

网络出版时间: 2023-09-20 09:18:41 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20230918.1412.016>

干涉 NFATc1 表达影响细胞周期运转抑制结肠癌细胞增殖的机制

徐光瑶, 黄 灿

摘要 目的 根据活化 T-细胞核因子 1(NFATc1) 在结肠癌中的表达及预后情况, 利用 shRNA 转染细胞干涉 NFATc1 表达, 检测 NFATc1 对结肠癌细胞增殖各表型的影响, 并初步分析可能的机制。方法 利用 TCGA 数据库分析 NFATc1 高表达对结肠癌预后的影响, 取临床结肠癌患者术后样本进行免疫组化染色, 比较 NFATc1 在结肠癌组织和癌旁组织中的表达差异。通过将 shRNA 转染结肠癌细胞干涉 NFATc1 后, 利用 CCK-8 测定 NFATc1 干涉后的细胞增殖变化; 利用克隆形成实验预测 NFATc1 干涉后结肠癌细胞成瘤潜力; 利用碘化丙啶染色细胞, 通过流式细胞仪分析细胞周期分布变化; 利用 qPCR 检测 NFATc1 对结肠癌细胞周期相关因子转录活性的影响。结果 生存曲线显示 NFATc1 高表达的结肠癌患者预后更差。临床结肠癌组织 NFATc1 的表达高于癌旁正常组织。干涉 NFATc1 导致结肠癌细胞的增殖速率明显降低, 克隆形成能力显著减弱, 细胞周期出现 G0/G1 期停滞。qPCR 结果表明干涉 NFATc1 后, 多个关键的细胞周期抑制因子转录活性明显上升。结论 NFATc1 通过抑制细胞周期调控因子转录活性促进细胞周期运转, 从而促进结肠癌细胞增殖和成瘤能力。

关键词 NFATc1; 结肠癌; 细胞周期; 细胞增殖

中图分类号 R 735.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)10-1701-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.10.016

结肠癌是一种常见的恶性肿瘤疾病, 近年来它在全球癌症发病率和病死率稳居前三^[1-2]。尽管结肠癌的手术治疗和化疗均取得了很大进展, 但近几十年来结肠癌患者的 5 年相对生存率并未显著提高。因此, 更加全面地了解结肠癌发生和发展的分子机制迫在眉睫^[3]。活化 T-细胞核因子 1(nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic 1 isoform I, NFATc1) 是活化 T 细胞核因子家族重要成员之一。

2023-05-23 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金(编号: 2108085QH338)

作者单位: 安徽医科大学基础医学院生物化学教研室, 合肥 230032

作者简介: 徐光瑶, 男, 硕士研究生;

黄 灿, 女, 博士, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: huangcan@ahmu.edu.cn

活化 T 细胞核因子最初发现于活化的 T 细胞中, 在免疫应答过程中起诱导基因转录的作用^[4]。作为转录因子, 活化 T 细胞核因子家族也参与调节炎症反应^[5]、血管生成和骨骼内稳态^[6]。研究^[7-8]表明, NFATc1 在某些肿瘤中被激活, 例如乳腺癌、白血病、非小细胞肺癌等, 但其中的分子机制尚不清楚。该研究探讨 NFATc1 在结肠癌中的表达及预后情况, 利用 shRNA 转染细胞干涉 NFATc1 表达, 检测 NFATc1 对结肠癌细胞增殖各表型的影响, 并初步分析可能的机制, 为开发治疗结肠癌新的靶向药物提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、0.25% 胰酶溶液(南京维森特生物科技有限公司); McCoy's 5A 培养基(美国 Gibco 公司); 青-链霉素混合液、磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)、实时荧光定量 PCR 试剂盒(上海碧云天生物科技有限公司)、CCK-8 试剂盒(日本 Dojindo 公司)。

1.1.2 临床标本 本实验所用的人结肠癌组织样本和癌旁组织由安徽医科大学第一附属医院提供, 手术前未接受放化疗或其它辅助治疗。患者对本实验内容均知情同意, 且研究通过安徽医科大学生物医学伦理委员会的批准。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 本实验所用结肠癌细胞系 HCT116 由 Bert Vogelstein 博士赠送。培养条件: McCoy's 5A 培养基添加 10% FBS 和 1% 青-链霉素混合液, 37.5 °C、5% CO₂ 环境下培养。

1.2.2 细胞转染 以每孔 7×10^5 个细胞的密度接种在 6 孔板上培养 24 h。取 2 μg shRNA 质粒与 250 μl Opti-MEM 混匀, 4 μl 的 lipo2000 与 250 μl Opti-MEM 混匀, 静置 5 min 后二者混匀, 静置 20 min 后加入 6 孔板中, 用 Opti-MEM 培养基补足至 2 ml。6 h 后换正常培养基。24 h 后用嘌呤霉素(终

浓度: 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 筛选 24 h。shCon 为对照组, shNFATc1-1 和 shNFATc1-2 为实验组。

1.2.3 质粒构建 预测 2 个 NFATc1 的 shRNA 表达质粒靶点, 设计并合成含有 BspMI 酶切位点的 62 bp 的发夹结构的表达序列互补双链, 退火后插入 pcU6icas 载体。特异性靶向位点信息 shNFATc1-1: 5'-GCTTGGCCTGTACCACAA-3' 靶向位点 669-687 (NM_172390.3); shNFATc1-2: 5'-GAGGAAGAACACGGCTA-3', 靶向位点 1957-1975 (NM_172390.3)。

1.2.4 CCK-8 法测定细胞数目 筛选好的细胞进行细胞计数, 以每孔 5 000 个细胞的密度接种在 96 孔板中, 每组设置 6 个复孔, 分别在第 1、2、3 天加入 10 μl CCK-8 后, 室温静置 30 min, 检测每个孔的吸光度, 再计算出每个孔在各个时间点的细胞数。

1.2.5 免疫组化 收集结肠癌患者组织, 包埋、切片、脱蜡后, 将洗好的切片浸入 3% 的 H_2O_2 中, 用 PBS 浸泡后微波炉加热进行抗原修复。擦干多余液体后加入 10% 的血清进行封闭 30 min, 擦净多余液体, 取出配好的一抗覆盖切片 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。将切片用 PBS 洗涤多次擦干, 在切片上滴加二抗, 室温孵育 1 h。用 PBS 洗涤多次, 滴加 DAB 显色液, 用一级水清洗, 用苏木精浸泡 3 min。最后用封片剂进行封片。正置显微镜观察。

1.2.6 克隆形成实验 将筛选完成的细胞接种到 6 孔板内, 每孔 300 个, 培养 8~10 d。用 PBS 清洗细胞 2 次, 去除 PBS。每孔加入 90% 乙醇, 固定 30 min, 去除乙醇。每孔加入 0.4% 亚甲基蓝 1 ml, 染色 30 min, PBS 清洗, 进行拍照并计数。

1.2.7 细胞周期分析 将筛选完成的细胞接种到 6 孔板内, 每孔 300 个, 待细胞贴壁后, 换无血清培养基培养 24 h 后在正常条件下培养 16 h。收集细胞, 用 90% 乙醇 4 $^{\circ}\text{C}$ 固定过夜, 离心收集细胞, 用 PBS 洗涤后重悬, 加入 RNase A (终浓度 0.25 mg/ml) 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光反应 30 min。然后加入碘化丙啶 5 μl , 室温孵育 30 min, 用流式细胞仪检测细胞在各个时期百分比。

1.2.8 实时荧光定量 PCR 使用总 RNA 提取试剂盒(上海碧云天生物科技有限公司) 提取总 RNA, 用反转录试剂盒(大连宝生物科技有限公司) 逆转成 cDNA 后作为 qPCR 的模板。采用 SYBR 试剂盒进行 qPCR, 引物序列见表 1。

1.3 统计学处理 使用 GraphPad Prism 8.0 和 SPSS 20.0 软件进行绘图和统计学分析。所有实验重复 3

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

引物名称	序列(5'-3')
NFATc1	F: CAAGCCGAATTCTCTGGTGG R: CTGGTACTGGCTTCGCTTTC
p21	F: TCACTGTCTTGTACCCCTGTGCG R: GGCCTTTGGAGTGGTAGAAA
GADD45A	F: TCACTGTCTTGTACCCCTGTGCG R: GGCCTTTGGAGTGGTAGAAA
BTG2	F: TAACCGCTGTCTGTGGACCC R: TTAAGCCTCTGCTCGCTCAC
PCNA	F: CTAGCCTGACAAATGCTTGCT R: GCTGCTTCGGCTTCAGGAG
SFN	F: TGACGACAAGAACCGCATCAT R: GTAGTGAAGACGGAAAAGTTCA

次, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 *t* 检验、方差分析等方法进行差异比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NFATc1 在结肠癌中表达 利用 TCGA 数据库中的结肠癌数据库, 制作 ROC 曲线和死亡曲线。通过曲线下的面积(area under curve, AUC) 的值是否接近 1 并处于置信区间(confidence interval, CI) 说明结果是否可信。结果显示, $AUC = 0.768$, 并且在 CI 范围内, 证明结果高度可信, 并且通过图表和风险比(hazard ratio, HR) 可以看出高表达的 NFATc1 会导致预后变差, 见图 1A。通过三组临床结肠癌样本的免疫组化结果发现结肠癌组织细胞核中 NFATc1 的表达明显高于正常组织, 见图 1B。取 19 个样本研磨后提取 RNA, qPCR 对 NFATc1 的 mRNA 进行定量, 结果显示结肠癌组织 NFATc1 的 mRNA 表达量明显高于癌旁组织, 见图 1C。提示, 高表达的 NFATc1 与结肠癌的不良预后有密切关系。

2.2 干涉 NFATc1 表达对结肠癌细胞增殖的影响

利用 shRNA 转染 HCT116 干涉 NFATc1 表达, 通过 Western blot 检测干涉效果, 发现 NFATc1 蛋白水平显著降低(NFATc1 剪切体较多, 蛋白聚集在 70~110 ku 附近), 见图 2A。利用 CCK-8 测定干涉 NFATc1 表达后细胞数目增长快慢, 发现细胞增长明显变慢, 见图 2B。再对干涉 NFATc1 表达后的 HCT116 细胞进行筛选, 并且挑选筛选后的细胞进行单克隆实验, 观察细胞形成集落的能力, 发现细胞的集落形成明显变少, 从对照组的平均 133 个减少为 50 个($P = 0.002$) 和 45 个($P = 0.002$), 见图 2C。综合两个结果说明干涉 NFATc1 表达显著抑制结肠

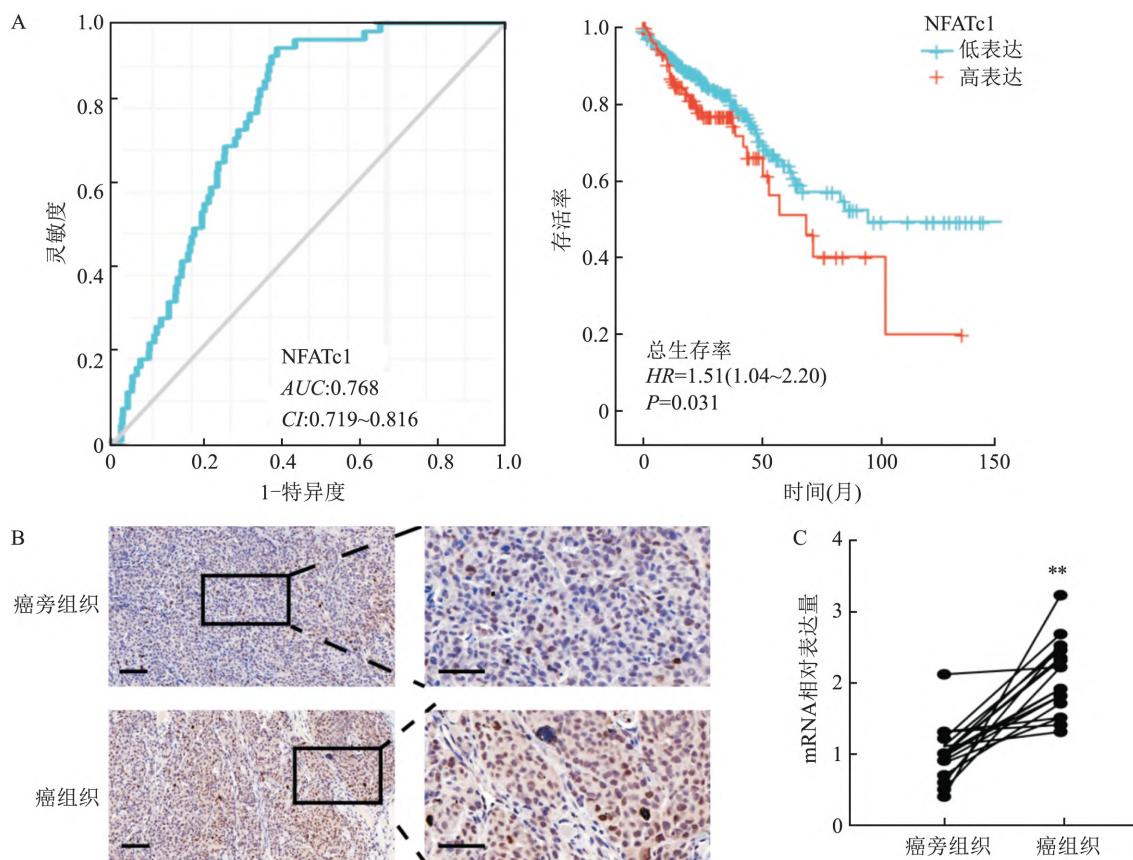


图 1 结肠癌中 NFATc1 高表达与预后的关系

A: TCGA 数据中结肠癌所做 ROC 曲线与生存曲线 ($n=698$) ; B: 临床结肠癌样本组织免疫组化代表性图片 ($n=3$) ,左: SP $\times 200$,右: SP $\times 600$; C: qPCR 检测癌旁组织和癌组织 NFATc1 mRNA 相对表达量 ,与癌旁组织比较: ** $P < 0.01$

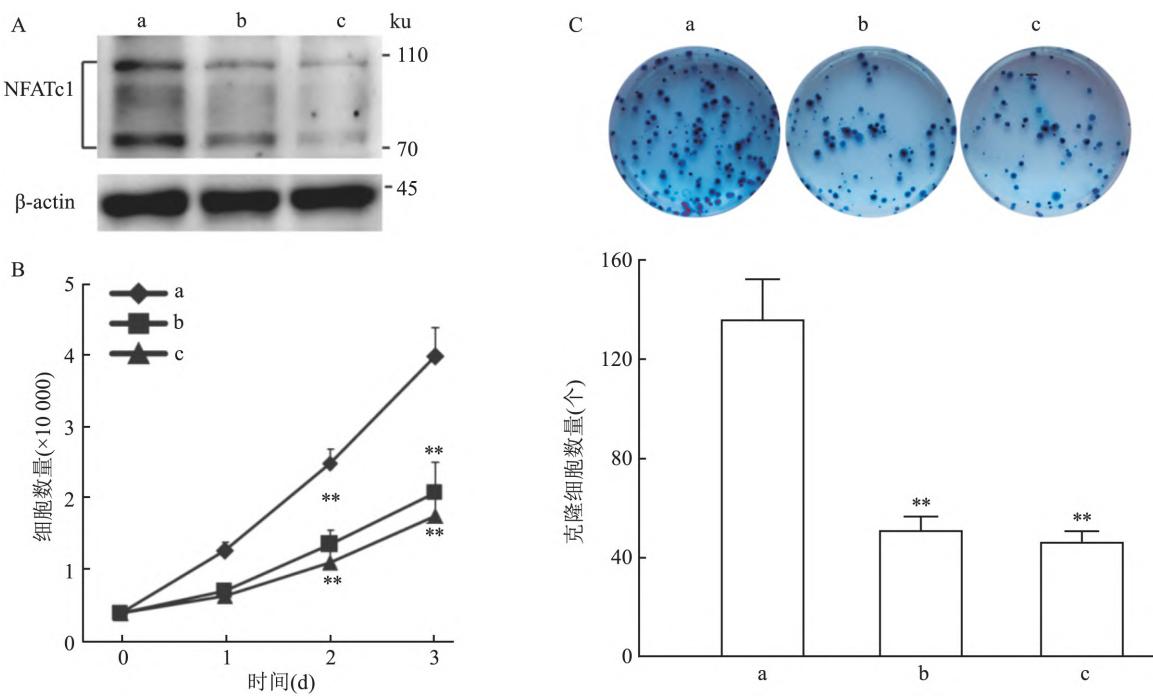


图 2 干涉 NFATc1 对结肠癌细胞增殖的影响

A: Western blot 法检测结肠癌细胞 HCT116 干涉 NFATc1 后 ,NFATc1 的蛋白表达水平; B: 在 HCT116 细胞干涉 NFATc1 表达后 ,CCK-8 染色测定细胞数; C: 在 HCT116 细胞干涉 NFATc1 表达后进行克隆形成实验结果及统计结果; a: shCon 组; b: shNFATc1-1 组; c: shNFATc1-2 组; 与 shCon 组比较: ** $P < 0.01$

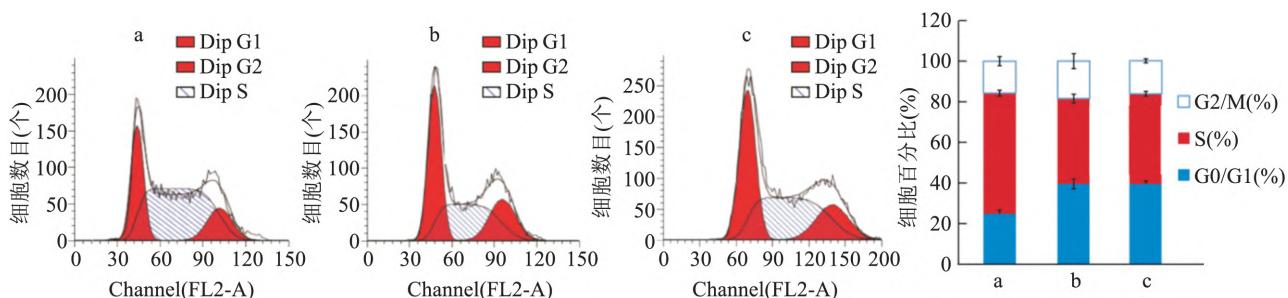


图 3 NFATc1 对细胞周期运转的影响

a: shCon 组; b: shNFATc1-1 组; c: shNFATc1-2 组; 与 shCon 组比较: ** $P < 0.01$

癌细胞增殖。

2.3 干涉 NFATc1 后对结肠癌细胞周期运转影响

HCT116 转染 shNFATc1 后进行血清饥饿, 将细胞同步在 G0/G1 期后, 再正常培养 16 h, 用流式细胞技术检测细胞周期各个时期的细胞分布情况。结果发现对照组分布在 G0/G1 期的细胞百分比为 24.8%, 两组 shRNA 分别干涉 NFATc1 表达后分布在 G0/G1 期的细胞百分比增加为 39.7% ($P = 0.003$) 和 39.6% ($P = 0.001$), 说明 NFATc1 敲减成功抑制了细胞周期的运转, 让结肠癌细胞发生了 G0/G1 期停滞, 同时因为进入 S 期的进程变慢, 分布在 S 期的细胞也从 59.7% 降低至 42.0% ($P = 0.007$) 和 44.53% ($P = 0.004$), 见图 3。

2.4 干涉 NFATc1 对细胞周期因子表达影响

通过 qPCR 检测 NFATc1 对 G1/S、G2/M 期转变相关细胞周期调控因子 BTG2、SFN、GADD45A 和几乎在整个细胞周期都有控制作用的 p21、PCNA 的 mRNA 表达, 发现上述基因在干涉 NFATc1 后的 mRNA 表达都出现了明显的上升, 证实 NFATc1 不仅影响 G0/G1 期进入 S, 也可能会影响 G2/M 期的转换, 见图 4。

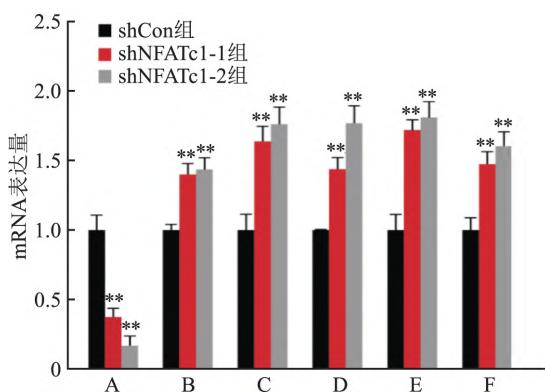


图 4 干涉 NFATc1 对细胞周期相关因子表达的影响

A: NFATc1; B: GADD45A; C: BTG2; D: SFN; E: p21; F: PCNA; 与 shCon 组比较: ** $P < 0.01$

3 讨论

结肠癌约占所有癌症病例的 10%, 在发病率和病死率方面均位居前三位。最新癌症统计报告^[1]指出, 年轻人的结肠癌以每年 1.5% 的速率上升, 现有的临床结肠癌治疗药物依然不能有效发挥作用。所以进一步了解结肠癌的发生发展机制, 发现新的结肠癌发生发展相关的肿瘤基因, 对于开发结肠癌靶向治疗药物依然十分重要。

通过 TCGA 数据库信息和收集的临床结肠癌样本分析结果显示 NFATc1 高表达显著影响结肠癌患者预后。通过细胞实验检测的结肠癌增殖相关表型, 进一步说明 NFATc1 对结肠癌增殖的促进作用。因为干涉 NFATc1 后细胞周期出现了明显的 G0/G1 停滞现象, 所以本研究首先把目光聚集到 NFATc1 对细胞周期调控因子的作用上。而细胞周期正常运转主要依赖细胞周期依赖性蛋白激酶 (CDK), 该酶只有与细胞周期蛋白 (Cyclin) 结合才有活性, 促进细胞周期 G1/S、G2/M 转变^[9]。而 CDK 的量和活性受到上游细胞周期调控因子严格调控, 保证细胞周期正常运行。本研究分别选取在 G1/S、G2/M 转变中起控制作用的上游因子 BTG2、SFN 和 GADD45A^[10-11], 以及在整个细胞周期都有控制作用的 p21、PCNA^[12] 进行检测, 结果显示干涉 NFATc1 后上述因子表达量都显著上升。提示, 干涉 NFATc1 对细胞周期的抑制作用不仅仅是单一的对 G1/S 期的转化影响, 而是在细胞周期的各个时期进入下一时期都有抑制作用, NFATc1 对上述因子的调控非直接调控, 而是通过调控上游某个关键转录因子, 而后影响了它们的表达。所以本研究利用 KEGG 通路分析, 寻找上游交叉点, 验证 NFATc1 直接靶向的基因, 并进一步解析其调控机制。

NFATc1 作为转录因子,只有从细胞质成功转位到细胞核才能结合下游靶基因,行使其转录激活作用。钙调磷酸酶和 CaM 激酶可以催化 NFATc1 去磷酸化,并诱导其转位到细胞核,这一步对于其作为转录因子结合靶向基因至关重要^[13]。钙通道抑制剂可以抑制 NFATc1 转位到细胞核,阻碍其与靶基因结合而发挥作用。并且现有报道也证实钙通道的激活在肿瘤的发生发展过程中有不可或缺的作用^[14]。所以,进一步通过利用钙通道抑制剂处理结肠癌细胞,阻止 NFATc1 进行核转位,阻断它的转录激活作用,在此条件下进一步考察结肠癌细胞的表型以及所发现的信号通路的变化是解析 NFATc1 促进结肠癌细胞增殖的详细机制的关键,可以为开发与钙通道抑制剂相结合的靶向治疗药物提供理论基础,为结肠癌治疗提供新的方向。

参考文献

- [1] Siegel R L ,Miller K D ,Wagle N S ,et al. Cancer statistics, 2023 [J]. CA Cancer J Clin 2023, 73(1): 17–48.
- [2] Siegel R L ,Miller K D ,Jemal A. Cancer statistics, 2019 [J]. CA Cancer J Clin 2019, 69(1): 7–34.
- [3] Li N ,Lu B ,Luo C ,et al. Incidence, mortality, survival, risk factor and screening of colorectal cancer: a comparison among China, Europe and northern America [J]. Cancer Lett 2021, 522: 255–68.
- [4] Luo Y ,Jiang N ,May H I ,et al. Cooperative binding of ETS2 and NFAT Links Erk1/2 and calcineurin signaling in the pathogenesis of cardiac hypertrophy [J]. Circulation 2021, 144(1): 34–51.
- [5] Cai S Y ,Yu D ,Soroka C J ,et al. Hepatic NFAT signaling regulates the expression of inflammatory cytokines in cholestasis [J]. J Hepatol 2021, 74(3): 550–9.
- [6] Yang Y ,Chung M R ,Zhou S ,et al. STAT3 controls osteoclast differentiation and bone homeostasis by regulating NFATc1 transcription [J]. J Biol Chem 2019, 294(42): 15395–407.
- [7] Zhang Y ,Zou B ,Tan Y ,et al. Sinomenine inhibits osteolysis in breast cancer by reducing IL-8/CXCR1 and c-Fos/NFATc1 signaling [J]. Pharmacol Res 2019, 142: 140–50.
- [8] Wu L ,Zhang D ,Zhou L ,et al. FUN14 domain-containing 1 promotes breast cancer proliferation and migration by activating calcineurin–NFATC1–BM11 axis [J]. EBio Medicine 2019, 41: 384–94.
- [9] Chou J ,Quigley D A ,Robinson T M ,et al. Transcription-associated cyclin-dependent kinases as targets and biomarkers for cancer therapy [J]. Cancer Discov 2020, 10(3): 351–70.
- [10] Shuai Y ,Ma Z ,Liu W ,et al. TEAD4 modulated lncRNA MNX1-AS1 contributes to gastric cancer progression partly through suppressing BTG2 and activating BCL2 [J]. Mol Cancer 2020, 19(1): 6.
- [11] Arab K ,Karaulanov E ,Musheev M ,et al. GADD45A binds R-loops and recruits TET1 to CpG island promoters [J]. Nat Genet 2019, 51(2): 217–23.
- [12] Sheng C ,Mendlar I H ,Rieke S ,et al. PCNA-mediated degradation of p21 coordinates the DNA damage response and cell cycle regulation in individual cells [J]. Cell Rep 2019, 27(1): 48–58.
- [13] Wu L ,Lin W ,Liao Q ,et al. Calcium channel blocker nifedipine suppresses colorectal cancer progression and immune escape by preventing NFAT2 nuclear translocation [J]. Cell Rep 2020, 33(4): 108327.
- [14] Peuker K ,Strigli A ,Tauriello D V F ,et al. Microbiota-dependent activation of the myeloid calcineurin–NFAT pathway inhibits B7H3– and B7H4–dependent anti-tumor immunity in colorectal cancer [J]. Immunity 2022, 55(4): 701–17.

Mechanism study of interfered NFATc1 expression suppressing cell cycle progression in colorectal cancer cell

Xu Guangyao ,Huang Can

(Dept of Biochemistry and Molecular Biology School of Basic Medicine , Anhui Medical University Hefei 230032)

Abstract **Objective** Based on the expression of NFATc1 and prognosis in colorectal cancer, we interfered NFATc1 via shRNA transfection, analyzed the effect of NFATc1 on colorectal cancer cell proliferation, and further explored potential mechanisms. **Methods** We explored the correlation between NFATc1 expression and the prognosis of colorectal cancer using the TCGA database. Thereafter, we compared the expression of NFATc1 in colorectal cancer tissues and adjacent normal tissues by immunohistochemical staining of postoperative samples from clinical colorectal cancer patients. We analyzed the effect of NFATc1 on colorectal cancer cell proliferation by measuring CCK-8 after NFATc1 interfered using shRNA transfection; Tumorigenic potential of colorectal cancer cells was measured with clone formation assay; Cell cycle distribution was measured by flow cytometry after propidium iodide staining.

网络出版时间: 2023-09-19 16:42:10 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20230918.1412.017>

木犀草素调控 HPGD 表达抑制子宫内膜间质细胞侵袭和迁移

邵艳社¹, 许雪梅¹, 杨宝芹¹, 李会娟², 姬 霞¹

摘要 目的 研究木犀草素对子宫内膜间质细胞侵袭和迁移的影响, 并探讨其机制是否与调控 15-羟基前列腺素脱氢酶(HPGD) 表达有关。方法 将子宫内膜间质细胞 hEM15A 细胞分为对照组(正常培养细胞)、木犀草素组(采用不同浓度木犀草素处理细胞)、si-HPGD 组(si-HPGD 转染细胞)、si-NC 组(si-NC 转染细胞)、木犀草素 + si-HPGD 组(采用 20 μ mol/L 木犀草素处理 si-HPGD 转染细胞)、木犀草素 + si-NC 组(采用 20 μ mol/L 木犀草素处理 si-NC 转染细胞)。实时定量 PCR 检测 HPGD 的 mRNA 表达水平, CCK-8 实验检测细胞增殖, Transwell 和划痕实验检测细胞侵袭与迁移, Western blot 检测增殖细胞核抗原(PCNA)、基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、MMP-9、HPGD 的蛋白表达, ELISA 试剂盒检测前列腺素 E2(PGE2) 水平。结果 与 0 μ mol/L 木犀草素比较 20、50、100 μ mol/L 的木犀草素显著抑制 hEM15A 细胞的增殖, 减少 PCNA 表达(均 $P < 0.05$)。与对照组比较, 20 μ mol/L 木犀草素显著抑制细胞侵袭和迁移($P < 0.05$), 减少 MMP-2、MMP-9 的表达($P < 0.05$), 上调 HPGD mRNA 和蛋白表达水平($P < 0.05$), 抑制细胞 PGE2 水平($P < 0.05$)。与木犀草素组比较, 木犀草素 + si-HPGD 组细胞侵袭和迁移均增加($P < 0.05$), MMP-2 和 MMP-9 的表达也增加($P < 0.05$)。结论 木犀草素调控 HPGD/PGE2 信号以抑制子宫内膜间质细胞的侵袭和迁移。

2023-04-23 接收

基金项目: 河南省中医药科学研究专项课题(编号: 2023ZY2095)

作者单位: ¹ 河南省中医院(河南中医药大学第二附属医院) 妇产科, 郑州 450000

² 河南中医药大学第一附属医院生殖科, 郑州 450000

作者简介: 邵艳社, 女, 主治医师;

姬 霞, 女, 主任医师, 责任作者, E-mail: jixia_dt@163.com

关键词 子宫内膜异位症; 木犀草素; HPGD; 侵袭; 迁移

中图分类号 R 965

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)10-1706-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.10.017

子宫内膜异位症(endometriosis, EMs) 是育龄期妇女常见的一种慢性疾病^[1], 其特征为有生长活性的腺体或间质等子宫内膜组织在子宫体以外的其他部位出现异位生长、浸润。目前 EMs 的发病机制尚未完全明确, 但研究^[2]表明 15-羟基前列腺素脱氢酶(15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase, HPGD)、前列腺素内过氧化物合酶(prostaglandin-endoperoxide synthase, PTGS) 等可影响 EMs 发生发展。其中, HPGD 能够介导前列腺素 E2(prostaglandin E2, PGE2) 的分解代谢, 且其在 EMs 和子宫内膜癌组织中都表达下调, 是 EMs 病理生理学相关的关键候选基因之一^[3-4]。异位侵袭和远端迁移被认为是 EMs 内膜细胞异位种植的关键步骤^[5], 寻找可靶向 EMs 内膜细胞侵袭迁移的药物对 EMs 治疗意义重大。研究表明, 木犀草素是可用于 EMs 治疗的多种中药配方的主要活性成分之一^[6-7], 木犀草素可体外抑制子宫内膜细胞的增殖并诱导凋亡^[8-9], 但其是否影响 EMs 内膜间质细胞的侵袭和迁移尚不清楚。因此, 该研究探求木犀草素对 EMs 内膜间质细胞侵袭和迁移的作用及相关机制, 以期为 EMs 的临床治疗方案提供新的参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料与试剂 人永生化 EMs 在位内膜间

ning. The effect of NFATc1 on the transcriptional activity of cell-cycle-related factors was measured by qPCR. **Results** Based on the TCGA data, we found that high NFATc1 expression in colorectal cancer patients was associated with poor prognosis. The expression of NFATc1 in clinical colorectal cancer tissues was significantly higher than that in adjacent normal tissues. Additionally, interference with NFATc1 inhibited the proliferation rate of colorectal cancer cells in vitro and the clonogenic capacity of cells was impaired. As expected, the cell cycle was arrested at the G0/G1 phase. The qPCR results indicated that the knockdown of NFATc1 increased the transcriptional activity of multiple key cell cycle inhibitors. **Conclusion** NFATc1 promotes cell cycle progression by inhibiting the transcriptional activity of cell cycle regulatory factors, thereby promoting the proliferation and tumorigenic ability of colorectal cancer cells.

Key words NFATc1; colon cancer; cell cycle; cell proliferation