

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.23.007

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210629.1256.002.html\(2021-06-29\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210629.1256.002.html(2021-06-29))

UBE2T-siRNA 对乳腺癌细胞增殖、凋亡及侵袭的影响*

刘丹丽¹,徐建峰¹,周欢欢²,王霖玲³,邵喜英^{2△}

(1. 绍兴第二医院医共体总院肿瘤内科,浙江绍兴 312000;2. 中国科学院大学附属肿瘤医院/浙江省肿瘤医院乳腺内科,杭州 310000;3. 浙江省绍兴市中医院药剂科 312000)

[摘要] **目的** 探讨沉默泛素结合酶 E2T(UBE2T)对乳腺癌细胞增殖、侵袭及凋亡的影响。**方法** 体外培养人乳腺正常细胞系 MCF-10A 及乳腺癌细胞系 MDA-MB-231、MCF-7、MDA-MB-468、HCC1937,实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测各细胞系中 UBE2T mRNA 的表达水平。将乳腺癌 MDA-MB-231 细胞系进行 UBE2T-siRNA 转染,并分为对照组、阴性转染组、UBE2T-siRNA 组。qRT-PCR 检测各组细胞中 UBE2T mRNA 的表达。四甲基偶氮唑蓝(MTT)法检测各组细胞增殖抑制率。流式细胞术检测各组细胞周期及凋亡情况。Transwell 检测各组细胞侵袭情况。Western blot 检测各组细胞蛋白细胞周期素 D1(CyclinD1)、 β -catenin、神经型钙黏蛋白(N-cad)、上皮型钙黏蛋白(E-cad)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-9(caspase-9)的表达。**结果** 与 MCF-10A 比较,HCC1937、MCF-7、MDA-MB-468、MDA-MB-231 细胞中 UBE2T mRNA 表达均升高,其中 MDA-MB-231 细胞升高最明显。与对照组和阴性转染组比较,UBE2T-siRNA 组细胞 UBE2T mRNA 的表达明显降低($P<0.05$);细胞增殖抑制率、细胞凋亡率、 G_2/M 期细胞百分比明显升高, G_0/G_1 期细胞百分比、细胞侵袭数目明显降低($P<0.05$);细胞蛋白 CyclinD1、 β -catenin、N-cad 表达明显降低,E-cad、caspase-9 的表达明显升高($P<0.05$)。**结论** 沉默 UBE2T 能够促进乳腺癌细胞的凋亡,抑制其增殖和侵袭,UBE2T 可能是乳腺癌治疗的潜在研究靶点。

[关键词] 泛素结合酶 E2T;乳腺癌;细胞增殖;细胞凋亡;侵袭**[中图分类号]** R737.9**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2021)23-3988-06

Effects of UBE2T-siRNA on proliferation, apoptosis and invasion of breast cancer cells*

LIU Danli¹, XU Jianfeng¹, ZHOU Huanhuan², WANG Linling³, SHAO Xiying^{2△}

(1. Department of Oncology, General Hospital of Hospital Community, Shaoxing Second Hospital, Shaoxing, Zhejiang 312000, China; 2. Department of Breast Medicine, Affiliated Tumor Hospital of University of Chinese Academy of Sciences/Zhejiang Provincial Tumor Hospital, Hangzhou, Zhejiang 310000, China; 3. Department of Pharmacy, Shaoxing Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shaoxing, Zhejiang 312000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of ubiquitin-conjugating enzyme E2T (UBE2T) on proliferation, invasion and apoptosis of breast cancer cells. **Methods** Human breast normal cell lines MCF-10A and breast cancer cell lines MDA-MB-231, MCF-7, MDA-MB-468, HCC1937 were cultured in vitro. The expression of UBE2T mRNA was detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR). Breast cancer MDA-MB-231 cells were transfected with UBE2T-siRNA and divided into the control group, negative transfection group and UBE2T-siRNA group. The expression of UBE2T mRNA in each group was detected by qRT-PCR. The cell proliferation inhibition rate was detected by MTT assay. The cell cycle and apoptosis were detected by flow cytometry. The cell invasion was detected by Transwell method. The expressions of CyclinD1, β -catenin, N-cadherin (N-cad), E-cadherin (E-cad) and caspase-9 were detected by Western blot. **Results** Compared with that in MCF-10A, the expression of UBE2T mRNA in HCC1937, MCF-7, MDA-MB-468 and MDA-MB-231 cells were increased, which in MDA-MB-231 cells was most significant. Compared with the control group and negative transfection group, the expression of UBE2T mRNA in the UBE2T-siRNA group

* 基金项目:浙江省自然科学基金项目(LY17H160041)。 作者简介:刘丹丽(1987—),主治医师,硕士,主要从事晚期乳腺癌综合治疗的研究。

△ 通信作者, E-mail: shao_xiying@sina.cn.

was significantly decreased ($P < 0.05$); the proliferation inhibition rate, apoptosis rate and percentage of G_2/M phase cells in the UBE2T-siRNA group were significantly increased, and the percentage of G_0/G_1 phase cells and number of invasive cells were significantly decreased ($P < 0.05$). The expressions of CyclinD1, β -catenin and N-cad in the UBE2T-siRNA group were significantly decreased, while the expressions of E-cad and caspase-9 were significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Silencing UBE2T can promote the apoptosis of breast cancer cells and inhibit their proliferation and invasion. UBE2T may be a potential study target for breast cancer therapy.

[Key words] ubiquitin-conjugating enzyme E2T; breast cancer; cell proliferation; apoptosis; invasion

乳腺癌是全世界三种最常见的癌症之一,威胁女性健康^[1]。有关乳腺癌发病病因尚不完全清楚,随着医学的发展,乳腺癌的预后得到了一定程度的改善,但其发病率仍然在逐年升高^[2]。因此,研究可能与乳腺癌发生有关的基因,有助于解析乳腺癌的发病机制。泛素蛋白酶体系统(UPS)是真核细胞中大多数蛋白质的降解途径,与多种生物学过程和信号通路有关^[3]。泛素结合酶 E2T(UBE2T)是 UPS 系统的重要组成部分,有研究表明,UBE2T 在多种肿瘤组织和细胞中存在过表达^[4-5]。PEREZ-PENA 等^[6]研究表明,UBE2T 在乳腺癌患者中存在过表达,且与乳腺癌患者的不良预后有关。然而有关 UBE2T 对乳腺癌细胞影响的研究较少,本研究通过体外培养乳腺癌细胞,并转染 UBE2T-siRNA 质粒,研究 UBE2T-siRNA 对乳腺癌细胞增殖、侵袭和凋亡的影响,为研究乳腺癌的发生、发展机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞

乳腺癌细胞系 MDA-MB-231、MCF-7、MDA-MB-468、HCC1937 及乳腺正常细胞系 MCF-10A (TCHu227、SCSP-531、TCHu136、TCHu148、SCSP-575),购自中国科学院细胞库。

1.1.2 试剂

RPMI 1640 培养基(61870036)、胎牛血清(10099)、青霉素-链霉素(15070063)、胰蛋白酶(25200056),购自美国 Gibco 公司; Lipofectamine 3000 试剂盒(L3000015),购自美国 Invitrogen 公司; RNAiso plus(9108Q)、逆转录试剂盒(RR037)、实时荧光定量试剂盒(RR820Q),购自日本 TAKARA 公司; 单抗细胞周期蛋白 D1(CyclinD1, ab16663)、 β -连环蛋白(β -catenin, ab184919)、神经型钙黏附蛋白(N-cad, ab76011)、上皮型钙黏附蛋白(E-cad, ab133597)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-9(caspase-9, ab32539)、c-Myc(ab32072)、三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH, ab8245),购自美国 Abcam 公司; 四甲基偶氮唑蓝(MTT)试剂盒(ST316)、膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)细胞凋亡双染试剂盒(C1062)、辣根过氧化物酶(HRP)标记二抗(A0208)、细胞蛋白提取试剂盒(P0033)、二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量试

剂盒(P0012),购自上海碧云天生物技术公司; UBE2T mRNA、GAPDH、UBE2T-siRNA,由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.1.3 仪器

多功能酶标仪(Varioskan™ LUX,美国 ThermoFisher 公司); 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)仪(CFX96,美国 Bio-Rad 公司); 蛋白凝胶成像仪(Gel Doc,美国 Bio-Rad 公司); 流式细胞仪(FACS Canto II,美国 BD 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

细胞 MDA-MB-231、MCF-7、MDA-MB-468、HCC1937、MCF-10A 常规复苏,加至含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素的 RPMI 1640 培养基中,37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。细胞融合度达到 80%~90%时,胰蛋白酶消化,每隔 2~3 天进行 1 次细胞传代,细胞生长至稳定对数期时用于后续实验。

1.2.2 细胞转染及分组

取 1.2.1 中处于对数生长期的细胞 MDA-MB-231,胰蛋白酶消化,调整细胞浓度为 5×10^5 个/孔,接种至 6 孔板中,37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。细胞融合度达到 60%时,倒掉培养板中培养液并加入新鲜培养基,按照 Lipofectamine 3000 试剂盒说明书对细胞进行转染,并将细胞分为对照组(转染试剂)、阴性转染组(转染空质粒)、UBE2T-siRNA 组(转染 UBE2T-siRNA 质粒)。

1.2.3 qRT-PCR 检测细胞中 UBE2T mRNA 表达水平

RNAiso Plus 试剂盒提取 1.2.1 及 1.2.2 中各组细胞中 RNA。逆转录试剂盒对所提取的 RNA 逆转录成 cDNA,之后进行 qRT-PCR 反应。反应条件: 95 °C 预变性 60 s,95 °C 变性 30 s,58 °C 退火 45 s,72 °C 延伸 30 s,共 35 个循环。以 GAPDH 作为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算各组细胞中 UBE2T mRNA 的相对表达水平,引物序列见表 1。

1.2.4 MTT 法检测细胞增殖抑制率

取培养 48 h 后各组对数期细胞,胰蛋白酶消化,配置细胞悬液,调整细胞浓度为 4×10^4 个/mL,每孔 100 μ L 接种至 96 孔板中,并设置调零孔,每组设置 3 个重复,37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 72 h,加入 20

μL 终浓度为 0.5 mg/mL 的 MTT 试剂, 37°C 遮光培养 4 h , 弃上清液, 每孔加入 $150 \mu\text{L}$ DMSO 溶液, 摇床振荡 10 min , 酶标仪 570 nm 处检测吸光度(A)值, 计

算细胞增殖抑制率($\%$)= $[(\text{对照孔 A 值}-\text{实验孔 A 值})/(\text{对照孔 A 值}-\text{凋零孔 A 值})]\times 100\%$ 。

表 1 引物序列($5'-3'$)

引物名称	正向	反向
UBE2T mRNA	CAAAATATTAGGTGGAGCCAACAC	TAGATCACCTTGGCAAAGAACC
GAPDH	GCCGCATCTTCTTTTGCGTCGC	TCCCGTTCTCAGAGTTTGTACGGT

1.2.5 流式细胞术检测细胞周期及凋亡

取培养 48 h 后各组对数期细胞, 胰蛋白酶消化, 配置细胞悬液, 调整细胞浓度为 1×10^6 个/ mL , 每组设置 3 个重复, 吸取 $100 \mu\text{L}$ 细胞悬液至新离心管中, 预冷磷酸盐缓冲液(PBS)重悬细胞, 加入 $5 \mu\text{L}$ Annexin V-FITC, 轻混均匀, 4°C 遮光孵育 15 min ; 加入碘化丙啶(PI)染液, 轻混均匀, 流式细胞仪观察各组细胞凋亡情况。吸取 $100 \mu\text{L}$ 细胞悬液至离心管中, 并加入预冷的 75% 乙醇, 4°C 静置过夜, PBS 洗涤 2 次, 加入 $200 \mu\text{L}$ PBS, 分别加入 $20 \mu\text{L}$ 的 0.05 mg/mL 的 RnaseA 和 PI, 4°C 遮光 30 min , 流式细胞仪进行细胞周期数据的收集和分析。

1.2.6 Transwell 检测细胞侵袭情况

取转染后培养 48 h 后的各组细胞, 胰蛋白酶消化, 配置细胞悬液, 调整细胞浓度为 1×10^5 个/ mL , 每组选取 3 个重复, 接种于铺有 Matrigel 胶的 Transwell 小室上室, 并在下室中加入 $600 \mu\text{L}$ 含胎牛血清的 RPMI 1640 培养基, 37°C 培养 24 h , 倒掉上室培养液, 用棉签擦去未迁移的细胞和多余的 Matrigel 胶, 无水甲醇固定 30 min , 0.1% 结晶紫溶液染色 20 min , 显微镜下随机选取 5 个视野, 观察染色细胞并进行计数, 计算均值。

1.2.7 Western blot 检测蛋白表达水平

取培养 48 h 后各组对数期细胞, 胰蛋白酶消化, 配置细胞悬液, 调整细胞浓度为 5×10^4 个/孔, 每组选取 3 个重复, 接种至 24 孔板中, 培养 24 h 后, 弃上清液, PBS 清洗细胞, 重悬细胞, 蛋白提取试剂盒对细胞总蛋白进行提取, BCA 试剂盒测定提取总蛋白浓度, 蛋白样品进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE), 电泳结束后将蛋白转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上, 5% 脱脂奶粉遮光封闭 2 h ; 分别加入一抗稀释液(CyclinD1 $1:200$ 、 β -catenin $1:1000$ 、N-cad $1:1000$ 、E-cad $1:5000$ 、caspase-9 $1:2000$ 、c-Myc $1:1000$ 、GAPDH $1:1000$ 稀释), 4°C 孵育过夜, TBST 缓冲液(Tris-HCl 缓冲盐溶液+Tween)洗膜 3 次, 加入 HRP 标记二抗稀释液($1:2000$), 室温孵育 1 h , TBST 洗膜 3 次。蛋白凝胶成像仪分析蛋白表达水平。

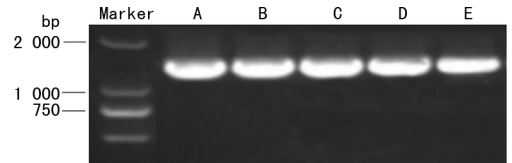
1.3 统计学处理

应用 SPSS25.0 软件对数据进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 多组间比较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 各组细胞中 UBE2T mRNA 表达水平比较

与正常乳腺细胞系 MCF-10A 中 UBE2T mRNA 表达水平(1.00)比较, 乳腺癌细胞系中 UBE2T mRNA 表达均明显升高($P<0.05$), HCC1937、MCF-7、MDA-MB-468、MDA-MB-231 中 UBE2T mRNA 表达水平分别为 1.29 ± 0.08 、 1.32 ± 0.09 、 1.53 ± 0.15 、 1.64 ± 0.13 , 其中 MDA-MB-231 表达水平最高, 故选取乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 进行后续研究。不同乳腺癌细胞系中 UBE2T 的表达, 见图 1。

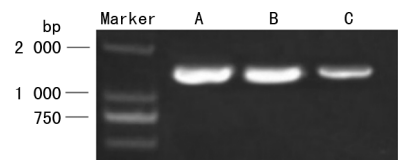


A: MDA-MB-231; B: MDA-MB-468; C: MCF-7; D: HCC1937; E: MCF-10A。

图 1 各组细胞中 UBE2T 的表达水平

2.2 各组 MDA-MB-231 中 UBE2T mRNA 表达水平比较

对照组、阴性转染组、UBE2T-siRNA 组细胞 UBE2T mRNA 表达水平分别为 1.00、 1.02 ± 0.06 、 0.54 ± 0.13 , 与对照组和阴性转染组比较, UBE2T-siRNA 组细胞 UBE2T mRNA 的表达明显降低($P<0.05$); 各组 MDA-MB-231 中 UBE2T 的表达, 见图 2。



A: 对照组; B: 阴性转染组; C: UBE2T-siRNA 组。

图 2 各组 MDA-MB-231 中 UBE2T 的表达水平

2.3 各组 MDA-MB-231 细胞增殖抑制率及凋亡率比较

与对照组和阴性转染组比较, UBE2T-siRNA 组细胞增殖抑制率及凋亡率均明显升高($P<0.05$); 见表 2、图 3。

表 2 各组 MDA-MB-231 细胞增殖抑制率及凋亡率比较 ($\bar{x} \pm s, n=3, \%$)

项目	对照组	阴性转染组	UBE2T-siRNA 组
增殖抑制率	0 ^a	0.35±0.11 ^a	22.37±0.83
凋亡率	3.56±1.37 ^a	4.45±1.16 ^a	15.74±1.65

^a: $P < 0.05$; 与 UBE2T-siRNA 组比较。

2.4 各组 MDA-MB-231 细胞周期百分比比较

与对照组和阴性转染组比较, UBE2T-siRNA 组 G_0/G_1 期细胞百分比明显降低, G_2/M 期细胞百分比明显升高 ($P < 0.05$); 各组细胞 S 期细胞百分比比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 3、图 4。

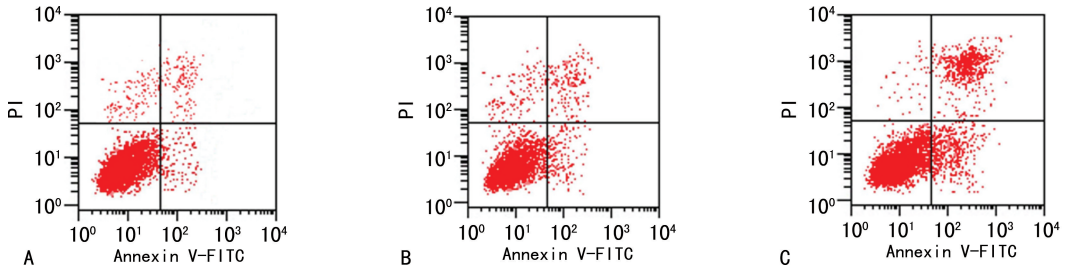
2.5 各组 MDA-MB-231 细胞侵袭数目比较

Transwell 检测各组细胞侵袭情况, 对照组、阴性转染组、UBE2T-siRNA 组细胞侵袭数目分别为 (219.62±21.48)、(198.54±18.67)、(89.65±16.74) 个, 与对照组和阴性转染组比较, UBE2T-siRNA 组细胞侵袭数目明显降低 ($P < 0.05$), 见图 5。

表 3 各组 MDA-MB-231 细胞周期百分比比较 ($\bar{x} \pm s, n=3, \%$)

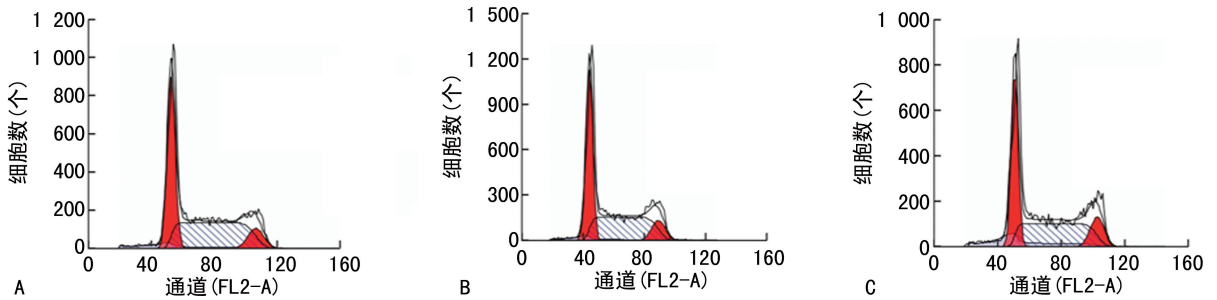
细胞周期	对照组	阴性转染组	UBE2T-siRNA 组
G_0/G_1	55.41±3.62 ^a	56.78±4.49 ^a	45.52±3.46
S	42.56±4.43	40.14±3.39	43.83±3.52
G_2/M	3.58±0.27 ^a	3.52±0.33 ^a	9.79±0.52

^a: $P < 0.05$; 与 UBE2T-siRNA 组比较。



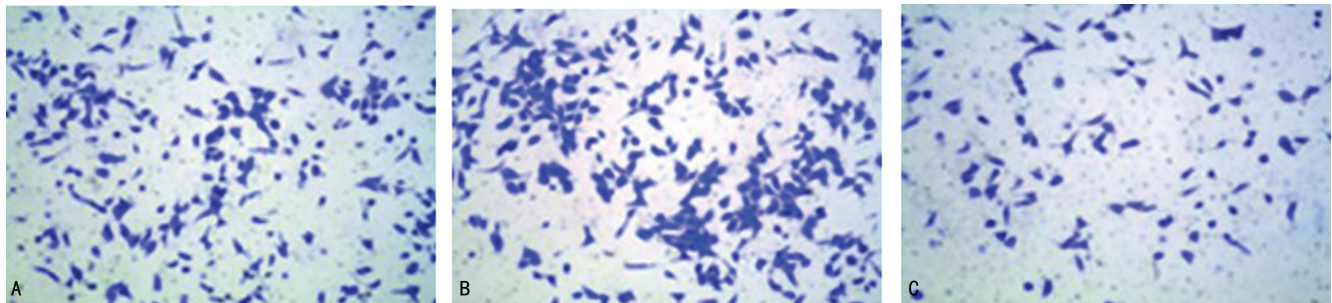
A: 对照组; B: 阴性转染组; C: UBE2T-siRNA 组。

图 3 流式细胞仪观察各组细胞凋亡情况



A: 对照组; B: 阴性转染组; C: UBE2T-siRNA 组。

图 4 流式细胞仪观察各组 MDA-MB-231 细胞周期情况



A: 对照组; B: 阴性转染组; C: UBE2T-siRNA 组。

图 5 显微镜下观察各组 MDA-MB-231 细胞侵袭情况 (结晶紫染色, ×200)

2.6 各组 MDA-MB-231 细胞增殖、凋亡及侵袭蛋白表达水平比较

与对照组和阴性转染组比较, UBE2T-siRNA 组细胞蛋白 CyclinD1、c-Myc、 β -catenin、N-cad 表达水平明显降低, E-cad、caspase-9 表达水平明显升高 ($P < 0.05$), 见表 4、图 6。

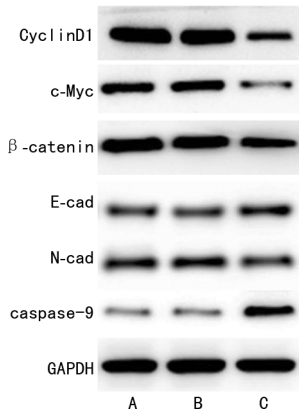
表 4 各组细胞增殖、凋亡蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

项目	对照组	阴性转染组	UBE2T-siRNA 组
CyclinD1	1.23±0.15 ^a	1.18±0.21 ^a	0.57±0.16
c-Myc	1.06±0.13 ^a	1.12±0.09 ^a	0.25±0.07
β -catenin	0.94±0.08 ^a	0.87±0.06 ^a	0.46±0.05

续表 4 各组细胞增殖、凋亡蛋白表达水平比较
($\bar{x} \pm s, n=3$)

项目	对照组	阴性转染组	UBE2T-siRNA 组
E-cad	0.31±0.11 ^a	0.28±0.14 ^a	0.63±0.16
N-cad	0.78±0.13 ^a	0.81±0.16 ^a	0.42±0.09
caspase-9	0.19±0.17 ^a	0.23±0.12 ^a	0.68±0.21

^a: $P < 0.05$; 与 UBE2T-siRNA 组比较。



A: 对照组; B: 阴性转染组; C: UBE2T-siRNA 组。

图 6 Western blot 法检测各组细胞蛋白表达情况

3 讨论

乳腺癌是威胁妇女健康的杀手,其发病涉及环境、基因、饮食习惯等多方原因。临床治疗主要通过手术、放化疗等,但不可避免使患者丧失乳房完整性,且后续治疗对身心均有不利影响,因此持续探究乳腺癌发病机制有益于丰富临床治疗方案^[3]。UPS 系统包括泛素(Ub)、泛素激活酶(E1)、泛素结合酶(E2)、泛素连接酶(E3),以及蛋白酶体及其底物蛋白,E1 激活 Ub C 末端,生成硫酯连接的 E1-Ub 结合物,之后通过转硫反应活化的 Ub 与 E2 结合,并通过 E3 连接至底物蛋白上,不仅能够改变蛋白质的位置、功能,还能影响细胞周期和癌症等相关过程^[7]。UBE2T 属于泛素结合酶家族,是一种致癌蛋白,UBE2T 能够催化 Ub 与蛋白底物的连接,在癌症中有重要作用^[8]。本研究结果表明,乳腺癌细胞系中 UBE2T mRNA 明显高于正常乳腺细胞,提示 UBE2T 可能与乳腺癌的发生有关。4 个乳腺癌细胞系中 MDA-MB-231 的 UBE2T mRNA 表达最高,因此选取 MDA-MB-231 进行后续实验。

LUO 等^[9]研究表明,UBE2T 在胃癌中有关键作用,UBE2T-siRNA 能够促进胃癌细胞 SGC-7901 的凋亡,抑制胃癌细胞的增殖、侵袭和转移,且裸鼠成瘤实验结果显示,抑制 UBE2T 的表达能够抑制裸鼠体内肿瘤的形成和生长。ZHENG 等^[10]研究表明,UBE2T 在胰腺癌组织和细胞中的表达明显高于正常组织和细胞,且 UBE2T 过表达明显促进了胰腺癌细胞 MiaPaca-2, Bxpc-3 的增殖、迁移和侵袭,而 UBE2T 下调抑制了胰腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。罗何三等^[11]研究表明,乳腺癌组织中 UBE2T mRNA 表达明显高于正常乳腺组织,且与患者临床病理特征

有关,是乳腺癌预后的不良因素,而 UBE2T 对乳腺癌细胞的影响还少有研究。本研究结果表明,沉默 UBE2T 能够抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖,增加细胞凋亡率及 G₂/M 期细胞百分比,降低 G₀/G₁ 期细胞百分比,说明 UBE2T 可能是乳腺癌发展过程中的癌基因。LIU 等^[12]研究表明,抑制 UBE2T 的表达能够将肝癌细胞 SMCC-7721 和 Huh-7 阻滞在 G₂/M 期,抑制细胞的增殖,猜测沉默 UBE2T 可能通过阻滞细胞周期抑制 MDA-MB-231 的增殖,具体作用机制有待进一步的研究。

caspase 家族是一组存在于细胞质中的半胱氨酸蛋白酶,与真核细胞的凋亡有关。caspase-9 是一种典型的凋亡蛋白^[13],本研究发现,UBE2T-siRNA 组细胞 caspase-9 表达明显升高,进一步说明沉默 UBE2T 能够促进 MCF-10A 细胞的凋亡,具体机制有待进一步研究。β-catenin 是一种多功能蛋白,其异常表达会导致癌症的发生。LIU 等^[14]研究表明,沉默 UBE2T 能够抑制 Wnt/β-catenin 信号通路抑制非小细胞肺癌细胞 A549、H1299 等的增殖和侵袭。Wnt 是 β-catenin 的主要调节器,当 Wnt 激活时,β-catenin 在细胞质中积累,然后转移至细胞核,与 T 细胞因子 4 (TCF4) 等调节因子结合,促进 CyclinD1 和 c-Myc 等蛋白的转录^[15]。CyclinD1 能够促进细胞周期进程,调节细胞增殖,与癌症的发生、发展有关^[16]。c-Myc 基因能够促进细胞分裂,使细胞无限增殖,获得永生功能,与多种肿瘤的发生、发展有关^[17-18]。本研究结果表明,UBE2T-siRNA 组蛋白 CyclinD1、c-Myc、β-catenin 的表达明显低于对照组,猜测 UBE2T 可能通过调控 Wnt/β-catenin 信号通路,影响 CyclinD1、c-Myc 的表达,进而促进乳腺癌细胞的增殖,具体机制有待进一步研究。有研究表明 Wnt/β-catenin 信号通路通过诱导上皮间质转化(EMT)促进肿瘤转移^[19]。EMT 通过使癌细胞失去上皮特性和获得间充质表型,被认为是促进癌症转移的主要原因之一^[20]。N-cad、E-cad 是 EMT 途径的典型标志物。Transwell 实验表明,沉默 UBE2T 能够抑制 MDA-MB-231 细胞的侵袭,且 UBE2T-siRNA 组细胞蛋白 N-cad 的表达明显低于对照组,而 E-cad 的表达升高,说明沉默 UBE2T 可能通过抑制 EMT 途径,抑制乳腺癌细胞的侵袭。

综上所述,沉默 UBE2T 的表达能够促进乳腺癌细胞的凋亡,抑制乳腺癌细胞的增殖和侵袭,可能是乳腺癌的潜在研究靶点。然而本研究仅在体外条件下,分析了 UBE2T 对乳腺癌细胞的生物学活性的影响,未深入研究具体机制,是本研究不足之处,下一步需查阅相关资料,进一步探讨 UBE2T 在乳腺癌发生、发展中的可能机制。

参考文献

[1] HARBECK N, GNANT M. Breast cancer[J].

- Lancet, 2017, 389(10074): 1134-1150.
- [2] MILLER K D, NOGUEIRA L, MARIOTTO A B, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(5): 363-385.
- [3] HOU Y, SUN X, YAO S, et al. Cryoablation-activated enhanced nanodoxorubicin release for the therapy of chemoresistant mammary cancer stem-like cells[J]. J Mater Chem B, 2020, 8(5): 908-918.
- [4] HAO P, KANG B, LI Y, et al. UBE2T promotes proliferation and regulates PI3K/Akt signaling in renal cell carcinoma[J]. Mol Med Rep, 2019, 20(2): 1212-1220.
- [5] ZHANG W, ZHANG Y, YANG Z, et al. High expression of UBE2T predicts poor prognosis and survival in multiple myeloma[J]. Cancer Gene Ther, 2019, 26(11/12): 347-355.
- [6] PEREZ-PENA J, CORRALES-SANCHEZ V, AMIR E, et al. Ubiquitin-conjugating enzyme E2T (UBE2T) and denticleless protein homolog (DTL) are linked to poor outcome in breast and lung cancers[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 17530.
- [7] GONG Y Q, PENG D, NING X H, et al. UBE2T silencing suppresses proliferation and induces cell cycle arrest and apoptosis in bladder cancer cells[J]. Oncol Lett, 2016, 12(6): 4485-4492.
- [8] STEWART M D, RITTERHOFF T, KLEVIT R E, et al. E2 enzymes: more than just middle men[J]. Cell Res, 2016, 26(4): 423-440.
- [9] LUO C, YAO Y, YU Z, et al. UBE2T knock-down inhibits gastric cancer progression[J]. Oncotarget, 2017, 8(20): 32639-32654.
- [10] ZHENG Y W, GAO P F, MA M Z, et al. Role of ubiquitin-conjugating enzyme E2T in the carcinogenesis and progression of pancreatic cancer[J]. Oncol Lett, 2020, 20(2): 1462-1468.
- [11] 罗何三, 吴盛喜, 许鸿鹞, 等. 基于 TCGA 数据乳腺癌组织 UBE2T 表达临床意义分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2017, 24(13): 901-905.
- [12] LIU L L, ZHU J M, YU X N, et al. UBE2T promotes proliferation via G₂/M checkpoint in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Manag Res, 2019, 11: 8359-8370.
- [13] LI P, ZHOU L, ZHAO T, et al. Caspase-9: structure, mechanisms and clinical application[J]. Oncotarget, 2017, 8(14): 23996-24008.
- [14] LIU J, LIU X. UBE2T silencing inhibited non-small cell lung cancer cell proliferation and invasion by suppressing the wnt/beta-catenin signaling pathway[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2017, 10(9): 9482-9488.
- [15] SHANG S, HUA F, HU Z W. The regulation of beta-catenin activity and function in cancer: therapeutic opportunities[J]. Oncotarget, 2017, 8(20): 33972-33989.
- [16] DREYER J H, HAUCK F, BARROS M, et al. pRb and CyclinD1 Complement p16 as Immunohistochemical Surrogate Markers of HPV Infection in Head and Neck Cancer[J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2017, 25(5): 366-373.
- [17] MASTRONIKOLIS N, RAGOS V, KYRODIMOS E, et al. Mechanisms of C-myc oncogenic activity in head and neck squamous cell carcinoma [J]. J BUON, 2019, 24(6): 2242-2244.
- [18] GAO X, LIU X, LU Y, et al. PIM1 is responsible for IL-6-induced breast cancer cell EMT and stemness via c-myc activation[J]. Breast Cancer, 2019, 26(5): 663-671.
- [19] LI G, SU Q, LIU H, et al. Frizzled7 promotes epithelial-to-mesenchymal transition and stemness via activating canonical wnt/beta-catenin pathway in gastric cancer[J]. Int J Biol Sci, 2018, 14(3): 280-293.
- [20] 张益玮, 彭秀达, 肖帅. 上皮-间充质转变的概念变迁及与肿瘤转移研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2020, 29(2): 241-247.

(收稿日期: 2021-03-02 修回日期: 2021-06-22)

(上接第 3987 页)

- [18] 刘全海, 申骏龙, 李晶, 等. β -catenin 在膀胱癌上皮-间质转化中的作用及相关机制[J]. 现代肿瘤医学, 2018, 26(11): 1671-1674.
- [19] VOÛKA M, LANGER D, FRYBA V, et al. Serum levels of TIMP-1 and MMP-7 as potential biomarkers in patients with metastatic colorectal cancer[J]. Int J Biol Markers, 2019, 34(3): 292-301.
- [20] YUAN S, LIN L S, GAN R H, et al. Elevated matrix metalloproteinase 7 expression promotes the proliferation, motility and metastasis of tongue squamous cell carcinoma[J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 33.

(收稿日期: 2021-02-07 修回日期: 2021-06-23)