

基于 RNA-seq 分析美洲大蠊提取物对结肠癌细胞信号通路的影响

陈峰^{1,2,3}, 陈佳松^{1,2,3}, 彭锐^{1,2,3}, 耿福能^{3*}, 邹方东^{1,2,3*}

(1. 四川大学生命科学学院, 成都 610064; 2. 四川省药用动物工程技术研究中心, 成都 610064; 3. 药用美洲大蠊四川省重点实验室, 成都 610064)

摘要: 美洲大蠊提取物能够抑制多种肿瘤的生长, 甚至能使肿瘤细胞发生凋亡, 但是美洲大蠊提取物对结肠癌细胞信号通路的影响尚不清楚。本文基于 RNA-seq 技术初步分析了美洲大蠊提取物联合顺铂处理结肠癌细胞后, 细胞内信号通路的变化。结果表明: 30 μM Cisplatin(顺铂)和 0.6% KFX(康复新液)联合处理组与未处理组(Control)相比, 总共有 1 901 个差异基因, 其中 1 555 个基因表达上调, 346 个基因表达下调; 30 μM Cisplatin 和 0.8% JFJ(精粉醇解)联合处理组与对照相比, 总共有 2 587 个差异基因, 其中 2 183 个基因表达上调, 404 个基因表达下调; 30 μM Cisplatin 和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ JF(精粉)联合处理组与 Control 相比, 总共有 1 488 个差异基因, 其中 1 164 个基因表达上调, 324 个基因表达下调。用 WEGO 和 DAVID 进行差异基因的 GO 和 KEGG 富集分析发现, 美洲大蠊联合顺铂处理组与对照组相比, 表达上调的差异基因主要富集在 p53、细胞粘附分子、MAPK、细胞凋亡等信号通路; 表达下调的差异基因主要富集在氨酰-tRNA 生物合成、氨基酸生物合成、抗生素生物合成、一碳代谢等信号通路。

关键词: 美洲大蠊; 提取物; 转录组; 差异基因; 信号通路; 功能注释

中图分类号: Q965.9

文献标志码: A

Molecular Portrait of *Periplaneta americana* Extracts on Colon Cancer Cells based on RNA-seq Analysis

CHEN Feng^{1,2,3}, CHEN Jiasong^{1,2,3}, PENG Rui^{1,2,3}, GENG Funeng^{3*}, ZOU Fangdong^{1,2,3*}

(1. College of Life Science, Sichuan University, Chengdu 610064, China; 2. Sichuan Engineering Research Center for Medicinal Animals, Chengdu 610064, China; 3. Sichuan Key Laboratory for Medicinal American Cockroach, Chengdu 610064, China)

Abstract: *Periplaneta americana* extracts can inhibit the growth of several tumors, and even induce tumor cell apoptosis. However, the influence of *P. americana* extracts on the signaling pathways in cancer cells is still unknown. In this study, RNA-seq method was used to investigate the changes of signaling pathways in colon cancer cells that treated with *P. americana* extracts and Cisplatin. The results showed that, comparing to the untreated group, colon cancer cells that treated with 30 μM Cisplatin and 0.6% KFX had 1 901 differentially expressed genes (DEGs), including 1 555 up-regulated genes and 346 down-regulated; 30 μM Cisplatin and 0.8% JFJ treated group had 2 587 DEGs, including 2 183 up-regulated genes and 404 down-regulated; 30 μM Cisplatin and 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ JF treated group had 1 488 DEGs, including 1 164 up-regulated genes and 324 down-regulated. GO analysis and KEGG pathway analysis showed that the up-regulated DEGs were enriched in p53 signaling pathway, cell adhesion and apoptosis, while the down-regulated DEGs were enriched in aminoacyl-tRNA biosynthesis, one carbon pool and biosynthesis of amino acids.

Keywords: *Periplaneta americana*; extraction; transcriptome; differentially expressed genes; signaling pathways; functional annotation

美洲大蠊 *Periplaneta americana* 属于昆虫纲蜚蠊目蜚蠊科大蠊属昆虫, 俗称“蟑螂”, 是世界性卫生害虫, 广泛分布于热带、亚热带地区。蜚蠊入药早有历史记载(孙星衍, 孙冯翼, 1955), 近年来, 发现美洲大蠊提取物具有很高的药用价值, 目前已有多个产品相继研发成功, 如康复新、心脉隆注射液、肝龙胶囊等(史未名, 2012)。康复新是美洲大蠊干燥虫体的乙醇提取物研制的产品, 已经广泛地应用于临床创伤治疗。舒崇湘等人使用 W11-a12(美洲大蠊多元醇提取物)作为全身放射损伤的治疗药物, 研究表明, 美洲大蠊的提取物通过增加细胞外基质表达量、刺激创伤细胞增殖、加速伤口愈合速度和质量(舒崇湘等, 2001)。刘玉媛临床研究表明, 康复新液对手足口病, 胃肠溃疡, 痔疮、肛瘘和肛裂等肛门周围疾病等都有很好的治疗效果(刘玉媛, 2006)。胡艳芬等发现美洲大蠊提取物对 3 株人肺癌细胞具有体外抑制作用(胡艳芬等, 2009); 何正春等发现美洲大蠊提取物对 3 株人体生殖系统肿瘤和消化系统肿瘤细胞具有体外抑制作用(何正春等, 2009); 蒋永新等发现美洲大蠊提取物能在体外诱导胃腺癌细胞 BGC-823、肺腺癌细胞 GLC、卵巢癌细胞等发生凋亡(蒋永新等, 2006)。

结直肠癌是胃肠道癌症中最常见的恶性肿瘤之一, 也是全球第三大最常见的癌症疾病(汪建平等, 2009)。顺铂(Cisplatin)是一种重要的抗肿瘤药物用于治疗多种类型的癌症(Rosenberg, 1999), 主要作用靶点为 DNA, 可以促进 DNA 链内及链间交联(主要为链内交联), 导致 DNA 损伤, 当 DNA 不能被修复时就导致了细胞凋亡(Siddik,

收稿日期: 2017-03-31 **接受日期:** 2017-05-09

作者简介: 陈峰(1991—), 男, 硕士研究生, 研究方向为细胞分子生物学, E-mail:879526987@qq.com

*通信作者 Corresponding author, E-mail:haoyishengf@126.com; fundzou@scu.edu.cn

2003)。尽管顺铂在临床治疗肿瘤上具有较好的效果，但是它具有的副作用以及肿瘤耐药性问题，严重影响了它在临床治疗中的应用潜力(Kelland, 1993; Ferlay *et al.*, 2015)。

转录组是某个物种或者特定细胞类型产生的所有转录本的集合，能够反应基因组在特定条件下的表达情况，从整体水平了解基因的功能和结构，是研究细胞表型和功能的一个重要手段。转录组已经广泛应用于基础研究、临床诊断和药物研发等领域(祁云霞等, 2011)。虽然有很多文献报道了美洲大蠊提取物能够抑制多种肿瘤的生长，甚至使肿瘤细胞凋亡，但是分析美洲大蠊提取物与顺铂联合处理结肠癌细胞，对其信号通路的影响的研究还未见到报道。因此，本文基于RNA-seq技术，分析美洲大蠊提取物联合顺铂处理的结肠癌细胞内信号通路的变化，为美洲大蠊提取物在临床上的应用及开发提供科学数据。

1 材料和方法

1.1 材料

人结直肠癌细胞低转移性细胞株(RKO细胞)为美国匹兹堡大学Lin Zhang教授实验室赠送；顺铂(Cisplatin)从中国上海蓝木化工公司购买；美洲大蠊提取物为康复新液(KFXY)、精粉(JF)、精粉醇解液(JFJJ)由四川好医生药业集团提供。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养以及加药处理 RKO 细胞用含有浓度为 10%胎牛血清(美国 Hyclone 公司)、青霉素 100 U·mL⁻¹ 和链霉素 100 μg·mL⁻¹ (美国 Hyclone 公司)的 DMEM(美国 Hyclone 公司)完全培养基，在 5%CO₂、37 °C 恒温培养箱中培养。待细胞汇合度为 90%~95%时，进行细胞传代培养并铺板。细胞以 1×10⁵/mL 的密度接种于 12 孔板中，24 h 后同时加入 30 μM Cisplatin 和一定浓度的美洲大蠊提取物(0.6% KFXY、0.8% JFJJ、100 μg·mL⁻¹ JF)处理 48 h，然后用 RNA 抽提试剂 TRIzol(中国大连 TaKaRa)收集细胞，并冻存在-80 °C 超低温冰箱。

1.2.2 RNA 提取以及检测 按照 RNA 提取试剂盒(TaKaRa)操作方法提取样品 RNA，利用琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 降解程度以及是否有污染，Nanodrop 检测 RNA 的纯度和浓度。

1.2.3 文库构建以及测序分析 RNA 样品检测合格后，用带有 Oligo(dT)的磁珠富集真核生物 mRNA。随后加入 fragmentation buffer 将 mRNA 打断成短片段，以 mRNA 为模板，用六碱基随机引物合成一链 cDNA，然后加入缓冲液、dNTPs 和 DNA polymerase I 和 RNase H 合成二链 cDNA，再用 AMPure XP beads 纯化双链 cDNA。纯化的双链 cDNA 先进行末端修复、加 A 尾并连接测序接头，再用 AMPure XP beads 进行片段大小选择。最后进行 PCR 扩增，并用 AMPure XP beads 纯化 PCR 产物，得到最终的文库。文库构建完成后，先使用 Qubit2.0 进行初步定量，稀释文库至 1.5 ng·μL⁻¹，随后使用 Agilent 2100 对文库的 insert size 进行检测，符合预期后，使用 Q-PCR 方法对文库的有效浓度进行准确定量(文库有效浓度>2 nM)，以保证文库质量。构建好的文库用 Illumina HiSeqTM2500 进行测序。

1.2.4 基因表达量统计和样品间差异表达分析 基因表达量的计算使用 FPKM(Fragments Per Kilobase of transcript per Million mapped reads)法。FPKM 法能消除基因长度和测序量差异对计算基因表达的影响，计算得到的基因表达量可直接用于比较不同样品的基因表达差异。然后采用 EdgeR 进行差异表达转录本的鉴定，利用 FDR 与 log₂FC 来筛选差异基因，筛选条件为 FDR<0.05 且|log₂FC|>1。

1.2.5 差异基因 GO 注释和 KEGG Pathway 分析 Gene Ontology(简称 GO)是一个国际化的基因功能分类体系，提供了一套动态更新的标准词汇表(controlled vocabulary)来全面描述生物体中基因和基因产物的属性。GO 总共有 3 个本体(ontology)，分别描述基因的分子功能(molecular function)、细胞组分(cellular component)、参与的生物过程(biological process)(Botstein *et al.*, 2000)。东京基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes Pathway, KEGG)是一个整合了基因组、化学和系统功能信息的生物系统数据库，它提供了一个参考的数据库，将基因对比到生物活动的每个信号通路中(Kanehisa *et al.*, 2008)。每一组的差异基因用 WEGO 软件进行样品间差异基因 GO 的分类，用 DAVID(<https://david.ncicrf.gov/>)进行 KEGG 通路富集分析。

2 结果与分析

2.1 测序结果分析

采用 Illumina HiSeqTM2500 技术平台对结肠癌细胞未处理组(Control)，30 μM Cisplatin 和 0.6% KFXY 联合处理组、30 μM Cisplatin 和 0.8% JFJJ 联合处理组、30 μM Cisplatin 和 100 μg·mL⁻¹ JF 联合处理组进行测序，结果如表 1 所示。各组经过数据过滤后得到的 reads 数分别为 22 770 909、24 048 295、26 977 761、32 367 493，碱基错误率分别为 0.04%、0.03%、0.03%、0.03%，Q20 的值分别为 94.42%、95.84%、95.78%、95.72%，Q30 的值分别为 87.35%、90.08%、89.87%、89.87%，每个样品的 GC 含量分别为 50.88%、50.83%、50.75%、51.7%。以上数据可以表明测序得到的数据量和测序的质量都很高。

表 1 样品转录组测序数据统计表

Table 1 RNA sequencing data

样品名称	过滤后 reads 数量	过滤后 数据量/G	碱基 错误率/%	Q20/%	Q30/%	GC 含量/%
control	22 770 909	6.83	0.04	94.42	87.35	50.88
30+0.6% KFX Y	24 048 295	7.21	0.03	95.84	90.08	50.83
30+0.8% JFJJ	26 977 761	8.09	0.03	95.78	89.87	50.75
30+100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ JF	32 367 493	9.71	0.03	95.72	89.87	51.70

2.2 样品间差异基因统计

采用 EdgeR 进行差异表达转录本的鉴定和统计, 结果如图 1 所示。与未处理组相比, 30 μM Cisplatin 和 0.6% KFX Y 联合处理组共有 1 901 个差异基因, 其中 1 555 个基因表达上调, 346 个基因表达下调; 30 μM Cisplatin 和 0.8% JFJJ 联合处理组共有 2 587 个差异基因, 其中 2 183 个基因表达上调, 404 个基因表达下调; 而 30 μM Cisplatin 和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ JF 联合处理组共有 1 488 个差异基因, 其中 1 164 个基因表达上调, 324 个基因表达下调。

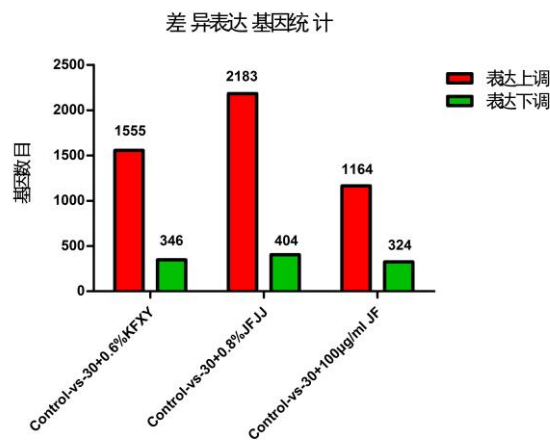


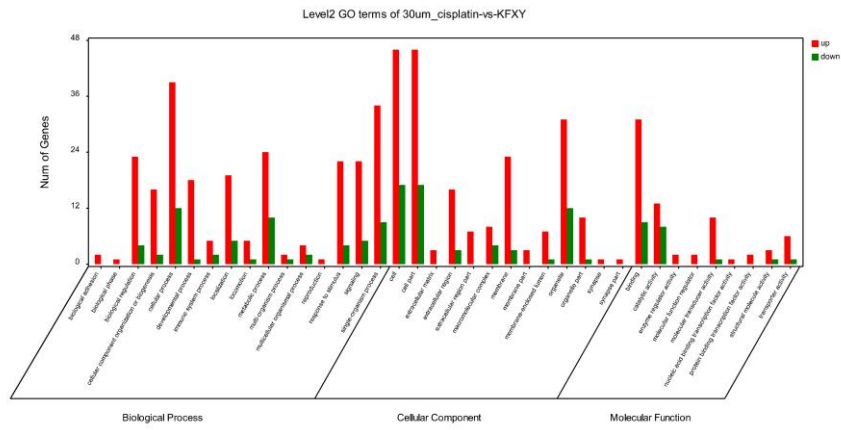
图 1 样品间差异表达基因统计

Fig. 1 Statistical analysis of differentially expressed genes between samples

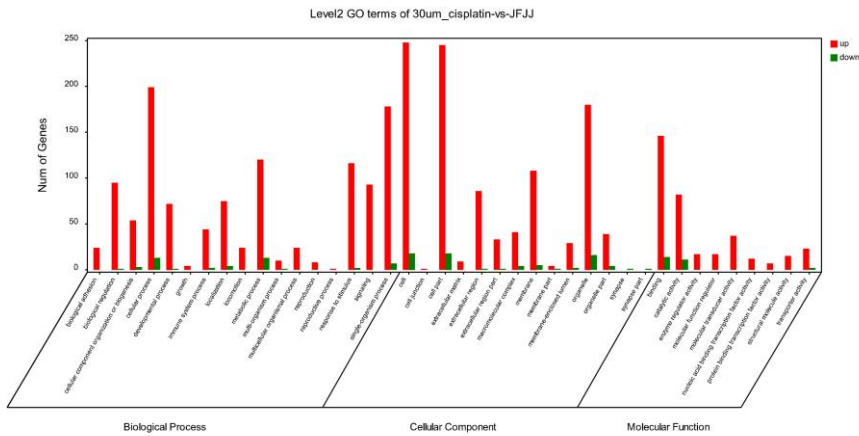
2.3 样品差异基因 GO 注释结果统计

用 WEGO 软件进行样品间差异基因 GO 的分类, 样品差异基因 GO 注释统计结果如图 2 所示。3 组样品中的差异基因注释到生物过程中的最多, 差异基因注释到生物过程中的 GO 主要在细胞内过程(cellular process)、新陈代谢过程(metabolic process)、单一机体过程(single-organism process)、细胞刺激反应(response to stimulus)等, 注释到细胞组分(cellular component)的 GO 主要在细胞组分(cell part)、细胞(cell)、细胞器(organelle)、细胞膜(membrane)等, 注释到分子功能(molecular function)的 GO 主要在细胞结合(binding)、催化活性(catalytic activity)、酶调节活性(enzyme regulator activity)、分子转导活性(molecular transducer activity)等。

A



B



C

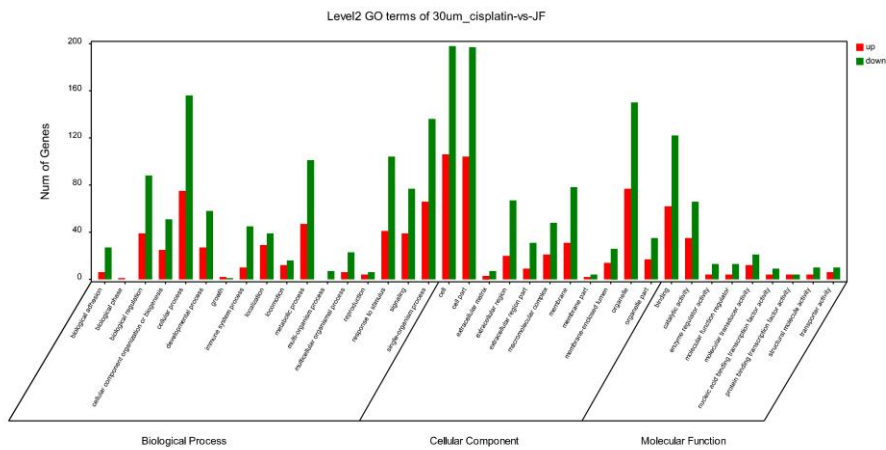


图2 样品间差异基因 GO 富集统计

Fig. 2 GO enrichment statistical analysis of differentially expressed genes between samples

A. 30 μM Cisplatin 与 0.6%KFXY+30 μM Cisplatin 组差异基因 GO 富集统计, B. 30 μM Cisplatin 与 0.8% JFJJ+30 μM Cisplatin 组差异基因 GO 富集统计, C. 30 μM Cisplatin 与 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ JF+30 μM Cisplatin 组差异基因 GO 富集统计。

A. GO enrichment statistical analysis of differentially expressed genes between 30 μM Cisplatin and 0.6% KFXY+30 μM Cisplatin, B. GO enrichment statistical analysis of differentially expressed genes between 30 μM Cisplatin and 0.8% JFJJ+30 μM Cisplatin, C. GO enrichment statistical analysis of differentially expressed genes between 30 μM Cisplatin and 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ JF+30 μM Cisplatin.

2.4 样品差异基因 KEGG 注释结果统计

采用 DAVID 进行 KEGG 信号通路富集分析, 筛选出 25 个显著性最高的信号通路。与未处理组相比, 30 μM Cisplatin 和 0.6% KFXY 联合组表达上调的差异基因主要富集在 p53, 系统性红斑狼疮, ECM 受体, 细胞黏着, 细

胞凋亡等信号通路；而表达下调的差异基因则主要富集在氨酰-tRNA 生物合成，甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢，抗生素生物合成，碳代谢等信号通路(表 2)。与未处理组相比，30 μM Cisplatin 和 0.8% JFJJ 联合处理组中表达上调的差异基因主要富集在溶酶体信号通路、p53 信号通路、细胞粘附分子(CAM)、MAPK 信号通路、细胞凋亡信号通路等；而表达下调的差异基因则富集在核糖体、氨基酸生物合成、氨酰-tRNA 生物合成、碳代谢等信号通路(表 3)。与未处理组相比，30 μM Cisplatin 和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ JF 联合处理组中表达上调的差异基因主要富集在 p53、吞噬体、ABC 转运蛋白、细胞粘附分子(CAM)、细胞凋亡、MAPK 等信号通路；表达下调的差异基因则主要富集在氨酰-tRNA 生物合成、氨基酸合成、抗生素生物合成、碳代谢等信号通路(表 4)。

表 2 30 μM Cisplatin 与 0.6% KFX Y+30 μM Cisplatin 组差异基因 KEGG 富集统计

Table 2 KEGG enrichment statistical analysis of differentially expressed genes between 30 μM Cisplatin and 0.6% KFX Y+30 μM

Cisplatin					
差异表达情况	Pathway ID	信号通路名称	基因数	比例 /%	P 值
表达上调基因所 在信号通路	hsa04115	p53 信号通路	22	1.600	7.33E-09
	hsa05322	系统性红斑狼疮	29	2.109	4.30E-07
	hsa05134	军团杆菌病	15	1.091	2.80E-05
	hsa05162	麻疹	25	1.818	3.94E-05
	hsa05034	酒精中毒	30	2.182	4.20E-05
	hsa04512	ECM 受体相互作用	19	1.382	5.80E-05
	hsa05203	病毒致癌	32	2.327	1.10E-04
	hsa04514	细胞粘附分子(CAM)	25	1.818	1.16E-04
	hsa04210	细胞凋亡	15	1.091	1.44E-04
	hsa05145	弓形虫病	21	1.527	4.09E-04
	hsa05161	乙型肝炎	24	1.745	4.20E-04
	hsa04142	溶酶体	21	1.527	5.73E-04
	hsa05164	甲型流感	26	1.891	0.001 0
	hsa05133	百日咳	15	1.091	0.001 1
	hsa02010	ABC 转运家族	11	0.800	0.001 2
	hsa04640	造血细胞系	16	1.164	0.001 4
	hsa04015	Rap1 信号通路	29	2.109	0.001 8
	hsa05160	丙型肝炎	21	1.527	0.001 9
	hsa05323	类风湿关节炎	16	1.164	0.002 0
	hsa04668	TNF 信号通路	18	1.309	0.002 0
表达下调基因所 在信号通路	hsa00970	氨酰-tRNA 生物合成	9	2.903	1.62E-05
	hsa01130	抗生素生物合成	9	2.903	0.030 8
	hsa01230	氨基酸的生物合成	5	1.613	0.039 3
	hsa01200	一碳代谢	6	1.935	0.046 3
	hsa00670	叶酸代谢	3	0.968	0.046 4

表 3 30 μM Cisplatin 与 0.8% JFJJ+30 μM Cisplatin 组差异基因 KEGG 富集统计

Table 3 KEGG enrichment statistical analysis of differentially expressed genes between 30 μM Cisplatin and 0.8% JFJJ+30 μM

Cisplatin					
差异表达情况	Pathway ID	信号通路名称	基因数	比例 /%	P 值
表达上调基因 所在信号通路	hsa04142	溶酶体	36	1.861	2.40E-08
	hsa04115	p53 信号通路	24	1.241	2.11E-07
	hsa05323	类风湿关节炎	25	1.293	1.19E-05
	hsa05203	病毒致癌	43	2.223	2.55E-05
	hsa05322	系统性红斑狼疮	32	1.655	2.61E-05
	hsa05214	胶质瘤	20	1.034	3.35E-05
	hsa05034	酒精中毒	38	1.965	4.90E-05
	hsa05162	麻疹	31	1.603	5.83E-05
	hsa04514	细胞粘附分子(CAM)	31	1.603	2.05E-04
	hsa05200	癌症途径	66	3.413	2.28E-04
	hsa04010	MAPK 信号通路	47	2.430	2.72E-04
	hsa05160	丙型肝炎	29	1.499	3.51E-04
	hsa05134	军团病	16	0.827	4.12E-04
	hsa04015	Rap1 信号通路	40	2.068	4.32E-04
	hsa04510	焦点粘附	39	2.017	5.85E-04
	hsa04210	细胞凋亡	17	0.879	6.58E-04
	hsa04512	ECM 受体相互作用	21	1.086	7.52E-04
	hsa05164	甲型流感	34	1.758	8.02E-04
hsa04014	Ras 信号通路	41	2.120	9.90E-04	
表达下调基因 所在信号通路	hsa03010	核糖体	26	7.303	1.31E-15
	hsa01230	氨基酸的生物合成	9	2.528	0.000 4
	hsa00970	氨基酰-tRNA 生物合成	8	2.247	0.001 1
	hsa01130	抗生素生物合成	14	3.932	0.002 1
	hsa01200	一碳代谢	9	2.528	0.006 5
	hsa00230	嘌呤代谢	10	2.809	0.029 2

表 4 30 μM Cisplatin 与 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ JF+30 μM Cisplatin 组差异基因 KEGG 富集统计

Table 4 KEGG enrichment statistical analysis of differentially expressed genes between 30 μM Cisplatin and 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ JF+30 μM

Cisplatin					
差异表达情况	Pathway ID	信号通路名称	基因数	比例 /%	P 值
表达上调基因所 在信号通路	hsa04115	p53 信号通路	18	1.761	2.25E-07
	hsa05162	麻疹	21	2.055	1.02E-04
	hsa04145	吞噬体	22	2.153	2.59E-04
	hsa02010	ABC 转运	10	0.978	9.38E-04
	hsa05214	胶质瘤	12	1.174	0.001 3
	hsa05164	甲型流感	22	2.152	0.001 4
	hsa04514	细胞粘附分子(CAM)	19	1.859	0.001 8
	hsa04722	神经营养蛋白信号通路	17	1.663	0.001 9
	hsa05323	类风湿关节炎	14	1.370	0.001 9
	hsa04142	溶酶体	17	1.663	0.002 0
	hsa05160	丙型肝炎	18	1.761	0.002 2
	hsa05161	乙型肝炎	19	1.859	0.002 3
	hsa05203	病毒致癌	24	2.348	0.002 3

	hsa04210	细胞凋亡	11	1.076	0.003 3
	hsa05145	弓形体病	16	1.566	0.004 0
	hsa05134	军团病	10	0.978	0.004 1
	hsa04064	NF- κ B 信号通路	13	1.272	0.005 0
	hsa05140	利什曼病	11	1.076	0.008 7
	hsa05169	EB 病毒感染	21	2.054	0.008 9
	hsa04010	MAPK 信号通路	26	2.544	0.009 0
	hsa05220	慢性骨髓性白血病	11	1.076	0.009 7
	hsa00970	氨基酰-tRNA 生物合成	8	2.837	6.84E-05
表达下调基因所	hsa01230	氨基酸的生物合成	5	1.773	0.028 1
在信号通路	hsa00670	一碳代谢	3	1.064	0.038 3
	hsa01130	抗生素生物合成	8	2.837	0.047 7

3 讨论

本研究应用 RNA-Seq 技术,分析美洲大蠊提取物联合顺铂处理的结肠癌细胞内信号通路以及细胞内基因表达的变化。与未处理组相比,30 μ M Cisplatin 和 0.6% KFX 联合处理组共鉴定出 1 555 个表达基因上调,346 个基因表达下调;30 μ M Cisplatin 和 0.8% JFJ 联合处理组鉴定出 2 183 个基因表达上调,404 个基因表达下调;而 30 μ M Cisplatin 和 100 μ g·mL⁻¹ JF 联合处理组则鉴定出 1 164 个基因表达上调,324 个基因表达下调。为了明确差异基因的功能,采用 WEGO 和 DAVID 进行差异基因的 GO 和 KEGG 富集分析。

GO 分析的结果表明 3 组样品中的差异基因注释到生物过程中的最多。KEGG 分析结果则表明与未处理组相比,30 μ M Cisplatin 和美洲大蠊联合处理组中表达上调的基因主要富集在 p53 信号通路、ECM 受体信号通路、细胞黏着信号通路、细胞凋亡信号通路等。p53 信号通路参与了诱导细胞周期阻滞、促进细胞凋亡和 DNA 的修复等生物过程,发挥着避免受损 DNA 堆积、维持基因组稳定以及调节细胞分化与衰老等功能活动(Vogelstein *et al.*, 2000)。此外,在结肠癌中 p53 信号通路常出现异常(Chen *et al.*, 2006)。最近的研究表明,ECM 在肿瘤的转移中发挥着重要的作用,结肠癌细胞和基质细胞能够通过直接的细胞接触,产生 ECM 组分和分泌生长因子(Vicente *et al.*, 2013)。细胞粘附分子(CAM)在结肠直肠癌的转移潜能中发挥重要作用。因此,能够介导这种常见恶性肿瘤的预后效果(Paschos *et al.*, 2009)。值得注意的是,表达上调的基因也富集在 ABC 转运蛋白信号通路,而 ABC 转运蛋白信号通路中的基因,常常在结肠癌抗药性细胞和肿瘤中高表达(Hlavata *et al.*, 2012)。表达下调的基因主要富集在氨基酰-tRNA 生物合成,甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢,抗生素生物合成,碳代谢等信号通路。氨基酰-tRNA 生物合成催化相应的氨基酸结合到 tRNAs 上,这种催化合成反应决定了蛋白质的合成和细胞的存活(Park *et al.*, 2008),而氨基酰-tRNA 生物合成在结肠癌中却是增加的(Kushner *et al.*, 1976)。最新的研究表明,一碳的代谢不仅能够影响癌症的进程,同时也能够影响基因组的完整和表观遗传的改变(Locasale *et al.*, 2013)。因此,监控这些重要信号通路的变化,可以预测美洲大蠊提取物联合顺铂治疗结肠癌后的预后效果。

综上所述,本文全面分析了美洲大蠊提取物联合顺铂处理结肠癌细胞后信号通路的变化。研究结果可为美洲大蠊提取物的临床应用以及产品的深入开发,提供丰富的数据资源。

致谢: 本次实验得到四川好医生药业集团的大力支持,在此致以最真诚的谢意!

参考文献:

- 何正春, 王晓雨, 杨雷香, 等. 2009. 美洲大蠊提取物对 3 株消化系统肿瘤细胞的细胞毒性研究[J]. 中国药业, 18(9): 11-12.
- 胡艳芬, 吕小满, 刘光明, 等. 2009. 美洲大蠊提取物对 3 株人肺癌细胞的体外抑制作用[J]. 大理学院学报: 综合版, 8(12): 1-3.
- 蒋永新, 王熙才, 金从国, 等. 2006. 康复新体外诱导胃癌 BGC-823 细胞凋亡的实验研究[J]. 昆明医学院学报, 27(2): 5-9.
- 刘玉媛. 2006. 天然药物康复新液的临床应用[J]. 天津药学, 18(3): 55-57.
- 祁云霞, 刘永斌, 荣威恒. 2011. 转录组研究新技术: RNA-seq 及其应用[J]. 遗传, 33(11): 1191-1202.
- 史未名. 2012. 美洲大蠊的药用研究进展[J]. 中国民族民间医药杂志, 21(3): 50-51.
- 舒崇湘, 程天民, 李树楠. 2001. 5Gy 全身照射对大鼠伤口巨噬细胞的抑制效应及 W_(11)-a_(12)的促愈作用[J]. 第三军医大学学报, 23(7): 756-758.
- 孙星衍, 孙冯翼. 1955. 神农本草经[M]. 北京: 商务印书馆.
- 汪建平. 2009. 中国直肠癌治疗现状与思考[J]. 中华胃肠外科杂志, (3): 211-214.
- Botstein D, Cherry JM, Ashburner M, *et al.* 2000. Gene ontology: tool for the unification of biology[J]. Nature Genetics, 25(1): 25-29.

- Chen D, Yu Z, Zhu Z, *et al.* 2006. The p53 pathway promotes efficient mitochondrial DNA base excision repair in colorectal cancer cells[J]. *Cancer Research*, 66(7): 3485-3494.
- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, *et al.* 2015. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. *International Journal of Cancer*, 136(5): E359-E386.
- Hlavata I, Mohelnikova-Duchonova B, Vaclavikova R, *et al.* 2012. The role of ABC transporters in progression and clinical outcome of colorectal cancer[J]. *Mutagenesis*, 27(2): 187-196.
- Kanehisa M, Araki M, Goto S, *et al.* 2008. KEGG for linking genomes to life and the environment[J]. *Nucleic Acids Research*, 36(suppl 1): D480-D484.
- Kelland LR. 1993. New platinum antitumor complexes[J]. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 15(3): 191-219.
- Kushner JP, Boll D, Quagliana J, *et al.* 1976. Elevated methionine-tRNA synthetase activity in human colon cancer 1[J]. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 153(2): 273-276.
- Locasale JW. 2013. Serine, glycine and one-carbon units: cancer metabolism in full circle[J]. *Nature Reviews Cancer*, 13(8): 572-583
- Park SG, Schimmel P, Kim S. 2008. Aminoacyl tRNA synthetases and their connections to disease[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(32): 11043-11049.
- Paschos KA, Canovas D, Bird NC. 2009. The role of cell adhesion molecules in the progression of colorectal cancer and the development of liver metastasis[J]. *Cellular Signalling*, 21(5): 665-674.
- Rosenberg B. 1999. Platinum complexes for the treatment of cancer[M]. Zurich: Verlag Helvetica Chimica Acta: 3-27.
- Siddik ZH. 2003. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance[J]. *Oncogene*, 22(47): 7265-7279.
- Vicente CM, Ricci R, Nader HB, *et al.* 2013. Syndecan-2 is upregulated in colorectal cancer cells through interactions with extracellular matrix produced by stromal fibroblasts[J]. *BMC Cell Biology*, 14(1): 25.
- Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. 2000. Surfing the p53 network[J]. *Nature*, 408(6810): 307-310.