明显高于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.001$),见图 1A。50 例 HCC 患者的配对癌组织和癌旁组织中,癌组织中 PAQR4 mRNA 的表达水平高于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.001$),见图 1B。

2.2 PAQR4 与 HCC 患者临床预后的关系 在全部 374 个癌组织样本中,PAQR4 mRNA 高表达组总体生存率低于低表达组,且差异有统计学意义($P = 0.012$),见图 2。HCC 患者 Cox 回归分析结果如表 1 所示,单因素 Cox 分析结果显示 PAQR4 mRNA 表达水平($HR = 1.104$, 95% CI : 1.051 ~ 1.160, $P < 0.001$)、T 分期($HR = 1.816$, 95% CI : 1.442 ~ 2.287, $P < 0.001$)、M 分期($HR = 3.924$, 95% CI : 1.230 ~ 12.519, $P = 0.021$)、病理分期($HR = 1.879$, 95% CI : 1.466 ~ 2.408, $P < 0.001$)对 HCC 患者的预后存在显著影响。多因素 Cox 分析结果显示 PAQR4 mRNA 表达水平($HR = 1.396$, 95% CI : 1.081 ~ 1.804, $P = 0.011$)是 HCC 患者预后的独立危险因素。

2.3 过表达 PAQR4 对 HepG2 细胞增殖的影响

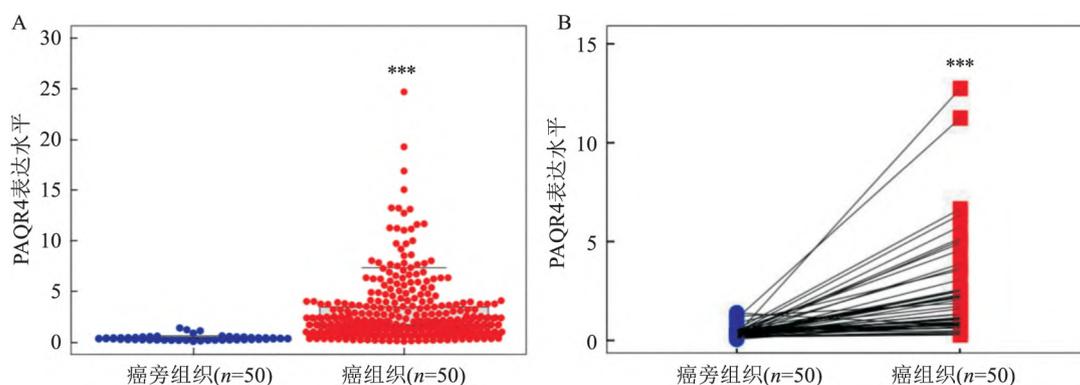


图1 采用 Wilcoxon signed-rank 检验分析 PAQR4 在非配对和配对的癌组织和癌旁组织样本中的表达水平

A:非配对;B:配对;与癌旁组织比较:*** $P < 0.001$

表1 Cox 回归比例风险模型分析 HCC 患者 PAQR4 mRNA 表达水平及其他临床病理特征与总生存率的相关性($\bar{x} \pm s, n = 235$)

临床病理参数	单因素分析			多因素分析		
	HR 值	95% CI	P 值	HR 值	95% CI	P 值
年龄*	1.007	(0.989 ~ 1.025)	0.480	1.014	(0.994 ~ 1.035)	0.169
性别#	0.778	(0.488 ~ 1.244)	0.295	1.205	(0.704 ~ 2.060)	0.496
病理分级#	1.013	(0.743 ~ 1.380)	0.934	1.095	(0.784 ~ 1.531)	0.594
病理分期#	1.879	(1.466 ~ 2.408)	<0.001	0.963	(0.359 ~ 2.582)	0.940
T 分期#	1.816	(1.443 ~ 2.287)	<0.001	1.768	(0.728 ~ 4.298)	0.208
N 分期#	2.070	(0.506 ~ 8.471)	0.312	2.607	(0.422 ~ 16.127)	0.303
M 分期#	3.924	(1.230 ~ 12.519)	0.021	1.707	(0.445 ~ 6.556)	0.436
PAQR4 mRNA 表达水平*	1.104	(1.051 ~ 1.160)	<0.001	1.396	(1.081 ~ 1.804)	0.011

#:定性资料; *:定量资料;定性资料赋值情况:性别(女:男=0:1),病理分级(G1:G2:G3:G4=1:2:3:4),病理分期(stage I:stage II:stage III:stage IV=1:2:3:4),T分期(T1:T2:T3:T4=1:2:3:4),N分期(N0:N1=0:1),M分期(M0:M1=0:1)

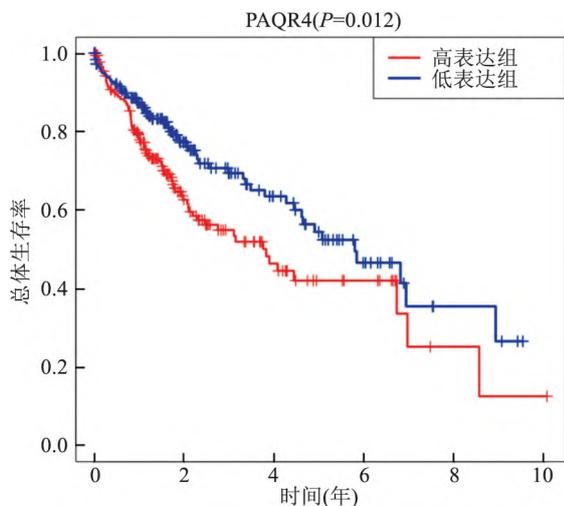


图2 PAQR4 mRNA 表达水平对 HCC 患者的总体生存的影响

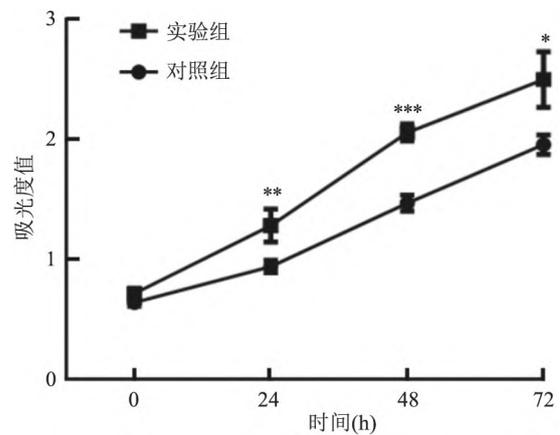


图3 CCK-8 检测 PAQR4 对 HepG2 细胞增殖的影响与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

CCK-8 法检测结果显示,24、48、72 h 时实验组的 OD 值较对照组更高,差异有统计学意义($t = 4.05、10.47、3.82, P < 0.05$)。见图 3。上述结果表明 PAQR4 促进了 HepG2 细胞的增殖。

2.4 过表达 PAQR4 对 HepG2 细胞侵袭的影响

Transwell 实验结果显示,24 h 后实验组侵袭细胞数较对照组更多,差异有统计学意义($t = 6.03, P < 0.01$)。见图 4。结果表明 PAQR4 增加了 HepG2 细胞的侵袭能力。

2.5 过表达 PAQR4 对 HepG2 细胞迁移的影响

划痕实验结果显示,24、48 h 后实验组愈合率较对照组更高,差异有统计学意义($t = 9.13、4.40, P < 0.05$)。见图 5。以上表明 PAQR4 增加了 HepG2 细胞的迁移能力。

2.6 过表达 PAQR4 对 HepG2 细胞凋亡的影响

流式细胞仪检测结果显示,48 h 后实验组细胞存活率高于对照组,差异有统计学意义($t = 41.44, P < 0.001$)。见图 6。此结果表明 PAQR4 抑制了 HepG2 细胞凋亡。

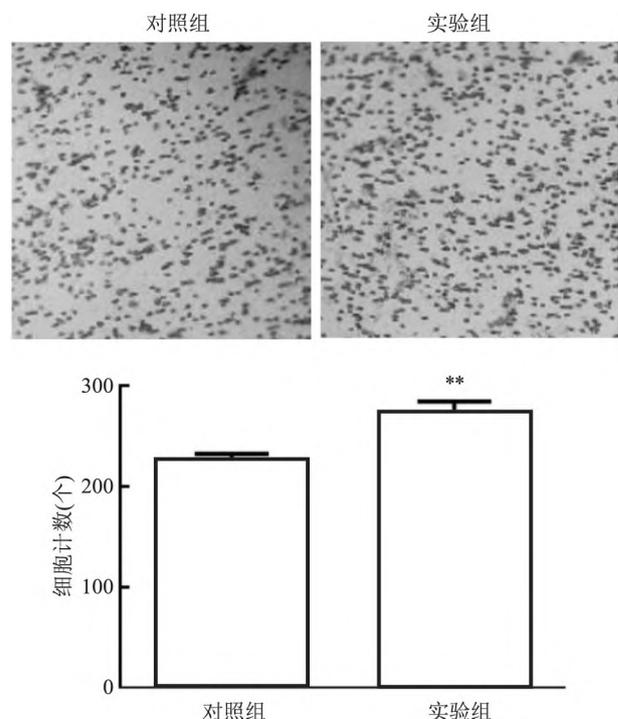


图4 Transwell 检测 PAQR4 对 HepG2 细胞侵袭的影响 ×200 与对照组比较: ** $P < 0.01$

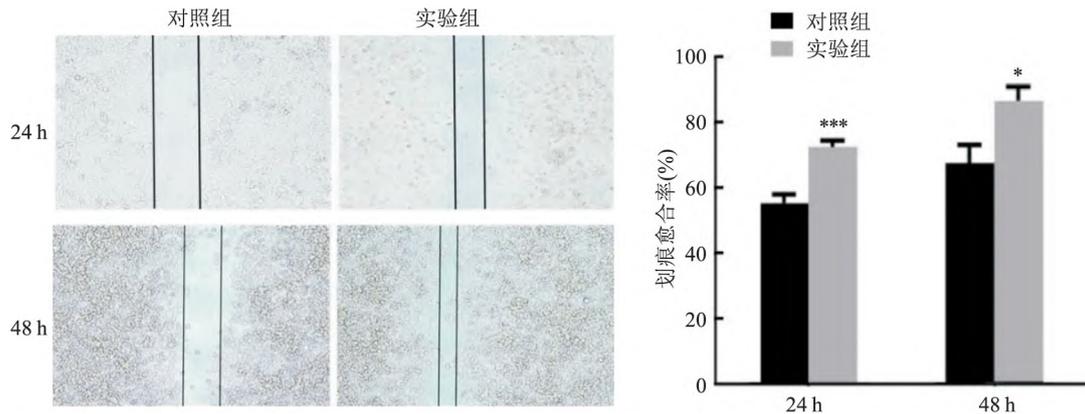


图5 划痕实验检测 PAQR4 对 HepG2 细胞侵袭的影响 ×200

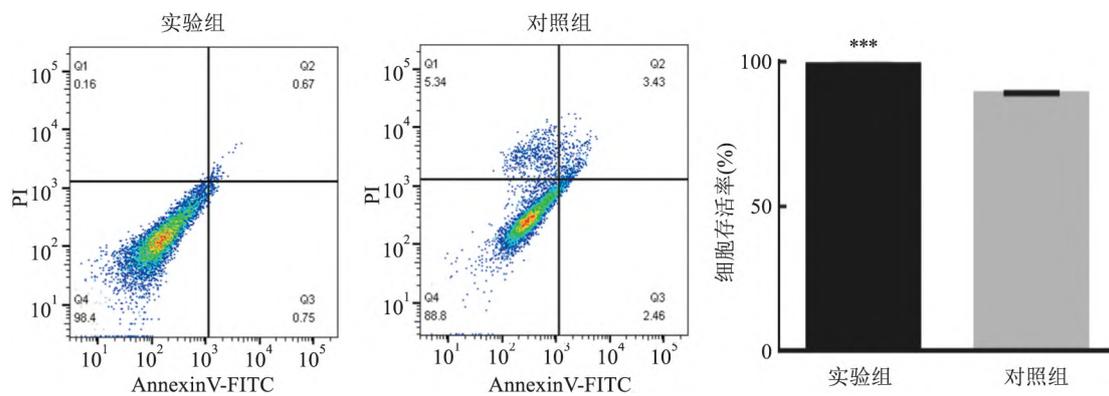
与对照组比较: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ 

图6 PI & Annexin V 检测 PAQR4 对 HepG2 细胞凋亡的影响

与对照组比较: *** $P < 0.001$

3 讨论

PAQR 家族 (PAQR1-PAQR11) 基因最先由 Tang et al^[5] 于 2005 年定义并命名, 该家族所有成员所编码的蛋白都包含 7 个跨膜域, 但其拓扑结构又不同于传统的 G 蛋白偶联受体蛋白。目前, 国内外已有研究表明人体内 PAQR 家族基因的异常表达与体内恶性肿瘤的发生发展密切相关, 如胃癌^[11]、结肠癌^[12]、肝癌^[13] 等。PAQR4 作为 PAQR 家族基因中的一员在肿瘤的发生中同样起着关键作用, 有报道^[14] 表明 PAQR4 和 SKP2 通过相互之间的拮抗作用调节老鼠体内 CDK4 蛋白的水平进而间接参与肿瘤的发生发展。这为后续 PAQR4 在人体内肿瘤的相关研究提供了线索, 但目前国内外关于 PAQR4 在 HCC 中的表达及意义的研究甚少。

Zhang et al^[6] 研究表明 PAQR4 mRNA 的表达水平在乳腺癌组织及配对癌旁组织中的表达存在差异, 且 PAQR4 mRNA 的高表达与乳腺癌患者更差的预后相关。在非小细胞肺癌患者的癌组织中 PAQR4 呈现出高表达状态, 且 PAQR4 高表达的非

小细胞肺癌患者相对于 PAQR4 低表达的患者的总体生存率更低^[8]。PAQR4 mRNA 在前列腺癌组织中的表达量相对于其配对癌旁组织中的表达量高, 且 PAQR4 mRNA 的高表达与前列腺癌的大小、病理分期和远处转移相关^[9]。PAQR4 mRNA 在胃癌组织中的表达水平高于癌旁组织^[10]。这些研究均提示 PAQR4 在人体恶性肿瘤的发生中表现出癌基因的特性。在该研究中, 利用从 TCGA 数据库中获得的高通量 RNA 测序数据, 对 PAQR4 在 HCC 中的表达和预后进行了生物信息学分析; 结果显示 PAQR4 mRNA 在 HCC 组织中高表达, 且 PAQR4 mRNA 高表达的 HCC 患者总体生存率更低。这与国内外研究结果基本一致。此外, 该研究还表明 PAQR4 mRNA 的表达水平是 HCC 患者的独立预后因素, 这说明在该研究中所涉及的临床病理特征中, PAQR4 mRNA 的表达水平对 HCC 患者预后有明显的影响。由于该研究中所纳入的临床病理特征有限, PAQR4 mRNA 的表达水平在纳入更多临床病理特征的多因素分析中是否仍是 HCC 患者预后的独立影响因素需要进一步研究。

为了进一步探讨 PAQR4 与肝癌的关系,该研究通过构建 PAQR4 过表达的 HepG2 细胞株,结果提示过表达 PAQR4 可显著促进 HepG2 肝癌细胞的增殖、侵袭、迁移,与此同时,PI 和 Annexin V 双染实验的结果也表明过表达 PAQR4 对 HepG2 细胞凋亡起抑制作用。Wu et al^[7]的研究表明过表达 PAQR4 促进 A549 肺癌细胞增殖、侵袭、迁移。过表达 PAQR4 能够促进 PC53 和 DU145 前列腺癌细胞的增殖、侵袭、转移和上皮-间质细胞之间的转换^[9]。在胃癌中 miR-370 的直接作用靶点在 PAQR4 的 3'UTR, miR-370 的敲除会导致 SGC7901 胃癌细胞中 PAQR4 的表达量增加;与此同时,过表达 PAQR4 能够逆转 miR-370 对胃癌细胞的增殖、侵袭和上皮-间质细胞之间的转换^[10]。国内外研究均提示 PAQR4 过表达促进癌细胞的增殖、侵袭和迁移,这与该研究结果相同。以上提示 PAQR4 有可能成为预测 HCC 的候选生物标志物。

综上所述,该研究初步探讨了 PAQR4 基因对 HCC 患者预后影响及其在 HepG2 细胞中的作用,证明了 PAQR4 在 HCC 组织中高表达且与预后相关,过表达 PAQR4 促进 HepG2 细胞的增殖、侵袭、迁移,且过表达 PAQR4 抑制 HepG2 细胞的凋亡。PAQR4 有可能成为 HCC 诊断和预后的新标志物。

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] 申重,徐玉清. 肝细胞肝癌靶向与免疫治疗的现状与进展[J]. 现代医学,2019,47(9):1164-8.
 [3] Tsuchiya N. Biomarkers for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(37):10573-

83.
 [4] Kulik L, El-Serag H B. Epidemiology and management of hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology, 2019, 156(2):477-91.
 [5] Tang Y T, Hu T, Arterburn M, et al. PAQR proteins: a novel membrane receptor family defined by an ancient 7-transmembrane pass motif[J]. J Mol Evol, 2005, 61(3):372-80.
 [6] Zhang H, Han R, Ling Z Q, et al. PAQR4 has a tumorigenic effect in human breast cancers in association with reduced CDK4 degradation[J]. Carcinogenesis, 2018, 39(3):439-46.
 [7] Wu B, Liu R. PAQR4 promotes cell proliferation and metastasis through the CDK4-pRB-E2F1 pathway in non-small-cell lung cancer[J]. Onco Targets Ther, 2019, 12:3625-33.
 [8] Xu P, Jiang L, Yang Y, et al. PAQR4 promotes chemoresistance in non-small cell lung cancer through inhibiting Nrf2 protein degradation[J]. Theranostics, 2020, 10(8):3767-78.
 [9] Ye J, Gao M, Guo X, et al. Breviscapine suppresses the growth and metastasis of prostate cancer through regulating PAQR4-mediated PI3K/Akt pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 127:110223.
 [10] Feng Y, Sun T, Yu Y, et al. MicroRNA-370 inhibits the proliferation, invasion and EMT of gastric cancer cells by directly targeting PAQR4[J]. J Pharmacol Sci, 2018, 138(2):96-106.
 [11] Ling Z Q, Guo W, Lu X X, et al. A Golgi-specific protein PAQR3 is closely associated with the progression, metastasis and prognosis of human gastric cancers[J]. Ann Oncol, 2014, 25(7):1363-72.
 [12] Li R H, Zhang A M, Li S, et al. PAQR3 gene expression and its methylation level in colorectal cancer tissues[J]. Oncol Lett, 2016, 12(3):1773-8.
 [13] Wu H G, Zhang W J, Ding Q, et al. Identification of PAQR3 as a new candidate tumor suppressor in hepatocellular carcinoma[J]. Oncol Rep, 2014, 32(6):2687-95.
 [14] Wang L, Zhang R, You X, et al. The steady-state level of CDK4 protein is regulated by antagonistic actions between PAQR4 and SKP2 and involved in tumorigenesis[J]. Mol Cell Biol, 2017, 9(5):409-21.

Expression of PAQR4 in hepatocellular carcinoma and its effect on the biological characteristics of HepG2 cells

Dong Qingtai^{1,2}, Lin Zhenyu^{1,2}, Li Zhonghu², Zhang Zhiyong², Ma Dandan², Cai Xun^{1,2}

(¹The First School of Clinical Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515;

²Dept of General Surgery, The Central Theater Hospital of The Chinese People's Liberation Army, Wuhan 430070)

Abstract Objective To investigate the expression and prognosis of (progesterin and adiponectin receptor family member 4, PAQR4) in hepatocellular carcinoma (HCC) and its effect on the proliferation, invasion, migration and apoptosis of HepG2 cells. **Methods** The HCC data in the cancer genome atlas (TCGA) database was used to analyze the expression of PAQR4 mRNA in the tissues of HCC and its prognostic significance. HepG2 cell lines of pcDNA3.1-PAQR4 experimental group and pcDNA3.1-vector control group were established. CCK-8 assay was used to detect the effect of overexpression PAQR4 on the proliferation of HepG2 cells. The scratch assay and Transwell assay were used to detect the effects of PAQR4 overexpression on the migration and invasion of HepG2 cells.

网络出版时间:2021/12/22 16:45 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20211221.1000.007.html

C₂-神经酰胺在 A549/PC9 细胞凋亡中的作用及影响

石伊宁^{1,2}, 刘嘉林², 刘芳芳¹, 方浩徽², 杨进¹, 陆友金¹

摘要 目的 探讨 C₂ 神经酰胺(鞘磷脂类物质之一)对非小细胞肺癌(A549 和 PC9)细胞凋亡的影响。方法 培养非小细胞肺癌细胞系(A549 和 PC9),提取总蛋白进行 Western blot,检测两种细胞中凋亡蛋白 Caspase-3 及 cleaved Caspase-3 蛋白的表达情况;使用 CCK-8 比色法筛选药物浓度;Hoechst 33258 凋亡染色检查细胞凋亡情况;流式细胞化学术检测细胞凋亡比率,RT-PCR 检测凋亡蛋白 Caspase-3 的表达。结果 神经酰胺在 50 μmol/L 浓度处理后细胞活力均在 70%左右;与对照组相比,神经酰胺组凋亡蛋白表达升高($P < 0.05$);流式细胞化学术及凋亡染色检测显示神经酰胺处理组凋亡率与对照组相比增加($P < 0.05$);在基因水平检测 mRNA 显示凋亡蛋白 Caspase-3 表达增加($P < 0.05$)。结论 C₂-神经酰胺可以促使非小细胞肺癌细胞凋亡,从而为临床肺癌的化疗提供新的治疗靶点。

关键词 鞘磷脂;神经酰胺;肺癌细胞;凋亡

中图分类号 R 344;R 734

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)01-0031-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.01.007

肺癌是全球最常见的癌症之一。大约 85% 的肺癌是非小细胞肺癌,15% 是小细胞肺癌^[1-2]。随着科学技术的发展,目前肺癌主要以化疗来控制病情的进展,但随着其高耐药性和转移率的出现,致使患者的 5 年生存率仍然很低^[3]。这就需要探索新的治疗靶点及药物来提高患者的生存率。

神经酰胺是鞘脂代谢的核心分子,它是细胞信号转导的重要参与者,并参与细胞生长、衰老、凋亡、迁移、侵袭等生物过程^[4]。有研究^[5]表明神经酰胺可以激活丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶,从而改变线粒体膜电位诱导细胞凋亡。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)在诱导巨噬细胞发生炎症时可以通过激活酸性鞘磷脂酶从而诱导细胞内神经酰胺的产生^[6],但具体的神经酰胺的作用并不完全清楚,需进一步验证。该研究将使用外源性 C₂-神经酰胺作用于非小细胞肺癌细胞系,观察其诱导癌细胞凋亡后的形态及蛋白分子变化,并为临床肺癌的化疗靶

2021-09-05 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81400058);安徽省科技攻关计划项目(编号:1401045016)

作者单位:¹ 安徽医科大学第二附属医院呼吸内科,合肥 230601

² 安徽省胸科医院呼吸内科,合肥 230022

作者简介:石伊宁,女,硕士研究生;

陆友金,男,教授,硕士生导师,责任作者,E-mail:luyougold@163.com

PI and Annexin V double staining experiment was used to observe the effect of PAQR4 overexpression on HepG2 cell apoptosis. **Results** TCGA database data analysis results showed that the expression of PAQR4 mRNA in HCC tissues was higher than that in adjacent tissues ($P < 0.05$), and the overall survival rate of HCC patients with PAQR4 mRNA high expression group was lower than that of low expression group ($P = 0.012$). Univariate regression analysis showed that PAQR4 mRNA expression level ($HR: 1.104, 95\% CI: 1.051 - 1.160, P < 0.001$), T stage ($HR: 1.816, 95\% CI: 1.442 - 2.287, P < 0.001$), M stage ($HR: 3.924, 95\% CI: 1.230 - 12.519, P = 0.021$), pathological staging ($HR: 1.879, 95\% CI: 1.466 - 2.408, P < 0.001$) had a significant impact on the prognosis of HCC patients. Multivariate regression analysis showed that PAQR4 mRNA expression level ($HR: 1.396, 95\% CI: 1.081 - 1.804, P = 0.011$) was an independent risk factor of the prognosis of HCC patients. The results of CCK-8 assay, scratch assay and Transwell assay showed that the proliferation, migration, invasion and invasion ability of HepG2 cells in the experimental group were significantly improved compared with the control group ($P < 0.05$). Overexpression PAQR4 could inhibit HepG2 cell apoptosis ($P < 0.05$). **Conclusion** PAQR4 is significantly up-regulated in HCC tissue and is related to the prognosis of the patients. Overexpression PAQR4 promotes the proliferation, invasion and migration of HepG2 cells, and inhibits HepG2 cells apoptosis. PAQR4 maybe a new marker for the diagnosis and prognosis of HCC.

Key words progesterin and adipoQ receptor family member 4; hepatocellular carcinoma; proliferation; invasion; migration; apoptosis