

微小 RNA-132 对体内外肝癌细胞侵袭和转移的影响

吴志豪 许远 刘海斌 郑敏

【摘要】 目的 观察微小 RNA-132 (miR-132) 对体内外人肝癌细胞侵袭和转移的影响, 初步探讨其作用机制。方法 实时荧光定量逆转录-聚合酶链反应(实时-qPCR)检测 miR-132 在 4 种肝癌细胞株 (MHCC97H、HCCLYH、MHCC97L 和 SMMC-7721)、人正常肝细胞株 HL-7702 以及 20 例发生转移的肝癌组织和 25 例未发生转移肝癌组织中的表达。采用划痕实验、Transwell 小室实验和经裸鼠尾静脉注射肝癌细胞形成的肝癌肺转移模型检验转染 miR-132 后对体内外肝癌 MHCC97H 细胞侵袭和转移的影响。蛋白印迹检测体外 MHCC97H 细胞中钙黏蛋白 E (E-cadherin)、钙黏蛋白 α (α -cadherin)、波形蛋白 (vimentin)、纤连蛋白 (fibronectin) 和锌指 E 盒结合同源盒蛋白 2 (zinc finger E-boxbinding homeobox protein 2, ZEB2) 蛋白的表达。免疫组织化学法检测肝癌肺转移灶组织中 ZEB2 的表达。结果 miR-132 在 4 种肝癌细胞株中的表达均明显低于人正常肝细胞 ($P < 0.05$), 在伴转移肝癌组织中 miR-132 的表达明显低于未转移肝癌组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在体外实验, 转染组细胞中 miR-132 的表达明显升高, 细胞迁移和侵袭明显抑制, 与对照组相比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。转染组细胞中 E-cadherin 和 α -cadherin 蛋白表达上调, 而 vimentin、fibronectin 和 ZEB2 蛋白的表达下调, 与对照组相比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。在体内实验中, 转染组裸鼠肺转移灶数目明显减少, ZEB2 蛋白表达下调。结论 miR-132 对体内外肝癌细胞侵袭和转移有明显抑制作用, 有望成为肝癌治疗的新靶点。

【关键词】 肝癌; 微小 RNA-132; 转移

In vitro and in vivo studies on the effects of microRNA-132 on invasion and metastasis in human liver cancer cells

Wu Zhihao, Xu Yuan, Liu Haibin, Zheng Min. Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China

Corresponding author: Zheng Min, Email: 164145304@qq.com

【Abstract】 Objective To observe the biological role and the underlying mechanisms of miR-132 in liver cancer on invasion and metastasis. **Methods** Real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) analysis was used to examine the expression of miR-132 in four liver cancer cell lines (MHCC97H, HCCLYH, MHCC97L and SMMC-7721), a normal liver cell line HL-7702, and in liver tumor tissues with or without metastases. The biological effects of miR-132 transfection on human liver cancer cells were assessed by wound assay, matrigel counting and in vivo experiments in nude mice. Western blotting was used to detect the expression of E-cadherin, α -cadherin, vimentin, fibronectin and ZEB2 in liver cancer cells. Immunohistochemistry was used to detect positive expression of ZEB2 in xenograft tumors. **Results** The expressions of miR-132 were downregulated in the four liver cancer cell lines when compared with the normal liver cell line ($P < 0.05$), and in the liver cancer tissues with distant metastases when compared with the tissues without metastases ($P < 0.05$). After transfection, ectopic expressions of miR-132 markedly inhibited cell migration and invasion in liver cancer cells. When compared with the control group, the expressions of E-cadherin and α -cadherin in the miR-132 transfection group were significantly increased, but the expressions of vimentin, fibronectin and ZEB2 were decreased. In addition, the numbers of metastatic lung lesions in nude mice in the miR-132 transfection group was markedly decreased when compared with the control group. The expressions of ZEB2 in the miR-132 transfection group was also significantly decreased when compared with the control group. **Conclusions** Transfection of miR-132 effectively inhibited invasion and metastasis of liver cancer cells in vitro and in vivo. miR-132 may become a new target for regulation of gene expression in liver cancer.

【Key words】 Liver cancer; miRNA-132; Metastasis

DOI:10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2015.08.003

基金项目:浙江省卫生厅资助项目(2012A122)

作者单位:325000 浙江,温州医科大学附属第二医院胃肠外科

通信作者:郑敏,电子信箱:164145304@qq.com

肝癌为消化系统常见恶性肿瘤。复发和转移为影响肝癌患者手术预后的重要因素^[1]。当前,基因治疗逐渐成为恶性肿瘤治疗研究的前沿。微小 RNA(microRNA, miRNAs)是一种内源性非编码小分子 RNA,在组织炎症反应、细胞增殖与凋亡、组织分化以及恶性肿瘤发生和发展等多种病理生理过程中发挥着重要的作用^[2]。其中 miR-132 是当前研究热点之一。miR-132 不仅在结肠癌和胰腺癌等多种恶性肿瘤细胞中表达下调,同时亦与恶性肿瘤的转移有密切关系^[3-4]。因此,miR-132 有可能成为抑制恶性肿瘤的新作用靶点。为进一步明确 miR-132 在调控肝癌转移中的作用,本研究通过转染 miR-132 至肝癌细胞,检测其对体内外肝癌细胞侵袭和转移的影响,探讨了 miR-132 作为治疗肝癌新靶点的价值。

资料与方法

1. 临床资料:45 例肝癌组织标本取自 2006 年 1 月至 2013 年 1 月在我院肝胆外科收治的肝癌患者。其中 20 例发生转移,25 例未发生转移。所有患者均经术后病理检查证实为原发性肝细胞癌,术前均未行放化疗。标本取材后均迅速置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

2. 主要试剂:胎牛血清、RPMI-1640 培养基和含 0.25% EDTA 胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司。人工基底膜购自美国 BD 公司。Transwell 小室购自美国 Corning 公司。BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司。E-cadherin、 α -cadherin、vimentin、fibronectin、ZEB2 和 β -actin 抗体购自美国 Santa Cruz 公司。CyTM3 标记 miRNA-132 mimic 购自锐博生物科技有限公司。SYBR 实时荧光定量试剂盒、Hairpin-itTM miRNAs qPCR 定量工具包、U6 snRNA 实时 PCR 标准化工具包和脂质体 LipofectamineTM 2000 购自美国 Invitrogen 公司。免疫组化 SP 试剂盒购自德国宝灵曼公司。

3. 细胞株和实验动物:人肝癌细胞株 MHCC97H、HCCLYH、MHCC97L 和 SMMC-7721 以及人正常肝细胞株 HL-7702 购自中科院上海细胞库。细胞均于含 10% 胎牛血清、 1×10^5 U/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素的 RPMI-1640 培养液中,在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% 的 CO_2 培养箱内培养,2~3 d 换液 1 次。细胞单层贴壁生长至 70%~80% 融合时胰蛋白酶消化传代。4~6 周龄雌性 BALB/c-nu/nu 品系的裸鼠,体重 18~20 g,购自中科院上海动物实验中心。

动物饲养于温州医学院动物实验中心 SPF 级屏障系统的洁净层流架内,室温控制在 $(25 \pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$,相对湿度为 40%~60%。

4. 实时-qPCR 检测肿瘤组织中 miRNA-132 的表达:用 TRIzol 试剂提取肿瘤组织中的总 RNA,按说明书操作。总 RNA 经紫外分光光度计测定 260 nm 与 280 nm 处光密度比值 (D_{260}/D_{280}) 为 1.9~2.1,琼脂糖凝胶电泳法检测总 RNA 纯度。采用 PrimeScript 逆转录试剂盒进行逆转录,采用 SYBR 实时荧光定量试剂盒进行实时定量 PCR 检测,反应在 25 μl 体系中进行。反应条件:50 $^{\circ}\text{C}$ 下逆转录 30 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min,57 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 7 min。以 U6 小核 RNA 作为内参,miR-132 的相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算。

5. miR-132 转染及分组:将处于对数生长期的 MHCC97H 及 HCCLYH 细胞按 4×10^6 个/孔接种到 6 孔板,每孔 2 ml。细胞贴壁后分两组:(1)对照组:在培养基中加入浓度为 50 nmol/L 的 Lipofectamine 2000;(2)转染组:在培养基中加入浓度为 50 nmol/L 的 CyTM3 标记 miRNA-132 mimic。培养 24 h 后收集细胞,在荧光显微镜下观察转染效率。

6. 实时-qPCR 检测 MHCC97H/HCCLYH 细胞中 miR-132 的表达:转染 48 h 后收集细胞,用 TRIzol 试剂提取细胞总 RNA 并检测 RNA 的完整性和纯度。按照 Hairpin-itTM miRNAs qPCR Quantitation Kit 说明书进行操作。以 U6 小核 RNA 作为内参,miR-132 的相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算。

7. 细胞体外迁移实验:将转染后培养 24 h 的 MHCC97H/HCCLYH 细胞,制成单细胞悬液,以每孔 6×10^4 个细胞接种到 6 孔板,每孔 200 μl 。待细胞长满底面后,用 200 μl 枪头小心刮出 $2\text{ mm} \times 2\text{ cm}$ 刮痕。PBS 冲洗 2 次,显微镜下观察刮痕内无细胞残留后置于培养箱继续培养 24 h。最后显微镜下观察并计算各组细胞的划痕修复率。实验重复 3 次,取平均值。

划痕修复率(%) = $[(0\text{ h 划痕宽度} - 24\text{ h 划痕宽度}) / 0\text{ h 划痕宽度}] \times 100\%$ 。

8. 细胞体外侵袭实验:Transwell 小室实验参考 Yi^[5]的方法。将 1×10^4 个 MHCC97H/HCCLYH 细胞加入上室,下层加 300 μl 含 20% 胎牛血清的培养基。每组设 5 个复孔,培养 24 h 后经结晶紫染色后取出滤膜,计数膜背面的细胞数。随机计数 20 个视野,计算平均值,每组重复 3 次。

9. 蛋白印迹检测蛋白表达:收集转染 miR-132

的 MHCC97H 细胞,裂解细胞并分离细胞蛋白质。用 Bradford 法测量蛋白浓度后取等量蛋白质样品 (20 μg/孔),常规 8% SDS-PAGE 电泳,半干转膜仪转膜,5% 脱脂奶粉封闭。加入特异性一抗 (1: 1 000) 于 4 °C 下孵育过夜,HRP 标记的羊抗兔 IgG 为第二抗体 (1: 2 500) 室温孵育 1 h。ECL 显色,条带暴光强度用 Quantity One 4.6.2 (BIO, RAD) 软件分析。以 β-actin 为内参,通过与内参的灰度比,得出目的条带的相对表达水平。

10. miR-132 对裸鼠肝癌肺转移的影响:取对数生长期的对照组和转染组 MHCC97H 细胞,用无血清的 RPMI-1640 培养基调整细胞密度为 2×10^7 /ml。将 10 只裸鼠随机分成对照组和转染组,每组 5 只。每只对照组裸鼠经尾静脉注射 1 ml 对照组 MHCC97H 细胞悬液,转染组裸鼠经尾静脉注射 1 ml 转染组 MHCC97H 细胞悬液。实验第 4 周时处死裸鼠,裸眼检查裸鼠肺脏表面转移性结节后经 HE 染色在显微镜下观察。

11. 免疫组织化学法检测 ZEB2 的表达:按照 Envision 法的操作步骤进行免疫组化实验。每组标本经正常羊血清封闭非特异性抗原。加入一抗孵育过夜后,加入生物素标记的二抗,DAB 显色,苏木精复染,脱水后封片。低倍镜 (× 100) 下随机选择 20 个视野,图片结果用 Image-Pro Plus 6.0 图像处理软件分析 ZEB2 的阳性表达强度。

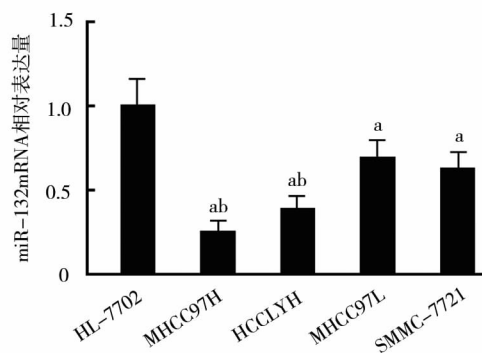
12. 统计学处理:采用 SPSS 17.0 统计学软件。计量资料以数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。正态分布变量多组间比较用方差分析,两组间比较用 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. miR-132 在 4 种肝癌细胞株及正常肝细胞中表达:实时荧光定量 PCR 结果表明,miR-132 在 4 种肝癌细胞株 (MHCC97H、HCCLYH、MHCC97L 和 SMMC-7721) 中的表达均明显低于人正常肝细胞株 HL-7702 ($P < 0.05$,图 1)。在 4 种肝癌细胞株中,miR-132 在 MHCC97H 细胞中的表达最低,在 MHCC97L 细胞中的表达最高。MHCC97H 细胞组与 MHCC97L 细胞组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2. miR-132 在肝癌组织中的表达:对 20 例发生转移和 25 例未发生转移的肝癌组织进行实时荧光定量 PCR 检测表明,miR-132 在发生转移的肝癌组织中的表达明显低于未发生转移的肝癌组织

(0.24 ± 0.04 比 0.54 ± 0.07 ; $P < 0.05$)。以 miR-132 在 45 例肝癌组织中的平均表达量 (0.34 ± 0.05) 作为中位数,将 45 例患者分为 miR-132 低表达组和高表达组。然后,再将 45 例肝癌患者依据性别、年龄、肿瘤大小、包膜侵犯与否、肝内转移与否、门脉侵犯与否、TNM 分期进行分组,分析 miR-132 与肝癌临床病理特征的关系。如表 1 所见,miR-132 的低表达与肝癌包膜侵犯、肝内转移、门脉侵犯和 TNM 分期相关 ($P < 0.05$),而与肿瘤患者年龄和性别无关 ($P > 0.05$)。



^a 与 HL-7702 细胞组比较, $P < 0.05$; ^b 与 MHCC97L 细胞组比较, $P < 0.05$

图 1 miRNA-132 在肝正常细胞及不同肝癌细胞株中的表达

表 1 miRNA-132 表达与肝癌临床病理特征的关系

指标	例数	miR-132		P 值
		低表达	高表达	
性别				>0.05
男	21	13	8	
女	24	10	14	
年龄 (岁)				>0.05
≤60	19	12	7	
>60	26	11	15	
肿瘤大小 (cm)				<0.05
<5	14	4	10	
≥5	31	19	12	
包膜侵犯				<0.05
是	18	13	5	
否	27	10	17	
肝内转移				<0.05
是	20	14	6	
否	25	9	16	
门静脉侵犯				<0.05
是	12	10	2	
否	33	13	20	
TNM 分期				<0.05
T ₁ -T ₂	13	3	10	
T ₃ -T ₄	32	20	12	

3. 各组 MHCC97H/HCCLYH 细胞中 miR-132 的表达: MHCC97H 细胞经转染 CyTM 3 标记的 miRNA-132 mimic 后, miRNA-132 的相对表达量为 3.45 ± 0.67 , 与对照组 (0.84 ± 0.13) 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在 HCCLYH 细胞中, 转染组和对照组中 miRNA-132 的相对表达量分别为 (2.68 ± 0.42) 和 (0.51 ± 0.12), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

4. 转染 miR-132 对 MHCC97H/HCCLYH 细胞迁移和侵袭的影响: 分析显示转染 miRNA-132 对 MHCC97H 细胞和 HCCLYH 细胞迁移和侵袭均有明显抑制作用, 如图 2A 所示。在 MHCC97H 细胞中, 转染组划痕修复率为 (24.3 ± 3.6)%, 明显低于对照组 (78.1 ± 6.8)%, 两组差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在侵袭实验中, 对照组和转染组侵袭出人工基底膜的细胞数分别为 (73.7 ± 13.8)/高倍镜和 (23.2 ± 5.6)/高倍镜, 转染组与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 2B)。在 HCCLYH 细胞中, 转染组和对照组的划痕修复率分别为 (15.6 ± 2.5)%, 明显低于对照组 (64.8 ± 4.2)%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 2C)。在细胞体外侵袭实验, 转染组和对照组侵袭细胞数分别为 (35.8 ± 5.3)/高倍镜和 (5.4 ± 1.3)/高倍镜, 差异亦有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 2D)。

5. 转染 miR-132 对 MHCC97H 细胞中蛋白表达的影响: 如图 3 所示, 蛋白印迹法检测结果表明, 与对照组比较, 转染组 E-cadherin 和 α -cadherin 蛋白表达上调, 而 vimentin、fibronectin 和 ZEB2 蛋白的表达下调, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

6. 转染 miR-132 后对裸鼠肝癌肺转移的影响: 裸鼠经尾静脉注射肿瘤细胞后, 裸鼠继续饲养至第 4 周, 实验动物均未出现死亡。实验结束后处死裸鼠, 检查裸鼠肺脏表面转移性结节并计数, 动物模型成瘤率为 100%。对照组裸鼠肺转移灶数目为 14.3 ± 3.6 , 明显高于转染组 (6.6 ± 1.7), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。转移性结节经 HE 染色在显微镜下观察证实均为转移性腺癌(图 4)。

7. 转染 miR-132 对裸鼠肝癌肺转移灶中 ZEB2 蛋白表达的影响: 如图 5 所示, 免疫组化检测以 ZEB2 染色阳性细胞为判定标准 (胞浆染成棕褐色, 胞核和胞膜不着色), 对照组中 ZEB2 阳性表达强度较高, 而转染组肿瘤细胞中 ZEB2 的阳性表达强度明显低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

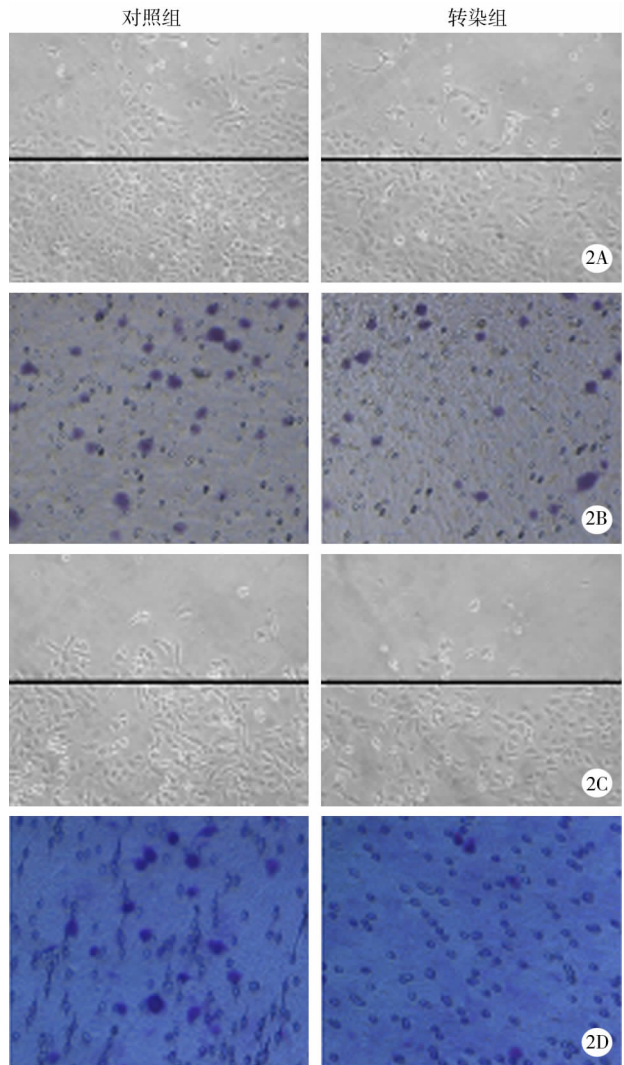


图 2 倒置显微镜下观察转染 miRNA-132 后对 MHCC97H 细胞 (2A, 2B) 和 HCCLYH 细胞 (2C, 2D) 迁移和侵袭的影响 ($\times 200$)

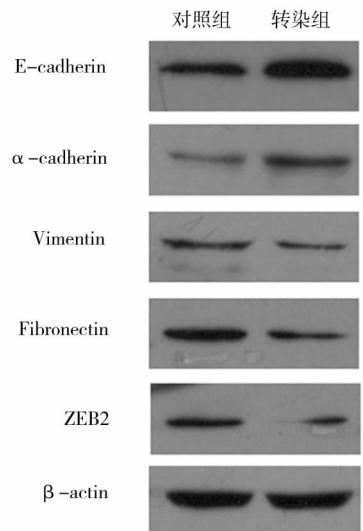


图 3 蛋白印迹法检测转染 miR-132 对肝癌 MHCC97H 细胞中钙黏蛋白 E (E-cadherin)、钙黏蛋白 α (α -cadherin)、波形蛋白 (vimentin)、纤连蛋白 (fibronectin) 和锌指 E 盒结合同源盒蛋白 2 (ZEB2) 蛋白表达的影响 (β -actin 为内参)

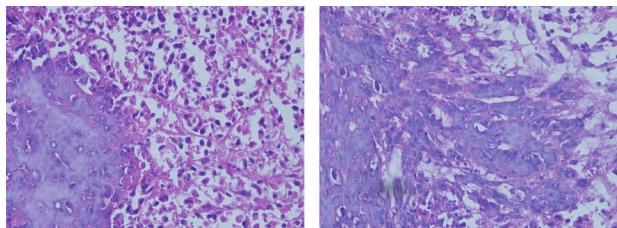


图 4 裸鼠肺转移灶的病理切片 (HE ×400)

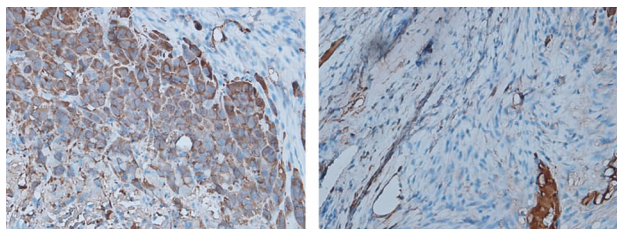


图 5 免疫组化检测转染 miR-132 对裸鼠肝癌肺转移灶中 ZEB2 表达的影响 (×400)

讨 论

miRNAs 是一类非编码小分子 RNA。miRNAs 可通过特异性识别靶基因 mRNA 的 3' 端非编码区位点而抑制蛋白翻译或诱导 mRNA 的降解,从而在转录后水平调控基因表达^[2]。近年来研究表明 miRNAs 与恶性肿瘤的发生发展和转移过程关系密切^[6]。miR-21 和 miR-31 能增强恶性肿瘤细胞对 5-FU 的敏感性^[7], miR-28 能抑制恶性肿瘤细胞转移^[8]。miR-132 为目前比较公认的抑癌性 miRNA。研究表明 miR-132 在结肠癌、胰腺癌和肺癌等多种恶性肿瘤中表达降低^[3,4,9]。miR-132 不仅可以调控恶性肿瘤细胞凋亡^[3,4],同时在抑制恶性肿瘤细胞转移方面亦发挥了重要作用^[9]。因此,miRNA-132 有望成为治疗恶性肿瘤转移中新的分子靶点。然而,miR-132 对肝癌细胞转移的作用及作用机制尚未见报道。为此,本研究首先比较了 miR-132 在 4 种肝癌细胞株和肝正常细胞中的表达。结果表明 miR-132 在肝癌细胞中的表达显著降低,同时 miR-132 在高转移性肝癌细胞株 MHCC97H 和 HCCLYH 中表达更低,而在低转移性肝癌细胞株 MHCC97L 中表达相对较高。这表明 miR-132 可能与肝癌转移性相关。因此在后续实验中,我们选择高转移性肝癌细胞株 (MHCC97H) 和 (HCCLYH) 作为实验对象。另外,本研究比较了 miR-132 在 20 例发生转移和 25 例未发生转移的肝癌组织中的表达差异。结果表明 miR-132 在伴转移肝癌组织中的表达明显降低。进一步分析 miR-132 与肝癌病理学特征的关系显示,miR-132 的低表达与肝癌包膜侵犯、肝内转移、门脉侵犯和 TNM 分期密切相关,与体外细胞株实验结果

相吻合,从而证实 miR-132 与肝癌侵袭和转移关系密切。

肿瘤转移是多基因和多因素共同参与的过程。肿瘤细胞穿过细胞外基质是肿瘤细胞发生转移的重要环节。为进一步研究 miR-132 在肝癌细胞转移行为中的作用,本研究将 miRNA-132 mimic 转染至肝癌 MHCC97H 细胞和 HCCLYH 细胞。结果转染组细胞中 miRNA-132 的表达显著上调,表明细胞转染 miRNA-132 成功。研究显示在体外实验中,转染 miRNA-132 对 MHCC97H 细胞和 HCCLYH 细胞的迁移活动和侵袭行为有明显抑制作用。在体内实验,笔者采用经裸鼠尾静脉注射肿瘤细胞形成的肝癌肺转移模型,进行 miR-132 抗体内肝癌转移作用的研究。结果表明转染 miR-132 后肝癌肺转移灶数目明显减少,体内实验结果与体外实验结果相一致,从而首次表明 miR-132 在肝癌侵袭和转移过程中发挥重要作用。

恶性肿瘤的侵袭和转移是由多种分子信号通路促成,这些调控分子在推动恶性肿瘤转移过程中发挥了关键作用。既往研究报道表明,E-cadherin 和 α -cadherin 蛋白在恶性肿瘤组织中表达下调甚至缺失,而 vimentin 和 fibronectin 在肿瘤组织中表达上调,同时 E-cadherin、 α -cadherin、vimentin 和 fibronectin 在恶性肿瘤复发和转移过程中发挥重要调控作用^[10]。而 ZEB2 蛋白则可与 E-cadherin 编码基因启动子上的 E2 盒相结合,从而抑制 E-cadherin 的转录。另外,ZEB2 还可调控肿瘤细胞中 α -cadherin、vimentin 和 fibronectin 蛋白的表达,从而增强肿瘤细胞侵袭和转移能力^[3]。在本研究,转染 miR-132 后体外肝癌细胞中 E-cadherin 和 α -cadherin 蛋白表达上调,而 vimentin、fibronectin 和 ZEB2 蛋白的表达下调。另外在体内实验,转染 miR-132 还可下调肝癌肺转移灶组织中 ZEB2 蛋白的表达,从而与体外实验结果相契合。本研究首次表明 ZEB2 及其调控基因可能作为 miR-132 调控的靶基因,使得 miR-132 在抑制肝癌细胞侵袭和转移中发挥了一定的作用。

综上所述,本次实验结果首次表明转染 miR-132 后可显著抑制体内外肝癌细胞侵袭和转移。其作用机制可能为 miR-132 通过调控 ZEB2 及其调控基因的表达有关。本研究为临床肝癌基因治疗提供一个新的作用靶点,但仍需进一步深入研究 miR-132 抗肿瘤转移效应的具体机制。

参 考 文 献

[1] 常磊,袁玉峰,郭涛,等. 波形蛋白、E-钙黏蛋白在原发性肝

癌上皮间质转化过程中的表达及其意义[J]. 中华肝胆外科杂志, 2015, 21(1):9-13.

[2] Wu R, Li F, Zhu J, et al. A functional variant at miR-132-3p, miR-212-3p, and miR-361-5p binding site in CD80 gene alters susceptibility to gastric cancer in a Chinese Han population[J]. Med Oncol, 2014, 31(8):60.

[3] Zheng YB, Luo HP, Shi Q, et al. miR-132 inhibits colorectal cancer invasion and metastasis via directly targeting ZEB2[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(21):6515-6522.

[4] Zhang S, Hao J, Xie F, et al. Downregulation of miR-132 by promoter methylation contributes to pancreatic cancer development[J]. Carcinogenesis, 2011, 32(8):1183-1189.

[5] Yi T, Cho SG, Yi Z, et al. Thymoquinone inhibits tumor angiogenesis and tumor growth through suppressing AKT and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways[J]. Mol Cancer Ther, 2008, 7(7):1789-1796.

[6] Hao Z, Yang J, Wang C, et al. MicroRNA-7 inhibits metastasis and invasion through targeting focal adhesion kinase in cervical

cancer[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(1):480-487.

[7] Boni V, Bitarte N, Cristobal I, et al. miR-192/miR-215 influence 5-fluorouracil resistance through cell cycle-mediated mechanisms complementary to its post-transcriptional thymidilate synthase regulation[J]. Mol Cancer Ther, 2010, 9(8):2265-2275.

[8] Almeida MI, Nicoloso MS, Zeng L, et al. Strand-specific miR-28-5p and miR-28-3p have distinct effects in colorectal cancer cells[J]. Gastroenterology, 2012, 142(4):886-896.

[9] You J, Li Y, Fang N, et al. MiR-132 suppresses the migration and invasion of lung cancer cells via targeting the EMT regulator ZEB2[J]. PLoS One, 2014, 9(3):e91827.

[10] Yun JA, Kim SH, Hong HK, et al. Loss of E-cadherin expression is associated with a poor prognosis in stage III colorectal cancer[J]. Oncology, 2014, 86(5-6):318-328.

[11] 汪泉. ZEB2、E-cad 在鳞状宫颈癌细胞表达与疾病分期的关系[J]. 上海医药, 2014, 21(49-51):57.

(收稿日期:2015-03-26)

• 病例报告 •

肝脏原发性 Rosai-Dorfman 病一例并文献复习

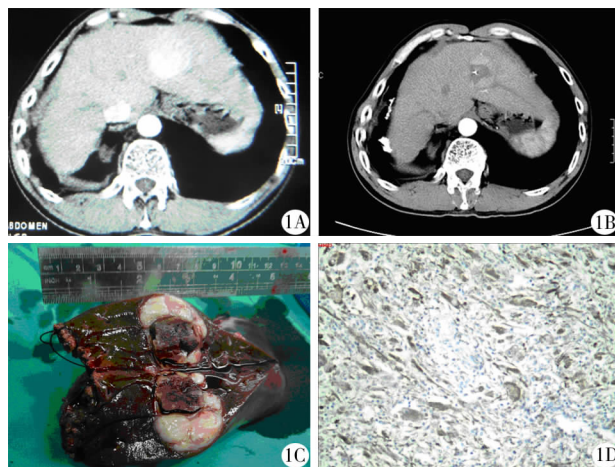
邓斐文 胡健垣 张良运 陈焕伟

Rosai-Dorfman 病是一种特发性伴巨大淋巴结的窦组织细胞增生症。该病发生于淋巴结外者少见,发生在肝脏的罕见。本中心最近收治 1 例肝脏原发性 Rosai-Dorfman 病,手术治疗效果良好,报道如下。

患者,男,50 岁。因“发现肝脏占位 2 个月余”于 2014 年 11 月 17 日入院。12 年前因“胃癌”在当地医院行胃癌根治术,术后未行化疗。否认乙型病毒性肝炎、饮酒等肝病病史。入院查体未见明显阳性体征。

患者 2 个多月前在外院行上腹部 CT 检查提示左肝实性占位,考虑肝癌(图 1A)。乙肝标志物及 AFP、CEA 结果均正常。于 2014 年 9 月 18 日在外院行左肝肿瘤微波消融治疗。术后 1 个月复查 CT 提示左肝肿瘤部分存活,为进一步诊治收住我科。我院上腹部 CT 检查提示肿瘤残留或复发可能(图 1B)。于 2014 年 11 月 25 日行左半肝切除术(图 1C),术后恢复顺利出院。

我院病理科诊断意见为肝原发性 Rosai-Dorfman 病(图 1D)免疫组化 S-100(+), Vim(+), 余均阴性。中山大学附属肿瘤医院会诊意见也考虑为肝脏 Rosai-Dorfman 病。现术后随访 2 个月余,患者一般情况良好,无肿瘤复发。



1A:微波射频治疗前上腹部 CT 结果,动脉期病灶明显强化;1B:上腹部 CT 动脉期结果,动脉期边缘强化;1C:左半肝外叶切除标本图片,见左肝肿瘤周边质硬,肿瘤中央坏死灶,包膜完整,切缘距肿瘤边缘约 4 cm;1D:S-100 免疫组化的结果,胞浆染色阳性(×100)

图 1 患者男,50 岁,诊断:肝脏原发性 Rosai-Dorfman 病

讨论 Rosai-Dorfman 病于 1969 年首先被 Rosai 和 Dorfman 报道。该病发生于淋巴结外者少见,多为个案报道。根据报道该病可发生于中枢神经系统^[1]、眼眶^[2]、鼻^[3]、上呼

(下转第 533 页)