

miR-155 对慢性髓细胞白血病细胞凋亡 及热休克蛋白表达的影响

任影丽 陈治东 孙蓓蓓 姚杰 马凡 周强

摘要 目的 探讨微小 RNA-155 (miR-155) 对慢性髓细胞白血病 (CML) 细胞凋亡情况和对热休克蛋白 (HSP) 27、HSP60 及 HSP70 表达的影响。方法 采用实时荧光定量逆转录 PCR (RT-qPCR) 分别检测 miR-155 在 CML 耐伊马替尼 (IM) 细胞株 K562-G 和 CML 细胞株 K562 中的表达水平。以携带 miR-155 的慢病毒和阴性对照慢病毒感染 K562-G 细胞, 分别命名为 miR-155 组和对照组。细胞计数试剂盒 8 (CCK-8) 检测 miR-155 对耐药细胞增殖的影响。RT-qPCR 及蛋白质印迹法 (Western blot) 检测 miR-155 对 HSP27、HSP60、HSP70 表达的影响。流式细胞术检测 miR-155 组和对照组细胞的凋亡比例。结果 与 K562 细胞相比, K562-G 细胞中 miR-155 呈低表达 ($P < 0.05$)。miR-155 组细胞的增殖情况与对照组相比从第 36 h 开始降低 ($P < 0.05$)。与对照组相比, miR-155 组 HSP60、HSP70 升高 ($P < 0.05$), 而 HSP27 降低 ($P < 0.01$)。流式细胞术检测结果显示, miR-155 组细胞的凋亡率高于其对照组 ($P < 0.05$)。结论 miR-155 促进 CML 细胞的凋亡, 并使细胞中的 HSP60、HSP70 表达升高, HSP27 表达降低。

关键词 miR-155; 慢性髓细胞白血病; 耐药; 热休克蛋白; 细胞增殖; 凋亡

中图分类号 R 773.72

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2024)01-0034-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.01.006

慢性髓细胞白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 属于骨髓增殖性肿瘤的一种, 其特征是骨髓髓系细胞在成熟的不同阶段不受控制地生长^[1]。融合基因 *BCR::ABL* 的异常表达是 CML 的主要特点。应用酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitor, TKI) 进行治疗的 CML 患者的预期寿命与正常人群相同, 一部分对 TKI 治疗有非常好反应的患者可以在适当的预防措施下停止治疗, 达到持续无治

疗缓解^[2]。尽管如此, CML 的治疗仍面临着许多挑战和未解答的问题, 如仍有部分患者出现耐药的现 象、不明原因的疾病进展等, CML 的治疗也进入了瓶颈期^[3]。研究^[4-5]表明肿瘤细胞中 miRNA 可通过多种信号通路调控细胞的增殖、凋亡与迁移, 其中包括调控热休克蛋白 (heat shock proteins, HSPs) 的表达。已有研究^[6]表明, miR-155 在 CML 中存在差异性表达, 但其在 K562 细胞对伊马替尼 (imatinib, IM) 耐药中发挥何种作用以及与 HSPs 的关系仍不明确。该研究旨在探讨 miR-155 与 HSPs 的关系, 及其对 CML 细胞增殖、凋亡的影响, 这对了解 CML 发生机制及临床攻克 CML 具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验细胞 人 CML K562 细胞株购自上海生命科学研究所以, 耐 IM 细胞株 K562-G 由体外低浓度梯度递增方法诱导 K562 细胞株产生。

1.1.2 主要试剂和仪器 胎牛血清 (货号: 10270-106) 及 IMDM 细胞培养基 (货号: 12440-053) 均购自美国 Gibco 公司; IM (批号: 190625) 购自江苏豪森药业股份有限公司; 携带 miR-155 的慢病毒和阴性对照慢病毒购自上海吉凯生物公司。LipofectamineTM 2000 (货号: 11669019) 购自美国 Life Technologies 公司; RNA 快速提取试剂盒 (货号: RN001) 由上海奕杉生物科技有限公司提供。Prime Script 反转录试剂盒 (货号: RR037A) 及 SYBR[®] Premix Ex Taq 荧光定量 PCR 试剂盒 (货号: RR820A) 均购自日本 TaKaRa 生物公司; Annexin V-Alexa Fluor 647/PI 凋亡检测试剂盒 (货号: FMSAV647-050) 购自南京福麦斯生物技术有限公司; 细胞计数试剂盒 8 (cell counting kit-8, CCK-8) 试剂盒 (货号: CK04) 购自日本同仁公司; 全细胞裂解液 RIPA (货号: P0013J)、一抗稀释液 (货号: P0256)、山羊抗兔二抗 (货号: A0279)、超敏 ECL 化学发光试剂盒 (货号: P0018S) 均购自上海碧云天生物技术有限公司。β-actin 抗体 (货号: AC026) 购自武汉 ABclonal 公司; HSP27 抗

2023-11-26 接收

基金项目: 安徽高校自然科学基金项目 (编号: KJ2021ZD0029); 安徽医科大学校级科研基金 (编号: 2022xkj039)

作者单位: 安徽医科大学第二附属医院检验科, 合肥 230601

作者简介: 任影丽, 女, 住院医师;

周强, 男, 副教授, 主任技师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: zhouqiang1973@163.com

体(货号: 2442S)、HSP60 抗体(货号: 4870S)、HSP70 抗体(货号: 4876S)均购自美国 CST 公司。二氧化碳培养箱(型号: HF90)购自上海立申科学仪器有限公司。酶标仪(型号: KHB ST-360)购自上海科华实验系统有限公司。PCR 仪(型号: Gene Amp PCR System 9700)和实时荧光定量 PCR 仪(型号: Quant Studio™ 5)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。SDS-PAGE 电泳仪和电转仪均购自美国 Bio-Rad 公司。凝胶成像系统(型号: Tanon 1600)购自上海天能公司。流式细胞仪(型号: Canto™ II)购自美国 BD 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和耐药细胞株的诱导 用含 10% 胎牛血清的 IMDM 培养基培养 K562 细胞,将其置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养,通过逐渐向细胞中加入浓度递增的 IM。首次药物从 0.1 μmol/L 开始,过程中每周递增一个梯度,即第 2 周采用 0.5 μmol/L 药物培养细胞,第 3 周采用 1.0 μmol/L 药物培养细胞,以此类推培养至第 21 周时细胞培养加入的药物浓度为 10 μmol/L,此后采用 10 μmol/L 药物继续培养细胞 4 周,再采用 CCK-8 法筛选出 IC₅₀ 是 K562 初细胞的 20 倍以上的细胞,即为耐 IM 细胞株 K562-G,此细胞可用于后续试验。

1.2.2 miR-155 过表达稳转株的构建 本实验所用 miR-155 过表达慢病毒及空载慢病毒携带嘌呤霉素抗性基因。通过预实验摸索出 K562-G 细胞的最适的感染复数(multiplicity of infection, MOI)为 20。收集状态良好的 K562-G 细胞铺到 24 孔板,使细胞浓度约为 1 × 10⁵ 个/ml,置于培养箱中培养至第 2 天。感染前,从冰箱中取出慢病毒并在冰上缓慢融化。准备完全培养基和聚凝胺混合物,使聚凝胺的终浓度为 2 μg/ml,移去培养基并添加 0.5 ml 聚凝胺和培养基的混合物于每孔中。将配好的病毒液加入细胞培养皿后,封好口,放入平角离心机后 3 000 r/min 离心 1 h,然后放入培养箱中培养。感染 24 h 后,吸去含病毒的培养液,换上新鲜的完全培养液,继续 37 °C 培养。感染后 48 h,换上含 2 μg/ml 嘌呤霉素的新鲜完全培养液,每 2~3 d 换含嘌呤霉素的完全培养液 1 次,至不感染筛选对照组细胞被嘌呤霉素杀光,将感染并筛选后的细胞进行传代,并继续施加嘌呤霉素进行维持性筛选培养。连续筛选 3 代后,可通过实时荧光定量逆转录 PCR(reverse transcription-quantitative real-time PCR, RT-qPCR)检测目的基因的表达,评估感染效率,最后可将稳定细胞

株继续培养或冻存。转染了 miR-155 过表达慢病毒的细胞称为 miR-155 组,转染了空载慢病毒的细胞作为其对照组用于后续试验。

1.2.3 RT-qPCR 检测 miR-155 和 HSP27、HSP60 及 HSP70 mRNA 的表达 收集对数生长期的各组细胞,并用离心机 1 000 r/min,离心 5 min 后弃上清液,使用 RNA 快速提取试剂盒提取总 RNA,测定 RNA 纯度和浓度。使用 Prime Script 逆转录试剂盒的说明进行逆转录,逆转录反应的过程在 Gene Amp PCR System 9700 上进行,设置逆转录反应条件为 37 °C、15 min 85 °C、5 s 4 °C、90 min。逆转录完成后,根据 SYBR® Premix Ex Taq 试剂盒的操作说明,在实时荧光定量 PCR 仪上进行反应。记录各个基因的 Ct 值,结果以 2^{-ΔΔCt} 方法计算。实验中所用到的引物序列(表 1)均由上海吉玛生物公司设计。

表 1 PCR 引物的序列

引物名称	引物序列(5'-3')
miR-155	R: GGTCTTAATGCTAATCGTGATAGGGG F: CCAGTGCAGGCTCCGAGGT
U6	R: TGC GGCTGCTCGCTTCGGCAGC F: CCAGTGCAGGCTCCGAGGT
HSP27	R: GCGTGTCCCTGGATGTCAAC F: TGTATTTCCGCGTGAAGCAC
HSP60	R: AAGCTCTAAGTACACTCGTCTTGAATAGG F: GCACCACCAGTAGCAATAGCCATAT
HSP70	R: GGAGGACAAGAAGGAGGACG F: CAGGAGTGAAGGCCACATAGG
GAPDH	R: ATGACTCTACCCACGGCAAG F: GATCTCGCTCTGGAAGATG

1.2.4 CCK-8 法检测细胞的增殖能力 收集对数生长期的 miR-155 组和对照组细胞,加入 5 μmol/L 的 IM 进行混匀处理,然后把药物处理后的两组细胞铺于 96 孔板中,并在铺板后第 0、12、24、36、48、60 h,每孔加入 100 μl CCK-8 试剂,置于培养箱内温育 2 h,最后把 96 孔板置于酶标仪上,调整波长为 450 nm,读取每孔的吸光度(absorbance, A) 值。

1.2.5 Western blot 检测相关蛋白的表达 收集 miR-155 组和对照组细胞,然后用蛋白裂解液使细胞裂解,期间需要反复震荡。然后在 4 °C 条件下 1 200 r/min 离心 20 min,收集上清液,最后按照 1:40 比例加入上样缓冲液。电泳时利用 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,再将蛋白转到硝酸纤维素膜上,转膜完成后,用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h。使用一抗稀释液按照 1:1 000 的比例稀释一抗,并将蛋白条带放于 4 °C 孵育过夜。次日 TBST 洗蛋白条带

3 遍,每遍耗时 10 min。再用 TBST 按照 1 : 10 000 的比例稀释二抗,室温孵育 1 h。接着 TBST 洗 3 遍,每次 10 min。最后把 ECL 发光剂加于膜上,凝胶成像仪上进行曝光,采集图像,以 β -actin 蛋白作为内参,分析检测 HSP27、HSP60、HSP70 蛋白的表达。

1.2.6 流式细胞术检测细胞凋亡 将细胞按照 miR-155 组、对照组、5 μ mol/L IM 作用后的 miR-155 + IM 组和对照 + IM 组进行分组,然后将各组细胞接种于 6 孔板中,每孔约 1×10^5 个细胞,置于细胞培养箱。24 h 后吸取各组细胞于 15 ml 离心管中。用冷 PBS 洗涤 2 次,然后用 250 μ l 结合缓冲液重新悬浮细胞,再从中取出 100 μ l 的各组细胞悬液于 5 ml 流式管中,分别加入 5 μ l Annexin V 和 10 μ l 的碘化丙锭溶液,每次实验设置两个染料单标对照(只加 Annexin V,以及只加碘化丙锭的细胞)、双染料阳性对照、空白对照。混匀后于 4 $^{\circ}$ C 避光孵育 15 min,在反应管中加 400 μ l PBS,用流式细胞仪进行上机分析。实验重复 3 次。

1.3 统计学处理 使用 Graph Pad Prism 7.04 和 SPSS 22.0 软件进行统计分析,所有实验至少重复 3 次,正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CML 耐药细胞株中 miR-155 的表达情况

RT-qPCR 检测 miR-155 在耐药细胞株 K562-G、K562 中的相对表达情况,与 K562 细胞相比,miR-155 在耐药细胞 K562-G 中的表达降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1。

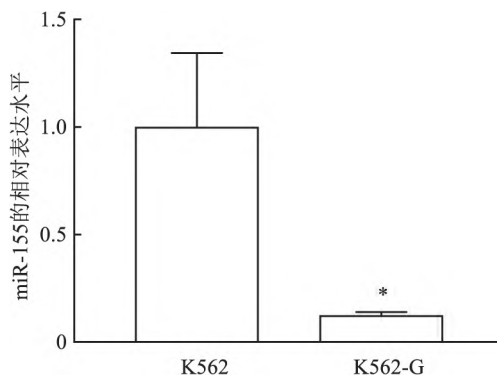


图1 K562 细胞与 K562-G 细胞中 miR-155 的相对表达比较
与 K562 组比较: * $P < 0.05$

2.2 miR-155 对细胞增殖能力的影响 RT-qPCR 检测对照组和 miR-155 组细胞中的 miR-155 相对表达(图 2A),结果显示,miR-155 组细胞中 miR-155

的相对表达是对照组的 870 倍,差异有统计学意义($P < 0.05$),说明转染效果可用于后续试验。CCK-8 法结果显示,miR-155 组细胞在第 36、48、60 h 的吸光度值低于对照组,差异均有统计学意义($t = 36$ h, $P < 0.05$; $t = 48$ h, $P < 0.05$; $t = 60$ h, $P < 0.01$) (图 2B),该结果提示 miR-155 可抑制 K562-G 细胞的增殖能力。

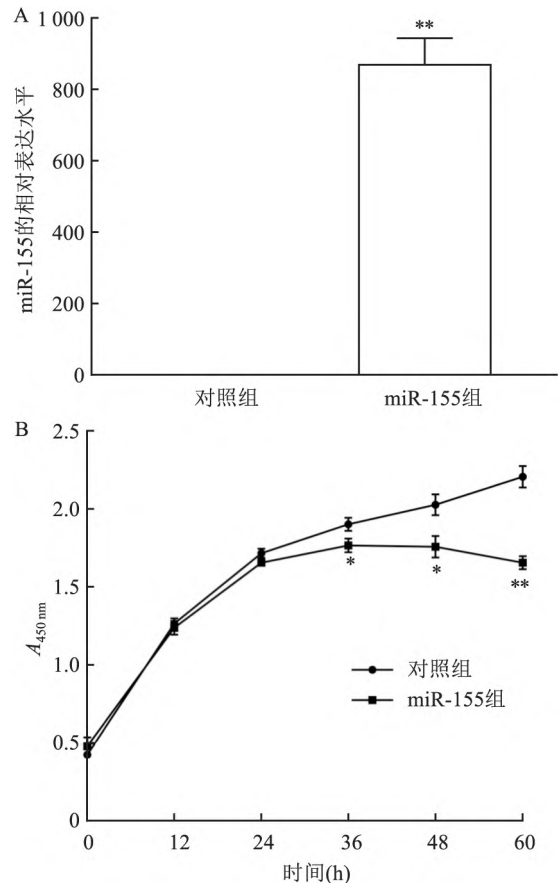


图2 过表达 miR-155 后 K562-G 细胞的增殖的变化情况

A: RT-qPCR 检测慢病毒感染 K562-G 细胞后 miR-155 的表达水平; B: CCK-8 法检测细胞的增殖情况; 与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.3 miR-155 对细胞中 HSP27、HSP60、HSP70 mRNA 和蛋白表达的影响

RT-qPCR 结果显示,与对照组相比,miR-155 组细胞中 HSP27 的表达降低、HSP60 及 HSP70 的表达升高(图 3A),差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$); Western blot 结果显示,与对照组相比,miR-155 组细胞 HSP60、HSP70 蛋白表达量升高($P < 0.05$),而 HSP27 蛋白表达量降低($P < 0.01$) (图 3B)。

2.4 miR-155 对细胞凋亡的影响 使用细胞凋亡检测试剂盒在流式细胞仪上检测各组细胞的凋亡水平(图 4),结果显示,与对照组相比,miR-155 组

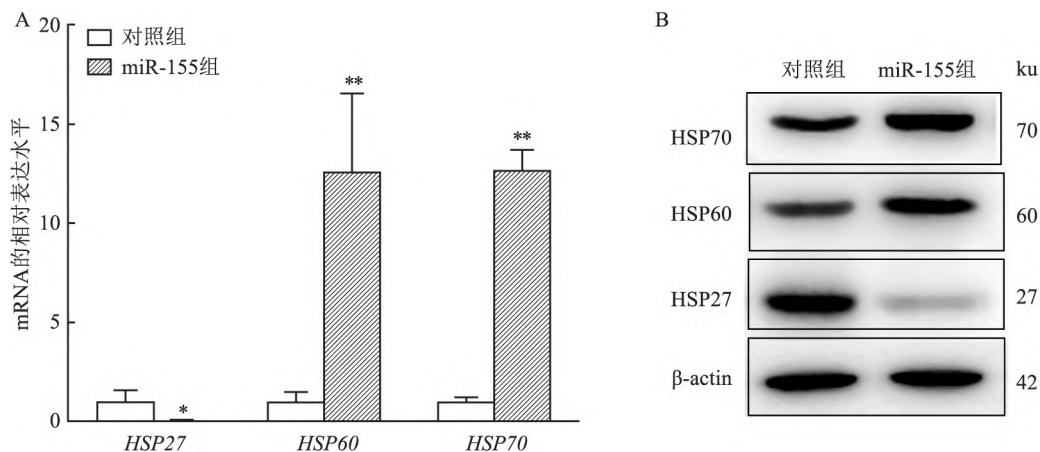


图3 miR-155对细胞中HSP27、HSP60、HSP70中的表达的影响

A: RT-qPCR 检测 HSP27、HSP60、HSP70 的 mRNA 水平; B: Western blot 检测 HSP27、HSP60、HSP70 的蛋白表达变化; 与对照组细胞比较:

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

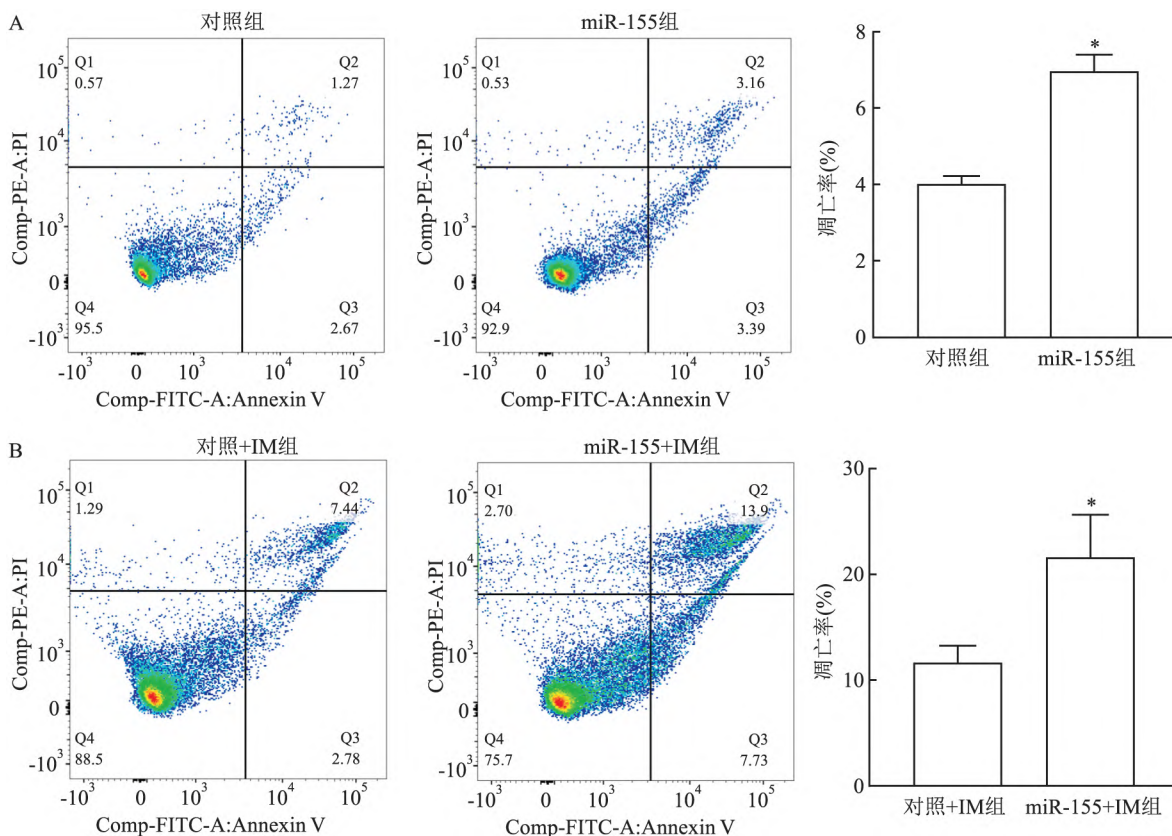


图4 过表达 miR-155 后对细胞凋亡的影响

A: 流式细胞术检测 miR-155 组、对照组细胞的凋亡情况及其统计直方图; B: 流式细胞术检测 miR-155 + IM 组和对照 + IM 组的凋亡情况及其统计直方图; 与对照组比较: * $P < 0.05$

细胞凋亡率升高 ($P < 0.05$)。与 $5 \mu\text{mol/L}$ IM 作用后的对照 + IM 组相比, miR-155 + IM 组的细胞凋亡率也升高 ($P < 0.05$)。

3 讨论

CML 是发生于造血干细胞水平上的恶性克隆性疾病,其特征性标志是 Ph 染色体 $t(9;22)(q34;$

$q11.2)$,其产生了 $BCR::ABL$ 融合基因,95% 的 CML 患者中可见到 Ph 染色体^[7]。CML 的治疗方法经历了数次研究与探索。近年来,TKI 的应用很大程度上改善了患者的治疗状况,特别是慢性期 CML,该类药物包括 IM、达沙替尼、尼罗替尼、博舒替尼、帕纳替尼等,使 CML 治疗取得显著进展^[8]。然而,仍然有部分 CML 患者终生依赖 TKIs,一旦停

药,很容易复发。随着研究的深入,研究者发现越来越多的分子机制在其中发挥了一定的作用。

MicroRNAs (miRNAs) 是一类小的非编码核糖核酸,它可以通过调控细胞中各种信号分子的表达,在各种疾病的发展中发挥重要作用,有助于一些恶性疾病的诊断和预后^[9]。多种 miRNA 的异常表达参与 CML 细胞的增殖分化、凋亡,影响疾病的进展和转归,其中包括 miR-1285^[10]、miR-155^[6,11]。本研究通过诱导耐 IM 细胞株 K562-G,发现 miR-155 在耐药细胞株中呈现低表达的现象,然后在 K562-G 细胞中稳定过表达 miR-155,发现 miR-155 能够抑制细胞的增殖,促进细胞的凋亡。这些结果提示 miR-155 在 CML 细胞增殖、凋亡及耐药中发挥了一定作用。但细胞凋亡过程涉及的机制通路极其复杂多样,miR-155 促进 CML 细胞凋亡的具体机制还有待深入研究。

HSPs 是一类分子伴侣蛋白,目前尚无 miR-155 影响 CML 细胞中 HSPs 表达的相关研究,但有研究表明 HSPs 对 *BCR :: ABL* 发挥其致癌性至关重要,而 *BCR :: ABL* 是 CML 的关键致病基因^[12]。因此调节 HSPs 的表达可能也是治疗 CML 的一种选择。HSP27 不仅仅是分子伴侣,它还具有稳定细胞骨架,参与抗氧化、抗炎和抗凋亡反应^[13]。HSP60 通过与其他蛋白质相互作用能调节肿瘤进展、凋亡、代谢、转移和治疗耐受性^[14]。HSP70 大量存在于癌症中,能通过抑制多种凋亡途径、调节细胞坏死、凋亡、干扰肿瘤免疫、影响癌细胞转移^[15]。本课题在试验过程中发现过表达 miR-155 可在 mRNA 和蛋白水平调节 *HSP27*、*HSP60*、*HSP70* 基因的表达,验证了 miR-155 对 *HSP27*、*HSP60*、*HSP70* 具有调控作用,但是 3 种 HSP 的变化不是同向变化,造成这种现象的原因可能调控作用涉及不同的通路或者涉及某种转录因子的调控作用,其具体机制尚不明确,有待进一步研究。

参考文献

[1] Minciacchi V R, Kumar R, Krause D S. Chronic myeloid leu-

mia: a model disease of the past, present and future [J]. *Cells*, 2021, 10(1): 117.

[2] Heim D, Ebnother M, Favre G. Chronic myeloid leukemia-update 2020 [J]. *Ther Umsch*, 2019, 76(9): 503-9.

[3] Thompson P A, Kantarjian H M, Cortes J E. Diagnosis and treatment of chronic myeloid leukemia in 2015 [J]. *Mayo Clin Proc*, 2015, 90(10): 1440-54.

[4] Okusha Y, Guerrero-Gimenez M E, Lang B J, et al. MicroRNA-570 targets the HSP chaperone network, increases proteotoxic stress and inhibits mammary tumor cell migration [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 15582.

[5] Tang Q, Yuan Q, Li H, et al. miR-223/Hsp70/JNK/JUN/miR-223 feedback loop modulates the chemoresistance of osteosarcoma to cisplatin [J]. *Biochem Bioph Res Commun*, 2018, 497(3): 827-34.

[6] Fathabad M E, Karimipour M, Alizadeh S, et al. miR-155 effectively induces apoptosis in K562 Philadelphia positive cell line through upregulation of p27kip1 [J]. *BioImpacts*, 2017, 7(2): 109-14.

[7] Cross N C P. Update on CML-like disorders [J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2020, 20 Suppl 1: S101-2.

[8] Pasic I, Lipton J H. Current approach to the treatment of chronic myeloid leukaemia [J]. *Leuk Res*, 2017, 55: 65-78.

[9] Saliminejad K, Khorshid H R K, Fard S S, et al. An overview of microRNAs: biology, functions, therapeutics, and analysis methods [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 5451-65.

[10] 张红霞, 吴广胜. miR-1285 通过 YAP 对慢性粒细胞白血病 K562 细胞增殖、凋亡的影响及其作用机制 [J]. *安徽医科大学学报* 2022, 57(4): 569-73.

[11] Hussein K, Busche G, Muth M, et al. Expression of myelopoiesis-associated microRNA in bone marrow cells of atypical chronic myeloid leukaemia and chronic myelomonocytic leukaemia [J]. *Ann Hematol*, 2011, 90(3): 307-13.

[12] Schopf F H, Biebl M M, Buchner J. The HSP90 chaperone machinery [J]. *Nat Rev Mol Cell Bio*, 2017, 18(6): 345-60.

[13] Shan R, Liu N, Yan Y, et al. Apoptosis, autophagy and atherosclerosis: relationships and the role of HSP27 [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 166: 105169.

[14] Tang Y, Zhou Y, Fan S, et al. The multiple roles and therapeutic potential of HSP60 in cancer [J]. *Biochem Pharmacol*, 2022, 201: 115096.

[15] Albakova Z, Armeev G A, Kanevskiy L M, et al. HSP70 multifunctionality in cancer [J]. *Cells*, 2020, 9(3): 587.

Effects of miR-155 on apoptosis of chronic myeloid leukemia cells and expression of heat shock proteins

Ren Yingli, Chen Zhidong, Sun Beibei, Yao Jie, Ma Fan, Zhou Qiang

(Dept of Clinical Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

Abstract Objective To explore the effects of microRNA-155 (miR-155) on apoptosis of chronic myeloid leu-

网络出版时间: 2023-12-28 11:29:18 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20231227.0754.007>

幽门螺杆菌阿莫西林稳定耐药克隆的筛选及其基因突变的检测

陆秋丹^{1,2} 糜孟衡¹ 崔古贞^{1,3} 张峥嵘¹ 吴晓娟¹ 陈峥宏^{1,3}

摘要 目的 探讨阿莫西林(AMX)不稳定耐药的幽门螺杆菌(Hp)演化成AMX稳定高水平耐药的表型及其突变基因的检测。方法 以冻存后的Hp菌株H390作为出发菌株,在不断增加AMX浓度的培养基上连续传代,筛选对AMX耐药的克隆,检测耐药克隆的最小抑菌浓度(MIC),置于-80℃冻存3个月后再复苏,根据冻存后MIC下降情况判断其耐药性是否稳定。对获得的AMX最高MIC值的克隆H390r和出发菌株H390进行基因组测序分析和外排泵抑制试验,检测并鉴定与H390r获得的AMX高水平耐药性相关的基因突变。结果 通过AMX筛选获得4个AMX高水平耐药克隆, MIC分别为12、32、64和≥256 mg/L。经-80℃冻存后,

MIC均未发生改变。相比于亲本菌株H390, AMX稳定耐药克隆H390r存在多个基因的突变,包括与AMX耐药性相关的编码RND外排系统的*hefC*、编码孔蛋白的*hopB*与*hopC*和编码青霉素结合蛋白的*ftsI*。H390r在有外排泵抑制剂存在时对AMX的MIC大幅降低。结论 AMX能够在不稳定耐药的Hp中筛选出稳定耐药的克隆; H390r存在与AMX耐药相关的*hefC*、*hopB*、*hopC*和*ftsI*基因突变。这些突变可能是H390r获得AMX稳定高水平耐药的主要原因。

关键词 幽门螺杆菌; 阿莫西林; 不稳定耐药; 稳定耐药

中图分类号 R 378.99

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2024)01-0039-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.01.007

2023-10-21 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81860353); 贵州医科大学国基培育项目(编号: 20NSP005); 贵州省教育厅滚动支持省属高校科研平台团队项目(编号: 黔教技(2022)019号)

作者单位: ¹ 贵州医科大学基础医学院贵州省普通高等学校病原生物学特色重点实验室, 贵阳 550025

² 黔东南州人民医院检验科, 凯里 556000

³ 贵州医科大学地方病与少数民族疾病教育部重点实验室(贵州省医学分子生物学重点实验室), 贵阳 550004

作者简介: 陆秋丹, 女, 硕士研究生;

陈峥宏, 女, 博士, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: chenzhenghong@gmc.edu.cn

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)是一种革兰阴性微需氧病原菌,是慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌和胃黏膜相关组织淋巴瘤的主要病因^[1-2]。Hp感染人群约占世界人口的一半以上^[3]。Hp的根除可以降低消化性溃疡和非溃疡性消化不良的风险,预防胃癌的发生^[3]。阿莫西林(amoxicillin, AMX)是Hp根除治疗的一线药物,近20余年,多种推荐的一线治疗方案根除率呈现不断下降的趋势,主要归因于Hp耐药性的增加^[4]。虽然目前的数据显示

mia (CML) cells, and the influence of miR-155 regulating the expression of heat shock proteins (HSP) 27, HSP60, HSP70. **Methods** Reverse transcription-quantitative real-time PCR (RT-qPCR) was used to detect the expression levels of miR-155 in CML-resistant imatinib (IM) cell line K562-G and CML cell line K562. K562-G cells were infected with the lentivirus carrying miR-155 or the negative control lentivirus, and they were named miR-155 group and control group. The effect of miR-155 on the proliferation of drug-resistant cells was detected by cell counting kit-8 (CCK-8) method. RT-qPCR and Western blot were used to detect the effect of miR-155 on the expression of heat shock proteins HSP27, HSP60, HSP70. Flow cytometry was used to detect the percentage of cell apoptosis in miR-155 group and control group. **Results** Compared with K562 cells, miR-155 showed low expression in K562-G cells ($P < 0.05$). The proliferation of miR-155 group cells decreased significantly from the 36th hour ($P < 0.05$). Compared with the control group, in the miR-155 group, HSP60 and HSP70 increased ($P < 0.05$), while HSP27 decreased ($P < 0.01$). The apoptosis rate of miR-155 group was higher than that of control group ($P < 0.05$). **Conclusion** miR-155 promotes the apoptosis of chronic myeloid leukemia cells, increases the expression of HSP60 and HSP70, and decreases the expression of HSP27.

Key words miR-155; chronic myeloid leukemia; drug resistance; heat shock proteins; cell proliferation; apoptosis