

吉马酮通过 HBXIP 调控 PRAS40/p-PRAS4 影响胃癌细胞增殖

方 兴¹, 唐海涛², 赵营莉¹, 程紫薇^{3, 4}, 李俊峰¹, 刘建军^{1*}

1. 合肥市第二人民医院 (安徽医科大学附属合肥医院), 安徽 合肥 230000

2. 安徽国际旅行卫生保健中心 (合肥海关口岸门诊部), 安徽 合肥 230000

3. 安徽中医药大学, 安徽 合肥 230000

4. 安徽医科大学第一附属医院, 安徽 合肥 230000

摘要: 目的 研究吉马酮通过 HBXIP 调控 PRAS40/p-PRAS4 影响胃癌细胞增殖的机制。方法 收集 20 例行胃癌切除术患者的胃癌组织及配对的癌旁组织, 通过免疫组化实验及 Western blotting 实验检测乙型肝炎 X 相互作用蛋白 (HBXIP)、相对分子质量为 4×10^4 的富含脯氨酸蛋白激酶 B 底物蛋白 (PRAS40)、磷酸化 PRAS40 (p-PRAS40) 的表达量; 以 20 例癌组织中 HBXIP、PRAS40、p-PRAS40 蛋白表达的免疫组织化学染色评分为数据, 通过 Correlation matrix 分析 PRAS40、p-PRAS40 的表达与 HBXIP 表达的相关性; 在胃癌 MGC803、SGC7901 细胞中通过转染质粒过表达或沉默 HBXIP 后 (NC 组转染空白质粒), MTT 实验检测细胞增殖能力的变化, 通过流式细胞术及 Hoechst 33285 染色检测细胞凋亡情况, 并通过 Western blotting 实验检测 HBXIP、PRAS40、p-PRAS40 的蛋白表达量; 以 0 (溶剂对照组)、50、100、150、200、250 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 吉马酮处理胃癌 MGC803、SGC7901 细胞 48 h, MTT 实验检测细胞增殖能力的变化、流式细胞术检测凋亡水平的变化; 以 150 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 吉马酮处理胃癌 MGC803、SGC7901 细胞 48 h, 通过 Western blotting 实验检测 HBXIP、PRAS40、p-PRAS40 的蛋白表达变化。结果 HBXIP、PRAS40 及 p-PRAS40 在胃癌组织中的表达显著高于癌旁 ($P < 0.05$) 并且 PRAS40 及 p-PRAS40 的表达与 HBXIP 的表达量成正相关。在胃癌 MGC803、SGC7901 细胞中沉默 HBXIP 后, 与 NC 组比较, 细胞增殖能力显著降低 ($P < 0.05$), 细胞凋亡显著增多 ($P < 0.05$), PRAS40、p-PRAS40 蛋白表达明显降低; 而过表达 HBXIP 后, 细胞增殖能力显著增强 ($P < 0.05$), PRAS40、p-PRAS40 蛋白表达明显升高。与溶剂对照组比较, 吉马酮可以剂量相关性地抑制胃癌细胞增殖并促进凋亡 ($P < 0.05$), 并抑制 HBXIP、PRAS40 及 p-PRAS40 的表达。结论 吉马酮通过下调 HBXIP 促进胃癌细胞增殖, 其机制可能与 HBXIP 下调的 PRAS40 及其磷酸化蛋白水平有关。

关键词: 吉马酮; HBXIP; PRAS40; 胃癌; 细胞增殖

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2024) 01-0087-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.01.010

Effect of germacrone on proliferation of gastric cancer cells by regulating PRAS40/p-PRAS4 through HBXIP

FANG Xing¹, TANG Haitao², ZHAO Yingli¹, CHENG Ziwei^{3, 4}, LI Junfeng¹, LIU Jianjun¹

1. The Second People's Hospital of Hefei (Hefei Hospital Affiliated to Anhui Medical University), Hefei 230000, China

2. Anhui International Travel Healthcare Center (Hefei Customs Port Clinic), Hefei 230000, China

3. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230000, China

4. The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230000, China

Abstract: Objective To study the mechanism of the regulation of gastric cancer cell proliferation by germacrone through HBXIP. **Methods** Gastric cancer tissues and paired paracancer tissues were collected from 20 patients undergoing gastrectomy. The expression of HBXIP, prolin-rich protein kinase B substrate protein (PRAS40) with relative molecular weight of 4×10^4 and p-PRAS40 were detected by immunohistochemical and Western blotting. The correlation between PRAS40 and p-PRAS40

收稿日期: 2023-05-11

基金项目: 合肥市自然科学基金资助项目 (2021012); 安徽省高等学校科学研究项目 (自然科学类) (2022AH050712); 合肥市第二人民医院院级课题资助项目 (2021ygt35)

第一作者: 方 兴, 药师, 硕士, 研究方向为抗肿瘤药理学。E-mail: 1757029857@qq.com

*通信作者: 刘建军, 主任药师, 本科, 研究方向为抗肿瘤药理学。E-mail: 13855125897@163.com

expression and HBXIP expression in 20 cancer tissues was analyzed by correlation Analyze. After overexpressing or knocking down HBXIP in MGC803 and SGC7901, the change of cell proliferation was detected by MTT. After HBXIP was overexpressed or knocked-down in MGC803 and SGC7901, the apoptosis was detected by flow cytometry and Hoechst 33285, and the expression of HBXIP, PRAS40 and p-PRAS40 were detected by Western blotting. MGC803 and SGC7901 were treated with 0, 50, 100, 150, 200, 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ germacrone for 48 h. The proliferation ability of the cells was detected by MTT and the apoptosis level was detected by flow cytometry. The expression of HBXIP, PRAS40 and p-PRAS40 in MGC803 and SGC7901 were treated with 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ germacrone for 48 h were detected by Western blotting. **Results** The expression of HBXIP, PRAS40 and p-PRAS40 in gastric cancer tissues was significantly higher than that in adjacent gastric cancer tissues ($P < 0.05$), and the expression of PRAS40 and p-PRAS40 was positively correlated with the expression level of HBXIP. After knocking down HBXIP in MGC803 and SGC7901, compared to the NC group, cell proliferation was decreased and cell apoptosis was increased ($P < 0.05$). The expression of PRAS40 and p-PRAS40 was also significantly decreased or increased after HBXIP was knocked down or overexpressed in MGC803 and SGC7901. Germacrone inhibited the proliferation and induced apoptosis in a dose-dependent manner ($P < 0.05$). Germacrone inhibited the expression of HBXIP, PRAS40 and p-PRAS40. **Conclusion** Germacrone can promote the proliferation of gastric cancer cells by down-regulating HBXIP, and the mechanism may be related to PRAS40 and p-PRAS40 down-regulated by HBXIP.

Key words: germacrone; HBXIP; PRAS40; gastric cancer; cell proliferation

胃癌作为常见的感染相关癌症,已经成为全球第3大癌症死亡病因^[1]。全球每年胃癌的新发病例超100万,2020年的死亡病例约80万^[2]。在我国,癌症的新发病例约占世界的23%,死亡病例约占30%,并且全球约50%的新发胃癌病例在我国^[3]。早期诊断及筛查是降低胃癌死亡率的有效方法,常见的胃癌治疗方法主要包括手术治疗、化疗、放疗等^[4]。寻找治疗胃癌有效的作用靶点及活性成分对胃癌的靶向治疗至关重要。

吉马酮是一种单环倍半萜类化合物,主要存在于莪术的挥发油中。近年的研究表明吉马酮具有多种肿瘤抑制作用,本课题组前期在针对吉马酮的研究中发现,乙型肝炎X相互作用蛋白(HBXIP)是吉马酮调控胃癌增殖的主要靶蛋白^[5],但是其进一步的研究机制尚不明确。较多的研究表明,HBXIP在肿瘤中发挥重要作用,可能具有潜在的在致癌功能,如其在癌细胞存活与代谢活动中发挥关键作用,具有作为预后生物标志物和治疗靶点的潜在价值^[6-7]。在针对HBXIP做生物信息学分析时发现,HBXIP可能与相对分子质量为 4×10^4 的富含脯氨酸蛋白激酶B底物蛋白(PRAS40)存在相互作用。本实验旨在通过研究HBXIP蛋白对PRAS40蛋白的调控作用,探讨吉马酮调控胃癌增殖的机制。

1 材料

1.1 细胞

人胃癌MGC803、SGC7901细胞,购自中国科学院上海细胞库。

1.2 药物与主要试剂

吉马酮购自成都瑞芬斯生物科技有限公司,货

号J-025-1g,质量分数 $\geq 98\%$;DMEM培养基,赛默飞世尔科技(中国)有限公司,货号11965092;胎牛血清,浙江天杭生物科技股份有限公司,货号11011-8611;3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)、货号ST316,二甲基亚砜(DMSO)、货号ST038,均购自上海碧云天生物技术有限公司;细胞凋亡检测试剂盒,贝博生物BestBio,货号BB-4101;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、货号10494-1-AP, HBXIP、货号14492-1-AP,均购自武汉三鹰生物技术有限公司;PRAS40抗体,Abcam公司,货号ab151719; p-PRAS40抗体, Affinity公司,货号AF2387;小干扰核糖核酸(siRNA)-HBXIP(序列CGGAAGCGCAGUGAUGUUUdTdT)、过表达HBXIP质粒(oe-HBXIP)、空白质粒(NC)(正义链:UUCUCCGAACGUGUCACGUTT,反义链:ACGUGACACGUUCGGAGAATT)均由汉恒生物构建。

1.3 实验仪器

酶标仪、二氧化碳培养箱,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;培养瓶/板,无锡耐思生命科技股份有限公司。

2 方法

2.1 HBXIP、PRAS40、p-PRAS40在胃癌及癌旁组织中的表达

2.1.1 样本来源 选取2015年1月至2017年12月在安徽医科大学第一附属医院就诊的行胃癌切除术的患者配对的癌组织及癌旁组织样本20对。纳入标准:首次行胃癌切除术的患者;术前未接受放疗、化疗等疗法;患者的临床资料及治疗信息等较

为完整。排除标准:早期胃癌患者(TNM分期为0期或I期),合并其他肿瘤等的患者。患者均签署知情同意书,研究经安徽医科大学第一附属医院临床医学研究伦理委员会批准(编号 Quick-PJ 2017-09-04)。

2.1.2 免疫组化 将组织样本置于10%甲醛水中固定48 h以上,逐步放入50%乙醇、75%乙醇、80%乙醇、90%乙醇、95%乙醇、100%乙醇中完全脱水,再放入二甲苯中透明后浸蜡后进行包埋并切片。石蜡切片在烤片机中95℃烤片2 min后,分别在二甲苯、无水乙醇、95%乙醇、75%乙醇溶液中脱蜡至水。在pH 7.0的柠檬酸盐缓冲液中进行抗原修复后室温晾凉。PBS洗3遍后加入过氧化氢酶室温孵育10 min,滴加适宜浓度的一抗溶液在4℃中孵育过夜。第2天取出切片放入37℃中复温30 min后滴加通用二抗,在37℃中孵育30 min。PBS洗净后避光进行DAB显色,DAB溶液现配现用(50 μL浓缩液加入1 mL稀释液)。水中终止染色后加入苏木素染色液进行染核后,37℃温水中反蓝。染色完成后烘干切片并滴加中性树脂进行封片。在显微镜下观察并对蛋白的表达量进行评分。观察蛋白阳性表达的细胞数占总细胞数的百分比,0分:<5%,1分:5%~<25%;2分:25%~<50%;3分:50%~<75%;4分:>75%;染色强度评分标准如下:0分代表无染色;1分代表极弱染色(浅黄色);2分代表弱染色(黄色);3分代表中度染色(黄棕色);4分代表强染色(棕色),将2种分值相乘即得总分值。

2.1.3 Western blotting 实验 提取各组细胞内的总蛋白,加入蛋白上样缓冲液在沸水中变性10 min。将制好的蛋白样品上入十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶中进行电泳。完成后,通过湿转的方式将凝胶中的蛋白转印至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。在对应的抗体中4℃孵育过夜,而后室温孵育二抗1.0~1.5 h。完成后在显影仪上显影。

2.1.4 相关性分析 以20例癌组织中HBXIP、PRAS40、p-PRAS40蛋白表达的免疫组织化学染色评分为数据,在GraphPad Prism中采用相关分析,在Analyze中选择Multiple variable analyses选项,选择Correlation matrix分析,分析HBXIP与PRAS40、HBXIP与p-PRAS40表达量的相关性。

2.2 HBXIP 调控胃癌细胞增殖、凋亡、PRAS40 表达

2.2.1 细胞培养与传代 将MGC803、SGC7901细

胞培养于含有10%胎牛血清的DMEM培养基中,放置于5%二氧化碳的37℃培养箱中,待细胞长满时进行传代与铺板。

2.2.2 细胞转染 应用si-HBXIP敲低HBXIP、应用oe-HBXIP过表达HBXIP。将MGC803、SGC7901细胞接种于6孔板(每孔9 000个)、培养12 h后进行转染。弃去细胞培养基后用Opti-最低必需培养基(Opti-MEM)清洗细胞3遍后,每孔加入Opti-MEM培养基2 mL。将Lip-2 000与si-HBXIP/si-NC以1:1的比例(oe-HBXIP/oe-NC质粒以1:1.5的比例)混合后加入6孔板中。将6孔板放入37℃培养箱中培养6 h后,弃去转染试剂,加入含有10%胎牛血清的完全培养基继续培养48~72 h。

2.2.3 MTT 实验 将MGC803、SGC7901细胞接种于96孔板中,每孔接种细胞约1 500个,分为对照组、NC(转染空白质粒)组、si-HBXIP组、oe-HBXIP组,按照“2.2.2”项方法进行转染。培养结束后,每孔加入5 mg·mL⁻¹的MTT溶液20 μL,继续放入37℃培养箱中培养4 h。避光小心弃去每孔中的上清液,将形成的紫色甲臞晶体溶解在每孔150 μL的DMSO中,避光溶解10 min后,用酶标仪在490 nm的波长下检测吸光度(A)值,计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = A_{\text{实验}} / A_{\text{对照}}$$

2.2.4 细胞凋亡检测 细胞分组及转染操作同“2.2.3”项,培养结束后,避光加入5 μL的AnnexinV-FITC染色液,15 min后再加入10 μL的碘化丙啶(PI)染色液,5 min后在流式仪中检测细胞凋亡。

2.2.5 Western blotting 实验 细胞分组及转染操作同“2.2.3”项,培养结束后,提取各组细胞内的总蛋白,加入蛋白上样缓冲液在沸水中变性10 min。将制好的蛋白样品进行Western blotting实验,方法同“2.1.3”项。

2.2.6 Hoechst 33258 染色 将细胞接种于载玻片上后,细胞分组及转染操作同“2.2.3”项,培养结束后,弃去培养基,PBS洗净后加入4%的多聚甲醛固定10 min后,避光加入配置好的Hoechst 33258染液,覆盖完全载玻片,孵育5 min后继续用PBS溶液洗净。避光在荧光显微镜中拍照。

2.3 吉马酮通过下调HBXIP、PRAS40及p-PRAS40表达进而调控胃癌细胞生长

2.3.1 MTT 实验 分别将MGC803、SGC7901细胞接种于96孔板中,每孔接种约1 500个,分别用50、100、150、200、250 μmol·L⁻¹吉马酮处理48 h,另设置

对照组(不加药)、溶剂对照(加入等体积的DMSO)组。处理完成后进行MTT实验,方法同“2.2.3”项。

2.3.2 细胞凋亡检测 将MGC803、SGC7901细胞接种于6孔板后,以 $150\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 吉马酮处理48 h,同时设置对照组与溶剂对照组。处理完成后进行凋亡检测,方法同“2.2.4”项。

2.3.3 Western blotting实验 细胞接种及给药方式同“2.3.2”项,提取各组细胞内的总蛋白,进行Western blotting实验,方法同“2.2.5”项。

2.3.4 Hoechst 33258染色 细胞接种及给药方式同“2.3.2”项,完成后弃去培养基,进行Hoechst 33258染色,方法同“2.2.6”项。

2.4 统计学分析

使用SPSS 20.0及GraphPad Prism进行统计分析,量数据以 $\bar{x}\pm s$ 显示。符合正态分布的两组数据之间比较用两独立样本 t 检验;不符合正态分布的两组数据之间比较采用非参数检验。

3 结果

3.1 HBXIP、PRAS40、p-PRAS40在胃癌组织中高表达

针对20例胃癌及配对的癌旁样本进行免疫组化实验。如图1所示,HBXIP在胃癌组织及癌旁组织中均有表达,但在癌组织表达较癌旁组织中显著升高($P<0.05$)。PRAS40在胃癌组织及癌旁组织中均有表达并且在癌组织中表达显著高于癌旁组织($P<0.05$)。p-PRAS40在癌旁组织中表达较弱,在胃癌组织中表达相对较高($P<0.05$)。随机选取3例胃癌组织及配对的癌旁组织样本,Western blotting实验检测HBXIP、PRAS40及p-PRAS40的表达情况,胃癌组织中HBXIP、PRAS40及p-PRAS40表达均较配对的癌旁组织高。

3.2 PRAS40、p-PRAS40在胃癌组织中的表达与HBXIP相关

图2结果显示,PRAS40的表达与HBXIP的表达存在正相关关系, $r=0.794\ 2$, $P<0.05$;p-PRAS40的表达与HBXIP的表达存在正相关关系, $r=0.729\ 1$, $P<0.05$ 。

3.3 HBXIP对胃癌细胞增殖的影响

MTT实验结果显示,在胃癌MGC803、SGC7901中,与NC组相比,敲低HBXIP后,细胞活力显著下降($P<0.05$);与NC组相比,过表达

HBXIP后,细胞活力显著上升($P<0.05$)。结果见图3。

3.4 HBXIP对胃癌细胞凋亡的影响

图4结果显示,在MGC803、SGC7901细胞中敲低HBXIP后,与NC组比较,细胞凋亡率显著上升($P<0.05$);而过表达HBXIP后,与NC组相比,凋亡率无明显变化。Hoechst 33258染色显示,与NC组比较,敲低HBXIP后凋亡细胞明显增多。

3.5 HBXIP对PRAS40、p-PRAS40蛋白表达的影响

图5结果显示,在MGC803及SGC7901细胞中敲低HBXIP后,与NC组比较,HBXIP蛋白表达明显降低,并且PRAS40、p-PRAS40蛋白表达量也明显降低;在MGC803及SGC7901细胞中过表达HBXIP后,与NC组比较,HBXIP的表达增高并且PRAS40、p-PRAS40表达量也明显增高。

3.6 吉马酮通过下调HBXIP、PRAS40、p-PRAS40进而调控胃癌细胞生长

如图6所示,与溶剂对照组比较,以不同浓度的吉马酮 150 、 200 、 $250\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组处理MGC803、SGC7901细胞存活率显著下降($P<0.05$);与溶剂对照组相比, $150\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的吉马酮可以显著诱导MGC803、SGC7901细胞凋亡($P<0.05$)。与溶剂对照组相比, $150\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的吉马酮可以明显抑制HBXIP、PRAS40、p-PRAS40的蛋白表达。

4 讨论

胃癌作为全球性的多因素疾病,多种因素可增加其发生发展的风险,包括家族史、饮食、饮酒、吸烟、幽门螺杆菌感染等^[8]。尽管家族史是罹患胃癌风险较高的因素之一,但大多数胃癌病例为散发性,仅有10%左右表现为家庭聚集性,具有孟德尔遗传模式的遗传性胃癌仅占3%^[9]。作为一种高度侵袭性和异质性的癌症,胃癌的晚期中位生存时间低于12个月^[10]。胃癌的5年生存率逐渐提高,但其可能是由于使用内窥镜检查方法进行早期诊断,从而可以早期发现和切除癌症组织^[11]。早期筛查是降低胃癌发病率的有效办法,但在目前的卫生条件基础上还需要财政和人力的支持。因此,寻找胃癌有效的标志物及治疗药物是针对胃癌诊断及治疗的关键方向。

课题组前期在针对胃癌的研究中发现,吉马酮可以抑制胃癌细胞增殖,而HBXIP是吉马酮调控胃癌增殖、凋亡及周期的关键蛋白^[5]。HBXIP是一种相对分子质量为 1.9×10^4 的保守蛋白,最初被鉴定

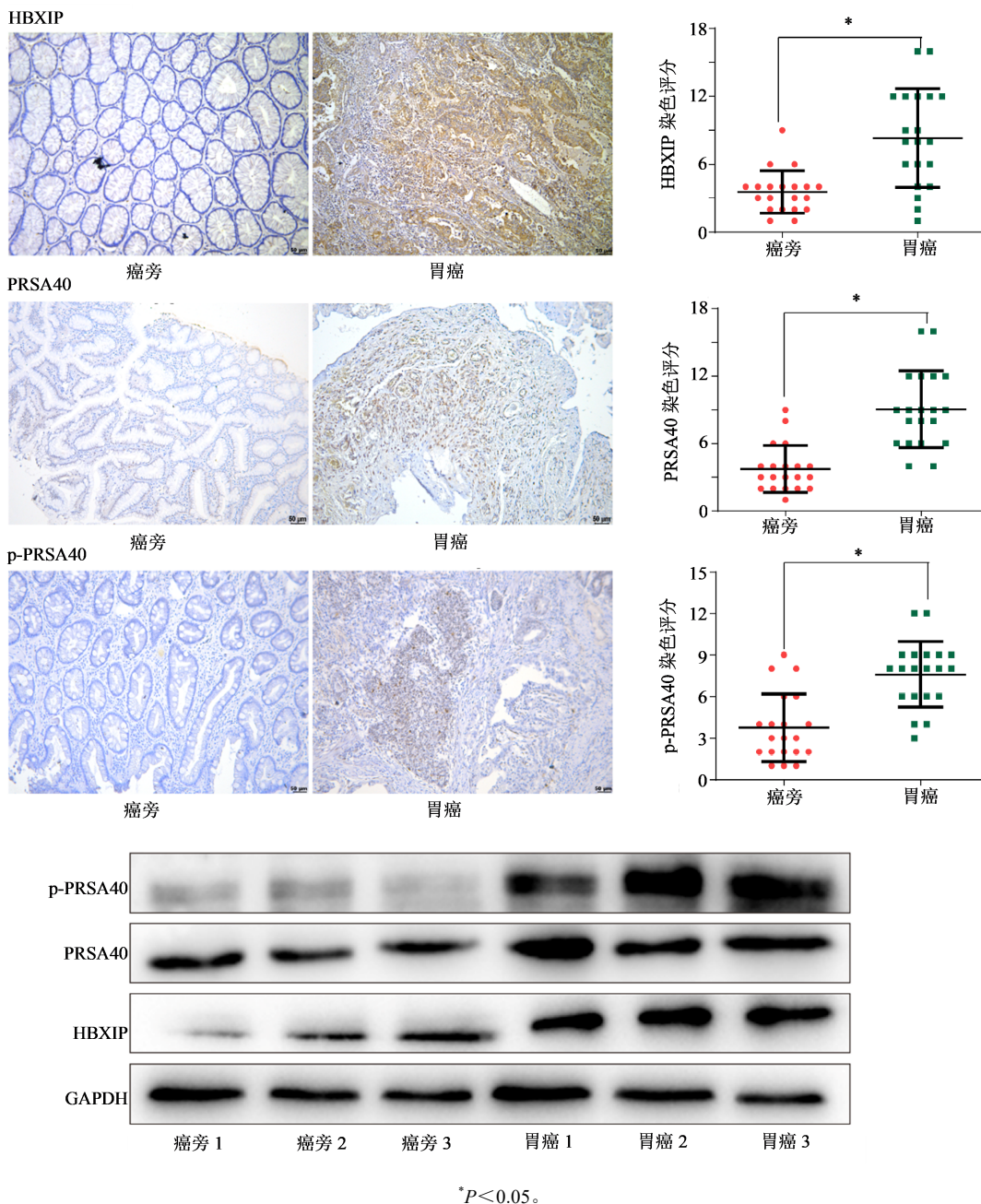


图 1 HBXIP、PRSA40、p-PRSA40 在胃癌组织中高表达

Fig. 1 HBXIP, PRSA40 and p-PRSA40 were highly expressed in gastric cancer tissues

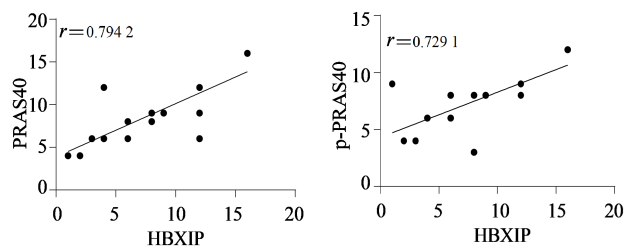


图 2 PRSA40、p-PRSA40 在胃癌组织中的表达与 HBXIP 相关

Fig. 2 Expression of PRSA40 and p-PRSA40 in gastric cancer tissues is correlated with HBXIP

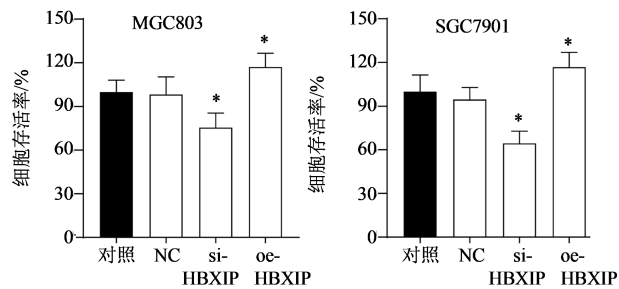


图 3 HBXIP 对胃癌细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 3 Effect of HBXIP on proliferation of gastric cancer cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

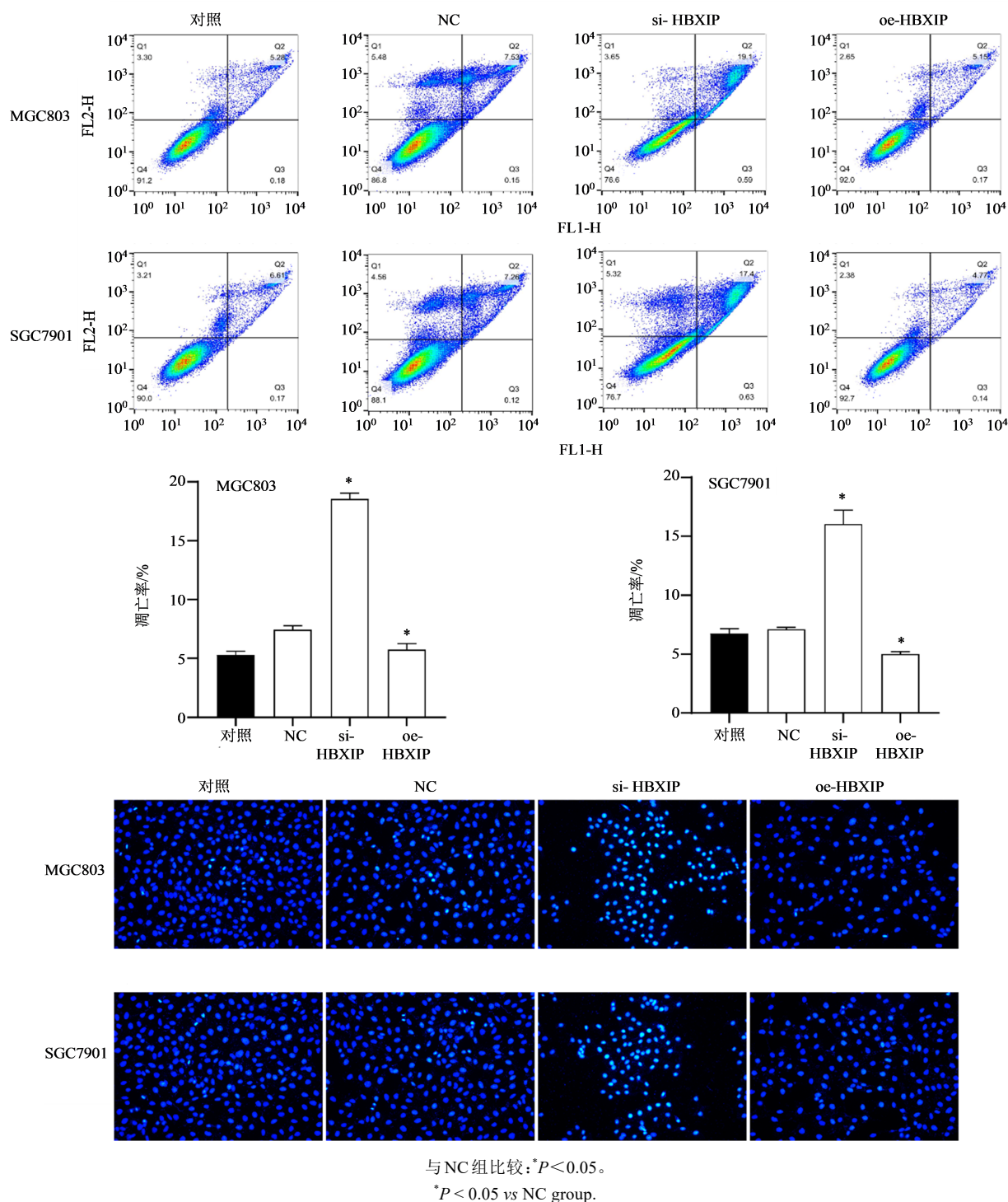


图4 HBXIP对胃癌细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 4 Effect of HBXIP on apoptosis of gastric cancer cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

为乙型肝炎病毒X蛋白的结合蛋白^[12]。近年的研究表明,HBXIP与肿瘤患者的不良预后有关^[13-15]。利用癌症基因组图谱对HBXIP进行分析时,与正常组织相比,肝癌组织中HBXIP的转录水平和蛋白水平显著上调,并且HBXIP的表达水平与肝癌的进展相关^[16]。在一项针对186例结肠癌患者的研究中,发现HBXIP在结直肠癌组织中过表达,HBXIP的高

表达与结肠癌患者转移和生存期缩短相关,是结肠癌不良预后的独立影响因素^[17]。尽管目前已经有部分针对HBXIP参与调控癌症发生发展的机制的研究,如参与调控激活转录因子、修饰DNA甲基化、参与调控MAPK等信号通路,但尚未形成较为系统的研究^[18-20]。本研究发现在胃癌MGC803、SGC7901细胞中沉默HBXIP后,细胞增殖能力降

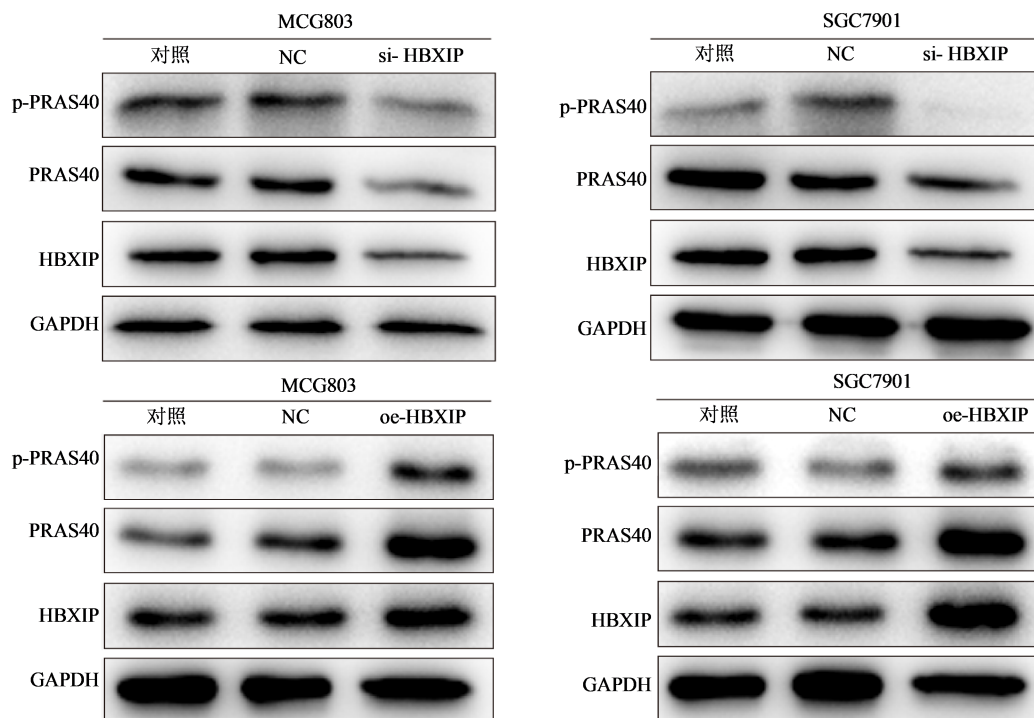
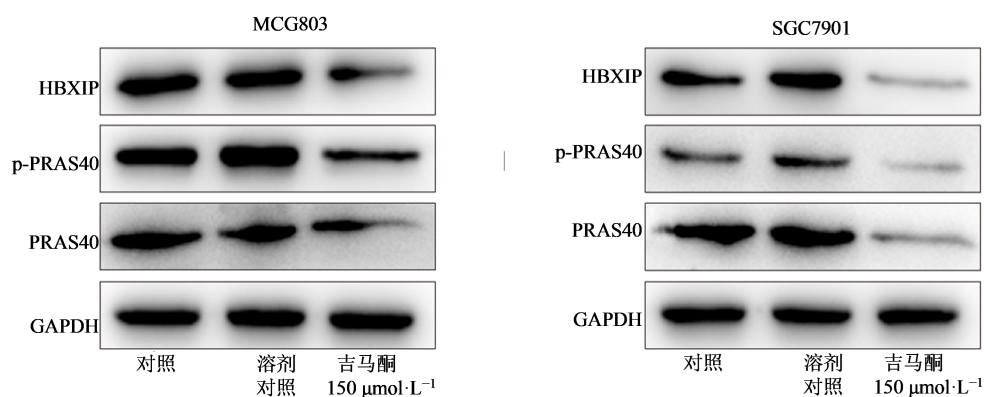
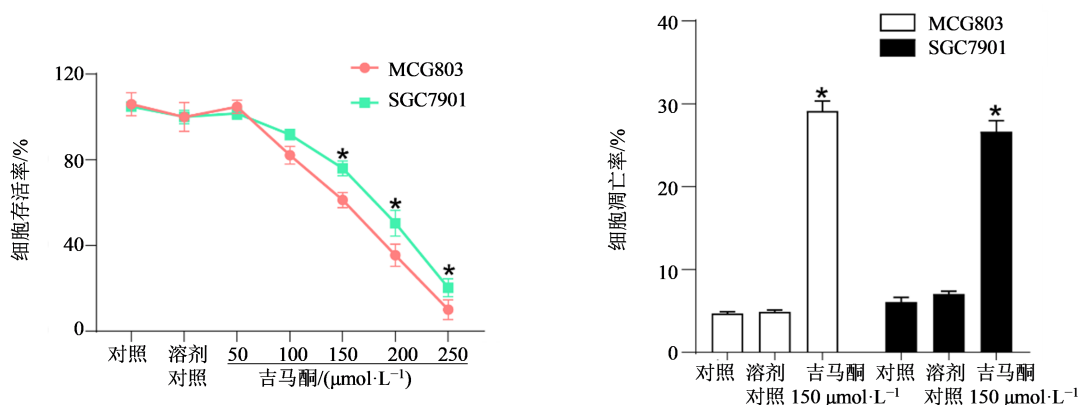


图 5 HBXIP 对 PRAS40 及 p-PRAS40 表达的影响
Fig. 5 Effect of HBXIP on PRAS40 and p-PRAS40 expression



与溶剂对照组比较: * $P < 0.05$ 。
* $P < 0.05$ vs solvent control group.

图 6 吉马酮下调 HBXIP、PRAS40、p-PRAS40 调控胃癌细胞生长 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 6 Ginkgolide B regulated growth of gastric cancer cells by down-regulating HBXIP, PRAS40 and p-PRAS40 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

低,细胞凋亡增多;而过表达HBXIP后,细胞增殖能力增强,并且HBXIP在胃癌组织中的表达显著高于癌旁。

在针对HBXIP做生物信息学分析时发现其可能与PRAS40有关。PRAS40由位于染色体19q13.33上的*AKT1S1*基因编码,在不同物种的多个组织中均有表达。位于细胞核内的PRAS40主要通过FOXO3/14-3-3等通路来发挥抗衰老或抗辐射的作用,而位于细胞质中的PRAS40主要参与PI3K/Akt和mTOR等通路的调控^[21-22]。在PRAS40的c末端区域有多个磷酸化位点,主要包括Ser183、Ser184、Ser203、Thr246、Thr247,PRAS40及其磷酸化水平不仅与癌症的不良预后有关,还参与了多个生物学调控过程。PRAS40及其磷酸化水平在肝癌样本中显著升高,而PRAS40的缺失可抑制HCC细胞增殖^[23]。更深入的研究表明,PGK1蛋白可以通过磷酸化PRAS40抑制自噬介导的细胞死亡,进而促进肝癌细胞增殖^[24]。

本研究在胃癌组织中发现PRAS40及其磷酸化蛋白表达显著高于癌旁组织,同时推测HBXIP参与调控的胃癌细胞增殖与PRAS40及其磷酸化水平有关。在进一步的研究中发现,敲低HBXIP后,PRAS40及p-PRAS40表达均显著降低。HBXIP可以通过调控PRAS40及其磷酸化蛋白的表达进而影响胃癌细胞增殖与凋亡。基于以上研究,用吉马酮处理胃癌细胞后,发现吉马酮可以抑制胃癌细胞增殖并诱导胃癌细胞凋亡。进一步研究发现吉马酮可以抑制HBXIP、PRAS40及p-PRAS40的表达。因此,吉马酮可以通过调控HBXIP的表达影响PRAS40、p-PRAS40,进而调控胃癌细胞增殖与凋亡。本研究主要发现了吉马酮通过HBXIP参与调控胃癌细胞增殖的机制,为深入研究胃癌的发生发展提供参考与依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Norwood D A, Montalvan-Sanchez E, Dominguez R L, et al. Gastric cancer [J]. *Gastroenterol Clin N Am*, 2022, 51(3): 501-518.
- [2] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA A Cancer J Clinicians*, 2021, 71(3): 209-249.
- [3] Cao W, Chen H D, Yu Y W, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: A secondary analysis of the global cancer statistics 2020 [J]. *Chin Med J*, 2021, 134: 783-791.
- [4] Song Z Y, Wu Y Y, Yang J B, et al. Progress in the treatment of advanced gastric cancer [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(7): 101042831771462.
- [5] Fang X, Tan T F, Gao B B, et al. Germacrone regulates HBXIP-mediated cell cycle, apoptosis and promotes the formation of autophagosomes to inhibit the proliferation of gastric cancer cells [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 537322.
- [6] Guo Z Y, Jiang L P, Zhu Z T. High HBXIP expression is related to poor prognosis in HCC by extensive database interrogation [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2021, 25(20): 6196-6207.
- [7] Jiang Y, Wang D, Ren H, et al. Oncogenic HBXIP enhances ZEB1 through Sp1 to accelerate breast cancer growth [J]. *Thorac Cancer*, 2018, 9: 1664-1670.
- [8] Shah D, Bentrem D. Environmental and genetic risk factors for gastric cancer [J]. *J Surg Oncol*, 2022, 125(7): 1096-1103.
- [9] Carneiro F. Familial and hereditary gastric cancer, an overview [J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2022, 58/59: 101800.
- [10] Thrift A P, El-Serag H B. Burden of gastric cancer [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020, 18(3): 534-542.
- [11] Machlowska J, Baj J, Sitarz M, et al. Gastric cancer: Epidemiology, risk factors, classification, genomic characteristics and treatment strategies [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11): 4012.
- [12] Jin J, Tang S H, Xia L, et al. microRNA-501 promotes HBV replication by targeting HBXIP [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 430(4): 1228-1233.
- [13] Wang Y X, Sun J, Li N, et al. HBXIP overexpression is correlated with the clinical features and survival outcome of ovarian cancer [J]. *J Ovarian Res*, 2017, 10(1): 1-8.
- [14] Zhou X Z, Wang X Y, Duan J H, et al. HBXIP protein overexpression predicts the poor prognosis of pancreatic ductal adenocarcinomas [J]. *Pathol Res Pract*, 2019, 215(2): 343-346.
- [15] Wang Y X, Li N, Che S L, et al. HBXIP suppression reduces cell proliferation and migration and its overexpression predicts poor prognosis in non-small-cell lung cancer [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(7): 101042831770967.
- [16] Guo Z Y, Jiang L P, Zhu Z T. High HBXIP expression is related to poor prognosis in HCC by extensive database interrogation [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2021, 25(20): 6196-6207.
- [17] Wang X Y, Feng Q, Yu H N, et al. HBXIP: A potential prognosis biomarker of colorectal cancer which promotes

- invasion and migration via epithelial-mesenchymal transition [J]. *Life Sci*, 2020, 245: 117354.
- [18] Yang Z, Jiang X D, Li D M, et al. HBXIP promotes gastric cancer *via* METTL3-mediated MYC mRNA m6A modification [J]. *Aging*, 2020, 12(24): 24967-24982.
- [19] Zhang J, Sun B, Ruan X H, et al. Oncoprotein HBXIP promotes tumorigenesis through MAPK/ERK pathway activation in non-small cell lung cancer [J]. *Cancer Biol Med*, 2021, 18(1): 105-119.
- [20] Jiang Y, Wang D, Ren H, et al. Oncogenic HBXIP enhances ZEB1 through Sp1 to accelerate breast cancer growth [J]. *Thorac Cancer*, 2018, 9: 1664-1670.
- [21] Yang H J, Jiang X L, Li B R, et al. Mechanisms of mTORC1 activation by RHEB and inhibition by PRAS40 [J]. *Nature*, 2017, 552(7685): 368-373.
- [22] Eum W S, Kim D W, Yeo E J, et al. Transduced Tat-PRAS40 prevents dopaminergic neuronal cell death through ROS inhibition and interaction with 14-3-3 σ protein [J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 172: 418-429.
- [23] Qi Z L, Zhang T, Song L, et al. PRAS40 hyperexpression promotes hepatocarcinogenesis [J]. *EBioMedicine*, 2020, 51: 102604.
- [24] Zhang T H, Wang Y Z, Yu H J, et al. PGK1 represses autophagy-mediated cell death to promote the proliferation of liver cancer cells by phosphorylating PRAS40 [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(1): 68.

[责任编辑 兰新新]