

LRG1 在乳腺癌组织中的表达及对 MCF-7 细胞侵袭和迁移的影响

邹明明¹, 欧津瑞², 孙平^{1*}

¹牡丹江医学院 黑龙江牡丹江

²牡丹江市二院 黑龙江牡丹江

【摘要】目的 探究 LRG1 在乳腺癌组织中的表达及对 MCF-7 细胞侵袭和迁移的影响。方法 选择医院 2022 年 1 月至 2022 年 12 月 50 例乳腺癌患者为研究对象, 利用免疫组化以及免疫荧光染色对乳腺组织 LRG1 表达情况进行观察, 并且针对 LRG1 抑制 MCF-7 细胞侵袭和迁移的影响进行研究。结果 50 例乳腺癌组织中均存在 LRG1 表达, 癌旁组织中仅存在 1 例低表达, 数据差异显著 ($P < 0.05$); LRG1 表达 MCF-7 细胞侵袭和迁移能力降低。结论 乳腺癌 LRG1 组织的高表达与患者病症严重程度以及转移情况有密切关联, 降低 LRG1 能够减少 MCF-7 细胞侵袭和迁移能力, 可以为临床疾病治疗提供科学辅助指导。

【关键词】LRG1 表达; 乳腺癌组织; MCF-7; 细胞侵袭; 迁移

【基金项目】牡丹江市应用技术与开发计划: 《基于 TCGA 数据库分析 LRG1 表达在乳腺癌的临床意义及实验验证》, 项目编号: HT2022JG133。

【收稿日期】2023 年 1 月 7 日

【出刊日期】2023 年 1 月 25 日

【DOI】10.12208/j.ijmd.20230009

Expression of LRG1 in breast cancer tissues and its effect on invasion and migration of MCF-7 cells

Mingming Zou¹, Jinrui Ou², Ping Su^{1*}

¹Mudanjiang Medical College, Mudanjiang City, Heilongjiang Province

²Mudanjiang Second Hospital, Mudanjiang, China

【Abstract】Objective To investigate the expression of LRG1 in breast cancer tissues and its effect on invasion and migration of MCF-7 cells. **Methods** 50 patients with breast cancer from January 2022 to December 2022 were selected as the research objects. Immunohistochemistry and immunofluorescence staining were used to observe the expression of LRG1 in breast tissue, and the effect of LRG1 on inhibiting the invasion and migration of MCF-7 cells was studied. **Results** LRG1 expression was found in all 50 breast cancer tissues, and low expression was found in only 1 paracancer tissue, the data difference was significant ($P < 0.05$). The invasion and migration ability of MCF-7 cells expressed by LRG1 were decreased. **Conclusion** The high expression of LRG1 tissue in breast cancer is closely related to the severity of disease and metastasis of patients. Reducing LRG1 can reduce the invasion and migration ability of MCF-7 cells, which can provide scientific guidance for clinical disease treatment.

【Keywords】LRG1 expression; Breast cancer tissue; MCF-7; Cell invasion; migration

乳腺癌现阶段已经成为全球第一大癌症, 受到多种因素影响, 近年来乳腺癌的发病率有所增加, 且逐渐朝向低龄化发展, 严重影响女性患者的身体健康, 降低患者生活质量^[1-2]。晚期乳腺癌患者经常存在转移等情况, 因此, 加强乳腺癌转移机制的研究对于提高晚期乳腺癌的生存质量有重要价值^[3]。富亮氨酸 α -2-糖蛋白 1 (LRG1) 来自人类血清中被

认为是中性粒细胞早期分化标志物, 通常与机体炎症性表达存在关联, 该物质的表达能够促进肿瘤细胞黏附, 侵袭, 迁移活动^[4-5]。临床中关于这方面内容报道鲜少, 本次研究纳入医院 2022 年 1 月至 2022 年 12 月 50 例乳腺癌患者为研究对象, 重点针对乳腺癌组织中 LRG1 表达情况进行分析, 并且针对该物质的抑制对 MCF-7 细胞侵袭和迁移影响进行分

*通讯作者: 孙平

析, 内容如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择医院 2022 年 1 月至 2022 年 12 月 50 例乳腺癌患者为研究对象, 其中年龄最小 48 岁, 年龄最大 75 岁, 平均年龄 (66.28±3.45) 岁。组织学分级, I 级/II 级/III 级分别为 6/20/24, TNM 分期 I-II 期 21 例, III-IV 期 29 例。选取乳腺癌组织 50 份, 收集患者癌旁乳腺组织 50 份为对照组。本次研究符合医院伦理要求, 且参与研究患者以及家属对本次研究内容知情签署知情同意书, 自愿参与研究。纳入标准: 符合《中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范 (2021 年版)》相关内容; 患者视听交流能力正常; 临床数据完整; 同意医学观察。排除标准: 不同意医学观察, 合并其他恶性肿瘤。

1.2 方法

(1) 试剂与设备

人乳腺癌细胞株 MCF-7 (美国 ATCC 细胞库), 胎牛血清 (Gibco 新西兰新生牛血清); 一抗: 兔抗人 LRG1、p-p38、 β -actin 抗体 (上海生物科技有限公司), siRNA-LRG1 和阴性对照 siRNA (锐赛生物) 二抗: 荧光素 AlexaFluor488 和 HRP 标记山羊抗兔 IgG、DAB 免疫组化染色试剂盒 (上海歌凡生物), DAPI 染料 (上海翊圣生物科技有限公司), ECL 发光试剂盒 (上海炎熙生物科技)。

(2) 免疫组化与免疫荧光染色

分别对乳腺癌组织以及癌旁组织进行切片, 依据免疫组化说明进行染色, 染色过程中将 1:100LRG1 存储在 4℃ 环境中进行孵育。PBS3 次, 而后向其中滴加 HRP 标记二抗, 继续孵育, 时间控制在 120 分钟。DAB 显色, 利用苏木素进行复染, 使用高倍镜随机抽取 5 个视野, 利用图像软件处理, 分析, 观察 LRG1 阳性染色情况以及表达强度。免疫荧光染色过程中将乳腺癌组织以及癌旁组织切片利用免疫荧光染色说明操作步骤进行操作, 操作 PBS 洗涤 3 次前步骤与免疫组化操作相同。而后滴加荧光素 AlexaFluor 标记二抗, 保持其 1: 1000, 孵育时间控制在 120 分钟, 利用荧光显微镜对绿色阳性表达进行观察。

(3) 细胞侵袭、迁移实验

按照 1:2 的方式将 Matrigel 胶和无血清 DMEM

培养基混合, 将 100 μ l 放置在人工基底膜, 等待 30 分钟后将 800 μ L 完全培养基放置在 20 孔板内部, 分别添加 200 μ L 的含有 NC 组以及 siRNA-LRG1 细胞培养液, 存储 24h 后进行擦拭, 利用甲醛固定细胞 30 分钟后结晶, 染色三分钟, 利用显微镜观察基膜细胞数量。将 NC 组和 siRNA-LRG1 组生长细胞分别进行孔板接种, 然后利用划痕试验, 经过 PBS 洗涤, 换为无血清的培养基, 对 0 小时以及 24 小时的情况进行拍照, 利用图像软件处理, 观察划痕愈合率。

1.3 观察指标

观察 LRG1 在乳腺癌组织中的表达以及 LRG1 对 MCF-7 细胞侵袭能力的影响。染色情况: 黄色阳性染色, 呈棕黄色高表达, 呈浅黄色低表达

1.4 统计学分析

使用 SPSS19.0 软件版本, 计量数据: 均数±标准差, *t* 检验; 计数资料: %, χ^2 检验。统计学意义以 ($P < 0.05$) 表示。

2 结果

2.1 LRG1 在乳腺癌组织中的表达水平

50 例乳腺癌组织中均存在 LRG1 表达, 癌旁组织中仅存在 1 例低表达, 数据差异显著 ($P > 0.05$) 见表 1。

表 1 LRG1 在乳腺癌组织中的表达水平 (%)

组别	高表达	低表达	阴性表达	总情况
研究组 (n=50)	38(76)	12(24)	0(0)	50(100)
对照组 (n=50)	0(0)	1(2)	49(98)	1(2)
χ^2	61.290	10.698	96.078	96.078
P	<0.001	0.001	<0.001	<0.001

2.2 对 MCF-7 细胞侵袭和迁移

通过侵袭实验发现, NC 组和 siRNA-LRG1 转染组细胞侵袭数目存在明显差异, NC 组 (320.45±2.48) 个, siRNA-LRG1 转染组 (125.45±4.63) 个, 与对照组相比差异显著 ($P < 0.05$)

通过划痕试验发现, 24 小时后 NC 组以及 siRNA-LRG1 转染组其划痕宽度均大于 0 小时数据, 划痕愈合率 NC 组 (34.25±2.44) %, siRNA-LRG1 转染组 (13.25±2.46) %, 数据差异显著 ($P < 0.05$)

3 结论

乳腺癌现阶段已经成为威胁女性身体健康以及

生命安全的重要癌症之一。该疾病的复发以及转移是影响乳腺癌患者疾病预后的重要因素, 发病早期由于乳腺癌体积相对较小, 淋巴转移相对较少, 通过手术切除预后效果较好^[6]。但是针对晚期乳腺癌通常会存在扩散以及转移情况, 增加患者死亡风险。因此临床中需要加强关于乳腺癌的转移以及扩散机制研究^[7]。

LRG1 在临床研究初期, 该物质通常被作为炎症分泌因子, 参与到临床多种炎症性疾病, 例如急性阑尾炎, 溃疡性结肠炎等。近年来随着临床生物学以及遗传学等相应研究发现该物质的表达和肿瘤的发病以及进展存在相关性, 肿瘤患者通常具有 LRG1 高表达, 而随着肿瘤的生长其浸润程度以及患者生存水平存在一定相关, 该物质过表达能够促进肿瘤生长、肿瘤侵袭水平, 与患者疾病预后水平成反比^[8]。分析此次研究结果, 发现 50 例乳腺癌组织中均存在 LRG1 表达, 癌旁组织中仅存在 1 例低表达。这种情况说明乳腺癌组织中 LRG1 表达水平较高。通过侵袭实验发现, NC 组和 siRNA-LRG1 转染组细胞侵袭数目存在明显差异, 而且减少 LRG1 表达能够有效降低 MCF-7 细胞穿膜数目, 与对照组相比明显降低, 这种情况进一步说明 LRG1 的高低与肿瘤细胞的侵袭和迁移能力成正比, 肿瘤细胞的转移主要是以细胞的迁徙和迁移为主, 因此深度研究关于肿瘤细胞的侵袭以及迁移机制对于乳腺癌的转移研究有重要作用^[9]。研究人员在临床研究发现 LRG1 高表达能够激活 p38/MAPK 信号通路, 增强细胞的侵袭迁移能力。反向思考, 如果在临床研究过程中能够降低 LRG1 表达, 可以阻断 p38/MAPK 信号通路, 则可以降低乳腺癌转移情况出现^[10]。

综上所述, 乳腺癌疾病的发生与转移和 LRG1 表达水平存在重要关联, LRG1 低表达能够有效抑制乳腺癌细胞 MCF-7 的侵袭和迁移, 这一观点能够为未来乳腺癌疾病靶向治疗过程中提供科学辅助。

参考文献

- [1] 王诗然, 邹明明, 徐春艳, 孙成, 孙平. LRG1 在乳腺癌组织中的表达及对 MCF-7 细胞侵袭和迁移的影响[J]. 现代肿瘤医学, 2022, 30(14): 2528-2533.
- [2] 刘壮凯, 白静慧, 张瑞山, 李翔, 张鑫丰, 徐宏. C1SD2 在乳腺癌组织中的表达及其对人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖与侵袭的影响[J]. 解剖科学进展, 2020, 26(02): 140-142.
- [3] 李纲, 王妹兴, 杨梅, 党雪菲, 李学庆, 李小静, 王红霞. Tspan29 在乳腺癌组织中的表达及其对 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞恶性生物学行为的影响[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2020, 27(01): 42-49.
- [4] 张世民, 董洪梅, 赵瑞君. GAB1 在 ER 阳性乳腺癌组织中的表达及其对 MCF-7 细胞转移能力的影响[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2021, 42(04): 574-579.
- [5] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范 (2021 年版) [J]. 中国癌症杂志, 2021, 31(10): 954-1040.
- [6] 宋炬东, 丁云贞, 张超, 孙远远, 刘号峰. Pannexin1 通道对乳腺癌细胞 MCF-7 细胞增殖和侵袭迁移的影响及可能机制[J]. 肿瘤学杂志, 2020, 26(03): 210-215.
- [7] 李旭, 黄新宇, 赵琳, 吴芳, 王玉珍, 廖子君, 安改丽. 肿瘤相关巨噬细胞对乳腺癌 MCF-7 细胞侵袭迁移能力的影响[J]. 临床肿瘤学杂志, 2022, 27(01): 14-20.
- [8] 韩海娥, 于慧敏, 徐小玉. FAM96A 在乳腺癌组织中表达及其对乳腺癌细胞增殖凋亡和侵袭转移的影响[J]. 国际医药卫生导报, 2020, 26(11): 1568-1571.
- [9] 李静平, 任晓菲, 刘北辰, 曹淼, 任曙光, 赵小涵, 刘运江, 张香梅. FOXP3 在激素受体阳性乳腺癌中的表达及其对 MCF-7 细胞侵袭和迁移的影响[J]. 解放军医学杂志, 2022, 47(03): 269-276.
- [10] 杜倩, 朱郭增, 邵银灿, 姚宁. circPVT1 通过靶向 miR-605-3p 介导的 Wnt/ β -catenin 信号通路对乳腺癌细胞增殖迁移及侵袭的影响[J]. 中国妇幼保健, 2021, 36(22): 5294-5299.

版权声明: ©2023 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS