



(扫描二维码查看原文)

· 论著 ·

着丝粒蛋白 F 在非小细胞肺癌组织中的表达及其对 A549 细胞生物学行为的影响研究

常彦祥¹, 孙利平², 李斌³

【摘要】 **背景** 非小细胞肺癌 (NSCLC) 占肺癌的 85% 左右, 由于易错失最佳手术切除时机, 且放化疗效果不佳, 导致生存率偏低。而着丝粒蛋白 F (CENPF) 是在多种癌症中高表达的分子, 探讨其对肺癌细胞生物学行为的影响, 将有助于 NSCLC 的靶向治疗。**目的** 探讨 CENPF 在 NSCLC 组织中的表达及其对 A549 细胞生物学行为的影响。**方法** 收集 2018 年 10 月—2019 年 10 月于西安医学院第一附属医院行外科切除手术的 26 例 NSCLC 患者的癌组织、癌旁组织标本。采用 Western blotting 法检测 NSCLC 组织、癌旁组织中 CENPF 表达水平。取生长良好的对数期 A549 细胞, 将其分为对照组、阴性对照组、CENPF 抑制组, 其中对照组 A549 细胞不进行转染处理, 阴性对照组、CENPF 抑制组 A549 细胞使用 Lipofectamine 2000 转染试剂分别转染阴性对照 (NC) - 干扰性小核糖核酸 (siRNA)、CENPF-siRNA。采用实时荧光定量聚合酶链式反应 (qPCR) 法检测三组 A549 细胞中 CENPF mRNA 表达水平, 细胞计数试剂盒 8 (CCK-8) 法检测 A549 细胞增殖情况 [吸光度 (OD) 值], 流式细胞仪检测 A549 细胞凋亡情况、A549 细胞周期, Western blotting 法检测 A549 细胞中 CENPF、细胞周期蛋白 D1 (cyclinD1)、B 淋巴细胞瘤-2 基因相关 X 蛋白 (Bax) 表达水平。**结果** NSCLC 组织中 CENPF 表达水平高于癌旁组织 ($P < 0.05$)。CENPF 抑制组 A549 细胞中 CENPF mRNA 表达水平低于对照组、阴性对照组 ($P < 0.05$)。CENPF 抑制组 A549 细胞 OD 值低于对照组、阴性对照组 ($P < 0.05$)。CENPF 抑制组 A549 细胞凋亡率高于对照组、阴性对照组 ($P < 0.05$)。CENPF 抑制组 G₀/G₁ 期 A549 细胞所占比例高于对照组、阴性对照组, S 期、G₂/M 期 A549 细胞所占比例低于对照组、阴性对照组 ($P < 0.05$)。CENPF 抑制组 A549 细胞中 CENPF、cyclinD1 表达水平低于对照组、阴性对照组, Bax 表达水平高于对照组、阴性对照组 ($P < 0.05$)。**结论** CENPF 在 NSCLC 组织中表达升高, 其可通过影响 cyclinD1、Bax 表达水平来影响 A549 细胞周期进展及增殖、凋亡过程; 下调其表达可将 A549 细胞周期阻滞于 G₀/G₁ 期, 抑制细胞增殖并诱导其凋亡。

【关键词】 癌, 非小细胞肺; 着丝粒蛋白 F; A549 细胞; 细胞增殖; 细胞凋亡; 细胞周期

【中图分类号】 R 734.2 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2021.00.060

常彦祥, 孙利平, 李斌. 着丝粒蛋白 F 在非小细胞肺癌组织中的表达及其对 A549 细胞生物学行为的影响研究 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2021, 29 (4): 68-74. [www.syxnf.net]

CHANG Y X, SUN L P, LI B. Expression of centromere protein F in non-small cell lung cancer tissues and its effect on the biological behavior of A549 cells [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2021, 29 (4): 68-74.

Expression of Centromere Protein F in Non-small Cell Lung Cancer Tissues and Its Effect on the Biological Behavior of A549 Cells CHANG Yanxiang¹, SUN Liping², LI Bin³

1. Department of Cardio-Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an 710077, China

2. Weinan Vocational & Technical College, Weinan 714026, China

3. Practice Teaching Service, Xi'an Medical University, Xi'an 710077, China

Corresponding author: LI Bin, E-mail: libinxify@163.com

【Abstract】 **Background** Non-small cell lung cancer (NSCLC) accounts for about 85% of lung cancer, with low survival rate, because it is easy to miss the best resection period and the effect of radiotherapy and chemotherapy is poor. Centromere protein F (CENPF) is a highly expressed molecule in multiple cancers, and exploring its effect on the biological behavior of lung cancer cells will contribute to NSCLC targeted therapy. **Objective** To investigate the expression of CENPF in

基金项目: 陕西省教育厅专项科研计划项目 (18JK0674) ——应用组织微阵列技术研究 CENPF 在非小细胞肺癌中的表达及其与预后的相关性

1.710077 陕西省西安市, 西安医学院第一附属医院心胸外科 2.714026 陕西省渭南市, 渭南职业技术学院 3.710077 陕西省西安市, 西安医学院实践教学处

通信作者: 李斌, E-mail: libinxify@163.com

NSCLC tissues and its effect on the biological behavior of A549 cells. **Methods** The cancer tissue and precancerous lesions of 26 NSCLC patients who underwent surgical resection in the First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University from October 2018 to October 2019 were collected. Western blotting was used to detect the expression level of CENPF in NSCLC tissues and precancerous lesions. The well-growing A549 cells in log phase were divided into control group, negative control group and CENPF inhibition group. A549 cells in the control group were not transfected, and A549 cells in the negative control group and CENPF inhibition group were transfected with NC-siRNA and CENPF-siRNA respectively with Lipofectamine 2000 transfection reagent. The expression of CENPF mRNA in A549 cells was detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qPCR), the proliferation of A549 cells [absorbance (OD) value] was detected by cell count kit 8 (CCK-8) method, the apoptosis and cell cycle of A549 cells were detected by flow cytometry, the expression levels of CENPF, cyclinD1 and B-cell lymphoma-2 associated X protein (Bax) in A549 cells were detected by Western blotting. **Results** The expression level of CENPF in the NSCLC tissue was significantly higher than those in the precancerous lesions ($P < 0.05$). Compared with the control group and the negative control group, the expression level of CENPF mRNA in A549 cells of the CENPF inhibition group was significantly lower ($P < 0.05$). The OD value of A549 cells in the CENPF inhibition group was significantly lower than that in the control group and the negative control group ($P < 0.05$). The apoptosis rate of A549 cells in the CENPF inhibition group was higher than that in the control group and the negative control group ($P < 0.05$). The proportion of A549 cells in the G_0/G_1 phase of the CENPF inhibition group was higher than that of the control group and the negative control group, and the proportion of A549 cells in the S phase and G_2/M phase was lower than that of the control group and the negative control group ($P < 0.05$). The expression levels of CENPF and cyclinD1 in A549 cells of the CENPF inhibition group were lower than those of the control group and the negative control group, and the expression levels of Bax were higher than those of the control group and the negative control group ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression of CENPF is increased in NSCLC tissues, and it can affect A549 cell cycle progression, proliferation, and apoptosis by affecting the expression levels of cyclinD1 and Bax. Down-regulating the expression of CENPF can block the A549 cell cycle in the G_0/G_1 phase, inhibit cell proliferation and induce its apoptosis.

【Key words】 Carcinoma, non-small-cell lung; Centromere protein F; A549 cells; Cell proliferation; Apoptosis; Cell cycle

肺癌是最为常见的恶性肿瘤,其发病率、死亡率居各类恶性肿瘤之首,数据显示,世界范围内每年新发肺癌患者约有180万人,占癌症总新发患者人数的12.9%,死亡患者约有160万人^[1-2]。非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)是肺癌的主要病理类型,占肺癌的85%左右^[3]。NSCLC患者早期症状多不明显,确诊时通常已发展为中晚期,错过了最佳手术切除治疗时机,且放化疗的效果不佳,毒副作用严重,生存率通常处于4%~17%^[4]。分子靶向治疗是治疗肿瘤的新手段,且寻找影响肺癌细胞生物学行为的分子标志物将有助于NSCLC的早期发现及有效治疗。着丝粒蛋白F(centromere protein F, CENPF)是丝粒蛋白家族的重要成员,在细胞有丝分裂的调控过程中起重要作用^[5]。既往研究表明,CENPF在膀胱癌、前列腺癌、乳腺癌等恶性肿瘤组织中表达升高,其沉默可抑制前列腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭过程,且与患者的不良预后密切相关^[6-8],但其对NSCLC细胞生物学行为的影响鲜有研究。本研究旨在分析CENPF在NSCLC组织中的表达水平,并探讨其对A549细胞生物学行为的影响,以期对NSCLC的靶向治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 癌组织与癌旁组织的收集 收集2018年10月—

2019年10月于西安医学院第一附属医院行外科切除手术的26例NSCLC患者的癌组织、癌旁组织标本。26例NSCLC患者中,男16例,女10例;年龄45~68岁,平均年龄(55.4±8.7)岁;鳞癌15例,腺癌11例;低分化16例,中高分化10例。所有癌组织经病理学检测为NSCLC,癌旁组织经检测无癌变。本研究通过西安医学院第一附属医院伦理委员会审核通过,并取得患者签署的知情同意书。

1.2 试剂与仪器 人NSCLC A549细胞(货号:ZY-H122)购自美国模式菌种收集中心(American type culture collection, ATCC)细胞库;胎牛血清(货号:FBS500-S)购自澳大利亚AusGeneX公司;RPMI-1640培养液(货号:LS115-001)购自上海双沓生物科技有限公司;Lipofectamine 2000转染试剂(货号:11668030)购自美国Life Technologies公司;实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR)试剂盒(货号:K1002S)购自美国Promega公司;阴性对照(negative control, NC)-干扰性小核糖核酸(small interfering RNA, siRNA)、CENPF-siRNA、CENPF、GAPDH引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成;细胞计数试剂盒8(cell counting kit-8, CCK-8)试剂(货号:CK-04)

购自日本同仁化学研究所; Annexin V-异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC) / 碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 细胞凋亡检测试剂盒 (货号: YT131) 购自北京百奥莱博科技有限公司; CENPF 抗体、细胞周期蛋白 D1 (cyclinD1) 抗体、B 淋巴细胞瘤-2 基因相关 X 蛋白 (B-cell lymphoma-2 associated X protein, Bax) 抗体、GAPDH 抗体 (货号: ab264215、ab226977、ab263897、ab181602) 购自 Abcam 公司; 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔免疫球蛋白 (immunoglobulin, Ig) G (货号: 0295G-HRP) 购自美国 Santacruz 公司; 恒温培养箱 (型号: MIR-162-PC/MIR-262-PC) 购自日本松下公司; qPCR 仪 (型号: ABI 7500) 购自美国 Applied Biosystems 公司; 酶标仪 (型号: Stat Fax-2100) 购自美国 Awareness 公司; 流式细胞仪 (型号: BD FACSCanto II) 购自美国 BD 公司。

1.3 研究方法

1.3.1 Western blotting 法检测 NSCLC 组织、癌旁组织中 CENPF 表达水平 使用 RIPA 裂解液裂解 NSCLC 组织、癌旁组织, 提取组织中总蛋白, 采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。取蛋白样本与 $6\times$ SDS 上样缓冲液混合加热变性, 采用 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 分离蛋白质, 并将其转移至聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜上, 采用 5% 脱脂奶粉封闭缓冲液 1 h, TBST 缓冲液洗涤, 加入 1 : 500 稀释的一抗 (CENPF 抗体、GAPDH 抗体), 4 °C 孵育过夜, TBST 缓冲液洗涤, 加入 1 : 3 000 稀释的二抗, 室温孵育 1 h, 化学发光法显色、显影, 拍摄图像, 分析条带灰度值, 以 GAPDH 为内参, 计算 CENPF 表达水平。实验独立重复 6 次。

1.3.2 A549 细胞培养与分组 将 A549 细胞培养于 RPMI-1640 培养基 (含 10% 胎牛血清、1% 青链霉素溶液) 中, 置于 37 °C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中培养, 2 d 换液 1 次, 根据细胞生长状态, 3~5 d 传代 1 次。取生长良好的对数期 A549 细胞, 胰酶消化后调整密度为 1×10^5 个/ml, 以 100 μ l/孔接种于 96 孔培养板中, 将其分为对照组、阴性对照组、CENPF 抑制组, 其中对照组 A549 细胞不进行转染处理, 阴性对照组、CENPF 抑制组 A549 细胞使用 Lipofectamine 2000 转染试剂分别转染 NC-siRNA、CENPF-siRNA。

1.3.3 qPCR 法检测 A549 细胞中 CENPF mRNA 表达水平 将 1.3.2 中处理后的各组细胞培养 48 h, 收集细胞, 采用 Trizol 法提取细胞总 RNA, 检测总 RNA 的纯度、浓度, 合格后将其反转录合成 cDNA, 按照 qPCR 试剂盒说明方法检测 CENPF mRNA 表达水平。反应条件: 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 5 s,

60 °C 30 s, 共循环 40 次。CENPF 上游引物为: 5'-TACAACGAGAGAGTAAGAACGC-3', 下游引物为: 5'-CTACCTCCACTGACTTACTGTG-3'; 内参 GAPDH 上游引物为: 5'-CAGAACATCATCCCTGCCTCTAC-3', 下游引物为: 5'-ATGAAGTCAGAGGAGACCACCTG-3'。实验独立重复 6 次。

1.3.4 CCK-8 法检测 A549 细胞增殖情况 将 1.3.2 中处理后的各组细胞培养 48 h, 每孔加入 CCK-8 试剂 10 μ l, 继续培养 4 h, 在酶标仪波长 450 nm 处检测吸光度 (optical density, OD) 值。实验独立重复 6 次。

1.3.5 流式细胞仪检测 A549 细胞凋亡情况 将 1.3.2 中处理后的各组细胞培养 48 h, 收集细胞, 加入 Binding Buffer 将细胞浓度调整为 1×10^6 个/ml, 然后依次加入 5 μ l Annexin V-FITC、5 μ l PI, 混匀, 室温下避光孵育 1 h, 在流式细胞仪上检测 A549 细胞凋亡率。实验独立重复 6 次。

1.3.6 流式细胞仪检测 A549 细胞周期 将 1.3.2 中处理后的各组细胞培养 48 h, 收集细胞, 采用 -20 °C 预冷的 70% 乙醇固定 1 h, 3 000 r/min 离心 10 min (离心半径 15 cm), 洗涤, 用 500 μ l RNase/PI 将细胞重悬, 避光染色 20 min, 在流式细胞仪上检测 A549 细胞周期。实验独立重复 6 次。

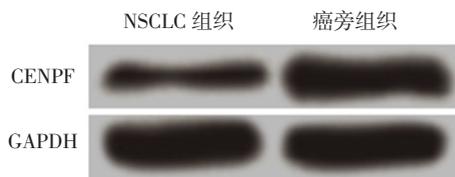
1.3.7 Western blotting 法检测 A549 细胞中 CENPF、cyclinD1、Bax 表达水平 将 1.3.2 中处理后的各组细胞培养 48 h, 使用 RIPA 裂解液裂解细胞, 提取细胞总蛋白, 采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。取适量蛋白样本变性, 10% SDS-PAGE、转膜、封闭 1 h, TBST 缓冲液洗涤, 加入 1 : 500 稀释的一抗 (CENPF 抗体、cyclinD1 抗体、Bax 抗体、GAPDH 抗体), 4 °C 孵育过夜, TBST 缓冲液洗涤, 加入 1 : 3 000 稀释的二抗, 室温孵育 1 h, 采用化学发光法显色、显影, 拍摄图像, 分析条带灰度值, 以 GAPDH 为内参, 计算 CENPF、cyclinD1、Bax 表达水平。实验独立重复 6 次。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 24.0 统计学软件进行数据处理。符合正态分布的计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 组间比较采用两独立样本 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。计数资料以绝对数表示。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NSCLC 组织与癌旁组织中 CENPF 表达水平比较 NSCLC 组织中 CENPF 表达水平为 (0.92 ± 0.09), 高于癌旁组织的 (0.43 ± 0.08), 差异有统计学意义 ($t=9.968$, $P < 0.001$), 见图 1。

2.2 三组 A549 细胞中 CENPF mRNA 表达水平比较 三组 A549 细胞中 CENPF mRNA 表达水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。其中 CENPF 抑制组 A549 细



注: NSCLC= 非小细胞肺癌, CENPF= 着丝粒蛋白 F

图 1 Western blotting 法检测 NSCLC 组织与癌旁组织中 CENPF 表达水平的 SDS-PAGE 图

Figure 1 SDS-PAGE image of CENPF expression levels in NSCLC tissues and adjacent tissues detected by Western blotting

胞中 CENPF mRNA 表达水平低于对照组、阴性对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.3 三组 A549 细胞增殖情况比较 三组 A549 细胞 OD 值比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。其中 CENPF 抑制组 A549 细胞 OD 值低于对照组、阴性对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.4 三组 A549 细胞凋亡率比较 三组 A549 细胞凋亡率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。其中 CENPF 抑制组 A549 细胞凋亡率高于对照组、阴性对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1、图 2。

2.5 三组 A549 细胞周期比较 三组 G₀/G₁ 期、S 期、G₂/M 期 A549 细胞所占比例比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。其中 CENPF 抑制组 G₀/G₁ 期 A549 细胞所占比例高于对照组、阴性对照组, S 期、G₂/M 期 A549 细胞所占比例低于对照组、阴性对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2、图 3。

2.6 三组 A549 细胞中 CENPF、cyclinD1、Bax 表达水平比较 三组 A549 细胞中 CENPF、cyclinD1、Bax 表达水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。其中 CENPF 抑制组 A549 细胞中 CENPF、cyclinD1 表达水平低于对照组、阴性对照组, Bax 表达水平高于对照组、阴性对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3、图 4。

表 1 三组 A549 细胞中 CENPF mRNA 表达水平和 A549 细胞增殖情况、凋亡率比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Comparison of CENPF mRNA expression levels in A549 cells, A549 cell proliferation and apoptosis rate in the three groups

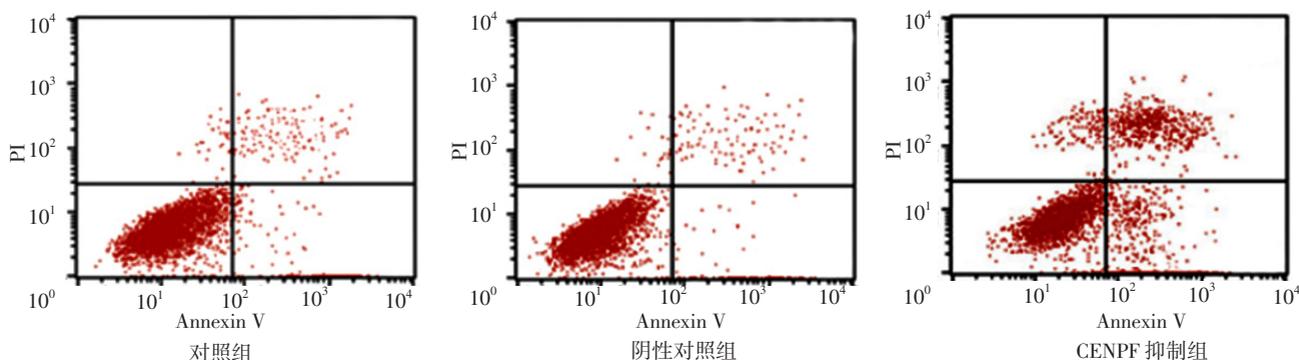
组别	CENPF mRNA	A549 细胞 OD 值	A549 细胞凋亡率 (%)
对照组	1.02 ± 0.09	0.52 ± 0.07	7.86 ± 0.85
阴性对照组	1.03 ± 0.09	0.50 ± 0.06	8.14 ± 0.93
CENPF 抑制组	0.65 ± 0.06 ^{ab}	0.33 ± 0.04 ^{ab}	26.55 ± 1.07 ^{ab}
F 值	42.636	19.426	755.762
P 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: CENPF= 着丝粒蛋白 F, OD= 吸光度; 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与阴性对照组比较, ^b $P < 0.05$

3 讨论

NSCLC 是肺癌的常见类型, 占肺癌总数的 85%, 发病率、死亡率均较高, 化疗耐受能力、侵袭能力、迁移能力较其他类型肺癌强, 通常采用以放化疗为主的综合治疗方式, 但易产生耐药性, 有效率低, 毒副作用大, 严重影响患者的生命健康^[9]。近年来, 靶向治疗在癌症治疗中发挥着重要作用, 因而明确与 NSCLC 发生发展及细胞生物学行为有关的关键分子, 开发相关靶向药物, 对 NSCLC 的早期诊断和治疗具有重要意义^[10-11]。细胞的增殖、凋亡等生物学过程均与细胞周期密不可分^[12]。CENPF 与染色体排列、分离及纺锤体组装有关, 通过调控细胞分裂的重要原件——着丝粒影响细胞周期, 在机体细胞分裂过程中发挥重要作用^[6]。本研究分析 CENPF 在 NSCLC 组织中的表达水平及其对 A549 细胞增殖、凋亡等生物学行为的影响, 以期开发 NSCLC 靶向药物提供理论参考。

近年来研究表明, CENPF 在多种恶性肿瘤的发生、发展过程中均发挥重要作用^[13-14]。本研究结果显示, NSCLC 组织中 CENPF 表达水平高于癌旁组织, 提示 CENPF 可能参与 NSCLC 的发生发展。CENPF 抑制组 A549 细胞中 CENPF mRNA 表达水平低于对照组、阴性对照组, 提示本研究使用 siRNA 成功下调了 CENPF 在



注: PI= 碘化丙啶

图 2 三组 A549 细胞凋亡情况的流式细胞仪检测结果

Figure 2 Flow cytometry test results of A549 cell apoptosis in the three groups

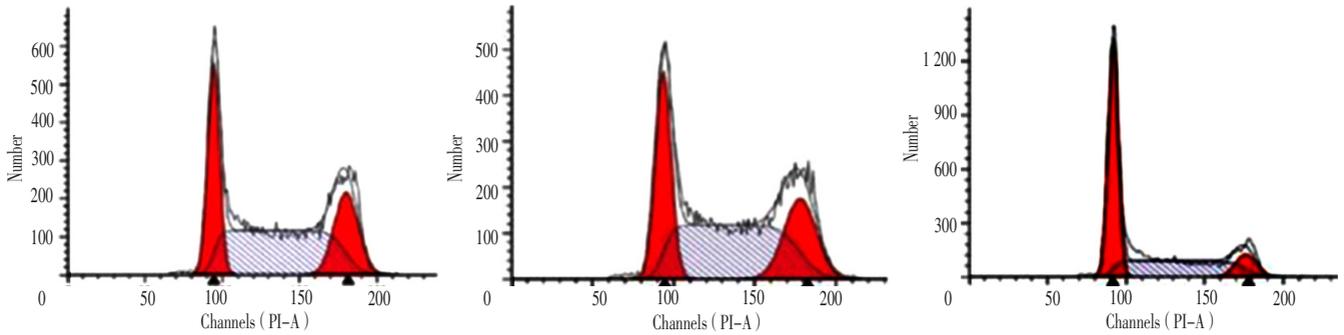


图3 三组 A549 细胞周期的流式细胞仪检测结果
Figure 3 Flow cytometry test results of A549 cell cycles in the three groups

表 2 三组 A549 细胞周期比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$, %)

Table 2 Comparison of A549 cell cycles in the three groups

组别	G ₀ /G ₁ 期	S 期	G ₂ /M 期
对照组	28.43 ± 3.58	50.31 ± 3.55	22.09 ± 1.77
阴性对照组	28.76 ± 3.17	49.24 ± 3.18	23.14 ± 1.84
CENPF 抑制组	52.17 ± 3.45 ^{ab}	35.72 ± 3.66 ^{ab}	12.25 ± 1.14 ^{ab}
F 值	95.927	32.966	83.084
P 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001

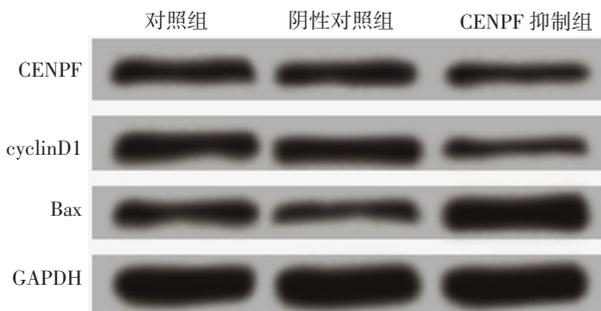
注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与阴性对照组比较, ^b $P < 0.05$

表 3 三组 A549 细胞中 CENPF、cyclinD1、Bax 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 3 Comparison of CENPF, cyclinD1, Bax expression levels in A549 cells in the three groups

组别	CENPF	cyclinD1	Bax
对照组	0.46 ± 0.08	0.69 ± 0.09	0.39 ± 0.04
阴性对照组	0.49 ± 0.08	0.72 ± 0.08	0.35 ± 0.04
CENPF 抑制组	0.37 ± 0.05 ^{ab}	0.27 ± 0.04 ^{ab}	0.88 ± 0.08 ^{ab}
F 值	9.686	70.770	163.313
P 值	0.002	< 0.001	< 0.001

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与阴性对照组比较, ^b $P < 0.05$; cyclinD1= 细胞周期蛋白 D1, Bax=B 淋巴瘤细胞瘤 -2 基因相关 X 蛋白



注: cyclinD1= 细胞周期蛋白 D1, Bax=B 淋巴瘤细胞瘤 -2 基因相关 X 蛋白

图 4 Western blotting 法三组 A549 细胞中 CENPF、cyclinD1、Bax 表达水平的 SDS-PAGE 图

Figure 4 SDS-PAGE image of CENPF, cyclinD1, Bax expression levels in A549 cells of the three groups detected by Western blotting

A549 细胞中的表达。CENPF 抑制组 A549 细胞 OD 值低于对照组、阴性对照组, CENPF 抑制组 A549 细胞凋亡率高于对照组、阴性对照组, 提示下调 CENPF 表达会降低 A549 细胞 OD 值, 并提升其凋亡率, 说明 CENPF 与 A549 细胞的增殖、凋亡过程有关。李潇瑾等^[5]研究亦表明, 肝癌细胞和肝癌组织中 CENPF 表达水平均明显升高, 下调 CENPF 表达水平可降低肝癌细胞的增殖、迁移能力及存活率, 并降低细胞增殖、细胞周期相关蛋白的表达水平。CHEN 等^[15]研究发现, CENPF 在喉鳞状细胞癌中表达水平升高并与肿瘤分化有关。SHAHID 等^[16]研究发现, CENPF 的沉默可抑制癌细胞增殖、转移, 在前列腺癌细胞代谢紊乱中发挥作用。SUN 等^[17]研究表明, CENPF 过表达与乳腺癌患者预后不良及肿瘤骨转移有关。王建松等^[18]研究发现, CENPF 在肺腺癌组织及细胞系中高表达, 与患者的恶性病理特征及不良预后密切相关, 在肺腺癌发生、发展过程中起重要作用。CENPF 可在细胞周期中发挥作用, 本研究结果显示, CENPF 抑制组 G₀/G₁ 期 A549 细胞所占比例高于对照组、阴性对照组, S 期、G₂/M 期 A549 细胞所占比例低于对照组、阴性对照组, 提示下调 CENPF 表达会提高 G₀/G₁ 期 A549 细胞所占比例, 并降低 S 期、G₂/M 期 A549 细胞所占比例, 说明 CENPF 可能在细胞 G₀/G₁ 期发挥作用, 降低其表达后, 可将 A549 细胞阻滞于 G₀/G₁ 期, 导致细胞增殖过程受阻, 并导致细胞凋亡。

Bax 是凋亡调节基因 Bcl-2 家族的重要成员, 可发挥促进细胞凋亡的作用, 在癌症中表达水平降低, 上调其表达水平可诱导癌细胞凋亡^[19]。cyclinD1 是细胞周期中 G₁ 期向 S 期进展的重要调控因子, 在癌症中表达水平升高, 与癌细胞强大的增殖能力有关, 下调其表达水平可抑制癌细胞的增殖过程^[20]。本研究结果显示, CENPF 抑制组 A549 细胞中 CENPF、cyclinD1 表达水平低于对照组、阴性对照组, Bax 表达水平高于对照组、阴性对照组, 提示下调 CENPF 表达会降低 A549 细胞中 cyclinD1 表达水平, 提高 Bax 表达水平, 说明 CENPF 可通过影响 cyclinD1、Bax 表达水平来影响细胞周期进

展及 A549 细胞的增殖、凋亡过程。

综上所述, CENPF 在 NSCLC 组织中表达升高, 其可通过影响 cyclinD1、Bax 表达水平来影响 A549 细胞周期进展及增殖、凋亡过程; 下调其表达可将 A549 细胞周期阻滞于 G₀/G₁ 期, 抑制细胞增殖并诱导其凋亡, 这有可能成为 NSCLC 治疗的新靶点。然而体外培养并不能完全模拟体内环境, 下一步还需在动物模型中加以验证本研究结论。

作者贡献: 常彦祥进行文章的构思、设计与可行性分析, 文献收集, 论文撰写; 孙利平进行数据收集、整理、分析; 李斌负责论文修订及文章的质量控制、审校, 并对文章整体负责、监督管理。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] RADZISZEWSKA A, KARCZMAREK-BOROWSKA B, GRADALSKA-LAMPART M, et al. Epidemiology, prevention and risk morbidity factors for lung cancer [J]. *Pol Merkur Lekarski*, 2015, 38 (224): 113-118.
- [2] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65 (2): 87-108. DOI: 10.3322/caac.21262.
- [3] ZHENG M. Classification and pathology of lung cancer [J]. *Surg Oncol Clin N Am*, 2016, 25 (3): 447-468. DOI: 10.1016/j.soc.2016.02.003.
- [4] HIRSCH F R, SCAGLIOTTI G V, MULSHINE J L, et al. Lung cancer: current therapies and new targeted treatments [J]. *Lancet*, 2017, 389 (10066): 299-311. DOI: 10.1016/S0140-6736 (16) 30958-8.
- [5] 李潇瑾, 徐安健, 周东虎, 等. 着丝粒蛋白 F 在肝癌中的表达和对肝癌细胞生物学行为的影响 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2018, 17 (19): 2017-2021. DOI: 10.3969/j.issn.1671-4695.2018.19.001.
LI X J, XU A J, ZHOU D H, et al. Expression of centromere protein F in hepatocellular carcinoma and its role on biological behavior of hepatocellular carcinoma cells [J]. *Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2018, 17 (19): 2017-2021. DOI: 10.3969/j.issn.1671-4695.2018.19.001.
- [6] 晏鑫, 郭梓鑫, 袁佳仪, 等. 使用 GEO 数据集分析 CENPF 在膀胱癌中的表达及临床意义 [J]. *现代泌尿生殖肿瘤杂志*, 2017, 9 (6): 338-342. DOI: 10.3870/j.issn.1674-4624.2017.06.005.
YAN X, GUO Z X, YUAN J Y, et al. Analysis of clinical significance of expression of centromere protein F in bladder cancer utilizing GEO datasets [J]. *Journal of Contemporary Urologic and Reproductive Oncology*, 2017, 9 (6): 338-342. DOI: 10.3870/j.issn.1674-4624.2017.06.005.
- [7] SHAHID M, LEE M Y, PIPLANI H, et al. Centromere protein F (CENPF), a microtubule binding protein, modulates cancer metabolism by regulating pyruvate kinase M2 phosphorylation signaling [J]. *Cell Cycle*, 2018, 17 (24): 2802-2818. DOI: 10.1080/15384101.2018.1557496.
- [8] CHEN Q, XU H, ZHU J, et al. LncRNA MCM3AP-AS1 promotes breast cancer progression via modulating miR-28-5p/CENPF axis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 128: 110289. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110289.
- [9] 赵华宇, 刘彦辉, 路晓臻, 等. 维库溴铵对人非小细胞肺癌 A549 细胞株增殖和转移能力影响 [J]. *中国公共卫生*, 2019, 35 (7): 842-846. DOI: 10.11847/zgggws1121509.
ZHAO H Y, LIU Y H, LU X C, et al. Effects of vecuronium bromide on proliferation and metastasis of human non-small cell lung cancer A549 cell line [J]. *Chinese Journal of Public Health*, 2019, 35 (7): 842-846. DOI: 10.11847/zgggws1121509.
- [10] 尚聪聪, 张力. 肺癌新靶向治疗进展 [J]. *中华内科杂志*, 2017, 56 (6): 447-449. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2017.06.013.
- [11] SHROFF G S, DE GROOT P M, PAPANIMITRAKOPOULOU V A, et al. Targeted therapy and immunotherapy in the treatment of non-small cell lung cancer [J]. *Radiol Clin North Am*, 2018, 56 (3): 485-495. DOI: 10.1016/j.rcl.2018.01.012.
- [12] BAI Y F, CUI X B, GAO D X, et al. Golgi integral membrane protein 4 manipulates cellular proliferation, apoptosis, and cell cycle in human head and neck cancer [J]. *Biosci Rep*, 2018, 38 (4): BSR20180454. DOI: 10.1042/BSR20180454.
- [13] CHEN E B, QIN X, PENG K, et al. HnRNPR-CCNB1/CENPF axis contributes to gastric cancer proliferation and metastasis [J]. *Aging: Albany NY*, 2019, 11 (18): 7473-7491. DOI: 10.18632/aging.102254.
- [14] FARRAN S, RUGGERO K, MARTÍNEZ A, et al. Role of FOXM1, CENPF and PARP inhibition in prostate cancer [J]. *Eur Urol Suppl*, 2018, 17 (2): e367. DOI: 10.1016/S1569-9056 (18) 31108-4.
- [15] CHEN W, CUI Q B, ZHANG Q, et al. Centromere protein F (CENPF) is upregulated and related to tumor differentiation in laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Transl Cancer Res*, 2017, 6 (5): 920-928. DOI: 10.21037/tcr.2017.08.39.
- [16] SHAHID M, KIM M, LEE M Y, et al. Downregulation of CENPF remodels prostate cancer cells and alters cellular metabolism [J]. *Proteomics*, 2019, 19 (11): e1900038. DOI: 10.1002/pmic.201900038.
- [17] SUN J, HUANG J, LAN J, et al. Overexpression of CENPF correlates with poor prognosis and tumor bone metastasis in breast cancer [J]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19: 264. DOI: 10.1186/s12935-019-0986-8.
- [18] 王建松, 王卫敏, 蒋仲敏. 着丝粒蛋白 F mRNA 在肺腺癌细胞系、肺腺癌组织中的表达变化及相关调控信号通路分析 [J]. *山东医药*, 2019, 59 (6): 21-25. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2019.06.006.



(扫描二维码查看原文)

· 论著 ·

原发性高血压病合并亚临床靶器官损伤患者血压昼夜节律特点及短期血压变异性与亚临床靶器官损伤的关系研究

王亚娟, 詹小娜, 富丽娟, 张明明, 徐世莹, 高蕾

【摘要】 背景 近年国外大量研究显示, 高血压患者正常血压昼夜节律的消失及短期血压变异性 (BPV) 增高与靶器官损伤 (TOD)、不良心血管预后密切相关, 而国内相似研究较少。目的 探讨原发性高血压病合并亚临床 TOD 患者血压昼夜节律特点及短期 BPV 与亚临床 TOD 的关系。方法 本研究为横断面研究。选取 2017 年 1 月—2018 年 1 月在北京市垂杨柳医院心内科住院的原发性高血压病患者 212 例为研究对象, 按照患者是否合并亚临床 TOD 将其分为合并亚临床 TOD 组 112 例和未合并亚临床 TOD 组 100 例。比较两组患者一般资料、血压、亚临床 TOD 相关指标、血压昼夜节律、短期 BPV 参数。采用多因素 Logistic 回归分析探讨原发性高血压病患者合并亚临床 TOD 的影响因素。结果 合并亚临床 TOD 组患者 24 h 平均收缩压 (SBP)、日间平均 SBP、夜间平均 SBP、左心室质量指数 (LVMI)、尿微量白蛋白与尿肌酐比值高于未合并亚临床 TOD 组, 估算肾小球滤过率 (eGFR) 低于未合并亚临床 TOD 组, 颈-股动脉脉搏波传导速度 (cf-PWV) 快于未合并亚临床 TOD 组 ($P < 0.05$)。合并亚临床 TOD 组患者表现为非勺型血压模式, 未合并亚临床 TOD 组患者表现为勺型血压模式。合并亚临床 TOD 组患者夜间 SBP 下降率低于未合并亚临床 TOD 组 ($P < 0.05$)。合并亚临床 TOD 组患者 24 h SBP 标准差 (SD)、日间 SBP SD、夜间 SBP SD、24 h SBP 变异系数 (CV)、日间 SBP CV、SBP 加权标准差 (WSD)、SBP 实际变异均值 (ARV) 大于未合并亚临床 TOD 组 ($P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示, 24 h 平均 SBP [$OR=1.129, 95\%CI(1.049, 1.215)$]、日间平均 SBP [$OR=0.854, 95\%CI(0.783, 0.931)$]、夜间 SBP 下降率 [$OR=0.663, 95\%CI(0.493, 0.891)$] 是原发性高血压病患者合并亚临床 TOD 的影响因素 ($P < 0.05$)。结论 原发性高血压病合并亚临床 TOD 患者的 24 h 血压昼夜节律受损, 同时伴有短期 BPV 增高; 本研究尚未发现原发性高血压病患者短期 BPV 与其合并亚临床 TOD 有关。

【关键词】 高血压; 靶器官损伤; 血压昼夜节律; 血压变异性

【中图分类号】 R 544.1 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2021.00.061

王亚娟, 詹小娜, 富丽娟, 等. 原发性高血压病合并亚临床靶器官损伤患者血压昼夜节律特点及短期血压变异性与亚临床靶器官损伤的关系研究 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2021, 29 (4): 74-79. [www.syxnf.net]

WANG Y J, ZHAN X N, FU L J, et al. Characteristics of blood pressure circadian rhythm in patients with essential hypertension and subclinical target organ damage and the relationship between short-term blood pressure variability and subclinical target organ damage [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2021, 29 (4): 74-79.

100022 北京市垂杨柳医院心内科

通信作者: 詹小娜, E-mail: zxns1974@163.com

WANG J S, WANG W M, JIANG Z M. Expression and regulatory signaling pathway analysis of centromere protein F mRNA in lung adenocarcinoma cell lines and lung adenocarcinoma tissues [J]. Shandong Medical Journal, 2019, 59 (6): 21-25. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2019.06.006.

[19] PAN Y, YE C L, TIAN Q S, et al. miR-145 suppresses the proliferation, invasion and migration of NSCLC cells by regulating the BAX/BCL-2 ratio and the caspase-3 cascade [J]. Oncol Lett,

2018, 15 (4): 4337-4343. DOI: 10.3892/ol.2018.7863.

[20] JI Z P, QIANG L, ZHANG J L. Transcription activated p73-modulated cyclin D1 expression leads to doxorubicin resistance in gastric cancer [J]. Exp Ther Med, 2018, 15 (2): 1831-1838. DOI: 10.3892/etm.2017.5642.

(收稿日期: 2020-12-28; 修回日期: 2021-02-07)

(本文编辑: 崔丽红)