

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.011.004
文章编号: 1005-8982 (2018) 011-0015-07

IGHG1 基因对膀胱癌细胞增殖 凋亡及迁移的影响*

吴遥西¹, 李浩勇², 周治彦¹, 陈金火¹, 李琦¹, 马哲¹, 金应霞³, 梁培育¹

(1. 海南医学院第一附属医院 泌尿外科, 海南 海口 570102; 2. 武汉大学人民医院 泌尿外科, 湖北 武汉 430060; 3. 武汉大学人民医院 中心实验室, 湖北 武汉 430060)

摘要: **目的** 探讨沉默 *IGHG1* 基因对膀胱癌 EJ 细胞增殖、凋亡及迁移的影响。**方法** 将靶向沉默 *IGHG1* 基因的慢病毒载体 (LV-*IGHG1*-RNAi) 感染 EJ 细胞, 构建稳定沉默 *IGHG1* 基因的 EJ 细胞 (sh*IGHG1*-EJ 细胞) 作为实验组; 将阴性对照序列 (NC) 慢病毒载体感染 EJ 细胞, 构建稳定转染 NC 序列的 NC-EJ 细胞作为阴性对照组; 未转染膀胱癌 EJ 细胞作为空白对照组。用实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 检测细胞 *IGHG1* mRNA 的相对表达量, Western blot 检测细胞 IgG、Caspase-3 和 Caspase-3 剪切片段蛋白的表达, CCK-8 法检测细胞的增殖, 流式细胞术 (FCM) 检测细胞的凋亡, 细胞划痕实验检测细胞的迁移。**结果** sh*IGHG1*-EJ 细胞转染率为 (76.667±0.042)%, NC-EJ 细胞转染率为 (75.333±0.055)%。qRT-PCR、Western blot 检测结果显示, 与空白对照组相比, sh*IGHG1*-EJ 细胞 *IGHG1* mRNA 和 IgG γ 蛋白表达量降低 ($P<0.05$), sh*IGHG1*-EJ 细胞 *IGHG1* 基因被沉默。CCK-8 法结果显示, 与空白对照组相比, sh*IGHG1*-EJ 细胞增殖降低 ($P<0.05$); FCM 和 Western blot 检测结果显示, 与空白对照组相比, sh*IGHG1*-EJ 细胞凋亡率增加 ($P<0.05$), 且在 17 kD 处出现 Caspase-3 剪切片段; 细胞划痕实验结果显示, sh*IGHG1*-EJ 细胞迁移能力仅为 EJ 细胞的 36% ($P<0.05$); 同时 NC-EJ 细胞在增殖、凋亡及迁移方面与 EJ 细胞比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论** EJ 细胞经慢病毒载体沉默 *IGHG1* 基因后, 细胞增殖和迁移水平降低, 细胞凋亡率增加。

关键词: 膀胱肿瘤; 基因沉默; *IGHG1*; 增殖; 细胞凋亡

中图分类号: R737.14

文献标识码: A

Effect of *IGHG1* gene on cell migration, proliferation and apoptosis of bladder cancer cells*

Yao-xi Wu¹, Hao-yong Li², Zhi-yan Zhou¹, Jin-huo Chen¹, Qi Li¹, Zhe Ma¹, Ying-xia Jin³, Pei-yu Liang¹
(1. Department of Urology, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou, Hainan 570102, China; 2. Department of Urology, 3. Central Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of *IGHG1* gene silencing on migration, proliferation and apoptosis of human bladder cancer EJ cells. **Methods** Bladder cancer cell line EJ cells were transfected with LV-*IGHG1*-RNAi and taken as experimental group (sh*IGHG1*-EJ cells). Negative scrambled lentiviral vector was used to transfect EJ cells, which were treated as negative control group (NC-EJ cells). EJ cells without transfection were

收稿日期: 2016-12-26

* 基金项目: 国家自然科学基金 (No: 81360375); 海南省社会发展重大专项课题 (No: 2015SF31)

[通信作者] 梁培育, E-mail: 1076447336@qq.com; Tel: 13976616788

used to be blank control group (EJ cells). The expressions of IgG γ , caspase-3 and cleaved caspase-3 were detected by Western blot and *IGHG1* mRNA expression by qRT-PCR. CCK-8 was used to detect the proliferation of the three groups of cells. Flow cytometry (FCM) was used to detect the cell apoptosis. Wound healing assay was used to investigate the change in migration of sh*IGHG1*-EJ cells. **Results** The transfection rate of the sh*IGHG1*-EJ cells was $(76.667 \pm 0.042)\%$, and the transfection rate of the NC-EJ cells was $(75.333 \pm 0.055)\%$. The expressions of *IGHG1* mRNA and IgG γ of the sh*IGHG1*-EJ group were obviously lower than those of the control groups ($P < 0.05$), which showed that *IGHG1* gene silencing was successful. CCK-8 revealed that *IGHG1* gene silencing significantly decreased the proliferation of EJ cells ($P < 0.05$). FCM and Western blot demonstrated that *IGHG1* gene silencing promoted the apoptosis of EJ cells ($P < 0.05$), and the cleaved caspase-3 fragment appeared at 17 kda. Wound healing assay showed that cell migration was inhibited by *IGHG1* gene silencing ($P < 0.05$). However, NC-EJ cells had no meaningful difference from EJ cells ($P > 0.05$). **Conclusions** *IGHG1* gene silencing can observably inhibit the migration and proliferation of human bladder cancer EJ cells. It can also promote cell apoptosis.

Keywords: bladder neoplasm; gene silencing; *IGHG1*; proliferation; apoptosis

膀胱癌是最常见的泌尿系统肿瘤^[1], 寻找有效的治疗靶点是研究热点之一。已有研究证明, 膀胱癌组织细胞能表达免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG), 并与细胞生长和凋亡有关^[2-6]。CHEN 等^[7]发现, 在多种癌细胞中, *IGHG1* 基因表达与肿瘤来源的 IgG 呈正相关。为明确肿瘤来源 IgG 对膀胱癌细胞功能学的影响, 本研究采用慢病毒载体 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 方法沉默膀胱癌 EJ 细胞的 *IGHG1* 基因, 降低肿瘤来源 IgG 的表达, 探究 EJ 细胞增殖、凋亡及迁移的改变。

1 材料与方法

1.1 细胞与试剂

EJ 细胞 (武汉普诺赛生命科技有限公司)。胎牛血清、RPMI 1640、青霉素链霉素溶液和 Trizol® Reagent 购自美国 Invitrogen 公司, RIPA 裂解液 (强)、PMSF 购自上海威奥生物科技有限公司, 聚丙烯酰胺凝胶 (上海威奥公司), PhosSTOP (美国 F.Hoffmann-La Roche 公司), 小鼠抗人 IgG 重链单克隆抗体 (英国 Abcam 公司), 兔抗人 Caspase-3 单克隆抗体 (美国 Cell Signaling Technology 公司), 小鼠抗人 GAPDH 单克隆抗体 (北京康为世纪公司), 荧光二抗 (美国 Li-COR 公司), Revert Aid™ First Strand cDNA Synthesis 试剂盒 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司), SYBR® Premix Ex Taq™ 试剂盒 (日本 TaKaRa 公司), CCK-8 试剂盒 (日本 Dojindo 公司), BD Pharmingen™ PE Annexin V Apoptosis Detection 试剂盒 (美国 BD Biosciences 公司), LV-*IGHG1*-RNAi 和阴性对照序列 (negative scrambled, NC) 慢病毒、Polybrene 由上海吉凯基因化学技术有限公司构建。其余试剂均为市售

分析纯产品。

1.2 主要仪器

Applied Biosystems by Life Technologies 7500 型实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 系统 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司), Licor Odyssey 双通道红外成像系统 (美国 Li-COR 公司), BD FACSCalibur 流式细胞仪 (美国 BD Biosciences 公司), Perkin Elmer Victor 31420 Multilabel Counter 酶标仪 (美国 PerkinElmer 公司)。

1.3 细胞培养

未转染的 EJ 细胞、已稳定转染 LV-*IGHG1*-RNAi 的 sh*IGHG1*-EJ 细胞, 以及稳定转染 NC 基因的 NC-EJ 细胞用含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素链霉素溶液的 RPMI 1640 培养基, 放置于 37℃、5% 二氧化碳 CO₂ 环境中培养。实验用细胞培养至 70% ~ 80% 细胞密度、处于增殖期的细胞, 用胰酶消化后收集细胞进行相关实验。构建稳定沉默 *IGHG1* 基因的 EJ 细胞 (sh*IGHG1*-EJ 细胞) 作为实验组; 将 NC 慢病毒载体感染 EJ 细胞, 构建稳定转染 NC 序列的 NC-EJ 细胞作为阴性对照组; 未转染膀胱癌 EJ 细胞作为空白对照组。

1.4 方法

1.4.1 慢病毒的构建 GenBank 查获人 *IGHG1* (Gene ID: 3500) mRNA 序列, 设计 19 bp 的 *IGHG1*-RNAi 正向引物: 5' -AGTGCAAGGTCTCCAACAA-3', 反向引物: 5' -TTGTTGGAGACCTTGCACT-3'; NC 正向引物: 5' -UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3', 反向引物: 5' -ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'。LV-

IGHG1-RNAi 和 NC 慢病毒由上海吉凯基因化学技术有限公司制备,慢病毒载体(GV248)由荧光标记包装,病毒滴度 3×10^8 TU/ml。

1.4.2 构建稳定转染的 shIGHG1-EJ 和 NC-EJ 细胞 将 EJ 细胞以 5×10^4 个/孔接种于 6 孔板,分为实验组和阴性对照组,细胞贴壁后将 $20 \mu\text{l}$ /孔 LV-IGHG1-RNAi 或 NC 慢病毒溶液、 $0.5 \mu\text{l}$ /孔 Polybrene 分别加入实验组和阴性对照组转染 EJ 细胞,转染 18 h 后更换 1640 完全培养基,继续转染至 72 h,观察绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的表达并计算感染率。

1.4.3 qRT-PCR 采用 qRT-PCR 检测细胞 IGHG1 的表达。设计 GAPDH 和 IgG 引物。GAPDH 正向引物:5'-TCAAGAAGGTGGTGAAGCAGC-3',反向引物:5'-TCAAAGGTGGAGGAGTGGGT-3'; IgG 正向引物:5'-TCCAAGAGGAAACCGTAAC-3',反向引物:5'-GACACTGGCAGAGGTGATT-3'。用 Trizol 提取 shIGHG1-EJ、NC-EJ 和 EJ 细胞的总 RNA,按 Revert Aid™ First Strand cDNA Synthesis 试剂盒说明书操作步骤逆转录 cDNA。按 SYBR® Premix Ex Taq™ 试剂盒说明书,加入相应引物的反应体系,用 qRT-PCR 系统检测 Ct 值。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析 shIGHG1-EJ、NC-EJ 和 EJ 细胞 IGHG1 mRNA 的相对表达量,不同时间重复 3 次。

1.4.4 Western blot 检测 采用 Western blot 检测 IgG、Caspase-3 和 Caspase-3 剪切片段蛋白的表达。消化并收集 shIGHG1-EJ、NC-EJ 和 EJ 细胞,加入 RIPA、PhosSTOP 和 PMSF,按 100 : 4 : 1 比例配制蛋白裂解工作液,冰上提取总蛋白,检测蛋白浓度,取 $100 \mu\text{g}$ 蛋白样品经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后转膜、封闭 2 h,加入相应稀释倍数的一抗 4°C 过夜,洗膜后加入 1 : 15 000 稀释倍数的对应荧光二抗室温孵育 2 h。用双通道红外成像系统检测杂交信号,用 Image J 软件检测 IgG γ 和 GAPDH 的相对表达量,实验重复 3 次。

1.4.5 CCK-8 法 采用 CCK-8 法检测细胞增殖功能。消化并收集 shIGHG1-EJ、NC-EJ 和 EJ 细胞,以 5×10^3 个/孔接种于 96 孔板中培养,分别于 0、6、12、24 和 48 h 加入 $10 \mu\text{l}$ /孔 CCK-8 试剂,置于 37°C 恒温箱反应 3 h 后,用酶标仪检测各孔在 450 ~ 490 nm 处光密度(optical density, OD)值,以平均 OD 值表示细胞增殖数量,实验重复 3 次。

1.4.6 流式细胞术(flow cytometry, FCM) 采用 FCM 检测细胞凋亡。消化并收集 shIGHG1-EJ、NC-EJ 和 EJ 细胞,以 1×10^5 个/孔接种于 6 孔板中培养。贴壁后更换培养基继续培养 48 h,胰酶消化后收集细胞,按 BD Pharmingen™ PE Annexin V Apoptosis Detection 试剂盒说明书操作,加入 $100 \mu\text{l}$ $1 \times$ Binding Buffer 重悬细胞,并加入 Annexin-V-PE 和 7-AAD 各 $5 \mu\text{l}$,室温避光 15 min 后再加入 $400 \mu\text{l}$ $1 \times$ Binding Buffer,并使用流式细胞仪检测并分析细胞凋亡,实验重复 3 次。

1.4.7 细胞的迁移功能测定 将 shIGHG1-EJ、NC-EJ 和 EJ 细胞接种于 6 孔板中,待细胞生长 $>80\%$ 时在中央划痕,用 PBS 洗去划下细胞后,在 RPMI 1640 无血清培养基中培养,用倒置显微镜观察 0、8 和 24 h 细胞的迁移情况并拍照,用 Image J 软件对迁移细胞进行分析,实验重复 3 次。

1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用单因素方差分析或重复测量设计的方差分析,两两比较用 LSD- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 验证稳定转染的 shIGHG1-EJ 和 NC-EJ 细胞

EJ 细胞感染 LV-IGHG1-RNAi 或 NC 慢病毒 72 h 后,荧光显微镜下观察,有绿色荧光蛋白 GFP 表达的细胞即为成功转染的 shIGHG1-EJ 细胞(实验组)和 NC-EJ 细胞(阴性对照组),实验组的转染率为 $(76.667 \pm 0.042)\%$,阴性对照组为 $(75.333 \pm 0.055)\%$ (见图 1A)。shIGHG1-EJ、NC-EJ 和 EJ 细胞的 IGHG1 mRNA 表达量比较,经单因素方差分析,差异有统计学意义($F = 630.167$, $P = 0.000$),shIGHG1-EJ 细胞为 EJ 细胞的 $(2.473 \pm 0.901)\%$,NC-EJ 细胞为 EJ 细胞的 $(85.631 \pm 7.875)\%$,shIGHG1-EJ 细胞 IGHG1 mRNA 表达量降低(见图 1B)。shIGHG1-EJ、NC-EJ 和 EJ 细胞的 IgG γ 蛋白表达量分别为 $(2.842 \pm 0.013)\%$ 、 $(18.023 \pm 0.023)\%$ 和 $(18.209 \pm 0.121)\%$,经单因素方差分析,差异有统计学意义($F = 30\,603.431$, $P = 0.000$),shIGHG1-EJ 细胞较 EJ 细胞降低($P < 0.05$);NC-EJ 细胞与 EJ 细胞比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)(见图 1C)。

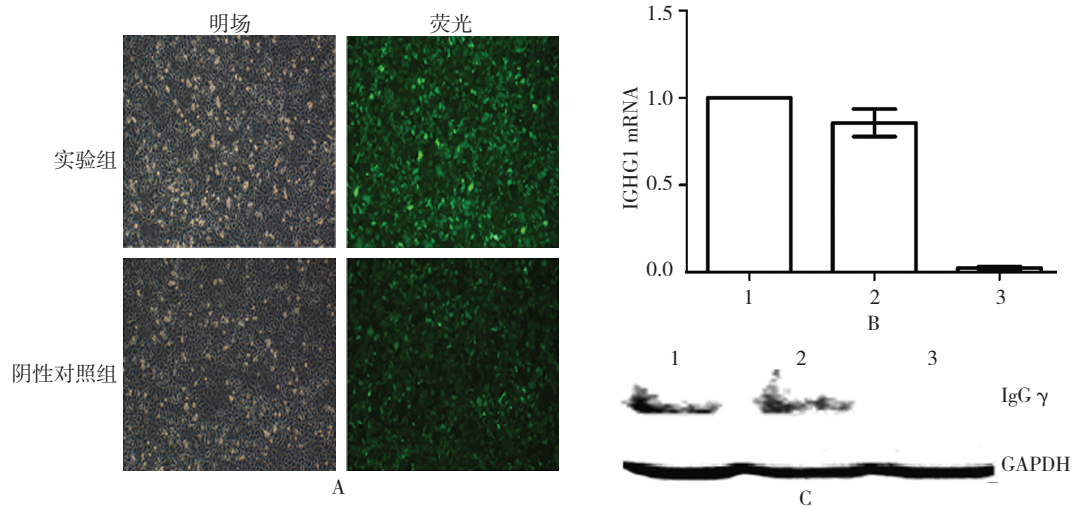
2.2 细胞增殖

比较 shIGHG1-EJ、NC-EJ 和 EJ 细胞在 0、6、12、24 和 48 h 的 OD 值, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点的 OD 值有差别 ($F=11766.959$, $P=0.000$); ②3 组的 OD 值有差别 ($F=59.646$, $P=0.000$), 实验组的 OD 值较低, 提示 shIGHG1-EJ 细胞增殖受抑制, 沉默 *IGHG1* 基因抑制细胞增殖; ③各组的 OD 值变化趋势有差别

($F=10.118$, $P=0.000$)。见表 1 和图 2。

2.3 细胞凋亡

3 组晚期凋亡率 (upper right, UR) 比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 3 组早期凋亡率 (lower right, LR) 及总凋亡率 (LR+UR) 比较, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。实验组细胞凋亡率较空白对照组高, 表现为细胞早期凋亡, 提示沉默 *IGHG1* 基因促进细胞凋亡。阴性对照组与空白对照组凋亡率比较, 差异无统



A: EJ 细胞感染 LV-IGHG1-RNAi 或 NC 慢病毒后 GFP 荧光的表达 ($\times 100$); B: shIGHG1-EJ、NC-EJ 和 EJ 细胞的 IGHG1 mRNA 相对表达量比较; C: shIGHG1-EJ、NC-EJ 和 EJ 细胞 IgG γ 的蛋白表达。1: 空白对照组; 2: 阴性对照组; 3: 实验组

图 1 稳定转染的 shIGHG1-EJ 和 NC-EJ 细胞

表 1 3 组不同时间时点 OD 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h
实验组	0.103 ± 0.003	0.146 ± 0.005	0.141 ± 0.004	0.333 ± 0.006	1.498 ± 0.047
阴性对照组	0.103 ± 0.003	0.148 ± 0.004	0.155 ± 0.006	0.340 ± 0.017	1.449 ± 0.020
空白对照组	0.102 ± 0.002	0.122 ± 0.016	0.134 ± 0.007	0.276 ± 0.006	1.285 ± 0.041

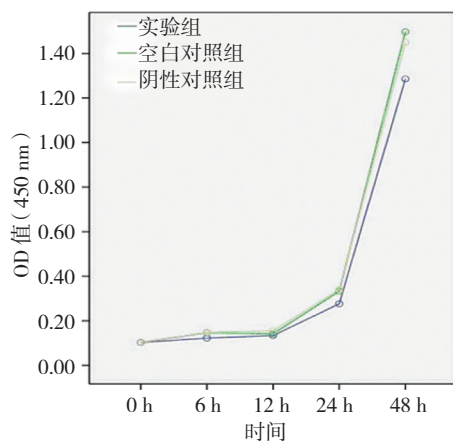


图 2 3 组不同时间点 OD 值变化趋势

计学意义 ($P>0.05$), 提示转染携带 NC 慢病毒对细胞凋亡无明显影响 (见表 2 和图 3)。Western blot 检测结果表明, 实验组出现明显的 Caspase-3 剪切片段,

表 2 3 组细胞凋亡率比较 ($\%$, $\bar{x} \pm s$)

组别	LR	UR	总凋亡率
空白对照组	2.845 ± 0.202	2.150 ± 0.328	4.995 ± 0.530
阴性对照组	2.582 ± 0.419	2.673 ± 0.540	5.245 ± 0.960
实验组	22.310 ± 0.700	2.710 ± 0.050	25.020 ± 0.750
F 值	4145.385	4.488	594.189
P 值	0.000	0.064	0.000

提示沉默 *IGHG1* 基因诱导细胞凋亡增多 (见图 4)。

2.4 细胞迁移能力

空白对照组、阴性对照组、实验组的 24 h 迁移细胞数分别为 (694 ± 14)、(683 ± 13) 和 (246 ± 65) 个, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F=120.316$, $P=$

0.000)。进一步两两比较经 LSD- t 检验, 实验组迁移细胞数仅为空白对照组的 36% ($P<0.05$), 提示沉默 *IGHG1* 基因抑制细胞迁移; 阴性对照组与空白对照组 24 h 细胞迁移数比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 提示转染携带 NC 慢病毒对细胞凋亡无明显影响。见图 5。

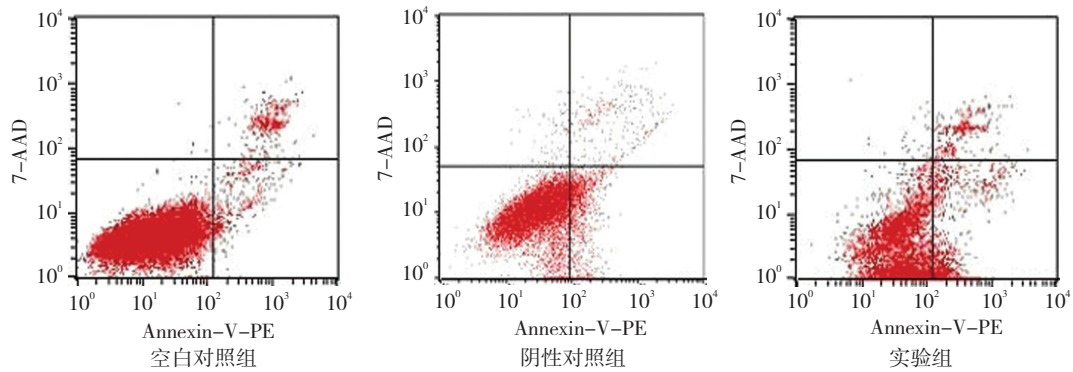


图 3 细胞凋亡情况

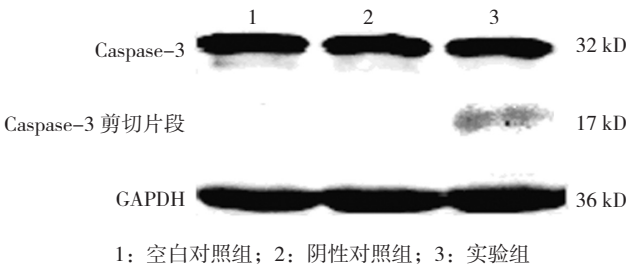


图 4 Caspase-3 和 Caspase-3 剪切片段蛋白的表达

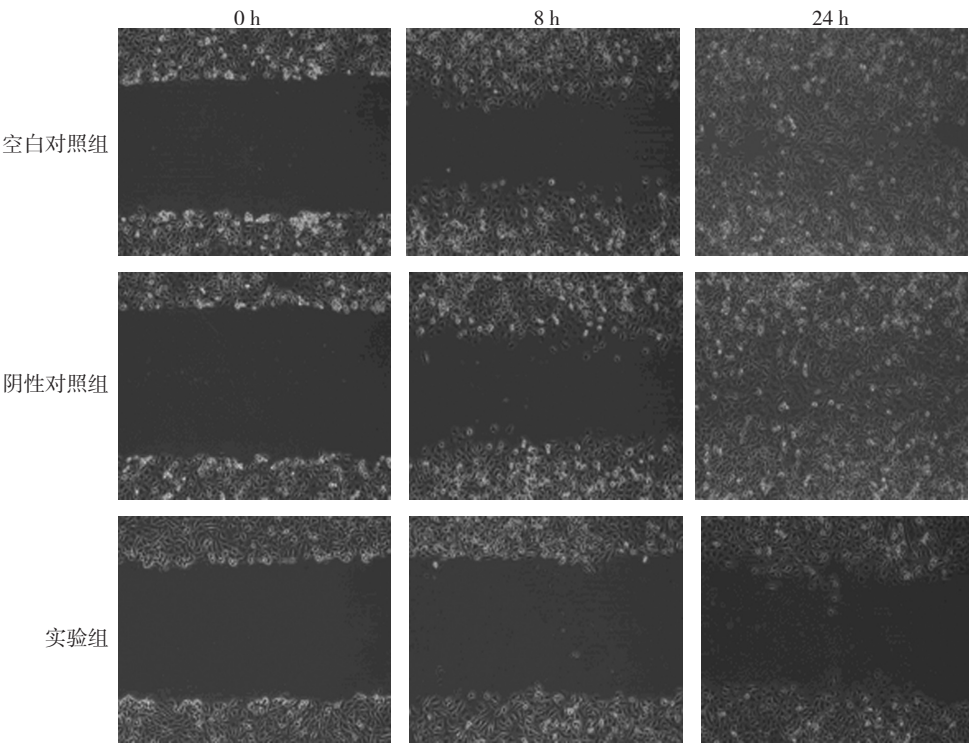


图 5 细胞迁移能力

3 讨论

最新统计调查显示,膀胱癌居我国男性肿瘤发病率的第 7 位^[8]。针对膀胱癌的诊断、治疗和特异性靶向治疗一直是热门研究。有研究表明,免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) 能表达于多种上皮来源的肿瘤细胞(肝癌、肺癌、乳腺癌和直肠癌等)及部分正常的上皮细胞(肺组织)^[7-10]。WAN 等^[11] 近期研究发现,不仅在人胰腺癌细胞中可以检测到 IgG 的表达,而且胰腺表达 IgG 还与糖尿病的发病有关;JIANG 等^[9] 在肺癌组织中也有相同发现。上述研究均表明,肿瘤来源的 IgG 对癌细胞的增殖和生长具有一定促进作用,在正常细胞中, IgG 的表达增多可能是导致疾病发生、发展的因素之一。

CHEN 等^[7] 研究发现,在多种癌细胞系中均能检测到 *IGHG1* 恒定区基因和肿瘤来源的 IgG 蛋白表达, Ig γ 1 链恒定区能被肿瘤细胞的 *IGHG1* 基因编码并表达。可以认为 *IGHG1* 编码 IgG γ 1 链恒定区与肿瘤来源 IgG 蛋白的合成有直接关系。PAN 等^[12] 研究报道,在抑制 *IGHG1* 基因后,前列腺癌细胞的增殖受抑制,同时前列腺癌细胞凋亡增加。因此,在肿瘤细胞中, *IGHG1* 编码 IgG γ 1 链恒定区,参与 IgG 蛋白的表达,从而促进肿瘤的增殖,抑制细胞凋亡。

本研究表明,针对 EJ 细胞进行 *IGHG1* 基因特异性沉默后,构建了稳定沉默 *IGHG1* 基因的 sh*IGHG1*-EJ 细胞作为实验组,以及稳定转染 NC 基因序列的 NC-EJ 细胞作为阴性对照组。另外,将未转染的膀胱癌 EJ 细胞作为空白对照组。qRT-PCR 和 Western blot 检测结果表明,sh*IGHG1*-EJ 细胞的 IgG mRNA 和蛋白表达水平低于转染 NC 的 NC-EJ 细胞和野生型 EJ 细胞株。CCK-8 法结果表明,与后 2 种细胞相比,sh*IGHG1*-EJ 细胞的 48 h 细胞增殖能力降低;细胞划痕实验表明,24 h 细胞迁移能力也降低。同时 FCM 结果表明, *IGHG1* 基因沉默后促进 EJ 细胞的凋亡,笔者通过 Caspase-3 及其剪切片段验证了细胞的凋亡。可以认为这些膀胱癌 EJ 细胞功能学的改变可能与肿瘤来源的 IgG 表达降低有关。

IgG 可以在多种细胞中检测到。在泌尿系统肿瘤中,膀胱癌组织和细胞的 IgG 表达高于正常尿路上皮组织。笔者通过针对 *IGHG1* 基因进行特异性沉默后,检测膀胱癌 EJ 细胞功能学的改变,发现肿瘤来源 IgG 表达与 EJ 细胞功能学具有明显的相关性,与细胞凋亡呈负相关,因此,笔者推测 IgG 可以成为膀胱癌

靶向治疗的一个有效靶点。针对肿瘤来源的 IgG 或 *IGHG1* 基因靶向治疗可以促进肿瘤细胞的凋亡。

在生理状态下,活化诱导胞嘧啶核苷脱氨酶(activated-induced cytidine deaminase, AID) 是一种由 B 细胞表达的诱导基因高度突变(somatic hypermutation, SHM)和免疫球蛋白基因的类别转换重组蛋白。而重组活化基因-1(recombination activating gene, RAG-1)和重组活化基因-2(RAG-2)则是免疫球蛋白进行 Ig VH 基因重排和修饰表达的重要酶,在 AID 作用的下流增强免疫系统抗体表达的多样性^[13], RAG-1 和 RAG-2 是合成 IgG 的关键酶,因此 AID 的高表达刺激 RAG-1 和 RAG-2 表达活跃,可能是导致肿瘤细胞 IgG 表达增多的因素之一。

CASCALHO^[14] 研究发现, AID 是一个与基因诱导突变相关的酶,涉及 DNA/RNA 编辑的酶,其能将胞嘧啶转化成尿嘧啶,通过修改靶基因的序列,从而产生对人体各种有利的作用和效应。生理状态下为维持内环境和遗传信息的稳定,细胞具备基因突变和修复核苷酸序列改变的体系,从而避免所谓“体细胞突变”,如 SHM,产生有害的单个核苷酸改变。但是癌细胞常由基因突变导致,同时癌细胞在转化过程中也常获得大量的体细胞突变,此时在 AID 的过度表达下,有可能会影响基因表达而产生有害的突变;肿瘤细胞中 IgG 的过表达也是其影响之一^[15]。

综上所述, AID 作为与 IgG 表达有关的上游蛋白酶,很可能是引起肿瘤细胞 IgG 表达增加和促进肿瘤发生、发展的因素之一。接下来,一方面可以针对膀胱尿路上皮癌细胞 *IGHG1* 基因抑制和细胞凋亡的相关性进行进一步研究,从膀胱癌细胞 *IGHG1* 基因沉默和化疗药物的联合应用,进一步探讨该位点在抗肿瘤治疗中的可行性。另一方面,从 AID 开始探究肿瘤细胞中 IgG 表达升高的机制,以及从下游通路探寻其可能促进肿瘤细胞生长,抑制肿瘤细胞凋亡的机制,为尿路上皮肿瘤的靶向治疗提供更多依据。

参考文献:

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2016, 66(1): 10-29.
- [2] LIANG P Y, LI H Y, ZHOU Z Y, et al. Overexpression of immunoglobulin G prompts cell proliferation and inhibits cell apoptosis in human urothelial carcinoma[J]. Tumor Biology, 2013, 34(3): 1783-1791.
- [3] SHENG Z, SHENG Z, LIU Y, et al. Involvement of cancer-derived IgG in the proliferation, migration and invasion of bladder cancer

- cells[J]. *Oncology Letters*, 2016, 12(6): 5113-5121.
- [4] 李浩勇, 梁培育, 朱孝峰, 等. 免疫球蛋白 G 在膀胱癌细胞中的表达及其抗体诱导肿瘤细胞凋亡的研究 [J]. *中国病理生理杂志*, 2007, 23(6): 1068-1073.
- [5] 梁培育, 李浩勇, 欧善际, 等. 反义 IgG 寡核苷酸诱导膀胱肿瘤细胞 T24 凋亡及其增强丝裂霉素敏感性的研究 [J]. *中华实验外科杂志*, 2008, 25(12): 1681.
- [6] 梁培育, 李浩勇, 欧善际, 等. 抗人 IgG 抗体与丝裂霉素联合应用治疗膀胱癌的实验研究 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2008, 29(12): 804-807.
- [7] CHEN Z, GU J. Immunoglobulin G expression in carcinomas and cancer cell lines[J]. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2007, 21(11): 2931-2938.
- [8] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2016, 66(2): 115-132.
- [9] JIANG C, HUANG T, WANG Y, et al. Immunoglobulin G expression in lung cancer and its effects on metastasis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): DOI: 10.1371/journal.pone.0097359.
- [10] HUANG J, SUN X, GONG X, et al. Rearrangement and expression of the immunoglobulin μ -chain gene in human myeloid cells[J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2014, 11: 94-104.
- [11] WAN X, LEI Y, LI Z, et al. Pancreatic expression of immunoglobulin G in human pancreatic cancer and associated diabetes[J]. *Pancreas*, 2015, 44(8): 1304-1313.
- [12] PAN B, ZHENG S, LIU C, et al. Suppression of *IGHG1* gene expression by siRNA leads to growth inhibition and apoptosis induction in human prostate cancer cell[J]. *Molecular Biology Reports*, 2013, 40(1): 27-33.
- [13] MAUL R W, GEARHART P J. AID and somatic hypermutation[J]. *Advances in Immunology*, 2010, 105: 159-191.
- [14] CASCALHO M. Advantages and disadvantages of cytidine deamination[J]. *Journal of Immunology*, 2004, 172(11): 6513-6518.
- [15] ZAN H, CASALI P. Regulation of Aicda expression and AID activity[J]. *Autoimmunity*, 2012, 46(2): 83-101.

(童颖丹 编辑)