

- [5] 张恒伟,李军涛,吕民豪,等.数字乳腺三维断层摄影技术在乳腺癌诊断中的价值[J].中华医学杂志,2017,97(18):1387-1390.
- [6] 边甜甜,林青.数字乳腺断层摄影新技术的临床应用价值及发展前景[J].中华放射学杂志,2013,47(8):761-763.
- [7] HAAS BM. Comparison of tomosynthesis plus digital mammography and digital mammography alone for breast cancer screening [J]. Radiology, 2013, 269(3):694-700.
- [8] MERCADO C. BI-RADS update [J]. Radiol Clin North Am, 2014, 52(3):481-487.
- [9] 张恒伟,李军涛,田沛琦,等.数字乳腺三维断层摄影与全数字化乳腺摄影在乳房肿块型疾病中的诊断价值[J].中华普通外科杂志,2017,32(6):493-496.
- [10] SECHOPOULOS I, BLIZNAKOVA K, FEI B, et al. Power spectrum analysis of the x-ray scatter signal in mammography and breast tomosynthesis projections [J]. Med Phys, 2013, 40(10):101905.
- [11] 魏瑶,芦春花,李岩,等.全视野数字化乳腺摄影及数字乳腺断层摄影诊断致密型乳腺内病变[J].中国医学影像技术,2018,34(12):1815-1819.
- [12] 李军涛,郭旭辉,田沛琦,等.数字乳腺三维断层摄影技术在乳腺可疑钙化型疾病中的诊断价值[J].中华普通外科杂志,2018,33(12):1042-1045.
- [13] 边甜甜,林青,李丽丽,等.对比数字乳腺断层合成与乳腺X线摄影对致密型乳腺内肿块的诊断价值[J].中华放射学杂志,2015,49(7):483-487.
- [14] MICHELL MJ, BATOHI B. Role of tomosynthesis in breast imaging going forward [J]. Clin Radiol, 2018, 73(4):358-371.
- [15] 尤超,顾雅佳,彭卫军,等.采用数字乳腺断层结合合成二维图像对乳腺病变的鉴别诊断价值[J].中华放射学杂志,2017,51(11):828-833.
- [16] 安琪,李晶.超声与数字断层摄影检查致密乳腺进展[J].中国介入影像与治疗学,2018,15(4):251-254.
- [17] BIAN TT, LIN Q, CUI CX, et al. Digital breast tomosynthesis: a new diagnostic method for mass-like lesions in dense breasts [J]. Breast J, 2016, 22(5):535-540.

(收稿日期:2019-10-17,修回日期:2019-12-08)

引用本文:刘文杰,吴菡,黄建,等.人类表皮生长因子受体2对胃癌细胞增殖、迁移侵袭和凋亡的影响[J].安徽医药,2021,25(2):299-303.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.02.022.

◇临床医学◇



人类表皮生长因子受体2对胃癌细胞增殖、迁移侵袭和凋亡的影响

刘文杰,吴菡,黄建,周武碧

作者单位:南京医科大学附属淮安第一医院病理科,江苏 淮安 223300

摘要: **目的** 研究人类表皮生长因子受体2(HER2)对胃癌细胞增殖、迁移侵袭和凋亡的影响,并探讨其机制。**方法** 2018年11月至2019年6月,运用实时定量PCR(qRT-PCR)和蛋白质印迹法(Western blot)检测永生化的正常胃上皮细胞GES-1、胃癌细胞SGC-7901、MGC-803、BGC-823中HER2的表达;将空载体(pcDNA 3.1)、HER2过表达载体(pcDNA 3.1-HER2)、小干扰RNA阴性对照(si-NC)、HER2小干扰RNA(si-HER2)用脂质体法转染至SGC-7901细胞。噻唑蓝(MTT)法检测细胞增殖;Transwell小室检测细胞迁移和侵袭;流式细胞术检测细胞凋亡;Western blot检测细胞中p16、p21、基质金属蛋白酶9(MMP-9)、基质金属蛋白酶2(MMP-2)、裂解的聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(cleaved-PARP)、裂解的半胱氨酸蛋白酶3(cleaved caspase-3)蛋白表达。**结果** 与正常胃上皮细胞GES-1相比,胃癌细胞SGC-7901、MGC-803、BGC-823中HER2的表达[(3.02±0.28),(2.51±0.21),(2.36±0.19)比(1.00±0.08)]明显升高,其中SGC-7901细胞中的表达最高($P<0.05$);过表达HER2后,SGC-7901细胞的增殖[(1.12±0.09)比(0.61±0.06)]、迁移[(170±15)比(100±9)]和侵袭[(130±12)比(75±6)]能力均明显上调,细胞的凋亡力[(8.03±0.69)%比(19.46±1.44)%]明显下调($P<0.05$);敲减HER2则可下调SGC-7901细胞的增殖[(0.59±0.05)比(0.89±0.08)]、迁移[(55±5)比(100±8)]和侵袭[(36±4)比(75±6)]能力,上调细胞的凋亡[(16.82±1.15)%比(8.01±0.65)%]能力($P<0.05$)。重要的是,过表达HER2可明显抑制SGC-7901细胞中增殖抑制蛋白p16、p21,迁移侵袭相关蛋白MMP-2、MMP-9,凋亡促进相关蛋白cleaved-PARP、cleaved caspase-3的表达,敲减HER2具有相反的作用。**结论** HER2可促进胃癌细胞的增殖、迁移侵袭,抑制凋亡,其可能与调控功能增殖、迁移侵袭及凋亡相关蛋白表达有关。

关键词: 胃肿瘤; 受体,表皮生长因子; 增殖; 迁移; 侵袭; 凋亡

Effects of HER2 on proliferation, migration, invasion and apoptosis of gastric cancer cells

LIU Wenjie, WU Han, HUANG Jian, ZHOU Wubi

Author Affiliation: Department of Pathology, The Affiliated Huai'an First Hospital of Nanjing Medical University, Huai'an, Jiangsu 223300, China

Abstract: Objective To study the effect of Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) on the proliferation, migration, invasion and apoptosis of gastric cancer cells and to explore its mechanism. **Methods** From November 2018 to June 2019, Real-time quantitative PCR (qRT-PCR) and Western blot were used to detect the expression of HER2 in immortalized normal gastric epithelial cells GES-1, gastric cancer cells SGC-7901, MGC-803 and BGC-823. The empty vector (pcDNA 3.1), HER2 overexpression vector (pcDNA 3.1-HER2), small interfering RNA negative control (si-NC), and HER2 small interfering RNA (si-HER2) were transfected into SGC-7901 cells by liposome method, respectively. Cell proliferation was detected by MTT assay, cell migration and invasion were detected by Transwell chamber and cell apoptosis was detected by flow cytometry. Expressions of p16, p21, matrix metalloproteinase 9 (MMP-9), MMP-2, cleaved poly ADP ribose polymerase (cleaved-PARP), cleaved caspase-3 proteins were detected by Western blot. **Results** Compared with normal gastric epithelial cells GES-1, the expressions of HER2 in gastric cancer cells SGC-7901, MGC-803 and BGC-823 $[(3.02 \pm 0.28), (2.51 \pm 0.21), (2.36 \pm 0.19) \text{ vs. } (1.00 \pm 0.08)]$ were significantly increased, and its expression in SGC-7901 cells was the highest ($P < 0.05$). After HER2 overexpression, the proliferation $[(1.12 \pm 0.09) \text{ vs. } (0.61 \pm 0.06)]$, migration $[(170 \pm 15) \text{ vs. } (100 \pm 9)]$ and invasion $[(130 \pm 12) \text{ vs. } (75 \pm 6)]$ of SGC-7901 cells were up-regulated, and the apoptotic ability $[(8.03 \pm 0.69)\% \text{ vs. } (19.46 \pm 1.44)\%]$ of cells was significantly down-regulated ($P < 0.05$). Knockdown of HER2 could down-regulate the proliferation $[(0.59 \pm 0.05) \text{ vs. } (0.89 \pm 0.08)]$, migration $[(55 \pm 5) \text{ vs. } (100 \pm 8)]$ and invasion $[(36 \pm 4) \text{ vs. } (75 \pm 6)]$ of SGC-7901 cells. The apoptotic ability $[(16.82 \pm 1.15)\% \text{ vs. } (8.01 \pm 0.65)\%]$ of the cells was up-regulated ($P < 0.05$). Importantly, overexpression of HER2 significantly inhibited the expressions of proliferative inhibitory proteins p16, p21, migration-invasively related proteins MMP-2, MMP-9, cleaved-PARP and cleaved caspase-3 in SGC-7901 cells. And Knockdown of HER2 had the opposite effect. **Conclusion** HER2 can promote the proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells and inhibit apoptosis, which may be related to the regulation of functional proliferation, migration, invasion and apoptosis of related proteins.

Key words: Stomach neoplasms; Receptor, epidermal growth factor; Proliferation; Migration; Invasion; Apoptosis

胃癌(GC)通常预后较差,目前是全球第四大常见癌症,且是东亚地区最常见的癌症^[1]。尽管已提出许多策略来提高病人存活率,但晚期GC患者的中位存活时间仍为约12个月^[2]。因此,需要更深入的探讨胃癌的分子发病机制,以改进胃癌治疗的新方法。人类表皮生长因子受体2(HER2)属于表皮生长因子受体(EGFR)家族成员,其在细胞生长、分化、存活相关通路中具有重要作用^[3-5]。市面上最常见的人源化的抗HER2单抗为曲妥珠单抗,其可通过抑制HER2二聚体、胞内吞HER2及抗体依赖细胞介导的细胞毒等途径抑制肿瘤的恶化^[6]。大量研究报道,HER2在胃癌患者中的表达异常升高。但是,HER2对胃癌细胞生物性行为的影响未有研究。2018年11月至2019年6月进行本研究,拟通过检测胃癌细胞中HER2的表达,探讨过表达HER2、敲减HER2对胃癌细胞增殖、迁移侵袭及凋亡的影响,旨在揭示HER2在胃癌进展中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料 永生化的正常胃上皮细胞GES-1、胃癌细胞SGC-7901、MGC-803、BGC-823均购自美国菌种保藏中心;噻唑蓝试剂(MTT)、胰蛋白酶均购自美国Selleck公司;Lipofectamine™2000、逆转录试剂盒、二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量试剂盒购自大连Takara公司;聚偏二氟乙烯(PVDF)膜购自德国罗氏诊断有限公司;放射免疫沉淀测定(RIPA)蛋白裂解液和电化学发光(ECL)试剂盒均购自碧云天生物技术公司;Matrigel基质胶、Transwell小室购自美国Coming公司;膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)/碘化丙啶(PI)凋亡检测试剂盒购自北京索莱宝公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 胃癌细胞SGC-7901、MGC-803、BGC-823以及正常胃上皮细胞GES-1均用含10%胎牛血清的DMEM培养基进行常规培养(37℃,含5%二氧化碳)。用胰蛋白酶消化75%汇合细胞,按照1:3的比例更换培养基,每周传代3次。

1.2.2 细胞转染与分组 将正常培养的永生化的正常胃上皮细胞GES-1、胃癌细胞SGC-7901、MGC-803、BGC-823分别标记为GES-1组、SGC-7901组、MGC-803组、BGC-823组;将SGC-7901细胞采用随机数字表法分为pcDNA 3.1组、pcDNA 3.1-HER2组、si-NC组、si-HER2组。处理方法为,按照脂质体Lipofectamine™2000的试剂盒说明书要求分别将pcDNA 3.1、pcDNA 3.1-HER2、si-NC、si-HER2转染至SGC-7901细胞,先用无血清培养液孵育6h,再更换新鲜培养液继续培养48h,western blot法检测转染效果。收集转染成功细胞用于后续试验。

1.2.3 qRT-PCR法检测细胞中HER2 mRNA表达 Trizol法提取SGC-7901、MGC-803、BGC-823以及GES-1细胞总RNA,微量核酸蛋白测定仪分析各样本RNA浓度和纯度。调整RNA样品浓度,使用TaKaRa反转录试剂盒将RNA反转录为cDNA,按照荧光定量试剂盒使用说明配制反应体系,进行qRT-PCR扩增。实验结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析HER2(GAPDH作为内参)的相对表达。

1.2.4 MTT实验检测细胞增殖 取适量pcDNA 3.1组、pcDNA 3.1-HER2组、si-NC组、si-HER2组细胞加入96孔板,在培养24、48、72h时加入20μL的MTT工作液(5g/L)孵育细胞4h,弃去上清后,向各孔内添

加 150 μL 二甲基亚砜,缓慢振荡至结晶溶解,检测细胞在 490 nm 波长下吸光度(A)。细胞的增殖活力与各孔 A 值成正比。

1.2.5 Transwell 小室检测细胞迁移侵袭 将 Transwell 小室置于添加 500 μL 的 RPMI 1640 培养基(含 10% 胎牛血清)24 孔板上,放入细胞培养箱平衡 30 min。用纯 RPMI 1640 培养基将 pcDNA 3.1 组、pcDNA 3.1-HER2 组、si-NC 组、si-HER2 组细胞均配制成 5×10^5 个/毫升的细胞悬液。在上室内加入 200 μL 细胞悬液(细胞数约为 1×10^5 个)。常规培养 24 h 取出上腔,去除上室膜上未迁移细胞,甲醇固定 30 min,1 g/L 结晶紫染色液染色 20 min。双蒸水洗去染色液。将 Transwell 小室放在倒置显微镜下拍照(400 倍),计数 5 个不同视野(上、下、左、右、中)的总细胞数取平均值记为迁移细胞数。

取 60 μL 按照 1:8 比例稀释基质胶包被 Transwell 小室上表面,置于培养箱当基质胶凝固后备用,其他步骤同迁移实验。

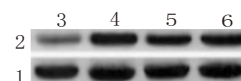
1.2.6 Annexin V-FITC/PI 流式细胞术实验 用 500 μL 的 Binding Buffer 悬浮 pcDNA 3.1 组、pcDNA 3.1-HER2 组、si-NC 组、si-HER2 组细胞,加入 5 μL 的 Annexin V-FITC 置于暗盒内反应 20 min,再添加 5 μL 的 PI 反应 20 min。用 300 目铜筛过滤后上流式细胞仪检测。采用早期凋亡率和晚期凋亡率之和表示细胞凋亡率。

1.2.7 Western Blot 检测细胞中 HER2、p16、p21、基质金属蛋白酶 9(MMP-9)、基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、裂解的聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(cleaved-PARP)、裂解的半胱氨酸蛋白酶 3(cleaved caspase-3)的蛋白表达 将 pcDNA 3.1 组、pcDNA 3.1-HER2 组、si-NC 组、si-HER2 组细胞置于冰上,用 RIPA 法提取各组细胞蛋白样品。定量后,向适量蛋白样品中加入 4 倍体积的上样缓冲液($\times 5$),经 100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 10 min 变性蛋白。每组均取 60 μg 样品按照 100 V、110 min 进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,利用标准湿式转膜装置 20 mA 转膜过夜。随后将聚偏二氟乙烯(PVDF)膜置于孵育盒,室温下加入 5% 脱脂奶粉孵育 1 h,再在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下加入 1:500 ~ 1:1 000 稀释的一抗孵育 12 h,最后在室温下用 1:1 500 稀释的二抗中反应 2 h。将孵育盒置于暗室内,进行化学发光显影。凝胶成像系统采集图像,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参,Quantity One 4.62 软件分析目的条带相对灰度值表示目的蛋白表达量。

1.3 统计学方法 统计分析采用 SPSS 21.0 软件进行。每个样本设置 3 个生物学重复,实验重复 3 次。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验,多组间两两比较采用单因素方差分析和 Bonferroni 校正的 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃癌细胞中 HER2 的表达 SGC-7901、MGC-803、BGC-823 细胞中 HER2 的 mRNA 表达($t = 4.163, 14.896, 19.580; P = 0.0002, 0.000, 0.000$)和蛋白表达($t = 20.834, 15.497, 13.957; P = 0.000, 0.000, 0.000$)均显著高于 GES-1 细胞。见图 1、表 1。



注:1—GAPDH;2—HER2;3—GES1;4—SGC-7901;5—MGC-803;6—BGC-823。

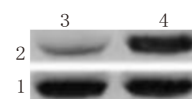
图1 人类表皮生长因子受体 2(HER2)在胃癌细胞中的蛋白表达

表1 人类表皮生长因子受体 2(HER2)在胃癌细胞中的表达($n=9$)/ $\bar{x} \pm s$

组别	HER2 mRNA	HER2 蛋白
GES-1	1.00 $\pm$ 0.07	1.00 $\pm$ 0.08
SGC-7901	4.61 $\pm$ 0.37 ^①	3.02 $\pm$ 0.28 ^①
MGC-803	3.29 $\pm$ 0.26 ^①	2.51 $\pm$ 0.21 ^①
BGC-823	4.01 $\pm$ 0.36 ^①	2.36 $\pm$ 0.19 ^①
F 值	265.107	162.333
P 值	0.000	0.000

注:①与 GES-1 比较, $P < 0.05$ 。

2.2 过表达 HER2 对胃癌细胞增殖的影响 pcDNA 3.1-HER2 组 SGC-7901 细胞中 HER2 表达高于 pcDNA 3.1 组,细胞增殖活力(48、72 h 时)显著高于 pcDNA 3.1 组($P < 0.05$)。见图 2、表 2。



注:1—GAPDH,2—HER2;3—pcDNA3.1;4—pcDNA3.1-HER2。

图2 过表达人类表皮生长因子受体 2(HER2)的胃癌细胞中 HER2 蛋白表达

表2 过表达人类表皮生长因子受体 2(HER2)对胃癌细胞增殖的影响($n=9$)/ $\bar{x} \pm s$

组别	HER2	增殖活力/($A_{490 \text{ nm}}$)		
		24 h	48 h	72 h
pcDNA 3.1	1.00 $\pm$ 0.05	0.42 $\pm$ 0.04	0.48 $\pm$ 0.05	0.61 $\pm$ 0.06
pcDNA 3.1-HER2	5.69 $\pm$ 0.51	0.41 $\pm$ 0.03	0.73 $\pm$ 0.07	1.12 $\pm$ 0.09
t 值	27.457	0.600	8.719	14.145
P 值	0.000	0.557	0.000	0.000

2.3 过表达 HER2 对胃癌细胞迁移侵袭的影响 pcDNA 3.1-HER2 组 SGC-7901 细胞中 HER2 的蛋白表达显著高于 pcDNA 3.1 组,细胞的迁移细胞数和侵袭细胞数均高于 pcDNA 3.1 组($P < 0.05$)。见图 3A、图 3C、表 3。

表3 过表达人类表皮生长因子受体2(HER2)对胃癌细胞迁移侵袭的影响($n=9$)/ $\bar{x} \pm s$

组别	HER2	迁移细胞数	侵袭细胞数
pc DNA 3.1	1.00±0.08	100±9	75±6
pcDNA 3.1-HER2	5.52±0.48	170±15	130±12
<i>t</i> 值	27.866	12.005	12.298
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

2.4 过表达 HER2 对胃癌细胞凋亡的影响 pcDNA 3.1-HER2 组 SGC-7901 细胞中 HER2 表达显著高于 pcDNA 3.1 组,细胞凋亡率显著低于 pcDNA 3.1 组($P < 0.05$)。见图 3B、图 3D,表 4。

表4 过表达人类表皮生长因子受体2(HER2)对胃癌细胞凋亡的影响($n=9$)/ $\bar{x} \pm s$

组别	HER2	细胞凋亡率/%
pc DNA 3.1	1.00±0.08	19.46±1.44
pcDNA 3.1-HER2	5.85±0.56	8.03±0.69
<i>t</i> 值	25.721	21.475
<i>P</i> 值	0.000	0.000

2.5 敲减 HER2 对胃癌细胞增殖、迁移、侵袭及凋亡的影响 与 si-NC 组相比, si-HER2 组 SGC-7901 细胞中 HER2 表达显著低于 si-NC 组。 si-HER2 组 SGC-7901 细胞增殖活力(48、72 h 时)、迁移细胞数和侵袭细胞数显著低于 si-NC 组,细胞凋亡率显著高于 si-NC 组。与 pcDNA 3.1 组相比, pcDNA 3.1-HER2 组 SGC-7901 细胞中 p16、p21、cleaved-PARP、cleaved caspase-3 蛋白表达均显著降低, MMP-9、

MMP-2 蛋白表达均显著升高,与 si-NC 组相比, si-HER2 组细胞中 p16、p21、cleaved-PARP、cleaved caspase-3 蛋白表达均显著升高, MMP-9、MMP-2 蛋白表达均显著降低。见图 4 和表 5、6。

3 讨论

HER2 是位于染色体位置 17q21 的原癌基因,在上皮、间充质和神经起源的组织中编码 185 kDa 的跨膜糖蛋白^[7-8]。HER2 属于受体酪氨酸激酶家族,其包含 4 个成员:HER1(又称 ERBB1),HER2(又称 ERBB2),HER3(又称 ERBB3)和 HER4(又称 ERBB4)^[9]。来自这些受体的信号转导由配体与受体细胞外结构域结合,然后受体二聚化和细胞质结构域内特定酪氨酸残基的反式自磷酸化引发^[10]。然而,HER2 是一种孤儿受体,并且始终处于活跃的构象^[11]。在 HERs 中,HER2 是与其他 HER 受体异二聚化的优选结合伴侣,并且在过表达时也是同二聚化的^[12]。HER2 的同源和异源二聚化导致几种信号传导途径的激活,包括磷脂酰肌醇-3-羟激酶(PI3K)/蛋白激酶(AKT)和丝裂原激活的蛋白激酶(MAPK)途径以及许多其他关键信号传导元件,如信号转导与转录激活因子 3(STAT3)和 c-JUN。这些信号通路调节细胞分裂、增殖、存活、迁移、分化、凋亡等细胞运动^[13-14]。此外,据报道,HER2 的羧基末端部分(约 90~100 kDa 称为 p95HER2)在其切割后易位至细胞核,并作为核因子在某些基因的转录调控中相互作用。张婷等^[15]在胃癌的研究中早已报道,HER2 高表达与胃癌患者较低的分化程度有关。崔建新^[16]及有关研究报道^[17],HER2 可调控曲

表5 敲减人类表皮生长因子受体2(HER2)对胃癌细胞SGC-7901增殖、迁移侵袭及凋亡的影响($n=9$)/ $\bar{x} \pm s$

组别	HER2	细胞增殖活力/(A_{490} nm)					细胞凋亡率/%
		24 h	48 h	72 h	迁移细胞数	侵袭细胞数	
si-NC	1.00±0.08	0.41±0.04	0.56±0.05	0.89±0.08	100±8	75±6	8.01±0.65
si-HER2	0.16±0.01	0.40±0.03	0.45±0.04	0.59±0.05	55±5	36±4	16.82±1.15
<i>t</i> 值	31.257	0.600	5.154	9.540	14.310	16.225	20.008
<i>P</i> 值	0.000	0.557	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表6 人类表皮生长因子受体2(HER2)表达改变对胃癌细胞SGC-7901增殖、迁移侵袭及凋亡相关蛋白表达量的影响($n=9$)/ $\bar{x} \pm s$

组别	HER2	蛋白表达					
		p16	p21	MMP-9	MMP-2	cleaved-PARP	cleaved caspase-3
pc DNA 3.1	1.00±0.14	1.01±0.04	1.00±0.07	1.00±0.06	1.01±0.04	1.00±0.07	1.00±0.09
pcDNA3.1-HER2	4.34±0.41 ^①	0.54±0.05 ^①	0.42±0.04 ^①	1.81±0.14 ^①	1.73±0.13 ^①	0.26±0.02 ^①	0.19±0.02 ^①
si-NC	1.00±0.08	1.01±0.06	1.00±0.07	1.00±0.09	1.01±0.06	1.01±0.09	0.99±0.06
si-HER2	0.21±0.02 ^②	2.01±0.18 ^②	1.89±0.15 ^②	0.49±0.04 ^②	0.42±0.04 ^②	1.68±0.12 ^②	1.82±0.15 ^②
<i>F</i> 值	626.473	344.342	390.965	325.970	436.595	435.745	460.786
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:MMP-9为基质金属蛋白酶9,MMP-2为基质金属蛋白酶2,cleaved-PARP为裂解的聚腺苷二磷酸核糖聚合酶,cleaved caspase-3为裂解的半胱氨酸蛋白酶3。

①与 pcDNA 3.1 组比较, $P < 0.05$ 。②与 si-NC 组比较, $P < 0.05$ 。

妥珠单抗对胃癌患者的治疗效果,其在胃癌的诊断及靶向治疗中均具有重要意义。刘晓伟与张宏^[18]在胃癌的研究中发现,HER2的表达水平与癌组织的分化具有紧密相关性,与患者的性别、年龄、肿瘤转移浸润程度无关。令人遗憾的是,HER2在胃癌细胞中的表达及对胃癌细胞的细胞表型变化的影响并未进行深入的研究。本研究表明,胃癌细胞SGC-7901、MGC-803、BGC-823中HER2在mRNA和蛋白水平的表达均明显升高,这与胃癌癌组织中HER2呈高表达相一致。本研究选择HER2表达差异较大的SGC-7901细胞进行体外研究,结果表明,过表达HER2显著增加SGC-7901细胞的增殖、迁移侵袭能力,并降低凋亡率,而敲减HER2则可抑制SGC-7901细胞的增殖、迁移侵袭并促进凋亡,这说明HER2对胃癌细胞的恶性表型变化具有促进作用,这为探索HER2在胃癌细胞中的功能机制提供充分的支持。深入研究发现,HER2可调控胃癌细胞增殖相关蛋白p16、p21,迁移侵袭相关蛋白MMP-9、MMP-2和凋亡相关蛋白cleaved-PARP、cleaved caspase-3的表达,提示HER2对胃癌细胞恶性生物学行为的调控机制可能与调控p16、p21、MMP-9、MMP-2、cleaved-PARP、cleaved caspase-3的表达相关。这为HER2在胃癌细胞中的作用机制研究提供参考。

综上所述,HER2可促进胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭,抑制凋亡,其作用机制与调控p16、p21、MMP-9、MMP-2、cleaved-PARP、cleaved caspase-3的表达相关,为HER2生物制剂在胃癌治疗中的应用提供支持。

(本文图3,4见插图2-2)

参考文献

[1] STRONG VE, WU AW, SELBY LV, et al. Differences in gastric cancer survival between the U.S. and China [J]. *J Surg Oncol*, 2015, 112(1):31-37.

[2] KOIZUMI W, KIM YH, FUJII M, et al. Addition of docetaxel to S-1 without platinum prolongs survival of patients with advanced gastric cancer: a randomized study (START) [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2014, 140(2):319-328.

[3] JEONG J, KIM W, KIM LK, et al. HER2 signaling regulates HER2 localization and membrane retention [J]. *PLoS One*, 2017, 12(4):e0174849. DOI: 10.1371/journal.pone.0174849.

[4] IGNATOV T, GORBUNOV F, EGGEMANN H, et al. Loss of HER2 after HER2-targeted treatment [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2019, 175(2):401-408.

[5] KOSAKA T, TANIZAKI J, PARANAL RM, et al. Response heterogeneity of EGFR and HER2 Exon 20 Insertions to covalent EGFR and HER2 inhibitors [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(10):2712-2721.

[6] 张艳, 张锦生. 曲妥珠单抗耐药机制的最新研究进展 [J]. *中国癌症杂志*, 2010, 20(3):232-236.

[7] MULERIS M, ALMEIDA A, MALFOY B, et al. Assignment of v-erb-b2 avian erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2 (ERBB2) to human chromosome band 17q21.1 by in situ hybridization [J]. *Cytogenet Cell Genet*, 1997, 76(1/2):34-35.

[8] COUSSENS L, YANG-FENG TL, LIAO YC, et al. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene [J]. *Science*, 1985, 230(4730):1132-1139.

[9] AKIYAMA T, SUDO C, OGAWARA H, et al. The product of the human c-erbB-2 gene: a 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity [J]. *Science*, 1986, 232(4758):1644-1646.

[10] GRAUS-PORTA D, BEERLI RR, DALY JM, et al. ErbB-2, the preferred heterodimerization partner of all ErbB receptors, is a mediator of lateral signaling [J]. *EMBO J*, 1997, 16(7):1647-1655.

[11] KING CR, BORRELLO I, PORTER L, et al. Ligand-independent tyrosine phosphorylation of EGF receptor and the erbB-2/neu proto-oncogene product is induced by hyperosmotic shock [J]. *Oncogene*, 1989, 4(1):13-18.

[12] GUO W, PYLAEVA Y, PEPE A, et al. Beta 4 integrin amplifies ErbB2 signaling to promote mammary tumorigenesis [J]. *Cell*, 2006, 126(3):489-502.

[13] LENFERINK AE, BUSSE D, FLANAGAN WM, et al. ErbB2/neu kinase modulates cellular p27(Kip1) and cyclin D1 through multiple signaling pathways [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(17):6583-6591.

[14] NELSON JM, FRY DW. Akt, MAPK (Erk1/2), and p38 act in concert to promote apoptosis in response to ErbB receptor family inhibition [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(18):14842-14847.

[15] 张婷, 王馨, 张召, 等. HER-2、TS和 β -Tubulin在胃癌中的表达水平及临床意义 [J]. *医学检验与临床*, 2020, 31(11):50-53.

[16] 崔建新. 端粒酶及血清游离HER2在胃癌HER2靶向治疗中的生物学意义 [D]. 北京:解放军总医院, 军医进修学院, 2016.

[17] Clinicopathological factors associated with HER2-positive gastric cancer: a meta-analysis: erratum [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(52):e9530. DOI: 10.1097/MD.0000000000009530.

[18] 刘晓伟, 张宏. HER2蛋白在胃癌组织中的表达及其临床研究 [J]. *内蒙古医科大学学报*, 2018, 40(4):412-414.

(收稿日期:2019-08-12,修回日期:2019-10-19)