

· 基础研究 ·

SPAG5通过影响JAK2/STAT3信号通路磷酸化促进乳腺癌细胞的增殖和侵袭

鲍 军¹,焦德松¹,周 杨²,蒋宾宾¹,程羽青²,周晓莉^{2*}¹温岭市中医院普外二科,浙江 温岭 317500;²南京医科大学附属常州第二人民医院病理科,江苏 常州 213000

[摘要] 目的:探究人类精子相关抗原5(sperm-associated antigen 5, SPAG5)对乳腺癌细胞增殖和侵袭的影响及分子机制。方法:采用qRT-PCR和Western blot筛选相应SPAG5高表达细胞株和低表达细胞株;分别设计并构建重组SPAG5敲减/过表达质粒(siRNA-SPAG5/OE-SPAG5),通过慢病毒表达质粒系统,制备敲减/过表达SPAG5的稳定细胞株;采用CCK-8增殖实验和裸鼠成瘤实验,检测乳腺癌细胞增殖能力的变化;采用细胞划痕实验、Transwell细胞实验检测乳腺癌细胞迁移、侵袭能力的变化;采用qRT-PCR和Western blot检测JAK2/STAT3通路和下游蛋白的变化;采用WP1066抑制JAK2/STAT3通路,检测细胞增殖和侵袭能力的变化。结果:相较于各自对照组,SPAG5敲减的si1-MDA-MB-231组细胞SPAG5 mRNA和蛋白水平显著降低,SPAG5过表达的OE-MCF-12A组细胞SPAG5 mRNA和蛋白水平显著升高($P < 0.05$);同时,si1-MDA-MB-231组细胞的增殖、迁移、侵袭能力受到抑制,OE-MCF-12A组细胞得到增强($P < 0.05$);si1-MDA-MB-231组细胞的JAK2/STAT3通路磷酸化水平和下游蛋白表达受抑制($P < 0.05$),OE-MCF-12A组细胞的JAK2/STAT3通路磷酸化水平和下游蛋白表达水平提高($P < 0.05$);抑制JAK2/STAT3通路后SPAG5对乳腺癌细胞增殖和侵袭的促进作用消失($P < 0.05$)。结论:SPAG5通过JAK2/STAT3信号通路增强乳腺癌细胞的增殖和侵袭能力。

[关键词] SPAG5;乳腺癌;增殖;侵袭;JAK2/STAT3**[中图分类号]** R737.9**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2020)04-502-08**doi:** 10.7655/NYDXBNS20200408

SPAG5 promotes the proliferation and invasion of breast cancer cells through affecting the phosphorylation of JAK2/STAT3 signaling pathway

BAO Jun¹, JIAO Desong¹, ZHOU Yang², JIANG Binbin¹, CHENG Yuqin², ZHOU Xiaoli^{2*}¹Second Department of General Surgery, Wenling Hospital of Chinese Medicine, Wenling 317500; ²Department of Pathology, the Second Hospital of Changzhou Affiliated to Nanjing Medical University, Changzhou 213000, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of human sperm-associated antigen 5 (SPAG5) on proliferation and invasion of breast cancer cells and its molecular mechanism. **Methods:** The recombinant SPAG5 knockdown/overexpression plasmids siRNA-SPAG5/OE-SPAG5 were designed and constructed respectively transfected with the lentivirus transfection system to prepare stable cell lines. CCK-8 proliferation assay and nude mouse transplantation tumor experiment were used to detect the proliferation of breast cancer cells. Transwell experiment was used to detect the migration and invasion ability of breast cancer cells. Changes of JAK2/STAT3 pathway and downstream proteins were detected by qRT-PCR and Western blot. The JAK2/STAT3 pathway was inhibited by WP1066 to detect changes in cell proliferation and invasion. **Results:** The mRNA and protein levels of the SPAG5 in the si1-MDA-MB-231 group were significantly lower than those in the control group, and the mRNA and protein levels of the SPAG5 in the OE-MCF-12A were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). Compared with the control group, the proliferation, migration and invasion ability of the si1-MDA-MB-231 group was inhibited, while these abilities in the OE-MCF-12A group were enhanced ($P < 0.05$). Phosphorylation level and downstream protein expression level of JAK2/STAT3 pathway in si1-MDA-MB-231 group were inhibited ($P < 0.05$), while phosphorylation level and downstream protein expression level of JAK2/STAT3 pathway in OE-MCF-12A

[基金项目] 常州市卫生健康委青年人才科技项目(QN201935);南京医科大学科技发展基金(NMUB2019313)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: zhouxiaoli2000@163.com

group were increased ($P < 0.05$). **Conclusion:** SPAG5 promotes the proliferation and invasion of breast cancer cells through the JAK2/STAT3 signaling pathway

[Key words] SPAG5; breast cancer; proliferation; invasion; JAK2/STAT3

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(04): 502-508, 562]

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤,2018年全球约有200万新发病例和62.6万死亡病例^[1]。在中国,乳腺癌也是一个严重的公共卫生问题,每年新增乳腺癌患者超过30万^[2]。目前临床主要根据免疫组化及荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)检测的雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)、c-erbB2基因(HER-2)和增生细胞核抗原(Ki-67)的结果来对乳腺癌进行分子分型的诊断,尚缺乏新的肿瘤增殖相关标志物,因此有必要寻找新的肿瘤增殖相关标志物,研究其在乳腺癌侵袭转移中的作用机制,以用于乳腺癌分子分型、预后判断及临床治疗。癌睾抗原在正常组织中仅表达于生殖细胞和滋养层细胞,是极具研究价值的一类肿瘤相关抗原^[3]。作为癌睾抗原家族的一员,精子相关抗原5(sperm-associated antigen 5, SPAG5)在有丝分裂过程中与纺锤体相关,与细胞增殖活性关系密切^[4]。SPAG5基因在10%~19%的乳腺癌患者中有扩增,其转录水平和蛋白表达水平的升高与乳腺癌10年特异性生存率降低有相关性^[5]。在课题组前期研究中,已证实SPAG5可以用作乳腺癌预后的标志物^[6]。本研究通过慢病毒转染敲减/过表达乳腺癌细胞中SPAG5,观察SPAG5对乳腺癌增殖、迁移、侵袭等生物学行为的影响,并探究其分子机制,为乳腺癌患者的预后和治疗提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

人乳腺癌细胞株 MCF-12A、BT20、MDA-MB-231、BT549、MDA-MB-453、MCF-7 和 293T 细胞购自上海中科院细胞库。BALB/c Nude 免疫缺陷小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物实验过程符合南京医科大学动物实验中心伦理要求。psi-U6.1 载体(广州复能基因有限公司);RPMI 1640 培养基、青霉素/链霉素双抗、胎牛血清、嘌呤霉素、TRIzol 试剂、SuperScript IV First-Strand 试剂盒、SYBR 荧光定量 PCR 试剂盒、RIPA 裂解液(Thermo 公司,美国);BCA 蛋白检测试剂盒、结晶紫溶液(杭

州碧云天生物公司);兔抗人 SPAG5 单克隆抗体、兔抗人细胞周期素 D1(CCND1)单克隆抗体、兔抗人生存素(Survivin)单克隆抗体、兔抗人基质金属蛋白酶 2(MMP2)单克隆抗体、兔抗人血管内皮生长因子(VEGF)单克隆抗体、兔抗人 JAK2 单克隆抗体、兔抗人 p-JAK2 单克隆抗体、兔抗人 STAT3 单克隆抗体、兔抗人 p-STAT3 单克隆抗体、兔抗人 β -actin 单克隆抗体、HRP 标记的羊抗兔 IgG 抗体(Abcam 公司,英国);DH5 α 化学感受态细胞(南京诺唯赞公司);Lenti-Pac 慢病毒包装试剂盒(GeneCopoeia 公司,美国);CCK-8 试剂盒(同仁公司,日本);Matrigel 基质胶(BD 公司,美国);JAK2/STAT3 抑制剂 WP1066 (Gene Operation 公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)

取对数生长期细胞,TRIzol 法提取总 RNA,One-Drop OD 1000 测定 RNA 浓度和纯度,使用 SuperScript IV First-Strand 试剂盒逆转录成 cDNA。使用 SYBR 试剂盒在 StepOnePlus 实时 PCR 系统上进行样本扩增,扩增条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s,56 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,循环 30 次;95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s。引物由南京金斯瑞生物公司合成。SPAG5:上游 5'-TTGAGGCCCCGTTTAGATACCA-3',下游 5'-GCTTTTCCTTGGAGCAATGTAGTT-3';CCND1:上游 5'-CAATGACCCCGCAGGATTTC-3',下游 5'-CATGAGGGCGGATTGGAA-3';Survivin:上游 5'-AGGACCACCGCATCTCTACAT-3',下游 5'-AAGTCTGGCTCGTTCTCAGTG-3';MMP2:上游 5'-CCCACTGCGGTTTTCTCGAAT-3',下游 5'-CAAAGGGGTATCATCGCCAT-3';VEGF:上游 5'-AGGGCAGAATCATCACAAGT-3',下游 5'-AGGGTCTCGATTGATGGCA-3'; β -actin:上游 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3',下游 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'。以 β -actin 为参照基因,计算目标基因相对定量值 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 。所有实验均重复 3 次。

1.2.2 免疫印迹实验(Western blot)

取对数生长期细胞,使用 RIPA 裂解液提取总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。将总蛋白与上样缓冲

液等比例混合,95℃加热10 min,-20℃保存。将蛋白质样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳并转移至PVDF膜。室温下5%脱脂奶粉封闭2 h,4℃一抗(1:10 000)孵育过夜。PBST漂洗3次,HRP标记的羊抗兔IgG抗体(1:2 000)孵育1 h。PBST漂洗3次,将Super-Signal曝光液覆盖膜表面,使用ChemiDoc XRS+系统曝光检测。以上实验重复3次。

1.2.3 SPAG5敲减/过表达质粒的构建与鉴定

根据SPAG5基因序列设计SPAG5敲减/过表达序列,Blast检测与其他基因编码序列无同源性,慢病毒载体为psi-U6.1。SPAG5敲减/过表达质粒均由广州GeneCopoeia公司合成的。将质粒转化至DH5 α 感受态细胞,涂板于含氨苄青霉素的LB平板,37℃培养过夜。挑单克隆菌落接种于含氨苄青霉素的LB培养基中,37℃振荡过夜(200 r/min)。菌液送南京金斯瑞生物公司测序鉴定。

1.2.4 细胞转染与稳定株筛选

使用Lenti-Pac慢病毒将各质粒转染至293T细胞。培养48 h后收集并离心过滤上清,与浓缩试剂按比例混合,4℃孵育过夜。次日,离心混合液并收集慢病毒颗粒。将MDA-MB-231和MCF-12A细胞分别接种于24孔板,24 h后加入慢病毒颗粒,感染目的细胞。转染空载体质粒的MDA-MB-231和MCF-12A细胞分别标记为NC-MDA-MB-231和NC-MCF-12A,转染不同SPAG5敲减质粒的MDA-MB-231细胞分别标记为si1-MDA-MB-231和si2-MDA-MB-231,转染SPAG5过表达质粒的MCF-12A细胞标记为OE-MCF-12A。72 h后加入嘌呤霉素(0.75 μ g/mL)培养1周,嘌呤霉素减量(0.35 μ g/mL)维持培养2周。

1.2.5 CCK-8增殖实验

将各组细胞以 1×10^4 个/孔种植于96孔板,每组设置3个复孔,并以无细胞培养基作为空白组。分别在24、48、72、96 h时去除原培养基,每孔加入10 μ L CCK-8试剂和90 μ L培养基,37℃避光孵育3 h,酶标仪检测各孔在450 nm波长处的吸光值。本实验重复3次。

1.2.6 裸鼠移植瘤模型

收集处于对数生长期的各组细胞,用RPMI 1640培养基制成密度为 1×10^8 个/mL的细胞悬液,100 μ L/只注射到裸鼠上肢腋下,每组6只。每5 d用游标卡尺测量肿瘤大小,肿瘤体积=长径 \times 短径 \times 2/2。5周后,将裸鼠断椎处死,用弯头镊和眼科剪将皮下肿瘤钝性分离,称重。

1.2.7 细胞划痕实验

将处于对数生长期的各组细胞以 5×10^5 个/孔的密度种植于6孔板,设置3个复孔,待细胞贴壁后换成无血清RPMI 1640培养基,培养过夜。无菌100 μ L枪头垂直于细胞面划痕,洗涤后使用无血清RPMI 1640培养基继续培养。分别于24、48 h将细胞培养板置于倒置显微镜下拍照,每组随机选择3个划痕视野测量划痕距离。本实验重复3次。

1.2.8 Transwell细胞实验

迁移实验:将各组细胞以 5×10^4 个/孔分别种植于Transwell小室,加入无血清RPMI 1640培养基300 μ L,小室置于12孔板,孔内加入1 mL含20% FBS的培养基。细胞培养24 h,取出Transwell小室,棉签轻轻擦拭小室膜上表面,甲醇固定30 min。0.1%结晶紫溶液浸泡染色30 min,清水漂洗,干燥后拍照,观察小室膜下表面细胞数量。本实验重复3次。

侵袭实验:4℃环境下将Matrigel基质胶解冻稀释3倍,均匀覆盖小室膜上表面。基质胶凝固后,将各组细胞以 1×10^5 个/孔的密度种植于Transwell小室,其余步骤与迁移实验相同,培养48 h后检测细胞数量。本实验重复3次。

1.3 统计学方法

使用Image Pro Plus 5.0软件进行细胞移动距离测定和蛋白灰度值定量。使用SPSS 22.0统计软件对数据进行分析,计量资料以均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。两组均数比较采用 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, $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SPAG5敲减/过表达稳定细胞株的建立

利用qRT-PCR和Western blot检测乳腺癌细胞株MCF-12A、BT20、MDA-MB-231、BT549、MDA-MB-453、MCF-7中SPAG5的表达情况(图1A、B)。在相对高表达SPAG5的乳腺癌细胞MDA-MB-231上敲减SPAG5,在相对低表达SPAG5的乳腺癌细胞MCF-12A上过表达SPAG5,qRT-PCR和Western blot证明稳定转染的有效性($P<0.05$,图1C、D)。敲减株中本研究选择效率更高的si1-MDA-MB-231进行下一步研究。

2.2 SPAG5促进了乳腺癌细胞的增殖

CCK-8增殖试验检测SPAG5表达改变后第24、48、72、96 h细胞的增殖情况。与NC-MDA-MB-231相比,si1-MDA-MB-231组细胞的增殖率降低,增殖

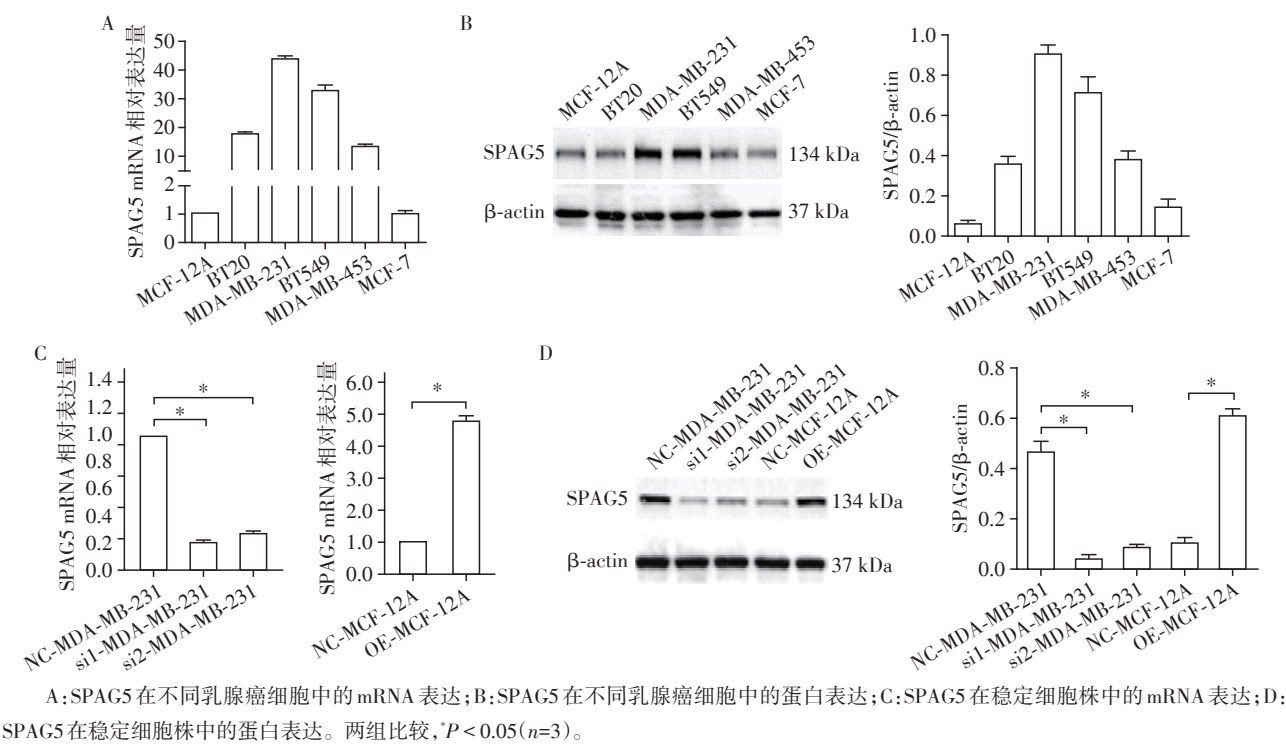


图1 SPAG5在不同乳腺癌细胞及稳定细胞株中的表达情况

Figure 1 SPAG5 expressions in different breast cancer cells and stable cell lines

能力明显受到抑制($P < 0.05$,图2A);与NC-MCF-12A相比,OE-MCF-12A组细胞的增殖率增高,增殖能力显著提升($P < 0.05$,图2A)。

裸鼠成瘤实验表明,si1-MDA-MB-231组肿瘤的

生长速度明显较NC-MDA-MB-231慢,OE-MCF-12A组肿瘤的生长速度明显较NC-MCF-12A快($P < 0.05$,图2B)。5周后,si1-MDA-MB-231组肿瘤的体积和重量显著低于NC-MDA-MB-231组,OE-MCF-

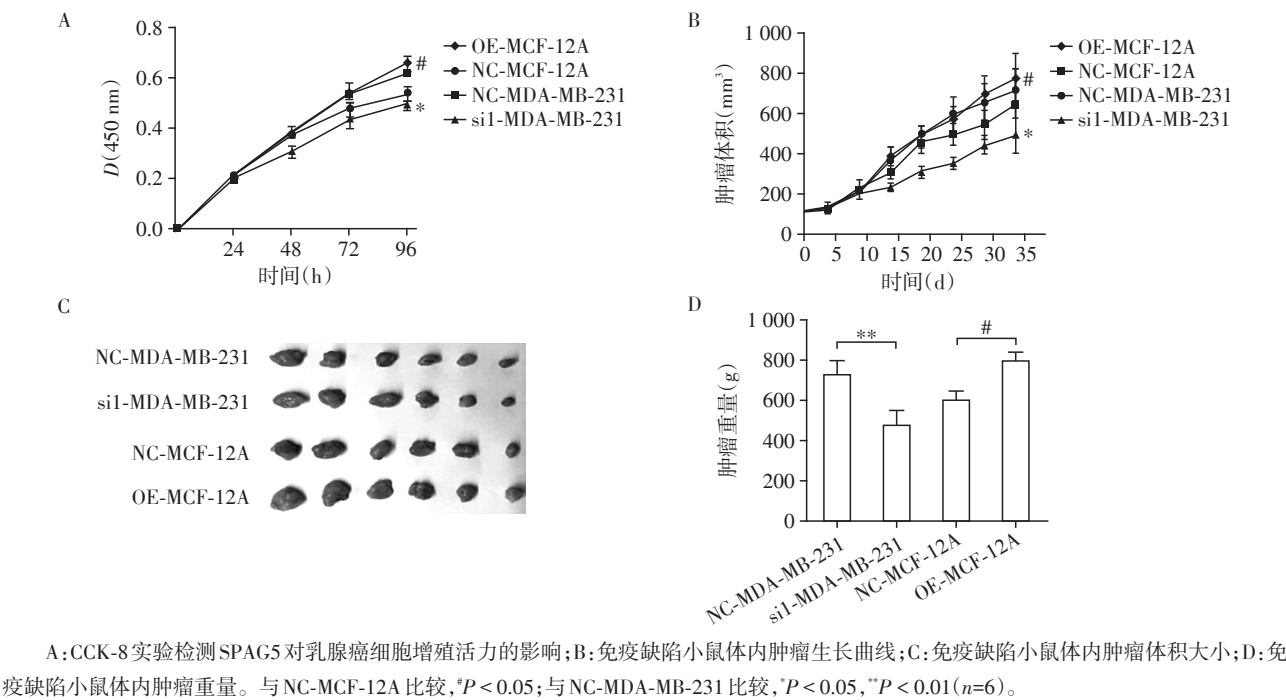


图2 SPAG5增强乳腺癌细胞的增殖能力

Figure 2 SPAG5 promoted the proliferation of breast cancer cells

12A组肿瘤的体积和重量显著高于NC-MCF-12A组($P < 0.05$,图2C、D)。

2.3 SPAG5增强了乳腺癌细胞的迁移能力

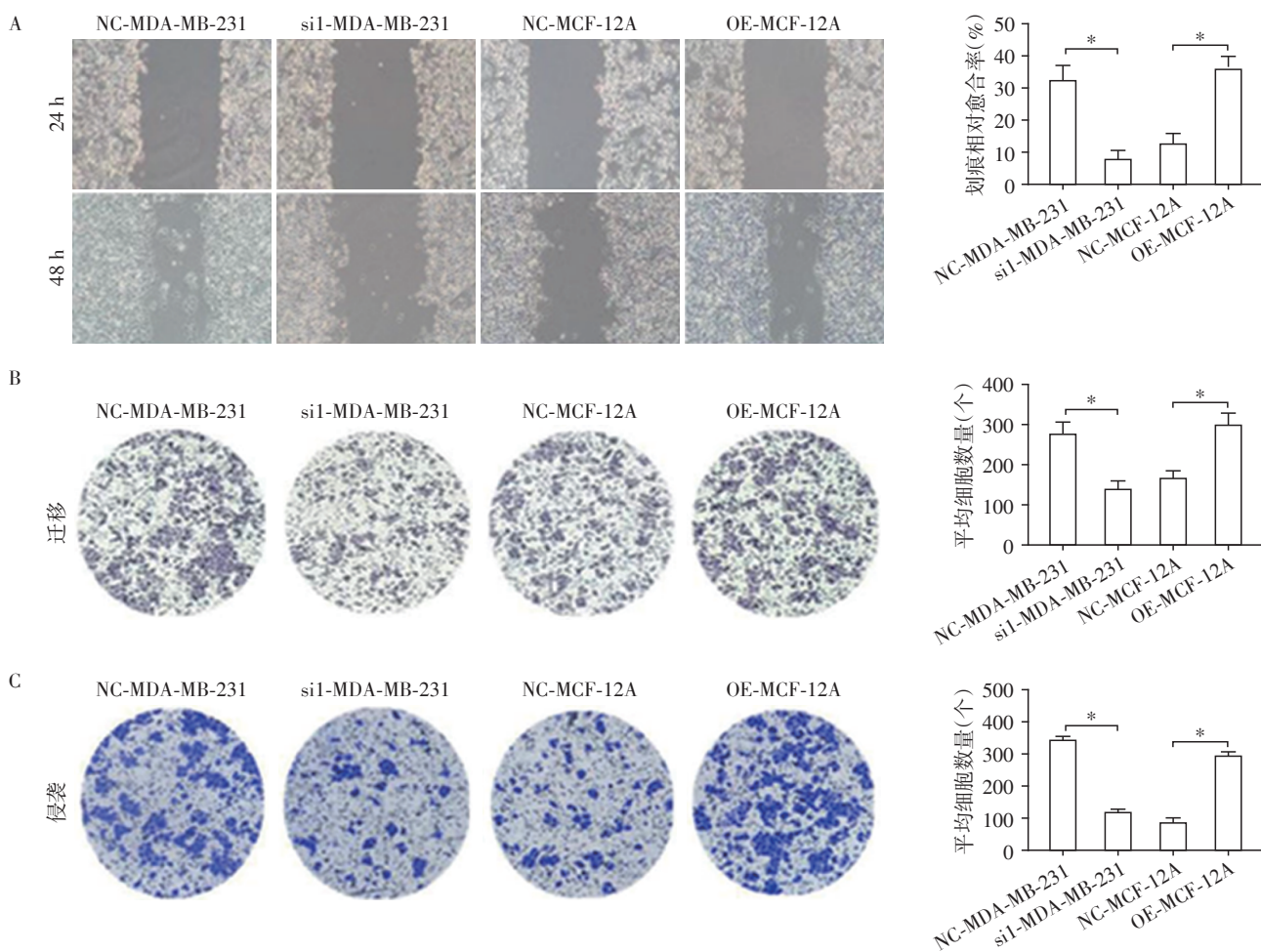
划痕实验结果显示,si1-MDA-MB-231组细胞的划痕愈合相较于NC-MDA-MB-231组显著延迟,迁移能力明显减弱($P < 0.05$,图3A);OE-MCF-12A细胞相较于NC-MCF-12A组细胞提早出现划痕愈合,迁移能力明显增强($P < 0.05$,图3A)。

Transwell 迁移实验结果表明,si1-MDA-MB-231组24 h后穿膜细胞个数少于NC-MDA-MB-231组

($P < 0.05$,图3B),si1-MDA-MB-231细胞的迁移能力相较于NC-MDA-MB-231显著降低;OE-SPAG5组24 h后穿膜细胞个数多于NC-MCF-12A组($P < 0.05$,图3B),OE-MCF-12A细胞的迁移能力相较于NC-MCF-12A显著提高。

2.4 SPAG5增强了乳腺癌细胞侵袭的能力

Transwell 侵袭实验结果证明,si1-MDA-MB-231组24 h后穿膜细胞个数少于NC-MDA-MB-231组($P < 0.05$,图3C),si1-MDA-MB-231细胞的侵袭能力相较于NC-MDA-MB-231显著降低;OE-MCF-12A组



A: 划痕实验检测 SPAG5 对乳腺癌细胞迁移能力的影响($\times 40$); B: Transwell 实验检测 SPAG5 对乳腺癌细胞迁移能力的影响($\times 100$); C: Transwell 实验检测 SPAG5 对乳腺癌细胞侵袭能力的影响($\times 100$)。两组比较, $P < 0.05$ ($n=3$)。

图3 SPAG5促进乳腺癌细胞的迁移和侵袭

Figure 3 SPAG5 promoted migration and invasion of breast cancer cells

24 h后穿膜细胞个数多于NC-MCF-12A组($P < 0.05$,图3C),OE-MCF-12A细胞的侵袭能力相较于NC-MCF-12A显著提高。

2.5 SPAG5增强了JAK2/STAT3信号通路的活化

采用qRT-PCR检测SPAG5敲除/过表达后细胞的mRNA表达变化。与对照组相比,CCND1、Sur-

vivin、MMP2、VEGF的mRNA水平在si1-MDA-MB-231细胞中降低,在OE-MCF-12A细胞中显著升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$,图4A)。Western blot在蛋白水平上验证了上述基因的表达变化($P < 0.05$,图4B)。检测CCND1、Survivin、MMP2、VEGF基因的上游信号通路JAK2/STAT3,发现敲减SPAG2

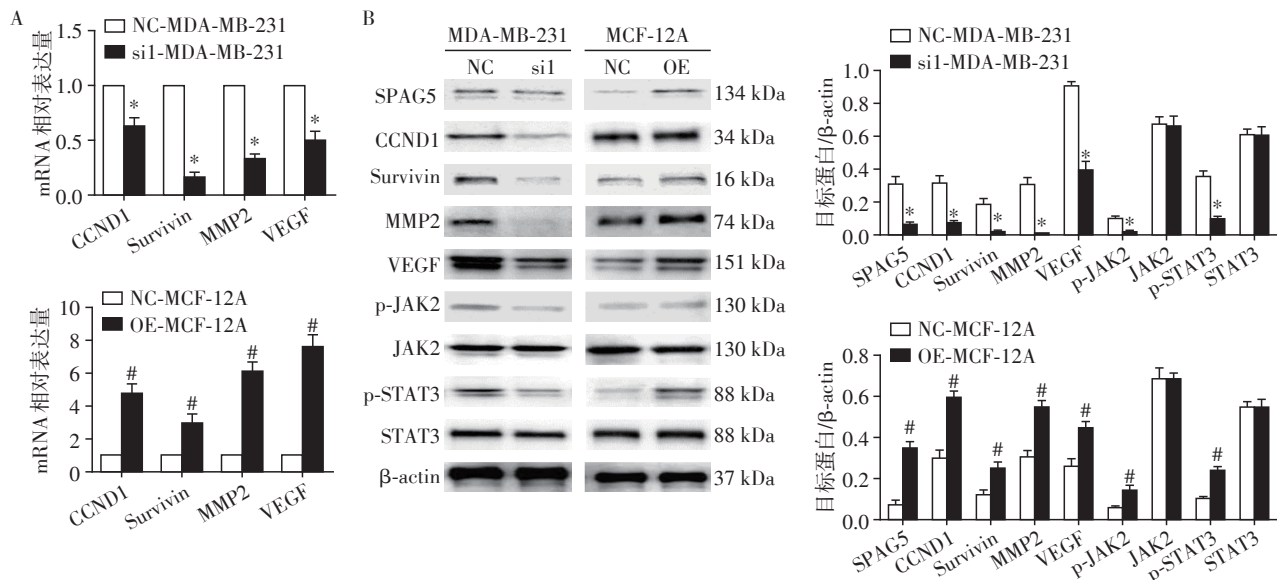
的乳腺癌细胞 si1-MDA-MB-231 中 JAK2/STAT3 磷酸化水平降低,过表达 SPAG2 的乳腺癌细胞 OE-MCF-12A 细胞中 JAK2/STAT3 磷酸化水平升高($P < 0.05$, 图 4B)。

2.6 抑制 JAK2/STAT3 活化可降低 SPAG5 的促癌作用
使用 JAK2/STAT3 通路抑制剂 WP1066($10\text{ }\mu\text{mol/L}$) 培养 OE-MCF-12A 细胞, Western blot 证明加入 WP1066 后 OE-MCF-12A 细胞的 JAK2/STAT3 磷酸化水平相较于对照组受到抑制($P < 0.05$, 图 5A)。CCK-8 实验表明, OE-MCF-12A+WP1066 组细胞的增殖率低于 NC-MCF-12A 组和 OE-MCF-12A 组, WP1066 抑制了 SPAG5 对乳腺癌细胞增殖的促进作

用($P < 0.05$, 图 5B)。Transwell 实验表明, OE-MCF-12A+WP1066 组的穿膜细胞少于 NC-MCF-12A 组和 OE-MCF-12A 组, WP1066 抑制了 SPAG5 对乳腺癌细胞侵袭性的促进作用($P < 0.05$, 图 5C)。

3 讨论

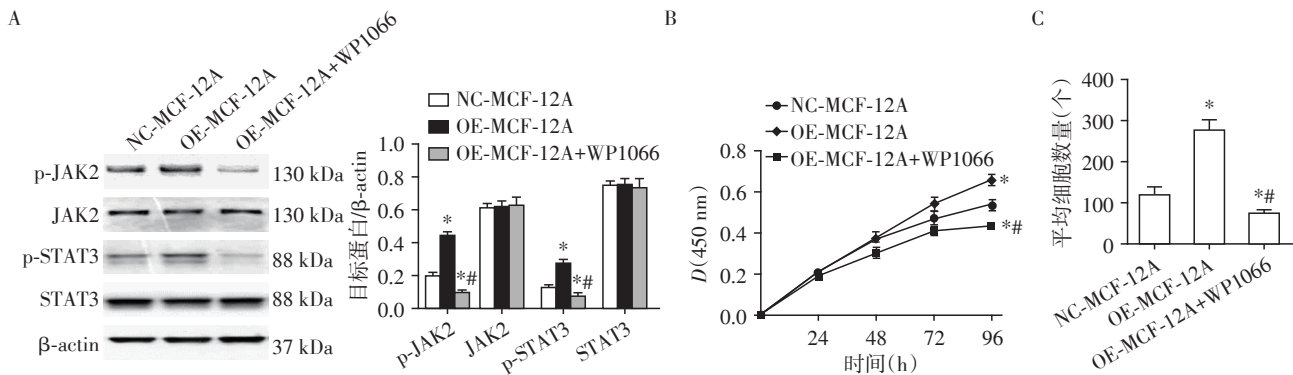
癌 皋 抗 原 是 一 类 具 有 特 异 性 表 达 模 式 的 肿 瘤 相 关 抗 原,其 在 正 常 组 织 中 仅 限 于 精 子、卵 子 和 胎 盘 的 滋 养 层 细 胞 中 表 达,而 在 各 种 肿 瘤 组 织 中 有 不 同 程 度 的 表 达^[3]。SPAG5 是 一 种 目 前 研 究 较 少 的 癌 皋 抗 原,基 因 芯 片 研 究 显 示,在 非 小 细 胞 性 肺 癌 中 SPAG5 表 达 上 调^[7]。SPAG5 在 已 发 生 盆 腔 淋 巴 结 转



A:qRT-PCR 检测 SPAG5 对 JAK2/STAT3 信号通路下游基因 mRNA 表达的影响;B:Western blot 检测 SPAG5 对 JAK2/STAT3 信号通路及其下游基因的白表达的影响。与 NC-MDA-MB-231 比较,* $P < 0.05$ ($n=3$);与 NC-MCF-12A 比较,* $P < 0.05$ 。

图 4 SPAG5 对 JAK2/STAT3 信号通路及其下游基因的影响

Figure 4 The impact of SPAG5 on the JAK2/STAT3 signaling pathway and its downstream genes



A:Western blot 检测 WP1066 处理后 JAK2/STAT3 信号通路蛋白表达的变化;B:CCK-8 实验检测 JAK2/STAT3 通路抑制后细胞增殖活性的变化;C:Transwell 侵袭实验检测 JAK2/STAT3 通路抑制后细胞侵袭性的变化。与 NC-MCF-12A 比较,* $P < 0.05$;与 OE-MCF-12A 比较,* $P < 0.05$ ($n=3$)。

图 5 抑制 JAK2/STAT3 通路后 SPAG5 过表达株的生物学行为变化

Figure 5 Changes in the biological behaviors of cells overexpressing SPAG5 after inhibition to JAK2/STAT3 pathway

移的宫颈癌中高表达,并与患者无病生存率密切相关^[8]。SPAG5在前列腺癌中起着癌基因的作用,其表达水平随前列腺癌的进展而升高^[9]。Zhu等^[10]通过对乳腺癌数据库进行分析,认为SPAG5可以作为一个独立的预后和预测的生物标志物,特别是在接受激素治疗的ER阳性乳腺癌患者中可能具有临床用途。

本研究通过慢病毒转染改变乳腺癌细胞株中SPAG5的表达,观察SPAG5蛋白变化对乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响。研究表明,SPAG5敲低表达的si1-MDA-MB-231组细胞的增殖、迁移和侵袭能力相较于对照组细胞受到了明显抑制,而过表达SPAG5的OE-MCF-12A组细胞的增殖、迁移、侵袭能力相较于对照组显著增强,说明SPAG5能促进乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。Yuan等^[8]在宫颈癌细胞中下调SPAG5表达,发现可抑制癌细胞增殖活性并促进其凋亡。Liu等^[11]在胃癌细胞中敲减SPAG5表达,胃癌细胞的增殖能力受到抑制。Zhang等^[9]发现miR-519的异常过表达可抑制前列腺癌细胞中SPAG5的表达,从而抑制肿瘤细胞增殖、迁移、侵袭及转移。本研究结果与现有文献相一致。

研究表明SPAG5通过Wnt/ β -catenin通路调节宫颈癌、胃癌、肝癌等肿瘤细胞,而在乳腺癌发生发展中的分子机制尚不清楚^[11-13]。本研究通过qRT-PCR检测肿瘤相关基因的变化,发现SPAG5可调节多种与细胞增殖、凋亡、转移和血管生成过程有关的基因(CCND1、Survivin、MMP2、VEGF)表达,这些基因都是JAK2/STAT3信号通路的下游分子,表明SPAG5可能通过JAK2/STAT3信号通路影响乳腺癌细胞。JAK2通过多种细胞因子受体如白介素-6(IL-6)、促红细胞生成素、干扰素- γ 受体等调节信号通路,是STAT3磷酸化的原激酶^[14]。STAT3与信号转导和基因转录有关,参与调节细胞生长相关基因的表达^[15]。持续的JAK2/STAT3信号通路激活常与恶性肿瘤的增殖、侵袭、转移等行为相关^[16]。本研究证明敲减SPAG5的si1-MDA-MB-231细胞中JAK2/STAT3磷酸化水平降低,过表达SPAG5的OE-MCF-12A细胞中JAK2/STAT3磷酸化水平升高,表明SPAG5可促进JAK2/STAT3信号通路磷酸化。此外,使用WP1066抑制JAK2/STAT3信号通路活化后,OE-MCF-12A细胞的增殖率和侵袭性降低,表明抑制JAK2/STAT3信号通路可以降低SPAG5过表达对乳腺癌细胞增殖和侵袭的影响。以上结果表明,

SPAG5通过促进JAK2/STAT3信号通路磷酸化,调节通路下游蛋白CCND1、Survivin、MMP2、VEGF的表达,进而影响乳腺癌细胞的生物学行为。

综上所述,SPAG5通过激活JAK2/STAT3信号通路促进乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭,有望作为乳腺癌治疗的新靶点,但SPAG5具体通过何种方式影响JAK2/STAT3通路仍需进一步研究。

[参考文献]

- [1] 陶爽,陈兴阳,程明加,等. miR-588在乳腺癌中的表达及对乳腺癌细胞增殖和侵袭的作用[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2019,39(9):1318-1322
- [2] LI J, PING J L, MA B, et al. DIP2C expression in breast cancer and its clinical significance[J]. Pathol Res Pract, 2017,213(11):1394-1399
- [3] CHEN Y. Cancer testis antigen expression in testicular germ cell tumors and in intratubular germ cell neoplasia[J]. Modern Pathol, 2015,28(5):742-744
- [4] LIU J Y, ZENG Q H, CENG P G, et al. SPAG5 promotes proliferation and suppresses apoptosis in bladder urothelial carcinoma by upregulating Wnt3 via activating the AKT/mTOR pathway and predicts poorer survival[J]. Oncogene, 2018,37(29):3937
- [5] ABDEL-FATAH T M A, AGARWAL D, LIU D X, et al. SPAG5 as a prognostic biomarker and chemotherapy sensitivity predictor in breast cancer: a retrospective, integrated genomic, transcriptomic, and protein analysis[J]. Lancet Oncol, 2016,17(7):1004-1018
- [6] ZHOU X, JIA L, SUN Y, et al. Sperm-associated antigen 5 is a potential biomarker for poor prognosis in breast cancer[J]. Oncol Lett, 2018,17(1):1146-1152
- [7] VÄLK K, VOODER T, KOLDE R, et al. Gene expression profiles of non-small cell lung cancer: Survival prediction and new biomarkers[J]. Oncol, 2010,79(3-4):283-292
- [8] YUAN L J, LI J D, ZHANG L, et al. SPAG5 upregulation predicts poor prognosis in cervical cancer patients and alters sensitivity to taxol treatment via the mTOR signaling pathway[J]. Cell Death Dis, 2014,5(5):e1247
- [9] ZHANG H, LI S, YANG X, et al. miR-539 inhibits prostate cancer progression by directly targeting SPAG5[J]. J Exp Clin Canc Res, 2016,35(1):60
- [10] ZHU C, MENYHART O, GYÖRFFY B, et al. The prognostic association of SPAG5 gene expression in breast cancer patients with systematic therapy[J]. BMC Canc, 2019,19(1):1-12
- [11] LIU G, LIU S, CAO G, et al. SPAG5 contributes to the progression of gastric cancer by upregulation of survivin depend on activating the wnt/ β -catenin pathway[J]. Exp (下转第562页)

- 1271
- [3] SZE E, DAUBERT J P. Left bundle branch block-induced left ventricular remodeling and its potential for reverse remodeling[J]. J Interv Card Electrophysiol, 2018, 52(3): 343-352
- [4] SPODICK D H. Absent septal q wave: the neglected deflection[J]. Am J Cardiol, 1999, 84(2): 219-222, A8
- [5] PARSA S A, SHAHNAZI A, MALEK A, et al. Predictive value of absent septal q wave in patients with significant stenosis of proximal left anterior descending coronary artery[J]. Clin Med Insights Cardiol, 2010, 4: 45-48
- [6] SURAWICZ B, CHILDERS R, DEAL B J, et al. AHA/ACC/HRS recommendations for the standardization and interpretation of the electrocardiogram: part III: intraventricular conduction disturbances: a scientific statement from the American Heart Association Electrocardiography and Arrhythmias Committee, Council on Clinical Cardiology; the American College of Cardiology Foundation; and the Heart Rhythm Society. Endorsed by the International Society for Computerized Electrocardiology[J]. J Am Coll Cardiol, 2009, 53(11): 976-981
- [7] 杜安絮, 钱智勇, 邹建刚, 等. 希浦传导系统的解剖及其临床意义[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2019, 39(6): 797-801
- [8] BREITHARDT G, BREITHARDT O A. Left bundle branch block, an old-new entity[J]. J Cardiovasc Transl Res, 2012, 5(2): 107-116
- [9] DELEWI R, IJFF G, VAN DE HOEF T P, et al. Pathological Q waves in myocardial infarction in patients treated by primary PCI[J]. JACC: Cardiovascular Imaging, 2013, 6(3): 324-331
- [10] BERTAGLIA E, MIGLIORE F, BARITUSSIO A, et al. Stricter criteria for left bundle branch block diagnosis do not improve response to CRT [J]. Pacing Clin Electrophysiol, 2017, 40(7): 850-856
- [11] WEINSFT J W, KOCHAV J D, AFROZ A, et al. Q wave area for stratification of global left ventricular infarct size: comparison to conventional ECG assessment using Selvester QRS-score[J]. Coron Artery Dis, 2014, 25(2): 138-144
- [12] HIRAIWA H, OKUMURA T, SAWAMURA A, et al. The Selvester QRS score as a predictor of cardiac events in nonischemic dilated cardiomyopathy[J]. J Cardiol, 2018, 71(3): 284-290
- [13] WENG J, YANG B, CHEN D, et al. The Selvester QRS score as a predictor of cardiac events in nonischemic dilated cardiomyopathy[J]. J Cardiol, 2018, 72(3): 265
- [14] WIESLANDER B, LORING Z, ZAREBA W, et al. Scar burden assessed by Selvester QRS score predicts prognosis, not CRT clinical benefit in preventing heart failure event and death: A MADIT-CRT sub-study[J]. J Electrocardiol, 2016, 49(4): 603-609
- [15] WATANABE N, ISOBE S, OKUMURA T, et al. Relationship between QRS score and microvascular obstruction after acute anterior myocardial infarction [J]. J Cardiol, 2016, 67(4): 321-326
- [16] KOCHAV J D, OKIN P M, WILSON S, et al. Usefulness of Q-wave area for threshold-based stratification of global left ventricular myocardial infarct size [J]. Am J Cardiol, 2013, 112(2): 174-180
- [收稿日期] 2019-07-06

(上接第508页)

- Cell Res, 2019, 379(1): 83-91
- [12] YANG T, TIAN S, WANG L, et al. MicroRNA-367-3p overexpression represses the proliferation and invasion of cervical cancer cells through downregulation of SPAG5-mediated Wnt/ β -catenin signalling[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2020, 47(4): 687-695
- [13] LIU H, HU J, WEI R, et al. SPAG5 promotes hepatocellular carcinoma progression by downregulating SCARA5 through modifying β -catenin degradation[J]. J Exp Clin Canc Res, 2018, 37(1): 1-14
- [14] KIM M S, LEE W S, JEONG J, et al. Induction of metastatic potential by TrkB via activation of IL6/JAK2/STAT3 and PI3K/AKT signaling in breast cancer[J]. Oncotarget, 2015, 6(37): 40158-40171
- [15] MALI S B. Review of STAT3 signal transducers and activators of transcription in head and neck cancer[J]. Oral Oncol, 2015, 51(6): 565-569
- [16] CHANG R, SONG L, XU Y, et al. Loss of Wwox drives metastasis in triple-negative breast cancer by JAK2/STAT3 axis[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 3486
- [收稿日期] 2020-01-20