

· 基础研究 ·

## 脂联素受体 AdipoR1 对肺癌细胞 PC9 增殖和迁移的影响

代娟娟<sup>1</sup>, 杨丽娟<sup>1</sup>, 武艳<sup>1</sup>, 杜静<sup>1</sup>, 孟凡涛<sup>2</sup>, 安佳佳<sup>3</sup>, 李晨<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>滨州医学院附属医院肿瘤研究实验室, <sup>2</sup>代谢与神经精神疾病研究所, <sup>3</sup>检验科, 山东 滨州 256603

**[摘要]** 目的: 观察过表达或敲低人脂联素受体 1(AdipoR1)对肺癌细胞 PC9 增殖和迁移的影响, 阐明 AdipoR1 对肺癌的调控作用。方法: 逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测 AdipoR1 在 PC9 细胞及正常人支气管上皮细胞 HBEC 中的表达量; 利用分子克隆的方法构建 AdipoR1 过表达和 shRNA 干扰载体, 转染至 PC9 细胞中并采用 RT-PCR 和 Western blot 方法检测 AdipoR1 的表达情况。运用 CCK8 方法和划痕愈合实验检测 AdipoR1 激动剂 AdipoRon、AdipoR1 过表达及 AdipoR1 敲低对 PC9 细胞的增殖和迁移活性的影响。结果: RT-PCR 结果显示 AdipoR1 在 PC9 细胞中的表达量明显降低( $P < 0.05$ )。RT-PCR 和 Western blot 结果显示 AdipoR1 过表达的 PC9 细胞中 AdipoR1 mRNA 和蛋白的表达量明显高于空载体细胞( $P$  均  $< 0.05$ ), AdipoR1 干扰组 AdipoR1 表达量明显低于阴性对照细胞( $P$  均  $< 0.05$ )。CCK8 和划痕愈合实验结果显示, 在 24 h 和 48 h 时, 与溶剂对照组相比, AdipoRon 能显著降低 PC9 细胞的增殖和划痕愈合率, 过表达 AdipoR1 的 PC9 细胞增殖和划痕愈合率明显低于空载体细胞, 而 AdipoR1 敲低能明显促进 PC9 细胞的增殖和划痕愈合率( $P$  均  $< 0.05$ )。结论: AdipoR1 激动剂 AdipoRon 或 AdipoR1 过表达能抑制肺癌细胞 PC9 的增殖和迁移活性, 而 AdipoR1 敲低则能明显促进肺癌细胞 PC9 的增殖和迁移。

**[关键字]** 脂联素受体 1; 脂联素受体激动剂; PC9 细胞; 增殖; 迁移

**[中图分类号]** R734.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2020)01-015-07

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20200104

## The effects of adiponectin receptor AdipoR1 on proliferation and migration of PC9 cells

DAI Juanjuan<sup>1</sup>, YANG Lijuan<sup>1</sup>, WU Yan<sup>1</sup>, DU Jing<sup>1</sup>, MEMG Fantao<sup>2</sup>, AN Jiajia<sup>3</sup>, LI Chen<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Cancer Research Laboratory, <sup>2</sup>Institute for Metabolic and Neuropsychiatric Disorders, <sup>3</sup>Department of Clinical Laboratory, Binzhou Medical University Hospital, Binzhou 256603, China

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effects of human adiponectin receptor(AdipoR1) gene overexpression and knockdown on PC9 cells proliferation and migration, and to clarify the regulatory effect of AdipoR1 on lung cancer. **Methods:** The expression levels of AdipoR1 in PC9 cells and control HBEC were detected by RT-PCR. The overexpression vector and shRNA interference vector of AdipoR1 were established by molecular clone method and transfected into PC9 cells, the expression levels of AdipoR1 mRNA and protein were detected by RT-PCR and Western blot. CCK8 method and scratch healing experiment were used to detect the effect of AdipoR1 agonist AdipoRon, AdipoR1 overexpression, and AdipoR1 knockdown on proliferation and migration ability of PC9 cells. **Results:** RT-PCR results showed that the expression of AdipoR1 was decreased in PC9 cells( $P < 0.05$ ). RT-PCR and Western blot results showed that mRNA and protein expression levels of AdipoR1 were up-regulated in AdipoR1 overexpressed PC9 cells( $P < 0.05$ ), and down-regulated in AdipoR1 knockdown PC9 cells( $P < 0.05$ ). CCK8 and scratch healing results showed that the proliferation and healing percentage of PC9 cells treated by AdipoRon for 24 or 48 h were significantly decreased when compared with the vehicle group(all  $P < 0.05$ ). The proliferation and healing percentage were also significantly lower in AdipoR1 overexpression PC9 cells and higher in AdipoR1 knockdown PC9 cells than their controls after cultured for 24 or 48 h(all  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** AdipoR1 agonist AdipoRon, AdipoR1 overexpression can inhibit the proliferation and migration ability of lung cancer PC9 cells, while AdipoR1 knockdown can increase the proliferation and migration ability of lung cancer PC9 cells.

**[Key words]** AdipoR1; AdipoRon; PC9 cell; proliferation; migration

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(01): 015-020, 049]

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金(81601189); 山东省自然科学基金(ZR201702210055, ZR2014HQ080, ZR201709220399, ZR2019MC026); 山东省医药卫生科技发展计划项目(2017WS154); 滨州医学院科研计划与科研启动基金(BY2015KJ10)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: lc\_0625@163.com

肺癌是世界范围内的一种具有较高患病率和致死率的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。肺癌的发生和发展是遗传和环境因素共同作用的结果;在细胞水平表现为细胞生长和增殖的不可控性;基因水平的表现则为大量促癌基因的过度表达和抑癌基因的表达抑制。脂联素是一种由脂肪细胞分泌的多功能激素蛋白,具有抗糖尿病和胰岛素增敏等作用<sup>[2]</sup>,脂联素的生物活性由脂联素受体1(AdipoR1)和脂联素受体2(AdipoR2)所介导<sup>[3-4]</sup>,AdipoR1和AdipoR2在很多器官、组织和细胞中表达<sup>[5-6]</sup>。大量研究表明脂联素具有抗肿瘤作用,血液循环中脂联素的含量与患癌风险之间存在负相关性<sup>[7]</sup>。最近研究报道肺癌患者血液中脂联素水平较正常人明显降低<sup>[8-9]</sup>;AdipoR1和AdipoR2在肺癌组织和细胞中表达<sup>[9]</sup>,脂联素能抑制肺癌A549细胞的增殖<sup>[10-11]</sup>,并通过AdipoR1和AdipoR2对非小细胞肺癌细胞的侵袭和迁移产生抑制作用<sup>[12]</sup>,然而脂联素受体在肺腺癌细胞PC9增殖和迁移中的作用目前尚不清楚。本研究首先检测了AdipoR1和AdipoR2基因在肺腺癌细胞和正常细胞中的表达量。然后利用基因工程克隆技术,构建了AdipoR1基因的真核表达和shRNA干扰载体,并通过细胞增殖和细胞划痕愈合实验评价AdipoR1小分子激动剂AdipoRon对细胞增殖和迁移能力的调节作用,以及AdipoR1过表达或shRNA干扰介导的AdipoR1敲低对细胞增殖和迁移能力的影响。此研究进一步完善了脂联素/脂联素受体信号系统在肺癌发展中的作用,同时为以AdipoR1为靶点的抗癌药物设计提供了理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

人肺癌细胞系PC9和正常人支气管上皮细胞HBEC购自美国模式培养物集存库(American Type Culture Collection, ATCC)。真核表达载体pcDNA3.1质粒(Invitrogen Life Technologies公司,美国);大肠埃希菌DH5 $\alpha$ 、限制性内切酶及T4 DNA连接酶(大连宝生物工程有限公司);aceTaq Master Mix PCR试剂盒、HiScript Q RT Super Mix反转录试剂盒及2 $\times$ Phanta HS Master Mix高保真PCR试剂盒(南京诺唯赞生物科技有限公司);凝胶回收试剂盒、小量质粒提取试剂盒、总RNA提取试剂盒及内毒素质粒抽提试剂盒(Omega公司,美国);脂质体Lipofectamine 2000(上海Invitrogen生命技术公司);胎牛血清、DMEM培养基(Hyclone公司,美国);AdipoR1和 $\beta$ -

actin抗体(Santa Cruz公司,美国);CCK8试剂盒(ENZO公司,美国);AdipoRon(AdipoGen公司,美国);PVDF膜、EasyBlot ECL化学发光显色试剂(Millipore公司,德国);HRP-羊抗鼠及HRP-羊抗兔二抗(Cell Signaling Technology公司,美国);引物DNA合成和载体DNA测序均由上海生工生物工程股份有限公司承担。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 AdipoR1和AdipoR2基因表达水平检测

收取PC9、HBEC细胞或相关转染质粒处理后的PC9细胞,用总RNA提取试剂盒,按照说明书提取总RNA,-80℃保存备用。按照反转录试剂盒HiScript Q RT Super Mix说明书进行cDNA的合成,用aceTaq Master Mix PCR试剂盒检测相关基因表达水平,以GAPDH作为内参基因。PCR条件为:95℃ 10 s;95℃ 30 s,58℃ 30 s,72℃ 30 s,72℃ 10 min,30个循环。引物序列如下:AdipoR1上游引物5'-AATTCCTGAGCGCTTCTTTTCCT-3',下游引物5'-CATAGAAGTGACAAAGGCTGC-3'。AdipoR2上游引物5'-TGCAGCCATTATAGTCTCCCAG-3',下游引物5'-GAATGATTCCACTCAGGCCTAG-3'。GAPDH上游引物5'-CTCCTCCTGTTCGACAGTCAGC-3',下游引物5'-CCCAATACGACCAAATCCGTT-3'。用Image J对条带进行灰度分析,计算基因的相对表达量。

#### 1.2.2 pcDNA3.1-AdipoR1真核表达载体构建

根据GenBank已发表的AdipoR1基因保守序列(NM\_001290553.1),利用Premier 5.0引物设计软件进行引物设计,酶切位点分别为Hind III和Xho I(下划线标出)。引物序列如下:上游引物,5'-GCGTGG-CAAGCTTATGTCTTCCCACAAAGGATCTGTGGTG-3';下游引物,5'-GTCATGCTCGAGTCAGAGA-AGGGTGTATCAGTACAGC-3'。

以制备的cDNA为模板,利用Phanta HS Master Mix高保真PCR试剂盒,按照说明书加样。PCR反应程序如下:94℃,5 min;94℃,30 s,56℃,30 s,72℃,30 s,30个循环;72℃,10 min;4℃保存。通过琼脂糖凝胶电泳验证PCR片段大小,琼脂糖凝胶回收试剂盒将扩增产物回收后,空质粒pcDNA3.1及扩增出来的AdipoR1基因片段同时用Hind III和Xho I进行双酶切,然后将酶切产物用T4连接酶进行连接。将连接后的反应产物转化DH5 $\alpha$ 感受态细胞,转化菌液均匀涂布于LB固体培养基上(含50  $\mu$ g/mL的Ampicillin),37℃倒置过夜培养。次日挑取生长的

单个菌落放入LB培养液(含50 μg/mL的Ampicillin)中进行培养,然后用PCR方法进行阳性克隆鉴定,并提取质粒进行双酶切鉴定和DNA序列测定。

### 1.2.3 AdipoR1 shRNA 载体构建

本载体由上海吉玛制药技术有限公司构建,基本步骤如下:将AdipoR1 shRNA序列:5'-GACTGGGACTCTTCAGAAA-3'以及阴性对照序列5'-AGCGGACTAAGTCCATTGC-3'通过Bbs I和BamH I酶切位点按照1.2.2中的方法构建到pGPU6/Neo载体中,并经DNA测序确认插入序列的准确性。

### 1.2.4 细胞培养及转染

肺癌细胞PC9用含有10%胎牛血清的DMEM培养基,于37℃、5%CO<sub>2</sub>的环境中培养。收集处于对数生长期的细胞,使细胞浓度达到1×10<sup>5</sup>个/mL,按2 mL/孔将细胞铺于细胞培养板中,待次日细胞密度达到80%~90%时相关基因载体按照脂质体转染试剂盒说明书进行转染。

### 1.2.5 Western blot 实验

收集到的细胞用含1%PMSF的RIPA裂解液进行裂解,然后加入5×上样缓冲液,沸水煮10 min,然后用12%或15%SDS-PAGE胶进行分离,并转移到PVDF膜上,膜用TBST buffer(20 mmol/L Tris-HCl, pH 7.4, 150 mmol/L NaCl, 0.1% Tween-20)配制的5%脱脂奶粉溶液封闭1 h,然后加入AdipoR1抗体4℃孵育过夜, TBST洗涤后,加入HRP标记二抗室温孵育1 h,最后用ECL发光试剂盒显色。用Image J对条带进行灰度分析,计算蛋白的相对表达量。

### 1.2.6 CCK8 法检测细胞增殖

将PC9细胞密度调整为1×10<sup>5</sup>个/mL,接种于96孔板中,每孔接种100 μL,每组设6个平行复孔。将pcDNA3.1、pcDNA3.1-AdipoR1或shRNA对照载体、AdipoR1 shRNA分别转染细胞,或用含AdipoRon(50 μmol/L)DMEM培养液处理细胞,于24和48 h后在避光条件下每孔加入10 μL CCK8反应液,在细胞培养箱内,37℃温度下继续避光反应2 h。用酶标仪在450 nm处测定各孔的吸光度值,以仅加培养液空白孔调零。以吸光度值反映细胞的增殖活性,并以0 h吸光度值为基准检测其他时间点的相对吸光度值,反映细胞的相对增殖活性。

### 1.2.7 细胞划痕愈合实验

PC9细胞悬液接种于6孔板,待细胞长至成单层状时,将pcDNA3.1、pcDNA3.1-AdipoR1或shRNA对照载体、AdipoR1 shRNA转染细胞,用移液器枪头在细胞板的底面上进行直线划痕,PBS冲洗3次,然后加

入无血清的DMEM培养液继续进行细胞培养,并分别于0、24及48 h时用倒置显微镜观察细胞划痕愈合状况,并进行拍照,测量划痕宽度,用细胞划痕愈合的百分比[(0 h划痕宽度-24 h划痕宽度或48 h划痕宽度)/0 h划痕宽度×100%]代表细胞运动能力的强弱。PC9细胞划痕后用含AdipoRon(50 μmol/L)DMEM培养液处理细胞,观察AdipoRon对PC9细胞增殖和迁移活性的影响。

### 1.3 统计学方法

实验数据采用Graphpad Prism 7.0统计软件进行统计分析并制图。用Shapiro-Wilk检验验证各组或各时间点基因表达量、细胞增殖及迁移数值的正态分布情况。以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较采用成组t检验。两种细胞系在不同时间点的增殖和迁移差异比较用双因素方差分析,各时间点两两比较采用Turkey检验。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 AdipoR1和AdipoR2在肺癌细胞中的表达

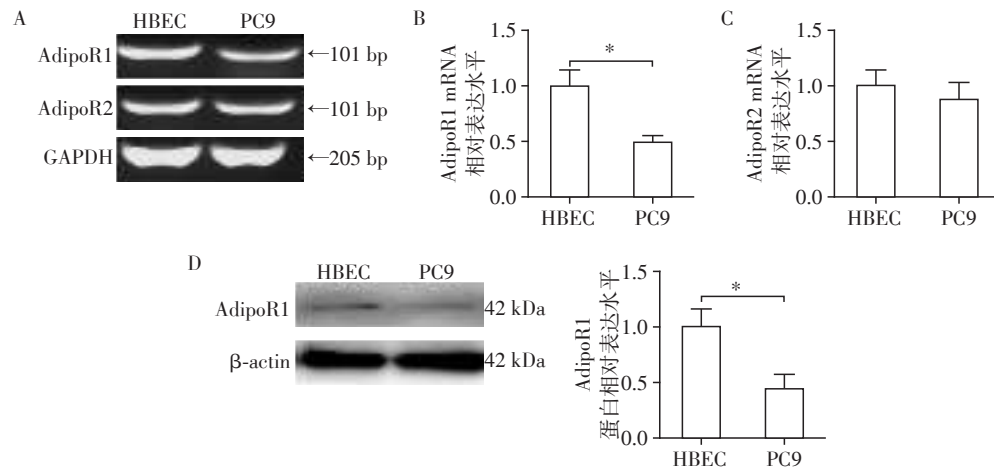
PCR产物凝胶电泳结果显示,与HBEC细胞相比,AdipoR1基因在PC9细胞中的表达量明显降低(0.49 ± 0.03 vs. 1.00 ± 0.07,  $t=6.18$ ,  $P < 0.01$ ),而AdipoR2基因在2种细胞中的表达量没有明显变化(0.89 ± 0.08 vs. 1.00 ± 0.08,  $t=1.17$ ,  $P > 0.05$ ,图1A~C)。Western blot结果显示,与HBEC细胞相比,AdipoR1蛋白在PC9细胞中的表达量也明显降低(0.44 ± 0.06 vs. 1.00 ± 0.08,  $t=5.33$ ,  $P < 0.01$ ,图1D)。

### 2.2 AdipoR1基因扩增和真核表达载体酶切鉴定

AdipoR1基因PCR扩增产物琼脂糖凝胶电泳结果显示,得到约1 128 bp的AdipoR1特异基因片段(图2A)。真核表达载体pcDNA3.1-AdipoR1经双酶切后分别产生约1 128 bp和5 400 bp的2个片段(图2B)。最后,通过测序,并与GenBank中序列进行比对确定重组质粒pcDNA3.1中插入了AdipoR1基因的完整开放阅读框(ORF)片段。

### 2.3 AdipoR1过表达或敲低的PC9细胞中AdipoR1表达水平

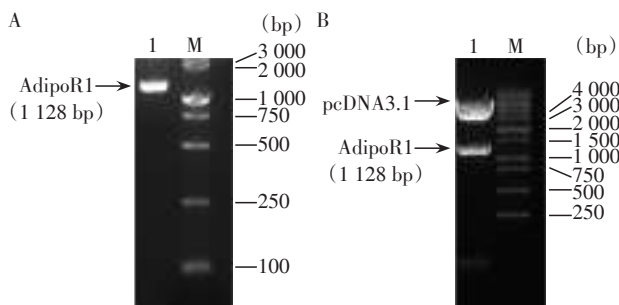
PCR产物凝胶电泳结果显示,pcDNA3.1-AdipoR1转染细胞(过表达组)中AdipoR1基因mRNA的表达量明显高于pcDNA3.1转染细胞(空载组)(3.01 ± 0.16 vs. 1.00 ± 0.05,  $t=11.62$ ,  $P < 0.01$ ,图3A)。Western blot结果显示:AdipoR1蛋白水平在过表达组细胞中的表达量明显高于空载组细胞



A: AdipoR1 和 AdipoR2 基因 PCR 产物凝胶电泳图; B: AdipoR1 基因表达统计图; C: AdipoR2 基因表达统计图; D: AdipoR1 蛋白表达 Western blot 图及相对表达量统计图。两组比较,  $P < 0.01 (n=4)$ 。

图1 AdipoR1 和 AdipoR2 在 HEBC 和 PC9 细胞系中的表达水平分析

Figure 1 Analysis of expression levels of AdipoR1 和 AdipoR2 in HEBC and PC9 cell lines



A: AdipoR1 基因 PCR 产物凝胶电泳图(1: PCR 产物; M: DNA Marker); B: AdipoR1 原核表达载体 pcDNA3.1-AdipoR1 双酶切鉴定凝胶电泳图(1: 酶切产物; M: DNA Marker)。

图2 AdipoR1 基因 PCR 产物和 AdipoR1 真核表达载体酶切产物凝胶电泳图

Figure 2 Gel electrophoresis pictures of AdipoR1 PCR products and enzyme-digested products of AdipoR1 eukaryotic expression vector

( $2.03 \pm 0.10$  vs.  $1.00 \pm 0.07$ ,  $t=8.40$ ,  $P < 0.01$ , 图3B), 在 AdipoR1 shRNA 处理的敲低组中 AdipoR1 的表达量明显低于阴性对照组( $0.31 \pm 0.04$  vs.  $1.00 \pm 0.10$ ,  $P < 0.01$ , 图3C)。

### 2.4 AdipoR1 激动剂 AdipoRon 对 PC9 细胞增殖和迁移活性的影响

与溶剂对照组相比, AdipoRon 对 PC9 细胞的增殖活性有明显影响, 并且在不同时间点的作用明显不同。进一步分析显示, 0 h 时 AdipoRon 处理组 PC9 细胞的吸光度相对值与对照组没有显著性差异( $P > 0.05$ )。但是在 24 h 和 48 h 时, AdipoRon 处理组细胞的吸光度值比对照组显著降低( $P < 0.01$ , 图4A)。

与溶剂对照组相比, AdipoRon 对 PC9 细胞的迁

移活性有明显影响, 并且在不同时间点的作用明显不同。进一步分析显示, 在 24 h 和 48 h 时, AdipoRon 处理组细胞的愈合率比对照组明显降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ , 图4B)。

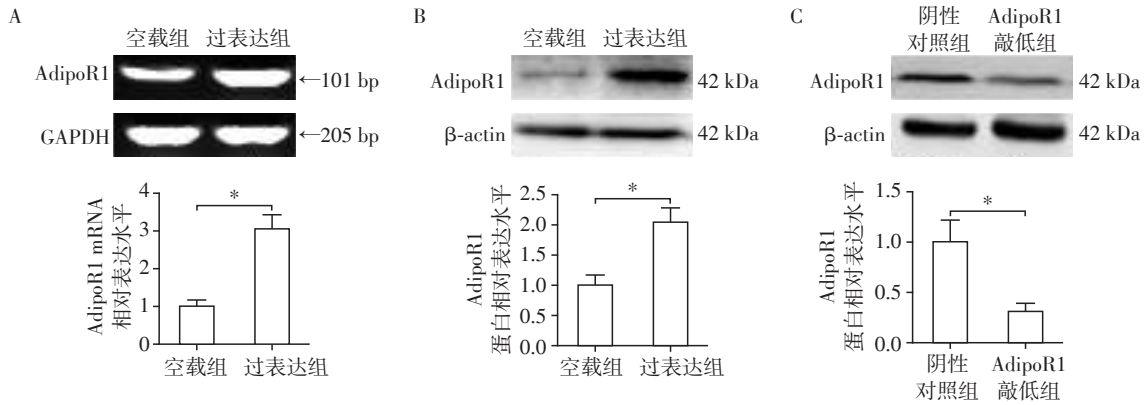
### 2.5 AdipoR1 过表达及 shRNA 干扰敲低 AdipoR1 对 PC9 细胞增殖和迁移活性的影响

与转染空载体的对照组相比, AdipoR1 的过表达对细胞增殖活性的作用有明显影响, 并且在不同时间点的作用明显不同。进一步分析显示, 在 24 h 和 48 h, AdipoR1 过表达细胞的吸光度相对值比对照组显著降低( $P < 0.01$ , 图5A), 且 AdipoR1 过表达细胞的愈合率也比对照组明显降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ , 图5B)。

与阴性对照组相比, AdipoR1 敲低对细胞增殖活性的作用有明显影响, 并且在不同时间点的作用明显不同。在 24 h 和 48 h, AdipoR1 敲低细胞的吸光度值比对照组显著增加( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ , 图5C)。与阴性对照组相比, 敲低 AdipoR1 对细胞划痕愈合能力的作用有明显影响, 在 24 h 和 48 h 均明显增加( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ , 图5D)。

## 3 讨论

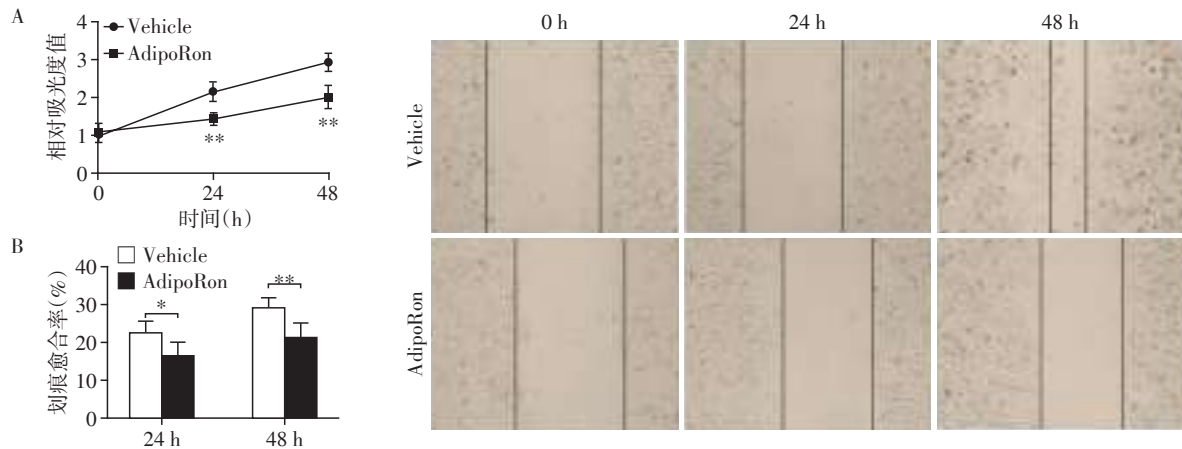
最近研究表明脂肪不仅是一种储存脂滴的惰性组织, 还是一种能产生多种生物活性激素的强大的内分泌器官, 其在机体免疫、稳态及炎症反应中发挥重要作用<sup>[13-14]</sup>。在这些激素中, 脂联素是脂肪组织分泌量较大的一种, 其在体内具有抗炎、抗糖尿病、有氧运动保护等广泛的机体保护作用。恶性



A: AdipoR1 过表达细胞中 AdipoR1 基因的 PCR 产物凝胶电泳图和相对表达量统计图; B: Western blot 检测 AdipoR1 过表达细胞中 AdipoR1 蛋白表达水平; C: Western blot 检测 AdipoR1 敲低细胞中 AdipoR1 蛋白表达水平。两组比较, \* $P < 0.01$  ( $n=6$ )。

图3 AdipoR1 过表达或敲低后 PC9 细胞中 AdipoR1 mRNA 和蛋白的表达水平

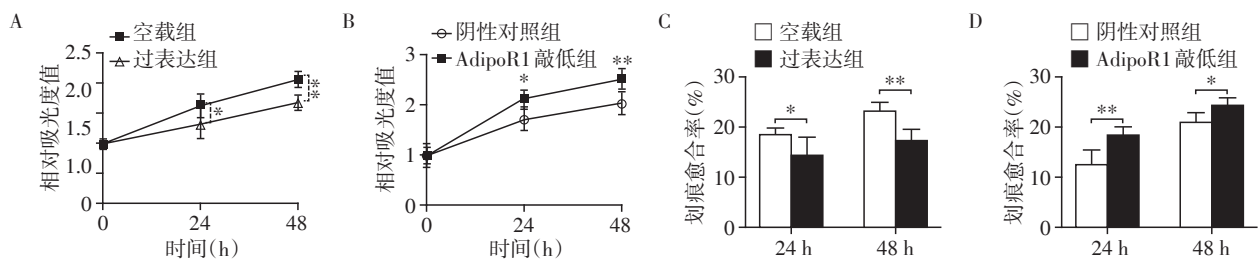
Figure 3 Expression levels of AdipoR1 mRNA and protein in PC9 cell after AdipoR1 over-expression or knockdown



A: CCK8 法检测不同时间点 AdipoRon 对细胞增殖的影响; B: 不同时间点 AdipoRon 对细胞划痕愈合的影响 ( $\times 100$ )。两组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ,  $n=6$ 。

图4 CCK8 法和细胞划痕愈合实验检测 AdipoRon 对 PC9 细胞增殖和迁移活性的抑制作用

Figure 4 Inhibitory effects of AdipoRon on the proliferation and migration activity of PC9 cell were detected by CCK8 assay and cell scratch healing test



A、B: CCK8 法检测不同时间点过表达(A)或敲低(B) AdipoR1 对细胞增殖的影响; C、D: 不同时间点过表达(C)或敲低(D) AdipoR1 对细胞划痕愈合的影响。两组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ,  $n=6$ 。

图5 CCK8 法和划痕愈合实验检测过表达 AdipoR1 或敲低 AdipoR1 对 PC9 细胞增殖和迁移活性的影响

Figure 5 Effects of AdipoR1 over-expression or knockdown on the proliferation and migration activity of PC9 cell were detected by CCK8 assay and scratch healing test

肿瘤是由体细胞突变并逃避机体的监控系统而导致的癌基因激活或抑癌基因失活从而使细胞异常

增殖、分化而产生的。有研究报道脂联素具有抗肿瘤作用,并且血液中脂联素的含量与癌症的发病有

着密切联系<sup>[7,15]</sup>。

有文献报道脂联素在肺癌患者血液中的含量没有显著性变化<sup>[16]</sup>,但是最近也有很多临床研究文献一致报道脂联素在肺癌患者血液中的含量明显降低<sup>[8-9,17]</sup>,说明脂联素与肺癌之间的关系还存在争议,需进一步研究,但是脂联素对肺癌细胞增殖的抑制作用是毋庸置疑的<sup>[10-11]</sup>。脂联素作为一种激素,其发挥生物功能是通过其受体实现的,目前研究较多的受体为 AdipoR1 和 AdipoR2<sup>[5]</sup>。这两种受体的分布及与脂联素的亲和力不同,其所介导的信号通路也不同<sup>[18]</sup>。文献报道脂联素能激活 ERK1/2 和 AKT 通路而抑制肺癌细胞 A549 的增殖和促进细胞凋亡<sup>[19]</sup>。还有文章报道脂联素能通过降低 CREB 的表达而发挥抑制 A549 细胞增殖的作用<sup>[11]</sup>。因此脂联素发挥抗癌作用的机制比较复杂,还需进一步深入研究。本研究发现 AdipoR1 在肺腺癌 PC9 细胞中的表达量显著降低,说明肺癌发生时脂联素信号系统是减弱的,与肺癌患者血液中脂联素含量降低一致。此外文献报道 AdipoR1 的小分子激活物 AdipoRon 具有抑制胰腺癌细胞增殖的作用<sup>[20-21]</sup>。AdipoRon 作为第一种有活性的口服药物,其在肥胖、糖尿病等的临床治疗中发挥重要作用,本研究结果显示 AdipoRon 能显著抑制 PC9 细胞增殖和迁移活性,具有抗肿瘤作用,同时过表达 AdipoR1 能显著抑制肺癌细胞 PC9 的增殖和迁移活性,而敲低 AdipoR1 则能明显促进肺癌细胞 PC9 的增殖和迁移活性,但是其具体作用机制还需进一步研究。此外有文献报道脂联素能上调 AdipoR1 和 AdipoR2 的表达,并通过 AdipoR1 和 AdipoR2 抑制非小细胞肺癌细胞的迁移和侵袭<sup>[12]</sup>,这与我们在肺腺癌上的结果基本一致,说明脂联素和其受体都在肺癌的发病和治疗中发挥重要作用。

综上所述,本研究构建了 AdipoR1 的真核过表达载体,建立了 AdipoR1 过表达的肺癌 PC9 细胞系,并进一步证明 AdipoR1 的小分子化合物激动剂 AdipoRon 能显著抑制 PC9 细胞增殖和迁移活性。同时过表达 AdipoR1 能抑制 PC9 细胞增殖和迁移活性,而 AdipoR1 敲低能促进肺癌细胞 PC9 的增殖和迁移能力。因此,本研究为探究肺癌的致病机制和靶向治疗提供新的理论依据。

#### [参考文献]

- [1] BARTON M K. Human immunodeficiency virus status has no effect on survival in patients with non-small cell lung cancer[J]. *CA Cancer J Clin*, 2013, 63(3): 145-146
- [2] TRUJILLO M E, SCHERER P E. Adiponectin -- journey from an adipocyte secretory protein to biomarker of the metabolic syndrome [J]. *J Intern Med*, 2005, 257(2): 167-175
- [3] YAMAUCHI T, KAMON J, ITO Y, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects [J]. *Nature*, 2003, 423(6941): 762-769
- [4] KADOWAKI T, YAMAUCHI T. Adiponectin and adiponectin receptors [J]. *Endocr Rev*, 2005, 26(3): 439-451
- [5] DE OLIVEIRA C, DE MATTOS A B, SILVA C B, et al. Nutritional and hormonal modulation of adiponectin and its receptors adipoR1 and adipoR2 [J]. *Vitam Horm*, 2012, 90: 57-94
- [6] BROCHU-GAUDREAU K, REHFELDT C, BLOUIN R, et al. Adiponectin action from head to toe [J]. *Endocrine*, 2010, 37(1): 11-32
- [7] OBEID S, HEBBAPD L. Role of adiponectin and its receptors in cancer [J]. *Cancer Biol Med*, 2012, 9(4): 213-220
- [8] PETRIDOU E T, MITSIADES N, GIALAMAS S, et al. Circulating adiponectin levels and expression of adiponectin receptors in relation to lung cancer: two case-control studies [J]. *Oncology*, 2007, 73(3/4): 261-269
- [9] BOURA P, LOUKIDES S, GRAPSA D A, et al. The diverse roles of adiponectin in non-small-cell lung cancer: current data and future perspectives [J]. *Future Oncol*, 2015, 11(15): 2193-2203
- [10] NIGRO E, SCUDIERO O, SARNATARO D, et al. Adiponectin affects lung epithelial A549 cell viability counteracting TNFalpha and IL-1ss toxicity through AdipoR1 [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(6): 1145-1153
- [11] ILLIANO M, NIGRO E, SAPIO L, et al. Adiponectin down-regulates CREB and inhibits proliferation of A549 lung cancer cells [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2017, 45: 114-120
- [12] CUI E, GUO H, SHEN M, et al. Adiponectin inhibits migration and invasion by reversing epithelial-mesenchymal transition in nonsmall cell lung carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(3): 1330-1338
- [13] RAY I, MAHATA S K, DE R K. Obesity: an immunometabolic perspective [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2016, 7: 157
- [14] LUO L P, LIU M L. Adipose tissue in control of metabolism [J]. *J Endocrinol*, 2016, 231(3): R77-R99
- [15] 杨瑞雪, 马向华, 沈捷. 胃肠道肿瘤患者腹内脂肪脂联素的表达及临床意义 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2011, 31(3): 454-456
- [16] KARAPANAGIOTOU E M, TSOCHATZIS E A, DILANA K D, et al. The significance of leptin, adiponectin, and resistin serum levels in non-small cell lung cancer (NSCLC) (下转第 049 页)

胃肠转流术本身不能促进IGF-1的释放,可能胃肠转流术后的某些机制使血糖水平有所改善,促使肝脏对IGF-1的合成和释放。

综上所述,胃肠转流术可以有效治疗大鼠糖尿病,且随着转流大鼠小肠长度的增加,治疗作用更加明显,这可能与胃肠转流术升高GLP-1和IGF-1的合成分泌,促进胰岛素分泌具有密切关系。

[参考文献]

[1] 廖 涌. 中国糖尿病的流行病学现状及展望[J]. 重庆医科大学学报,2015,40(7):1042-1045  
[2] 胡广云,马向华. 双时相门冬胰岛素联合二甲双胍对2型糖尿病患者的疗效和安全性研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2019,39(6):919-921  
[3] 汪润清,钱东福. 农村2型糖尿病患者治疗依从性及影响因素分析[J]. 南京医科大学学报(社会科学版),2018,18(6):447-450  
[4] 嵇加佳,刘 林,楼青青,等. 2型糖尿病患者自我管理行为及血糖控制现状的研究[J]. 中华护理杂志,2014,49(5):617-620  
[5] ERIKSSON S, BACKMAN L, LJUNGSTROM K G. The incidence of clinical postoperative thrombosis after gastric surgery for obesity during 16 years[J]. *Obes Surg*, 1997, 7(4):332-336  
[6] GUARIGUATA L, WHITING D R, HAMBLETON I, et al. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014, 103

(2):137-149

[7] 张 振,宫 轲. 外科治疗糖尿病的主要手术方式及其机制[J]. 首都医科大学学报,2015,36(2):318-323  
[8] 高相楠,高宏凯,张利岩,等. 腹腔镜胃转流术对体质指数28-35 kg/m<sup>2</sup>伴代谢综合症的2型糖尿病患者的疗效研究[J]. 中国全科医学,2015,18(8):906-910  
[9] 闵媛婷,盛德乔. GLP-1与2型糖尿病的研究进展[J]. 生命的化学,2015,35(6):751-756  
[10] 周 玥,何 梅,杨 明,等. GLP-1受体激动剂与DPP-4抑制剂比较治疗2型糖尿病效果的系统评价[J]. 中国循证医学杂志,2014,14(12):1459-1466  
[11] 吴美芬,陈晓铭,武 革,等. 2型糖尿病大鼠胰岛β细胞PDX-1基因表达及GLP-1的干预作用[J]. 实用医学杂志,2014,30(11):1699-1701  
[12] 宋智慧,王 璐,纪立伟,等. GLP-1类似物在2型糖尿病中的临床应用进展[J]. 中国新药杂志,2013,22(5):542-546,555  
[13] PAPAMARGARITIS D, MIRAS A D, LE ROUX C W. Influence of diabetes surgery on gut hormones and incretins[J]. *Nutr Hosp*, 2013, 28(Suppl 2):95-103  
[14] 武银铃,叶小珍,卢 斌,等. 2型糖尿病患者视网膜病变与血清胰岛素样生长因子-1的相关性研究[J]. 医学研究生学报,2014,27(2):163-165  
[15] 张 莉. 血糖控制达标的T2DM血清IGF-1水平与视网膜病变的关系[J]. 实用糖尿病杂志,2016,12(1):31-33

[收稿日期] 2018-11-28

(上接第020页)

[J]. *Lung Cancer*, 2008, 61(3):391-397  
[17] GULEN S T, KARADAG F, KARUL A B, et al. Adipokines and systemic inflammation in weight - losing lung cancer patients[J]. *Lung*, 2012, 190(3):327-332  
[18] BUECHLER C, WANNINGER J, NEUMEIER M. Adiponectin receptor binding proteins - recent advances in elucidating adiponectin signalling pathways[J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(20):4280-4286  
[19] NIGRO E, SCUDIERO O, SARNATARO D, et al. Adiponectin affects lung epithelial A549 cell viability counter-

acting TNF $\alpha$  and IL-1 $\beta$  toxicity through AdipoR1[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(6):1145-1153

[20] AKIMOTO M, MARUYAMA R, KAWABATA Y, et al. Antidiabetic adiponectin receptor agonist AdipoRon suppresses tumour growth of pancreatic cancer by inducing RIPK1/ERK-dependent necroptosis[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(8):804  
[21] OKADA-IWABU M, YAMAUCHI T, IWABU M, et al. A small - molecule AdipoR agonist for type 2 diabetes and short life in obesity[J]. *Nature*, 2013, 503(7477):493-499

[收稿日期] 2019-05-30