

YAP 基因对 HPV 感染宫颈癌细胞 TGF- α 及 EGFR 表达的调节作用

邢孔芸¹, 陈玉蓉¹, 李庆¹, 黎先萍¹, 王霞¹, 蔡月红¹, 吴文婷¹, 罗庆²

摘要 目的 探讨 YAP 基因对 HPV 感染宫颈癌细胞转化生长因子 α (TGF- α) 及表皮生长因子受体 (EGFR) 表达的调节作用。方法 免疫组化及 Western blot 检测 HPV-16(+) Ca Ski、HPV-18(+) C4-1 人宫颈癌细胞, HPV(-) C33a 人宫颈癌细胞中 YES 相关蛋白 (YAP)、TGF- α 及 EGFR 的表达。给予 YAP 抑制剂 Vertepofin 干预后, 对 Ca Ski 及 C4-1 细胞及 C33a 增殖影响及对 YES 相关蛋白 (YAP)、TGF- α 、EGFR 中 mRNA 及蛋白表达的影响。结果 HPV-16(+) Ca Ski、HPV-18(+) C4-1 人宫颈癌细胞中 YAP、TGF- α 、EGFR 表达高于 HPV(-) C33a 细胞; 给予 Vertepofin 干预后, 细胞增殖速度降低, 在 YAP 被抑制的同时, TGF- α 、EGFR 中 mRNA 及蛋白的表达也出现了抑制。结论 HPV 感染宫颈癌患者细胞中 EGFR 以及 TGF- α 表达 Hippo/YAP 信号通路可以起到正调控的作用。

关键词 人乳头瘤病毒; 宫颈癌; 转化生长因子 α ; 表皮生长因子受体; YES 相关蛋白

中图分类号 R 737.33

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)11-1735-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.11.018

宫颈癌在全球范围内居于妇科肿瘤发病率第二位, 国际癌症研究机构 (international agency for research on cancer, IARC) 统计, 在 2012 年有 52.8 万妇女被诊断患有宫颈癌, 导致了该年 26.6 万妇女死亡^[1]。宫颈癌对于女性、家庭甚至社会都造成了极大的危害。据临床数据统计显示, 绝大多数宫颈癌患者存在人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 感染情况, 同时 HPV 也被认为是导致宫颈癌产生的首要因素^[2]。HPV 感染的终生风险超过 75%。然而 HPV 影响到宫颈癌发生发展的具体机制并不明确, 因此在宫颈癌疾病的发生以及发展过程中, 对相关因子水平进行检测非常关键, 已发展成为临床研究的热门课题。YES 相关蛋白 (yes associ-

ated protein, YAP) 是 Hippo 信号通路中的靶基因, 属于一种原癌基因, 在哺乳动物中, YAP 的功能主要在肿瘤细胞中实现, 在肿瘤细胞的增殖、耐药、侵袭、转移以及抗凋亡中都发挥着重要作用。有研究发现 Hippo 信号通路能够激活转化生长因子 α (transforming growth factor α , TGF- α) 及表皮生长因子受体 (epidermal growth factor, EGFR) 的表达^[3], 已有研究证实 EGFR 以及 TGF- α 在宫颈癌细胞的增殖以及生长构成中具有非常重要的作用^[4]。该研究对 EGFR 以及 TGF- α 蛋白在 HPV 亚型阳性宫颈癌细胞以及 HPV 阴性宫颈癌细胞中的表达情况进行分析, 探讨 HPV 感染后宫颈癌细胞的相关分子机制的改变, 并对 YAP 蛋白影响 HPV 感染阳性患者 EGFR 以及 TGF- α 表达调节作用进行分析。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞来源 HPV-16(+) Ca Ski 人宫颈癌细胞、HPV(-) C33a 人宫颈癌细胞、HPV-18(+) C4-1 人宫颈癌细胞、本研究所涉及细胞均购自中国科学院细胞库。

1.1.2 主要试剂 RPMI1640 培养基、胎牛血清购自美国 Gibco 公司; 免疫组化试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; 总 RNA 提取试剂盒购自日本 TAKARA 公司; SuperReal 荧光定量试剂盒以及总 RNA 逆转录试剂盒购自上海天根生化科技有限公司; 牛血清白蛋白 (BSA) 购自上海碧云天生物技术有限公司; YAP 单克隆抗体、EGFR 单克隆抗体、TGF- α 单克隆抗体以及 GAPDH 单克隆抗体购自美国 Abcam 公司; YAP 抑制剂 Vertepofin 购于美国 MCE 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞免疫组织化学法检测 HPV(+) 及 HPV(-) 宫颈癌细胞中 YAP、TGF- α 及 EGFR 的表达 分别将 Ca Sk 细胞、C4-1 细胞以及 C33a 细胞以 1×10^4 个/ml 的密度种于无菌盖玻片上, 待细胞贴壁后, 洗片、固定, 在浓度为 0.5% 的聚乙二醇辛基苯

2020-06-28 接收

基金项目: 海南省自然科学基金 (编号: 817363)

作者单位: 海南省第三人民医院妇产科, 三亚 572000

作者简介: 邢孔芸, 女, 主治医师, 责任作者, E-mail: lyfbdx@163.com

com

基醚中进行孵育,封闭一段时间后加入一抗,调整合适温度后过夜,洗片后将二抗加入,然后进行染色处理,完成染核后进行苏木精复染,然后将其放在仪器中进行检测。每个视野观察细胞,进行评分:1分:阳性染色细胞数≤25%;2分:阳性染色细胞数占>25%~<50%;3分:阳性染色细胞数≥50%。根据染色强度评分:0分:无染色;1分:淡黄色;2分:黄色;3分:棕黄色。等级表达是两者之间的乘积0~1分为阴性(-) 2~5分为弱阳性(+) 5~9分及为阳性(++)。阳性细胞所占总细胞百分比进行判定。

1.2.2 Western blot 检测 HPV(+) 及 HPV(-) 宫颈癌细胞中 YAP、TGF-α 及 EGFR 蛋白的表达 对宫颈癌 Ca Ski 细胞、C4-1 细胞及 C33a 细胞进行蛋白常规提取,进行蛋白定量、定性检测,然后进行配胶、电泳等操作,完成转膜后使用 BSA 进行封闭,然后加入一抗,调整温度后过夜,进行洗膜处理,将二抗加入,调整温度过夜,然后进行显影工作液配置,进行观察。

1.2.3 Vertepofin 对宫颈癌细胞增殖的影响 分别给予 HPV(+) 宫颈癌 Ca Ski 细胞、C4-1 细胞 YAP 抑制剂 Vertepofin 10 μmol/L,将细胞接种于 6 孔板,每 24 h 台盼蓝染色后细胞计数,绘制细胞生长曲线。

1.2.4 Western blot 检测 Vertepofin 干预后 YAP、TGF-α 及 EGFR 蛋白的表达 宫颈癌 Ca Ski 细胞、C4-1 细胞分别给予 Vertepofin 干预后 48 h,进行蛋白常规提取,然后进行蛋白定性、定量测定,进行配胶、电泳、转膜处理,使用 BSA 封闭液进行封闭,将一抗加入后过夜,进行洗膜处理,然后将二抗加入,调整合适温度进行孵育过夜,加显影工作液后进行观察。

1.2.5 Realtime PCR 检测 Vertepofin 干预后 YAP、TGF-α 及 EGFR mRNA 的表达 宫颈癌 Ca Ski 细胞、C4-1 细胞分别给予 Vertepofin 干预后 48 h 后,然后进行总 RNA 提取,并将其转为 cDNA,取 PCR 产物 15 μl 置于琼脂糖凝胶中,浓度为 1.2%,其中含有溴化乙啶 0.5 μg/ml,进行常规电泳分离,图像处

理在凝胶成像仪中进行,对各组目的基因的表达情况进行观察,然后对各电泳条带进行灰度分析,后进行 20 μl 反应体系配置, mRNA 表达情况根据 Super Real 荧光定量试剂盒说明进行检测,引物序列见表 1。

表 1 引物序列及扩增片段长度

基因名称	引物序列(5'-3')
TGF-α	上游 GCACTGGTGAGGGAAGTGAC
	下游 CCTGGGAGAGAGACAAGTTT
YAP	上游 CGCTCTTCAACGCCGTC
	下游 AGTACTGGCCTGTCGGGAGT
EGFR	上游 GGCTTGACGAGCAGCATCTCTGGTT
	下游 CGGATTACCGCTCCTGATAGG

1.3 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两两比较采用 *t* 检验,等级变量比较采用秩和检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞免疫组化法检测人宫颈癌细胞 YAP、TGF-α、EGFR 结果 通过免疫组化在镜下的结果可以发现,HPV(+) 的 2 组细胞 Ca Ski 与 C4-1 其 YAP、TGF-α、EGFR 的表达均高于 HPV(-) 的细胞 C33a。其中 Ca Ski 细胞 YAP(+) 及 EGFR(+) 细胞比例较 C33a 提高 (*P* < 0.05), YAP(++)、TGF-α(++) 及 EGFR(++) 细胞比例高于 C33a 细胞 (*P* < 0.05)。C4-1 细胞中 TGF-α(+) 及 EGFR(+) 细胞的比例高于 C33a 细胞 (*P* < 0.05), 而 YAP(++)、TGF-α(++) 及 EGFR(++) 细胞比例高于 C33a 细胞 (*P* < 0.05), 见表 2、图 1。

2.2 Western blot 检测人宫颈癌细胞 YAP、TGF-α、EGFR 结果 通过比较发现,在 HPV(-) 的 C33a 细胞中, YAP 及 EGFR 呈低表达状态, YAP 及 EGFR 的表达在 HPV(+) 的 Ca Ski 及 C4-1 细胞中高于 C33a 细胞 (*P* < 0.05)。3 组细胞的 TGF-α 表达差异无统计学意义 (*P* > 0.05), 见图 2。

表 2 人宫颈癌细胞 YAP、TGF-α、EGFR 表达的比较(%)

等级判定	Ca Ski			C4-1			C33a			F 值
	-	+	++	-	+	++	-	+	++	
YAP	15.2	41.1	43.7	22.1	30.5	47.4	61.3*#	18.3*	20.4*#	165.216
TGF-α	19.5	36.1	44.4	16.9	45.6	37.5	54.6*#	21.6#	23.8*#	106.061
EGFR	23.1	46.2	30.7	25.1	39.2	35.7	70.0*#	16.7*#	13.3*#	81.536

与 Ca Ski 比较: * *P* < 0.05; 与 C4-1 比较: # *P* < 0.05

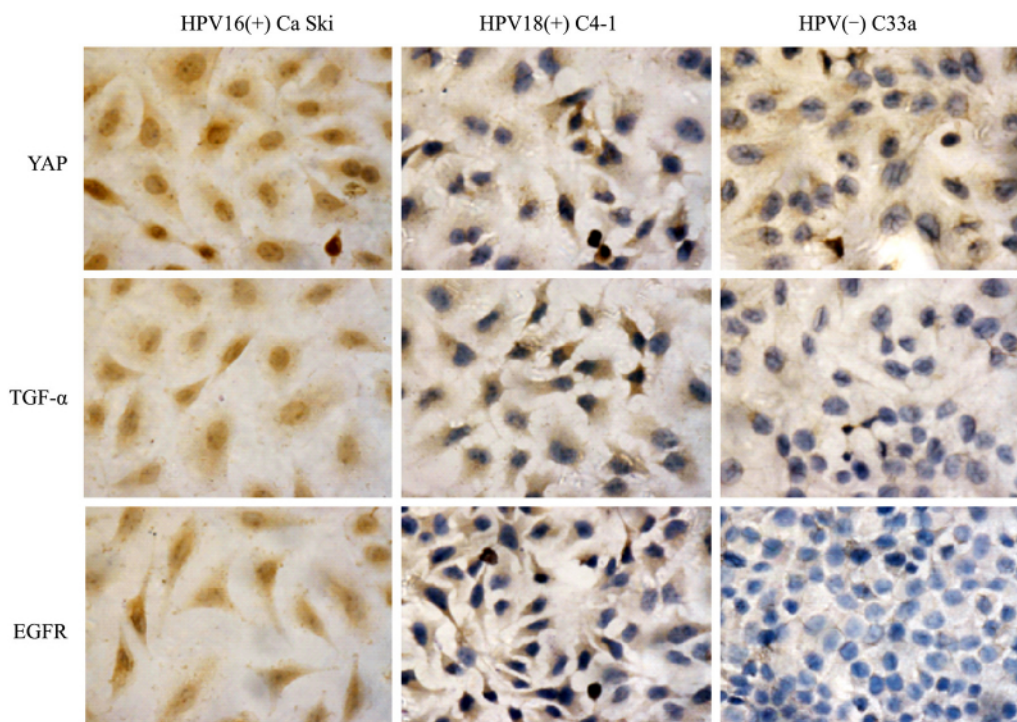


图1 YAP、TGF-α和EGFR在三种细胞株中的表达 ×400

表3 Vertepofin 干预后三组细胞增殖抑制的比较(×10⁴)

细胞系	组别	0 Day	2 Day	4 Day	6 Day	8 Day	F 值
Ca Ski	Vertepofin (-)	8.25 ± 0.11	24.81 ± 4.02	31.15 ± 4.19	98.19 ± 13.41	142.18 ± 24.18	547.550
	Vertepofin (+)	9.13 ± 0.14	22.19 ± 3.19	27.19 ± 3.56	68.19 ± 11.98*	103.19 ± 21.19*	282.888
C4-1	Vertepofin (-)	8.89 ± 0.31	25.19 ± 2.87	39.89 ± 5.19	131.14 ± 23.19	166.21 ± 29.25	348.137
	Vertepofin (+)	8.65 ± 0.43	24.91 ± 2.98	32.19 ± 4.98	98.17 ± 22.45*	146.19 ± 26.41*	193.060
C33a	Vertepofin (-)	8.91 ± 0.51	19.81 ± 2.19	26.61 ± 5.45	61.15 ± 9.17	94.15 ± 13.49 ^{#Δ}	354.035
	Vertepofin (+)	8.19 ± 0.74	18.18 ± 2.48	24.45 ± 2.19	58.14 ± 5.94	62.18 ± 8.95* ^{#Δ}	797.509

与 Vertepofin (-) 比较: * P < 0.05; 与 C4-1 组比较: #P < 0.05; 与 Ca Ski 组比较: ΔP < 0.05

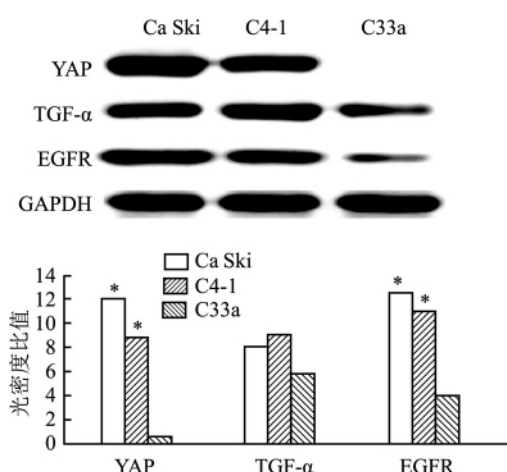


图2 不同宫颈癌细胞中 YAP、TGF-α 及 EGFR 蛋白表达差异与 C33a 比较: * P < 0.05

2.3 YAP 抑制剂 Vertepofin 干预对宫颈癌细胞细胞生长曲线的改变 对 C33a 细胞、Ca Ski 细胞及

C4-1 细胞进行 YAP 抑制剂 Vertepofin 处理,并进行连续细胞计数 结果显示,C4-1 和 Ca Ski 细胞中,加入 Vertepofin 后 6 d,细胞增殖速度出现了下降,较未加入 Vertepofin 组差异有统计学意义。在未加入 Vertepofin 前,C33a 细胞的增殖速度低于 HPV(+) 的 Ca Ski 细胞及 C4-1 细胞,加入 Vertepofin 后,C33a 细胞的增殖速度在第 8 天较未加入 Vertepofin 组出现了降低。但总体而言,Vertepofin 对于 HPV(+) 细胞的增殖抑制作用高于 HPV(-) 细胞,见表 3。

2.4 Western blot 检测 YAP 抑制剂干预后宫颈癌细胞中 YAP、TGF-α、EGFR 蛋白表达结果

通过结果发现,在 HPV(+) 的 Ca Ski 及 C4-1 细胞中 YAP 的表达高于 C33a 组,并且给予 YAP 抑制剂后,在抑制 HPV(+) 的 Ca Ski 及 C4-1 细胞中 YAP 蛋白的同时,也会抑制 TGF-α 及 EGFR 的表达(P <

0.05) 给予 C33a 细胞 Vertepofin 后,仅有 EGFR 的表达出现了抑制($P < 0.05$) ,见图 3。

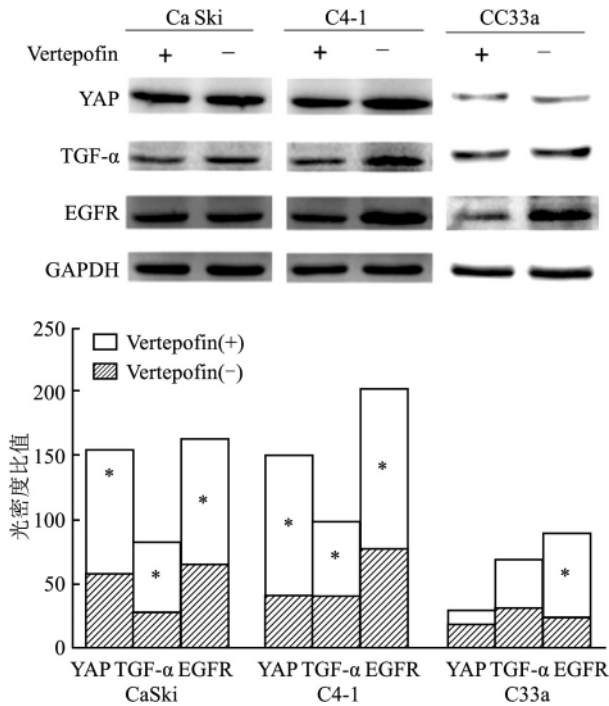


图3 Vertepofin 干预后对于宫颈癌细胞中 YAP、TGF-α 及 EGFR 蛋白表达的影响
与 Vertepofin(-) 比较: * $P < 0.05$

2.5 RT-PCR 检测宫颈癌细胞 YAP、TGF-α、EGFR mRNA 在 YAP 抑制剂干预后表达结果 进行抑制剂干预 对 HPV(+) 宫颈癌细胞 YAP、TGF-α、EGFR mRNA 定性及定量的比较发现 当给予 Vertepofin 后,在 YAP mRNA 被抑制的同时,TGF-α 及 EGFR 的表达也出现了抑制($P < 0.05$) ,但在 C33a 细胞中除了 EGFR 的表达被抑制($P < 0.05$) ,YAP 及 TGF-α 的表达均无改变($P > 0.05$) ,见图 4。

3 讨论

最初在果蝇中发现 Hippo/YAP 信号通路对于不同种类细胞增殖可以起到调节作用^[5]。Hippo 信号通路的主要下游效应物为 YAP。在乳腺癌中,永生乳腺上皮细胞 MCF1-A 的致癌转变受过度表达的 YAP 诱导,对于颗粒细胞肿瘤细胞增殖可以起到显著刺激作用^[6]。据临床数据统计显示,在宫颈癌的发生、发展过程中高危 HPV 亚型起到非常重要的作用,但是,目前对于高危 HPV 病毒调控宫颈癌相关因子的作用机制并无统一论。曾有研究指出,当宫颈癌细胞 HT3 被 HPV 病毒感染后,会加快 HT3 的增殖速度,且伴有 YAP、磷酸化 YAP 升

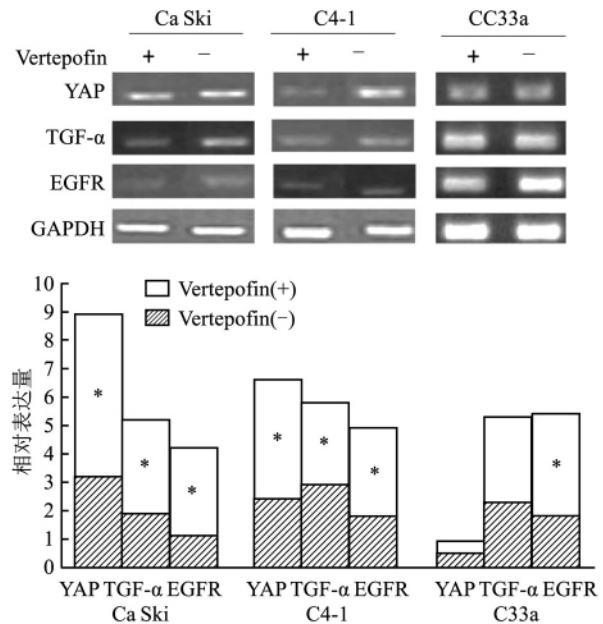


图4 Vertepofin 干预后对宫颈癌细胞 YAP、TGF-α 及 EGFR mRNA 的影响
与 Vertepofin(-) 比较: * $P < 0.05$

高情况,在将 YAP 基因经 siRNA 敲除后,可抑制由 HPV 病毒感染所导致的肿瘤细胞增殖^[7]。这一结果可以看出,宫颈癌细胞 HPV 病毒感染的重要介质包含 YAP。本研究显示,在 HPV(+) 的宫颈癌细胞中,YAP 的表达增高,YAP(+)、(+ +) 细胞比例高于 C33a($P < 0.05$) 在本研究中进一步证明了 YAP 与 HPV 感染宫颈癌的联系。Vertepofin 是一种苯吡啶单环酸 A 在研究中发现其可以抑制 YAP 的活性,研究指出,给予对紫杉醇耐药的 PDX 细胞 Vertepofin 对患者采用紫杉醇联合维替泊芬治疗可抑制 YAP 产生,进而提高抗肿瘤效果^[8]。本研究中,给予宫颈癌细胞 YAP 抑制剂 Vertepofin 干预,抑制 mRNA 以及 YAP 的蛋白表达,且 HPV 阳性宫颈癌细胞增殖速度降低,结果说明,对于 HPV 阳性宫颈癌患者抑制 YAP 表达可抑制其肿瘤细胞增殖,同时这种抑制效果在 HPV(+) 宫颈癌细胞中较 HPV(-) 宫颈癌细胞中更为明显。

在进一步研究 YAP 蛋白调节 HPV(+) 的宫颈癌的相关机制中,我们对 YAP 与 TGF-α 及 EGFR 的关系进行了探讨。研究证实,在肿瘤发生及发展过程中与 TGF-α 有着密切联系^[9]。EGFR 可携带于多种肿瘤细胞中,且可以形成配体家族,因此认为其家族成员可能在肿瘤微环境旁分泌以及自分泌信号传导。有研究^[10-11]指出,在基底乳腺癌细胞 MDA-231 中检测 EGFR 配体的表达,其中 AREG/TGF-α

和 HBEGF 为表达最高的配体,当抑制 TGF- α 的表达后,细胞增殖降低,血管生成减少,肿瘤生长变慢。本研究通过对宫颈癌细胞检测 TGF- α 及 EGFR 的表达发现,HPV(+) 的 Ca Ski 与 C4-1 细胞中,与 HPV(-) C33a 细胞比较,TGF- α 与 EGFR 的表达升高,说明是否感染 HPV 与宫颈癌中 TGF- α 与 EGFR 的表达情况有着密切联系。YAP 作为重要的致癌基因,在肿瘤细胞以多种形式存在,当抑制 YAP 的表达后,肿瘤细胞的增殖、凋亡、侵袭等都会随之受影响^[12]。本研究中,在对 HPV(+) 宫颈癌细胞进行检测时发现,存在 EGFR、TGF- α 以及 YAP 表达升高情况,而这一升高在 HPV(-) 的 C33a 细胞中并未发现。HPV 感染宫颈癌细胞 EGFR 以及 TGF- α 表达与 YAP 蛋白的关系,用 YAP 抑制剂 Verteporfin 干预,结果发现,当给予 YAP 抑制剂 Verteporfin 后,在 HPV(+) 宫颈癌细胞中,伴随着 YAP 蛋白的被抑制 TGF- α 及 EGFR 蛋白及 mRNA 的水平均出现了不同程度的抑制,而在 HPV(-) 的宫颈癌细胞中仅出现了 EGFR 基因的下调,说明 YAP 基因在 HPV(+) 宫颈癌细胞中对肿瘤细胞的抑制作用及对 TGF- α 及 EGFR 的调节作用更加显著。

本研究初步证明,在 HPV 病毒感染宫颈癌细胞后,可调高 YAP 表达,且同时出现 EGFR、TGF- α 升高情况,在对 YAP 基因表达进行抑制后,可同时降低 EGFR、TGF- α 表达,证明 YAP 对 HPV 病毒感染的宫颈癌细胞中 EGFR 以及 TGF- α 表达可起到正调控作用,可以通过抑制 YAP 的表达在 HPV 病毒感染的宫颈癌治疗中靶向 TGF- α 及 EGFR,为宫颈癌治疗提供新的靶点和治疗途径。

参考文献

[1] Analytical B S, Barretos C H, Cancer Genome Atlas Research

- Network. Integrated genomic and molecular characterization of cervical cancer[J]. Nature, 2017, 543(7645): 378-84.
- [2] De Martel C, Plummer M, Vignat J, et al. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type [J]. International Journal of Cancer, 2017, 141(4): 664-70.
- [3] He C, Mao D, Hua G, et al. The Hippo/YAP pathway interacts with EGFR signaling and HPV oncoproteins to regulate cervical cancer progression [J]. EMBO Molecular Medicine, 2015, 7(11): 1426-49.
- [4] 裴峰,罗倩,吕文静. Hippo/YAP 信号通路对 HPV 感染宫颈癌细胞调节作用[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2019, 26(3): 148-54.
- [5] 汪洪涛,王井,刘红丽,等. TGF- β 1 通过激活 NOX4/ROS 通路促进宫颈癌细胞的侵袭和迁移[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2019, 35(2): 29-35.
- [6] 贾静,李云波,王群. 莜术油影响宫颈癌细胞 MHC-I 类抗原呈递相关基因表达水平的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38(11): 1344-9.
- [7] 毛静月,刘蕊,李彩云,等. siRNA 靶向沉默 YAP1 对卵巢癌细胞 skov3 增殖凋亡的影响[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(4): 797-9.
- [8] Brattås M K, Reikvam H, Tvedt T H A, et al. Dasatinib as an investigational drug for the treatment of Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia in adults [J]. Expert Opinion on Investigational Drugs, 2019, 28(5): 411-20.
- [9] Fasshauer M, Blüher M. Adipokines in health and disease [J]. Trends in Pharmacological Sciences, 2015, 36(7): 461-70.
- [10] 王圣坦,朱根海,洪澜,等. 长链非编码 CCAT1 靶向 miR-219a 对宫颈癌 Hela 细胞生长、侵袭和迁移的调节作用[J]. 安徽医科大学学报, 2018, 53(9): 1348-53.
- [11] Huang Q, Li S, Zhang L, et al. CAPE-pNO₂ inhibited the growth and metastasis of triple-negative breast cancer via the EGFR/STAT3/Akt/E-cadherin signaling pathway [J]. Front Oncol, 2019, 9: 461.
- [12] Mussell A L, Denson K E, Shen H, et al. Loss of KIBRA function activates EGFR signaling by inducing AREG [J]. Oncotarget, 2018, 9(52): 29975-84.

Regulatory effect of YAP protein on the expression of TGF- α and EGFR in HPV infected human cervical cancer cells

Xing Kongyun, Chen Yurong, Li Qing, et al

(Dept of Obstetrics and Gynecology, Third People's Hospital of Hainan Province, Sanya 572000)

Abstract Objective To investigate the regulatory effect of YAP gene on the expression of TGF- α and EGFR in cervical cancer cells infected with HPV. **Methods** Immunohistochemistry and Western blot were used to detect the expression of YAP, TGF- α and EGFR in HPV-16 (+) Ca Ski, HPV-18 (+) C4-1 human cervical cancer cells and HPV (-) C33a human cervical cancer cells. After intervention with the YAP inhibitor Verteporfin, it affected

长链非编码 RNA NRON 促进 NFATc3 磷酸化减轻心房纤维化的机制研究

王 泽 郭志祥 葛圣林

摘要 目的 探讨长链非编码 RNA(LncRNA) NRON 在心房纤维化过程中的作用。方法 使用 qRT-PCR 检测 NRON 在心房组织中的表达水平。通过蛋白质印迹法测定胶原蛋白 I、胶原蛋白 III、NFATc3 和 pNFATc3 的蛋白水平。再进行免疫组织化学测定以观察心房组织中胶原 I 的表达和分布。通过波形蛋白/肌钙蛋白免疫荧光染色对心房成纤维细胞进行鉴定。继而用 CCK-8 分析检测成纤维细胞增殖。通过 HE 染色观察心脏组织的形态变化,最后 Masson 染色检测心肌纤维化。结果 NRON 可以抑制成纤维细胞增殖与胶原 I 和胶原 III 的表达,激活 NFATc3 和核素导入。过表达 NRON 可以促进 NFATc3 的磷酸化,从而抑制小鼠心脏纤维化进程。结论 LncRNA NRON 促进 NFATc3 磷酸化,抑制活化 T 细胞因子(NFAT) 的活性,从而抑制心房组织的纤维化进程。

关键词 长链非编码 RNA; NRON; 房颤; 心脏纤维化; 活化 T 细胞因子; 磷酸化

中图分类号 R 541. 75

文献标志码 A 文章编号 1000 - 1492(2020) 11 - 1740 - 07
doi: 10. 19405/j. cnki. issn1000 - 1492. 2020. 11. 019

心房纤颤(atrial fibrillation , AF) 是目前最常见的心律不齐之一,AF 发作会造成血流动力学改变,极易引起血栓的形成。所以 AF 是引发中风、心力

衰竭和死亡的重要危险因素。由于 AF 对医疗系统带来的负担持续上升,因此临床医师准确鉴别出高风险的 AF 患者并及时采取预防和治疗手段已变得至关重要。活化 T 细胞因子(nuclear factor of activated T cells , NFAT) 是一种受 Ca²⁺ 调节以控制基因表达的转录因子家族。越来越多的数据表明钙调神经磷酸酶(calcineurin ,CaN) / NFAT 信号通路在心脏肥大和纤维化中起重要作用^[1-2]。长链非编码 RNA(long non-coding ribonucleic acid ,LncRNA) 是一组非蛋白质编码的 RNA 分子,长度大于 200 个核苷酸。现国外尚未有研究结果证实 NRON 对于 NFAT 的具体作用机制,该研究探讨 LncRNA NRON 影响 NFAT 的具体机制及其对心肌纤维化进程的影响,从而为临床预测和治疗 AF 提供了新的可行性。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取 2018 ~ 2019 年安徽医科大学第一附属医院心脏大血管外科包括心脏瓣膜置换术在内的 34 例 AF 患者(AF 组) 和 20 例窦性心律(sinus rhythm ,SR) 患者(SR 组)。排除标准如下:服用抗心律失常药物(β 受体阻滞剂除外) 的 AF 患者或有其他心律失常病史的患者;植入永久起搏器的患者;既往或计划进行 Cox 迷宫手术的患者;中重度二尖瓣疾病患者;有二尖瓣置换术手术史患者;先天性心脏畸形患者;急诊手术患者;全身性炎症或癌症患者;人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus ,HIV) 感染或营养不良患者。在收集入组患者组织样本时,所有患者未接受过皮质类固醇或非类

2020 - 07 - 24 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金(编号: 1808085MH279)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院心脏大血管外科,合肥 230022

作者简介: 王 泽,男,硕士研究生;

葛圣林,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail: aydgsl@sina.com

the proliferation of Ca Ski and C4-1 cells and C33a , as well as the expression of mRNA and protein in YAP , TGF-α , and EGFR. **Results** The expressions of YAP , TGF-α and EGFR in HPV-16 (+) Ca Ski and HPV-18 (+) C4-1 human cervical cancer cells were higher than that of HPV (-) C33a cells; after Vertepofin intervention , the cell proliferation rate decreased. At the same time that YAP was inhibited , the expression of mRNA and protein in TGF-α and EGFR also appeared to be inhibited. **Conclusion** The Hippo / YAP signaling pathway for EGFR and TGF-α expression in HPV-infected cervical cancer cells can play a positive regulatory role.

Key words human papillomavirus; cervical cancer; transforming growth factor alpha; epidermal growth factor receptor; YES related protein