

其对胃癌 MKN28 细胞增殖的抑制作用[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(12): 1209-1212.

[2] Saito Y, Liang G, Egger G, et al. Specific activation of microRNA-127 with downregulation of the proto-oncogene BCL6 by chromatin-modifying drugs in human cancer cells[J]. *Cancer Cell*, 2006, 9(6): 435-443.

[3] 孙洁, 谭亚敏, 黄河, 等. 白血病细胞中端粒酶抑制因子 Pinx1 的表达与端粒酶活性关系的研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2006, 22(9): 1725-1728.

[4] Niki T, Iba S, Tokunou M, et al. Expression of vascular endothelial growth factors A, B, C, and D and their relationships to lymph node status in lung adenocarcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(6): 2431-2439.

[5] 陈陵, 王宗华, 宋航, 等. 微小 RNA-29a 对人胃癌细胞裸鼠移植瘤

生长的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2014, 31(3): 474-476.

[6] 李学成, 卢斌, 王宗华, 等. 胃癌组织内 miR-29a 与 VEGF-A 表达的相关性研究[J]. *肿瘤学杂志*, 2013, 19(1): 38-41.

[7] Chen L, Xiao H, Wang ZH, et al. miR-29a suppresses growth and invasion of gastric cancer cells *in vitro* by targeting VEGF-A[J]. *BMB Rep*, 2014, 47(1): 39-44.

[8] Lai XF, Shen CX, Wen Z, et al. PinX1 regulation of telomerase activity and apoptosis in nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2012, 31: 12.

[9] Li Y, Li M, Yao G, et al. Telomerase inhibition strategies by siRNAs against either hTR or hTERT in oral squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Gene Ther*, 2011, 18(5): 318-325.

(收稿日期: 2014-11-11)

## B 细胞易位基因 1 在乳腺癌组织的表达

孙国贵 盛树海 杨从容 张钧 程云杰

近年研究表明, B 细胞易位基因 1(BTG1) 在某些肿瘤中表现出的生物学和遗传学特征具有肿瘤抑癌基因的特性<sup>[1]</sup>。本研究旨在观察 BTG1 在乳腺癌中的表达。

### 一、资料与方法

1. 一般资料: 收集 72 例新鲜女性乳腺癌组织标本, 并收集 36 例距肿瘤边缘 2 cm 以上的正常乳腺癌旁组织作为对照。

2. 免疫组织化学、Western blot 及实时定量反转录聚合酶链反应(RT-qPCR): 使用即用型免疫组织化学检测试剂盒检测 BTG1 的表达。Western blot 分析 RIPA 裂解液提取组织蛋白, 以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH) 为内参校正相对蛋白表达量。RT-qPCR: RNA 提取试剂盒提取总 RNA, 一步法逆转为 cDNA。SYBR Green 行荧光定量 PCR, ΔCt 法分析数据。

3. 建立 BTG1 过量表达的细胞株: 采用慢病毒转染方法构建 pLenti6/MCF-7、pLenti6-BTG1/MCF-7 细胞稳定转染株, 分别命名为 LeEmpty 细胞、LeBTG1 细胞。

4. 噻唑蓝(MTT)、细胞凋亡及 Transwell 细胞迁移实验: 采用细胞增殖实验、细胞凋亡实验及 Transwell 细胞迁移实验检测 BTG1 转染后乳腺癌 MCF-7 细胞增殖、凋亡及侵袭转移的变化。

5. 统计学方法: 应用 SPSS 16.0 统计软件分析, 数据以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。采用  $\chi^2$  检验、方差分析、t 检验及 Spearman 相关分析。各实验均重复 3 次, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 二、结果

1. BTG1 在乳腺癌组织中的表达: BTG1 主要定位于细胞质, 阳性表达表现主要为染成浅黄色、黄褐色或棕黄色。BTG1 在乳腺癌组织、正常乳腺组织的阳性表达率分别为 34.7% (25/72) 及 80.6% (29/36), 两组之间比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。Western blot 结果显示: BTG1 蛋白在乳腺癌组织的

表达量低于正常乳腺组织, 两组之间比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。临床因素分析表明: BTG1 蛋白在乳腺癌 T 分期、有无淋巴结转移、临床分期及组织分级中的表达差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

2. 稳定转染乳腺癌细胞中 BTG1 过量表达的鉴定: RT-qPCR 结果显示, BTG1 mRNA 及蛋白在 LeEmpty 细胞中的相对表达量低于在 LeBTG1 细胞中的相对表达量, 两者比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

3. BTG1 转染对 MCF-7 细胞株增殖、凋亡、侵袭的影响: MTT 检测结果表明, 与 LeEmpty 细胞的细胞存活率比较, LeBTG1 细胞的存活率下降, 两组细胞存活率在各时间点之间比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。细胞凋亡及 Transwell 结果结果表明, LeEmpty 早期细胞的凋亡数、穿膜数明显低于 LeBTG1 细胞差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

4. BTG1 转染对 B 淋巴细胞瘤-2 基因(bcl-2)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)蛋白表达的影响: Western blot 结果显示, BTG1 转染后, LeEmpty 细胞中 bcl-2、MMP-9 蛋白表达的相对量明显低于 LeBTG1 细胞, 两者比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

### 三、讨论

乳腺癌的形成和发展过程中, 肿瘤细胞的异常增殖常为主要因素, 正常情况下应该凋亡的细胞继续存活, 呈现恶性生长行为<sup>[2]</sup>。本研究结果显示, 乳腺癌组织中 BTG1 的蛋白表达水平明显降低, 且与乳腺癌淋巴结转移、临床分期及细胞分化有关。BTG1 可能通过调控 bcl-2、MMP-9 蛋白表达参与乳腺癌细胞增殖、凋亡、侵袭转移这一生物学过程。

### 参 考 文 献

[1] Cortes U, Moyret-Lalle C, Falette N, et al. BTG gene expression in the p53-dependent and-independent cellular response to DNA damage [J]. *Mol Carcinog*, 2000, 27(2): 57-64.

[2] Sun GG, Lu YF, Cheng YJ, et al. The expression of BTG1 is downregulated in NSCLC and possibly associated with tumor metastasis [J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(4): 2949-2957.

(收稿日期: 2014-12-10)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2015.05.095

作者单位: 063000 唐山市人民医院放化疗科(孙国贵), 乳腺外科(盛树海); 河北医科大学第四医院放疗科(杨从容、张钧、程云杰)

通信作者: 孙国贵, Email: guogui\_sun2013@163.com