

DOI:10.16781/j.0258-879x.2017.08.1034

Pokemon 基因表达与胃癌耐药性的关系

贾楠, 李勇*, 范立侨, 檀碧波, 刘羽, 张志栋

河北医科大学第四医院外三科, 石家庄 050011

[摘要] **目的** 探讨 *pokemon* 基因表达与胃癌细胞药敏性及耐药基因的关系。**方法** 取 60 例胃癌组织和癌旁组织石蜡标本, 采用免疫组化技术检测组织中 *pokemon* 蛋白及耐药相关蛋白 P-糖蛋白(P-gp)、多药耐药相关蛋白1(MRP1)、肺耐药蛋白(LRP)、生存素(survivin)的表达, 并分析 *pokemon* 蛋白与其他 4 种蛋白的关系。采用磺酰罗丹明 B(SRB) 蛋白染色法检测 5-氟尿嘧啶(5-FU)、顺铂(DDP)、奥沙利铂(L-OHP)对胃癌细胞株 SGC7901、胃癌耐药细胞株 SGC7901/ADR、胃上皮细胞株 GES-1 的抑制作用; qPCR 及蛋白质印迹法检测上述 3 种细胞株中 *pokemon* 和耐药基因的表达。合成针对 *pokemon* 的 siRNA 并转染 SGC7901/ADR 细胞, 检测转染前后 SGC7901/ADR 细胞的化疗药敏性及耐药基因的变化。**结果** 胃癌组织中 *pokemon*、P-gp、MRP1、LRP、survivin 蛋白的阳性表达率均高于癌旁组织 ($P < 0.05$); *pokemon* 蛋白表达与 P-gp、survivin 蛋白表达间存在正相关关系 ($r = 0.3852$, $P = 0.002$; $r = 0.3424$, $P = 0.007$)。Pokemon、P-gp、MRP1、survivin 蛋白在 SGC7901/ADR 细胞株中的表达高于细胞株 SGC7901 及 GES-1; SGC7901/ADR 细胞株的耐药性最强, SGC7901 次之, GES-1 最弱 ($P < 0.01$)。Pokemon-siRNA 转染 SGC7901/ADR 细胞后细胞中 *pokemon* mRNA 的表达明显受到抑制; 转染后化疗药物对细胞的抑制能力增强, P-gp、survivin 表达减弱 ($P < 0.05$)。**结论** Pokemon 与 P-gp、survivin 通过相互调控而促进胃癌耐药性的形成。Pokemon 可能成为胃癌靶向治疗的候选基因。

[关键词] 胃肿瘤; *pokemon*; 药物敏感性; 多药耐药相关蛋白质类

[中图分类号] R 735.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2017)08-1034-06

Relationship between *pokemon* gene expression and drug resistance of gastric carcinoma

JIA Nan, LI Yong*, FAN Li-qiao, TAN Bi-bo, LIU Yu, ZHANG Zhi-dong

Department of General Surgery (III), Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China

[Abstract] **Objective** To explore the relationship of *pokemon* gene expression and drug sensitivity and drug resistance gene in gastric cancer cells. **Methods** We collected the paraffin specimen of gastric cancer and para-carcinoma tissues from 60 patients with gastric cancer, detected the protein expressions of *pokemon*, drug resistance-associated protein P-glycoprotein (P-gp), multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1), lung resistance protein (LRP) and survivin with immunohistochemistry (IHC) and analyzed the relationship between *pokemon* protein and other 4 proteins. Sulphorhodamine B (SRB) protein staining assay was performed to detect the inhibition effect of 5-fluorouracil (5-FU), cisplatin (DDP) and oxaliplatin (L-OHP) on gastric cancer cell line SGC7901, multidrug-resistant gastric carcinoma cell line SGC7901/ADR and gastric epithelial cell line GES-1, and qPCR and Western blotting were used to test expression of *pokemon* and drug resistance genes in the cells. Pokemon-siRNA was established and transfected into SGC7901/ADR cells, and the drug sensitivity and drug resistance genes were analyzed. **Results** Positive rates of *pokemon*, P-gp, MRP1, LRP and survivin proteins were significantly higher in gastric cancer tissues than those in para-carcinoma tissues ($P < 0.05$). The protein expression of *pokemon* was positively correlated with P-gp and survivin ($r = 0.3852$, $P = 0.002$; $r = 0.3424$, $P = 0.007$). Protein expressions of *pokemon*, P-gp, MRP1, and survivin were higher in SGC7901/ADR cells than those in SGC7901 and GES-1 cells. The drug resistance of SGC7901/ADR cells was the strongest, followed

[收稿日期] 2017-02-31 **[接受日期]** 2017-06-11

[基金项目] 国家自然科学基金(81372580), 河北省自然科学基金(H2016206173), 河北省卫生和计划生育委员会重点科技研究计划项目(20150352)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81372580), Natural Science Foundation of Hebei Province (H2016206173), and Key Program of Science and Technology Research of Health and Family Planning Commission of Hebei (20150352).

[作者简介] 贾楠, 硕士, 主治医师。E-mail: 13582341768@163.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 0311-86095678, E-mail: li_yong_hbth@126.com

by SGC7901, and that of GES-1 was the weakest ($P < 0.01$). After SGC7901/ADR cells was transfected with pokemon-siRNA, pokemon mRNA expression was significantly inhibited, mRNA and protein expressions of P-gp and survivin were decreased and the inhibitory effect of chemotherapy agents on SGC7901/ADR cells was increased ($P < 0.05$).

Conclusion The pokemon is involved in drug resistance of gastric cancer by mutual regulation with P-gp and survivin, and pokemon may be a candidate gene for gastric cancer targeted treatment.

[Key words] stomach neoplasms; pokemon; drug sensitivity; multidrug resistance-associated protein

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2017, 38(8): 1034-1039]

胃癌的治疗措施主要包括手术、化疗及靶向治疗。化疗是胃癌综合治疗中的重要治疗措施,但由于胃癌细胞对于化疗药物多存在较为明显的抵抗能力,即多药耐药性(multidrug resistance, MDR),常导致化疗失败^[1-2],造成患者肿瘤复发或转移。阐明胃癌细胞耐药抵抗的机制并实现耐药性逆转对于改善胃癌治疗效果有重要意义。但迄今胃癌MDR的机制还不完全明确,对胃癌MDR的逆转也没有实现。研究发现 pokemon 与肿瘤的侵袭、转移、凋亡有关^[3-4],也与肿瘤的耐药形成有关^[5]。为了解 pokemon 在胃癌耐药形成中的作用,本研究检测了胃癌及癌旁组织中 pokemon 蛋白及耐药相关蛋白 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)、多药耐药相关蛋白 1(multidrug resistance-associated protein 1, MRP1)、肺耐药蛋白(lung resistance protein, LRP)、生存素(survivin)的表达,对胃癌细胞的体外药敏性进行了检测,分析了 pokemon 与胃癌耐药性的关系,并进一步应用 RNA 干扰技术抑制人胃癌耐药细胞株 SGC7901/耐阿霉素(adriamycin, ADR)中 pokemon 表达,检测了转染前后胃癌细胞耐药性的变化,以期探讨 pokemon 在胃癌耐药形成中的作用机制提供依据。

1 材料和方法

1.1 临床标本来源 入组患者为 2013 年 1 月至 2014 年 12 月在河北医科大学第四医院外三科确诊并行手术切除的胃癌患者 60 例。其中男 42 例、女 18 例;年龄 36~80 岁,平均(57.54±9.73)岁,患者术前均未接受过放化疗。每例均于术中取胃癌及癌旁组织(距肿瘤边缘大于 3 cm,术后证实无肿瘤细胞存在)标本各 1 块,每块大小约 1 cm×0.5 cm×0.5 cm。标本分为 2 份,一份置于-80℃保存用于胃癌细胞体外药敏性检测;另一份置于 4%多聚甲醛溶液中固定,制备石蜡标本用于免疫组化检测。本研

究经河北医科大学第四医院伦理委员会审核批准,入组患者均签署知情同意文件。

1.2 细胞株及主要试剂 人胃癌细胞株 SGC7901 由本院科研中心保种并传代,胃癌耐药细胞株 SGC7901/ADR 由第四军医大学消化病研究所樊代明院士惠赠,胃上皮细胞株 GES-1 购自中国科学院上海细胞研究所。磺酰罗丹明 B(sulforhodamine B, SRB)为美国 Sigma 公司产品。Lipofectamine™ 2000 转染试剂盒为美国 Invitrogen 公司产品;实时定量 PCR(qPCR)试剂盒为美国 Promega 公司产品;目的基因的 PCR 引物、小干扰 RNA 由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。Pokemon、P-gp、MRP1、LRP、survivin 及内参 GAPDH 抗体均为美国 Santa Cruz 公司产品,免疫组化试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 细胞培养 细胞 SGC7901 及 SGC7901/ADR 复苏后置入含 10%胎牛血清及双抗的 RPMI 1640 培养液中常规培养、传代,待细胞处于对数生长期时进行实验。其中 SGC7901/ADR 细胞培养时加入 0.5 μg/mL 的 ADR 维持其耐药表型,在实验前 1 周停止添加 ADR。

1.4 免疫组化染色检测胃癌及癌旁组织中目的蛋白的表达 石蜡标本进行连续 4 μm 切片,切片在 60℃恒温箱中烘烤 20 min 后脱蜡水化,3% H₂O₂ 孵育 10 min 后用蒸馏水冲洗、PBS 浸泡后抗原修复。染色步骤严格按免疫组化试剂盒说明书操作。每张切片在高倍(400 倍)视野下计数,每片随机取 5 个镜下视野,每视野计数 100 个细胞,计数阳性细胞并计算阳性细胞率。Pokemon、P-gp、MRP1、LRP、survivin 蛋白的阳性表现为在细胞核或细胞质内出现黄色或棕色颗粒。结果计分标准:细胞内阳性细胞数<10%记为阴性(-),10%~50%记为弱阳性(+),>50%记为强阳性(++)。

1.5 SRB 蛋白染色法检测胃细胞株的化疗敏

感性 各细胞株以 5×10^4 /mL 密度接种于 96 孔板, 每组设 3 个复孔。待细胞贴壁后分别加入胃癌常用化疗药物 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)、顺铂(cisplatin, DDP)、奥沙利铂(oxaliplatin, L-OHP), 药物浓度为血药峰值浓度^[6]。继续培养 48 h。培养结束后每孔加入预冷的 50% 三氯醋酸(TCA) 50 μ L, 4 $^{\circ}$ C 放置 1 h。倒掉固定液, 超纯水清洗 5 次, 干燥后每孔加入 100 μ L SRB, 室温避光 10 min。弃去 SRB, 用 1% 醋酸液漂洗、干燥, 用非缓冲 Tris 碱液(pH 10.5) 溶解结合的 SRB, 在酶标仪 545 nm 处测定光密度(D) 值(代表细胞活性), 计算抑制率。

1.6 qPCR 检测目的基因 mRNA 的表达 提取细胞总 RNA, 反转录合成 cDNA。按 PCR 试剂盒操作说明建立 PCR 反应体系, 经过变性、退火、延伸反应, 共 45 个循环, 对目的基因的 mRNA 进行检测。各基因引物序列如下: *pokemon*, F 5'-CTG CTG CAA GAC CTC GTC-3', R 5'-CGT CCT CGT CCT TAA AGT GCT-3'; *MDR1* (P-gp 编码基因), F 5'-GTG GGG CAA GTC AGT TCA TT-3', R 5'-TCT TCA CCT CCA GGC TCA GT-3'; *MRP1*, F 5'-CAG CCC TTC CTG ACA TA-3', R 5'-GTG GCC TCA TCC AAC AC-3'; *LRP*, F 5'-ACC AAC CCT GAC GAC AGA AG-3', R 5'-CAT GTC TCC CGA TCT CTG GT-3'; *survivin*, F 5'-GCC AGA TTT GAA TCG CGG GA-3', R 5'-GCA GTG GAT GAA GCC AGC CT-3'; *GAPDH*, F 5'-GAC CCC TTC ATT GAC CTC AAC-3', R 5'-CGC TCC TGG AAG ATG GTG AT-3'。PCR 结果经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测鉴定, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 mRNA 表达量, 以所得数据代表目的基因 mRNA 的相对表达强度。

1.7 *Pokemon* 特异性小干扰 RNA (*pokemon*-siRNA) 的合成及转染 *Pokemon*-siRNA 序列参考文献[7]设计, 序列为 5'-GCC AGG AGA AGC ACT TTA A-3', 无关对照 siRNA (non-specific control siRNA, NS-siRNA) 序列为 5'-CCC UUC UCU GUU UGU AAA GAG ACA U-3'。使用 LipofectamineTM 2000 采用脂质体介导法转染, 按照说明书将 *pokemon*-siRNA 或 NS-siRNA 转染 SGC7901/ADR 细胞株, 检测转染效果。

1.8 蛋白质印迹法检测各目的蛋白表达 提取各样品总蛋白, Bradford 法定量蛋白, 取 60 μ g 蛋白上

样, 行 12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE) 分离, 电转移至聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜, 用 TBST 配制的 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 分别用加入各目的蛋白的一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。TBST 漂洗后加相应辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 1 h, 化学发光法显色, 测定蛋白条带的积分光密度值, 以目的蛋白与内参积分光密度值的比值代表蛋白表达相对强度。

1.9 统计学处理 应用 SPSS 16.0 软件对实验结果进行分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 χ^2 检验比较胃癌组织与癌旁组织中各蛋白的表达情况; Spearman 相关分析计算胃癌组织中各蛋白之间的关系; 不同细胞对化疗药物的药敏性、siRNA 转染对 *pokemon* 及耐药基因表达的影响采用单因素方差分析(ANOVA), 组间两两比较采用 SNK 检验。检验水准(α) 为 0.05。

2 结果

2.1 胃癌与癌旁组织中目的蛋白的表达 免疫组化染色结果见图 1。胃癌组织中 *pokemon*、P-gp、MRP1、LRP、survivin 蛋白的阳性表达率分别为 81.67% (49/60)、83.33% (50/60)、73.33% (44/60)、58.33% (35/60)、68.33% (41/60), 而癌旁组织中上述蛋白的阳性表达率分别为 38.33% (23/60)、35.00% (21/60)、36.67% (22/60)、21.67% (13/60)、45.00% (27/60)。胃癌组织中 *pokemon*、P-gp、MRP1、LRP、survivin 蛋白的阳性表达率均高于癌旁组织($P < 0.05$)。

2.2 胃癌组织中 *pokemon* 蛋白表达与 P-gp、MRP1、LRP、survivin 的关系 经 Spearman 相关分析发现, *pokemon* 蛋白表达与 P-gp 和 survivin 蛋白表达间均具有正相关关系($r = 0.3852$, $P = 0.002$; $r = 0.3424$, $P = 0.007$); *pokemon* 表达与 MRP1 和 LRP 蛋白表达间未发现相关关系($r = 0.2346$, $P = 0.071$; $r = 0.2053$, $P = 0.116$)。

2.3 *Pokemon*、P-gp、MRP1、LRP、survivin 蛋白在各胃细胞株中的表达 *Pokemon*、P-gp、MRP1、survivin 蛋白在细胞株 SGC7901、SGC7901/ADR 中的表达均高于 GES-1 ($P < 0.05$), 在 SGC7901/ADR 中表达最高 ($P < 0.05$); 而 LRP 蛋白在这 3 种细胞株中的表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 2。

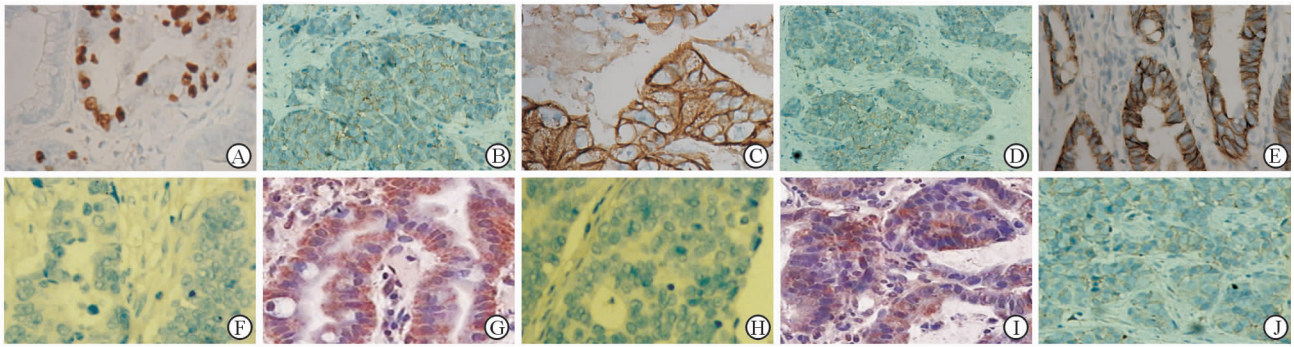


图1 免疫组化染色检测胃癌组织中 pokemon、P-gp、MRP1、LRP、survivin 蛋白的表达

Fig 1 Protein expressions of pokemon, P-gp, MRP1, LRP and survivin in gastric cancer tissues detected by immunohistochemistry

A: Pokemon (++) ; B: Pokemon (+) ; C: P-gp (++) ; D: P-gp (+) ; E: MRP1(++) ; F: MRP1 (+) ; G: LRP(++) ; H: LRP (+) ; I: Survivin (++) ; J: Survivin (+). P-gp: P-glycoprotein; MRP1: Multidrug resistance-associated protein 1; LRP: Lung resistance protein. Original magnification: $\times 400$

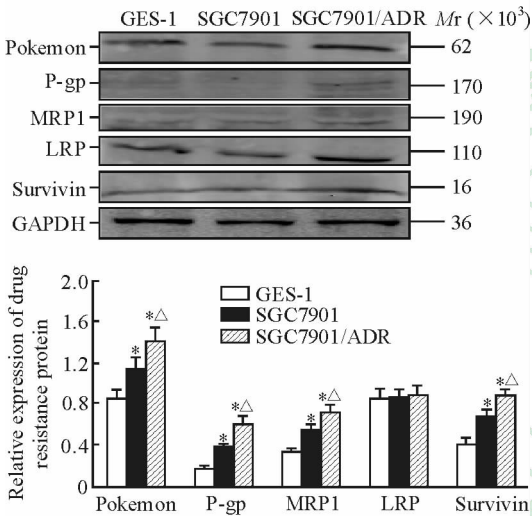


图2 蛋白质印迹法检测 pokemon、P-gp、MRP1、LRP、survivin 蛋白在各胃细胞株中的表达

Fig 2 Protein expressions of pokemon, P-gp, MRP1, LRP and survivin in gastric cell lines detected by Western blotting

P-gp: P-glycoprotein; MRP1: Multidrug resistance-associated protein 1; LRP: Lung resistance protein; GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; ADR: Adriamycin. * $P < 0.05$ vs GES-1 cells; $\Delta P < 0.05$ vs SGC7901 cells, $n=3, \bar{x} \pm s$

2.4 不同细胞株对 5-FU、DDP、L-OHP 的药敏性 SRB 蛋白染色结果显示,在 3 种细胞株中,5-FU、DDP、L-OHP 对 GES-1 细胞株的抑制作用最强,SGC7901 次之,对 SGC7901/ADR 的抑制作用最弱($P < 0.01$)。见表 1。

2.5 *Pokemon*-siRNA 转染 SGC7901/ADR 细胞对 *pokemon* 基因表达的影响 以 *pokemon*-siRNA 或 NS-siRNA 分别转染 SGC7901/ADR 细胞。结果发现,*pokemon*-siRNA 对 *pokemon* mRNA 的抑制呈时间剂量依赖性。*Pokemon* mRNA 表达随

pokemon-siRNA 剂量增大、时间延长而减弱。见图 3。实验中发现 *pokemon*-siRNA 以 40 nmol/L 的浓度转染 SGC7901/ADR 细胞株 48 h 对 *pokemon* mRNA 表达有明显的抑制作用,故以 40 nmol/L 及 48 h 进行后续实验。

表 1 化疗药物对 SGC7901/ADR、SGC7901、GES-1 细胞株的抑制作用

Tab 1 Inhibitory effect of chemotherapeutic drugs on SGC7901/ADR, SGC7901, and GES-1 cell lines

Cell line	5-FU	DDP	L-OHP
SGC7901/ADR	30.38 ± 4.03	25.52 ± 3.66	37.58 ± 4.89
SGC7901	43.56 ± 5.71	32.64 ± 4.97	54.28 ± 7.04
GES-1	73.66 ± 5.49	64.28 ± 8.20	81.35 ± 8.23
F value	168.241	109.18	93.311
P value	<0.001	<0.001	<0.001

5-FU: 5-Fluorouracil; DDP: Cisplatin; L-OHP: Oxaliplatin; ADR: Adriamycin

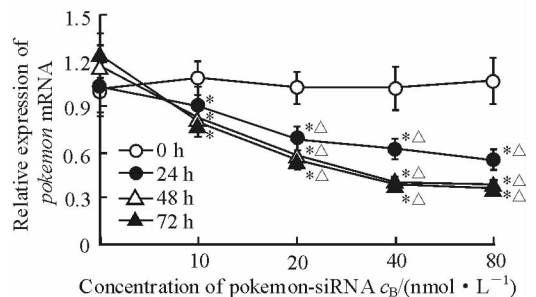


图3 *Pokemon*-siRNA 转染对 SGC7901/ADR 细胞中 *pokemon* mRNA 表达的影响

Fig 3 Effect of *pokemon*-siRNA transfection on *pokemon* mRNA expression in SGC7901/ADR cells

ADR: Adriamycin. * $P < 0.05$ vs 24 h, $\Delta P < 0.05$ vs 0 nmol/L *pokemon*-siRNA. $n=3, \bar{x} \pm s$

2.6 抑制胃癌细胞 SGC7901/ADR 中 *pokemon* 表达对药敏性的影响 转染 *pokemon*-siRNA 的 SGC7901/ADR 细胞与转染 NS-siRNA 的 SGC7901/ADR 细胞相比,其药敏性明显增强($P < 0.01$)。见表 2。

2.7 抑制 SGC7901/ADR 细胞株中 *pokemon* 表达对耐药相关基因的影响 转染 48 h 后,转染 *pokemon*-siRNA 的 SGC7901/ADR 细胞与转染 NS-siRNA 的 SGC7901/ADR 细胞相比,*MDR1*、*survivin* 表达减弱($P < 0.05$),而 *MRP1*、*LRP* 的变化并不明显($P > 0.05$)。蛋白质印迹分析结果与 qPCR 相符。见图 4。

表 2 *Pokemon*-siRNA 转染对胃癌细胞 SGC7901/ADR 药敏性的影响

Tab 2 Effect of *pokemon*-siRNA transfection on drug sensitivity of SGC7901/ADR cells

Group	%, $n=3, \bar{x} \pm s$		
	5-FU	DDP	L-OHP
Pokemon-siRNA	57.50 ± 4.38	48.25 ± 5.08	65.62 ± 5.66
NS-siRNA	26.82 ± 3.41	28.74 ± 4.12	35.06 ± 3.73
<i>t</i> value	13.54	7.31	11.04
<i>P</i> value	<0.001	<0.001	<0.001

NS-siRNA: Non-specific control siRNA. 5-FU: 5-Fluorouracil; DDP: Cisplatin; L-OHP: Oxaliplatin; ADR: Adriamycin

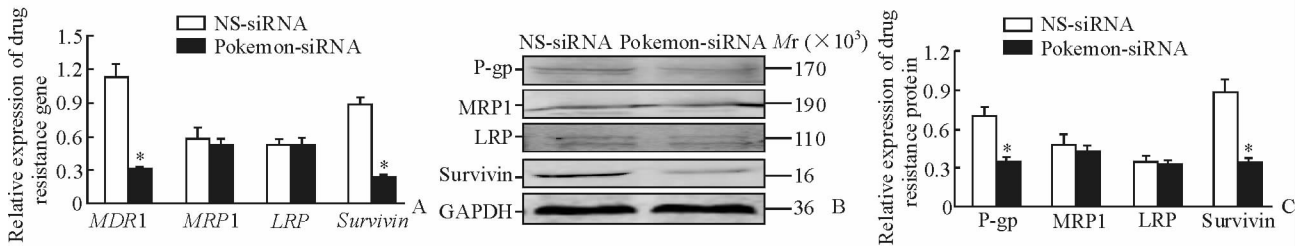


图 4 *Pokemon*-siRNA 转染对 SGC7901/ADR 细胞中 P-gp、MRP1、LRP、survivin 的 mRNA 和蛋白表达的影响

Fig 4 Effect of *pokemon*-siRNA transfection on mRNA and protein expressions of P-gp, MRP1, LRP, and survivin in SGC7901/ADR cells A: Result of real-time quantitative PCR; B, C: Result of Western blotting. NS-siRNA: Non-specific control siRNA. P-gp: P-glycoprotein; MRP1: Multidrug resistance-associated protein 1; LRP: Lung resistance protein; GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. * $P < 0.05$ vs NS-siRNA group. $n=3, \bar{x} \pm s$

3 讨论

胃癌具有较强的 MDR 能力^[8-9],与治疗效果及预后密切相关。本研究通过对细胞株的检测发现胃癌细胞对不同机制的化疗药物 5-FU、DDP、L-OHP 的敏感性低于胃上皮细胞株 GES-1,胃癌耐药细胞株 SGC7901/ADR 对药物的抵抗能力更强。胃癌 MDR 的机制复杂,多种分子、通路都参与其中^[10-12],实现 MDR 逆转将提高胃癌化疗效果、改善预后。虽然胃癌 MDR 的研究已开展多年,但尚未取得突破,MDR 机制一直是研究的热点。近年来转录因子 *pokemon* 在胃癌中的作用受到了关注。*Pokemon* 基因定位于人染色体 19p13.3,包括 6 个外显子,全长 196 998 bp。研究表明 *pokemon* 具有原癌基因特征,对肿瘤的多种恶性生物学行为有促进作用。Li 等^[3]研究发现抑制前列腺癌细胞中 *pokemon* 表达可以抑制肿瘤的生长并诱导肿瘤细胞凋亡。本课题组前期研究发现,*pokemon* 在胃癌组织中高表达,其表达强度与胃癌的发生和发展、侵袭及转移等生物学行为有关^[4],这与 Li 等^[3]的研究结果相符。本研究发现胃癌组织和胃癌细胞株中 *pokemon* 表达

增强,提示 *pokemon* 可能参与了胃癌的进展。还有研究发现,在乳腺癌细胞中 P-gp 与 *pokemon* 存在调控关系,这种调控作用通过影响 p53 的表达实现^[5],这一结果提示 *pokemon* 可能参与了肿瘤的耐药形成,但 *pokemon* 在胃癌耐药网络中的位置及具体作用还不明确,故本研究在此方面进行了初步研究。结果发现 *pokemon* 在胃癌组织表达比癌旁组织增强,在胃癌细胞株中表达也高于胃上皮细胞株;在耐药细胞株中 *pokemon* 表达最强,在普通胃癌细胞株中次之,在胃上皮细胞株中表达最低,这一结果与各细胞株的耐药性趋势一致,提示 *pokemon* 与胃癌细胞的耐药有关,可能在胃癌 MDR 形成中发挥了作用。

为探讨 *pokemon* 在胃癌 MDR 中的作用机制,本研究进一步检测了与胃癌 MDR 关系密切的蛋白质 P-gp、MRP1、LRP、survivin 的表达情况。P-gp、MRP1 通过药泵作用可将药物排出细胞外而产生耐药^[13-14];LRP 通过胞吐作用可将进入细胞的药物排出^[15];survivin 则通过增强胃癌细胞的凋亡抵抗能力而导致胃癌细胞对铂类药物产生耐药^[16]。本研究结果显示,胃癌组织中 *pokemon* 表达与 P-gp、survivin 存在正相关性,提示 *pokemon* 可能通过与

P-gp、survivin 相互调节而参与胃癌 MDR。研究发现在乳腺癌细胞中 P-gp 可通过 p53 途径调节 *pokemon* 的转录功能^[5],本研究也发现 *pokemon* 与 P-gp 存在调控关系,但结果显示在抑制 *pokemon* 的表达后 P-gp 表达明显降低,这与以往报道的 *pokemon* 与 P-gp 的调节关系^[5]存在差异。我们分析认为 *pokemon* 作为一种转录因子,很可能与 P-gp 之间存在相互调控,但具体的分子机制还有待深入研究。还有研究发现 *pokemon* 可以通过上调 survivin 的表达而促进乳腺癌的进展^[17],本研究在胃癌中也发现 *pokemon* 与 survivin 在胃癌组织中存在正相关,抑制耐药细胞中 *pokemon* 的表达后 survivin 的表达也明显降低,这说明 *pokemon* 与 survivin 之间的调控关系在胃癌细胞和乳腺癌细胞中类似,但具体分子调控机制还应进一步探讨。

为证实 *pokemon* 在胃癌 MDR 中发挥的作用,本研究应用 RNA 干扰技术抑制胃癌耐药细胞株 SGC7901/ADR 中 *pokemon* 的表达,结果发现,SGC7901/ADR 的药物抵抗特性明显得到逆转,同时 P-gp、survivin 表达减弱,这证明了 *pokemon* 与 P-gp、survivin 之间具有调控作用,共同参与了胃癌 MDR。但这些分子之间的直接调控功能还有待更为深入的研究予以证实。

[参考文献]

- [1] YU P, DU Y, YANG L, FAN S, WU J, ZHENG S. Significance of multidrug resistance gene-related proteins in the postoperative chemotherapy of gastric cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7: 7945-7950.
- [2] TAN B, LI Y, ZHAO Q, FAN L, LIU Y, WANG D, et al. Inhibition of Vav3 could reverse the drug resistance of gastric cancer cells by downregulating JNK signaling pathway[J]. *Cancer Gene Ther*, 2014, 21: 526-531.
- [3] LI Y, XU S, WANG X, SHI H, SUN Z, YANG Z. Tumor-specific RNA interference targeting *pokemon* suppresses tumor growth and induces apoptosis in prostate cancer[J/OL]. *Urology*, 2013, 81: 467. e1-467. e7. doi: 10.1016/j.urology.2012.10.011.
- [4] 贾楠,刘月平,李勇. 胃癌组织 *Pokemon* 和 p14^{ARF} 表达率及其在临床生物学行为中的意义[J]. *河北医科大学学报*, 2012, 33: 263-267.
- [5] HE S, LIU F, XIE Z, ZU X, XU W, JIANG Y. P-Glycoprotein/MDR1 regulates *pokemon* gene transcription through p53 expression in human breast cancer cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2010, 11: 3039-3051.
- [6] LI Y, TAN B B, ZHAO Q, FAN L Q, LIU Y, HAO Y J, et al. Tumor chemosensitivity is correlated with expression of multidrug resistance associated factors in variously differentiated gastric carcinoma tissues[J]. *Hepatogastroenterology*, 2013, 60: 213-216.
- [7] ZHAO G T, YANG L J, LI X X, CUI H L, GUO R. Expression of the proto-oncogene *pokemon* in colorectal cancer—inhibitory effects of an siRNA[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14: 4999-5005.
- [8] YU P, DU Y, YANG L, FAN S, WU J, ZHENG S. Significance of multidrug resistance gene-related proteins in the postoperative chemotherapy of gastric cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7: 7945-7950.
- [9] YU P, DU Y, CHENG X, YU Q, HUANG L, DONG R. Expression of multidrug resistance-associated proteins and their relation to postoperative individualized chemotherapy in gastric cancer [J]. *World J Surg Oncol*, 2014, 12: 307.
- [10] YU F, LI K, CHEN S, LIU Y, LI Y. Pseudolaric acid B circumvents multidrug resistance phenotype in human gastric cancer SGC7901/ADR cells by downregulating Cox-2 and P-gp expression[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 71: 119-126.
- [11] ZHANG H, SUN L, XIAO X, XIE R, LIU C, WANG Y, et al. Krüppel-like factor 8 contributes to hypoxia-induced MDR in gastric cancer cells [J]. *Cancer Sci*, 2014, 105: 1109-1115.
- [12] YING L, ZU-AN Z, QING-HUA L, QING-YAN K, LEI L, TAO C, et al. RAD001 can reverse drug resistance of SGC7901/DDP cells[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35: 9171-9177.
- [13] SUI H, CAI G X, PAN S F, DENG W L, WANG Y W, CHEN Z S, et al. miR200c attenuates P-gp-mediated MDR and metastasis by targeting JNK2/c-Jun signaling pathway in colorectal cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13: 3137-3151.
- [14] RYBÁROVÁ S, HODOROVÁ I, MIHALIK J, MIROSSAY L. MRP1 and GSTp1 expression in non-small cell lung cancer does not correlate with clinicopathological parameters; a Slovakian population study[J]. *Acta Histochem*, 2014, 116: 1390-1398.
- [15] QIU Z Q, ZHAO K. Expression of ERCC1, RRM1 and LRP in non-small cell lung cancers and their influence on chemotherapeutic efficacy of gemcitabine concomitant with nedaplatin[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15: 7303-7307.
- [16] GAŚSOWSKA-BODNAR A, BODNAR L, DĄBEK A, CICHOWICZ M, JERZAK M, CIERNIAK S, et al. Survivin expression as a prognostic factor in patients with epithelial ovarian cancer or primary peritoneal cancer treated with neoadjuvant chemotherapy[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2014, 24: 687-696.
- [17] ZU X, MA J, LIU H, LIU F, TAN C, YU L, et al. Pro-oncogene *Pokemon* promotes breast cancer progression by upregulating *survivin* expression [J/OL]. *Breast Cancer Res*, 2011, 13: R26. doi: 10.1186/bcr2843.