

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.02.015

· 基础研究 ·

人参皂苷 Rg3 通过 Ca^{2+} /CaM 信号系统抑制胃癌 BGC-823 细胞增殖及其可能的机制

孙大鹏^{1,2}, 鲁明明¹, 王硕¹, 富力¹ (1. 大连富生天然药物开发有限公司, 辽宁 大连 116600; 2. 辽宁医学院附属第一医院 药学部, 辽宁 锦州 121001)

[摘要] **目的:** 研究人参皂苷 Rg3 是否是通过降低钙调蛋白(calmodulin, CaM)的表达来促进胃癌 BGC-823 细胞的凋亡及其可能的机制。**方法:** 按加药的不同将 BGC-823 细胞,分为正常对照组、Rg3(50 μ g/ml)组、Ad-CaM 组和 Rg3(50 μ g/ml) + Ad-CaM 组。MTT 法检测 Rg3 和/或 Ad-CaM 对 BGC-823 细胞增殖的影响,流式细胞术检测 Rg3 和/或 Ad-CaM 对胃癌 BGC-823 细胞凋亡的影响,Transwell 实验检测 Rg3 和/或 Ad-CaM 对胃癌 BGC-823 细胞侵袭能力的影响,Western blotting 检测 Rg3 和/或 Ad-CaM 对胃癌 BGC-823 细胞内 CaM、I κ B、CaMK II 和 NF- κ B 表达的影响。**结果:** Rg3 组可以明显促进胃癌 BGC-823 细胞的凋亡和抑制胃癌 BGC-823 细胞的增殖和侵袭,而 Ad-CaM 组和 Rg3 + Ad-CaM 组明显抑制胃癌 BGC-823 细胞的凋亡和促进胃癌 BGC-823 细胞的生长和侵袭。Rg3 组 BGC-823 细胞内 NF- κ B 和 CaMK II 的表达均明显抑制,而 I κ B 的表达明显增强;Ad-CaM 组和 Rg3 + Ad-CaM 组 BGC-823 细胞内 NF- κ B 和 CaMK II 的表达均明显增强,而 I κ B 的表达均明显抑制。**结论:** Rg3 可能是通过降低 CaM 的表达来抑制 NF- κ B 信号通路的活性,进而抑制胃癌 BGC-823 细胞的增殖和侵袭、促进其凋亡。

[关键词] 人参皂苷;Rg3;胃癌;BGC-823 细胞;钙调蛋白;增殖;凋亡

[中图分类号] R735.2;R730.54;R284

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)02-0225-05

Ginsenoside Rg3 inhibits gastric cancer cell proliferation through Ca^{2+} /CaM kinase downregulation and NF- κ B inactivation

Sun Dapeng^{1,2}, Lu Mingming¹, Wang Shuo¹, Fu Li¹ (1. Dalian Fusheng Natural Medicinal Development Co. Limited, Dalian 116600, Liaoning, China; 2. Department of Pharmaceutical, First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning, China)

[Abstract] **Objective:** To study whether and how ginsenoside Rg3 regulate apoptosis of gastric cancer BGC-823 cells. **Methods:** BGC-823 cells were treated with vehicle (control), Rg3 (50 μ g/ml), Ad-CaM, and Rg3 (50 μ g/ml) plus Ad-CaM, respectively. At 48 hours after treatment, cell viability was assessed by MTT assay, cell apoptosis by flow cytometry, cell invasive capacity by trans-well assay, CaM, I κ B, CaMK II and NF- κ B protein contents by Western blotting analysis. **Results:** Compared with vehicle control, Rg3 significantly promoted apoptosis and inhibited proliferation and invasion of BGC-823 cells ($P < 0.05$), while Ad-CaM and Rg3 + Ad-CaM significantly inhibited apoptosis and promoted proliferation and invasion of BGC-823 cells ($P < 0.05$). At the protein level, the expression of NF- κ B and CaMK II was significantly downregulated whereas the expression of I κ B α was significantly in Rg3-treated BGC-823 cells ($P < 0.05$), and the expression of NF- κ B and CaMK II was significantly enhanced whereas the expression of I κ B α was significantly inhibited in cells treated with Ad-CaM and Rg3 plus Ad-CaM respectively ($P < 0.05$), as compared with control cells. **Conclusion:** Rg3 may inhibit proliferation and invasion and promote apoptosis of gastric cancer cells through downregulation of CaM kinase expression and inactivation of NF- κ B.

[基金项目] 辽宁省科技厅自然科学基金资助项目(No. 2014022044);辽宁医学院校长基金资助项目(No. XZJJ 20130230)。Project supported by the Natural Science Foundation from Science and Technology Department of Liaoning Province (No. 2014022044), and the Principal Foundation of Liaoning Medical University (No. XZJJ 20130230)

[作者简介] 孙大鹏(1978-),辽宁省锦州市人,博士后,主治医师,主要从事肿瘤生物治疗基础与临床研究,Email:sundapeng1978@126.com

[通信作者] 富力(Fu Li, corresponding author), E-mail:2729677386@qq.com

[**Keywords**] ginsenoside; Rg3; gastric cancer; BGC-823 cell; calmodulin; proliferation; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(2): 225-229]

人参作为一味古老的中药被广泛用于多种疾病的治疗,其有效成分为人参皂苷。目前能提取出几十种人参皂苷单体,其中抗肿瘤作用最强、应用最为广泛的是人参皂苷 Rg3。Rg3 可以通过抑制肿瘤血管生成、诱导肿瘤细胞凋亡、抗肿瘤转移、增强患者免疫功能等来抑制肿瘤的生长^[1-3]。研究^[4-5]表明, Rg3 能够抑制胃癌细胞生长并促进其凋亡,但具体机制尚不十分清楚。钙调蛋白(calmodulin, CaM)是一种广泛存在于生物体的 Ca²⁺ 结合蛋白,许多生物学过程可能都与之有关,其作为细胞内 Ca²⁺ 受体对各种功能进行调节。Ca²⁺/CaM 信号系统不但在多种肿瘤细胞如肝癌、乳腺癌和胃癌细胞中存在表达,还对这些肿瘤细胞的生长产生了重要影响^[6-8]。本研究旨在观察人参皂苷 Rg3 对胃癌 BGC-823 细胞生长、凋亡和侵袭的影响及其与 Ca²⁺/CaM 信号系统的关系。

1 材料与方法

1.1 主要材料及试剂

胃癌 BGC-823 细胞系购自上海细胞生物研究所。重组 CaM 腺病毒(Ad-CaM)购自上海生物工程有限公司,由大连医科大学中心实验室保存。胎牛血清、胰酶、DMEM、RPMI1640 均购自 Hyclone 公司, DMSO 购自 Sigma 公司, MTT 购自 Biosharp 公司, 鼠抗人 CaM 单克隆抗体、鼠抗人 I κ B 单克隆抗体、兔抗人 CaMK II 单克隆抗体、兔抗人 NF- κ B 多克隆抗体均购自 Abcam 公司, 山羊抗兔 IgG、山羊抗鼠 IgG 均购自北京中杉金桥生物技术有限公司, Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒购自欣博盛生物技术有限公司。

1.2 胃癌 BGC-823 细胞的培养及实验分组

BGC-823 细胞保持原培养液置细胞培养箱 1 d 后,更换为新鲜 5 ml 含 10% 胎牛血清的 L-15 培养基,置 5% CO₂、37 °C 孵育箱中培养,待细胞增长至 80% ~ 90% 汇合时,用 0.25% 胰蛋白酶消化 1 ~ 2 min,用吸管反复吹打贴壁细胞,使之脱离瓶壁充分分散。将细胞悬液按 1:2 稀释,传到新培养瓶中,每瓶加入 5 ml 新鲜培养液继续培养。取对数生长期细胞制成 5 × 10⁴/ml 单细胞悬液,接种于 96 孔板,每孔 200 μ l,分别加入相应药剂作用细胞 48 h。按加药的不同分为对照组(不加药处理)、Rg3(50 μ g/ml)组、Ad-CaM 组和

Rg3(50 μ g/ml) + Ad-CaM 组(加入 Ad-CaM 的目的是观察 Ad-CaM 是否能影响 Rg3 对 CaM 表达的影响),每组设 4 个平行孔。

1.3 MTT 法检测 Rg3 和/或 Ad-CaM 对胃癌 BGC-823 细胞的增殖的影响

按上述分组药物作用 48 h 后,每孔加入质量浓度为 5 mg/ml 的 MTT 20 μ l,继续培养 4 h。吸去培养液,每孔加入 150 μ l DMSO,避光,恒温振荡器上振 10 min,室温孵育 20 min。酶标仪检测 490 nm 波长处的光密度(D)值。增殖抑制率(%) = (对照组 D 值 - 实验组 D 值) / (对照组 D 值 - 空白孔 D 值) × 100%。

1.4 流式细胞术检测 Rg3 和/或 Ad-CaM 对胃癌 BGC-823 细胞凋亡的影响

按上述分组药物作用 48 h 后,用含 0.02% 的 EDTA 和 0.25% 胰酶进行消化,调整细胞密度至 1 × 10⁶/ml,以冷 PBS 洗 2 次并用 1 × 结合缓冲液重悬。取 195 μ l 细胞悬液于 5 ml 流式管中,加入 5 μ l Annexin V-FITC,轻轻混匀后静置 3 min,再加入 10 μ l 的 PI 溶液,振荡后于室温下避光静置 15 min,每管加入 400 μ l 1 × 结合缓冲液,流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.5 Transwell 实验检测 Rg3 和/或 Ad-CaM 对胃癌 BGC-823 细胞侵袭的影响

各组细胞按 1.4 的方法制成单细胞悬液,调整细胞密度为 2 × 10⁵/ml。用 Matrigel 铺盖于 Transwell 上下室之间的 PVP 滤膜上,37 °C 处理 30 min。取 100 μ l 细胞加入上室,500 μ l 含血清培养基加入下室,每组设 3 个复孔,于 CO₂ 孵育箱培养 24 h 后,取出小室,用 95% 乙醇固定 10 min。常规行 0.1% 结晶紫染色,于显微镜下随机取上、下、左、右和中心 5 个视野,计数穿膜细胞数,取 5 个视野的平均数表示肿瘤细胞的侵袭力。

1.6 Western blotting 检测 Rg3 和/或 Ad-CaM 对胃癌 BGC-823 细胞内 CaM、I κ B、CaMK II 和 NF- κ B 表达的影响

各组细胞按常规方法裂解,考马斯亮蓝法测定蛋白浓度,SDS-PAGE 分离蛋白,并电转至 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉在 37 °C 封闭 2 h。分别加入 1:1 000 鼠抗人 CaM 单克隆抗体、1:500 鼠抗人 I κ B 单克隆抗体、1:1 000 兔抗人 CaMK II 单克隆抗体、1:500 兔抗人 NF- κ B 多克隆抗体,4 °C 孵育过夜。漂

洗 3 次加第二抗体作用 2 h,漂洗 3 次。加发光剂,置感光盒中感光、显影、定影。利用凝胶成像系统成像后,进行半定量分析,以 β -actin 作为内参。

1.7 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 ANOVA 方法进行检验,以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Rg3 和/或 Ad-CaM 对胃癌 BGC-823 细胞内 CaM 表达的影响

Western blotting 检测结果(图 1)显示,各组胃癌 BGC-823 细胞中均存在 CaM 的表达,但与对照组比较,Rg3 组 CaM 的表达明显被抑制(13.24 ± 0.28 vs 22.53 ± 0.54 , $P = 0.027$),而 Ad-CaM 组(29.63 ± 0.61 , $P = 0.036$)和 Rg3 + Ad-CaM 组(27.82 ± 0.58 , $P = 0.041$)CaM 的表达均明显增强。

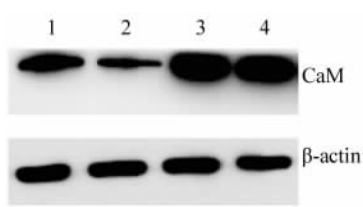


图 1 Rg3 和/或 Ad-CaM 对胃癌 BGC-823 细胞内 CaM 表达的影响

Fig. 1 Effects of Rg3 and/or Ad-CaM on the expression of CaM in BGC-823 cells

1: Control; 2: Rg3; 3: Ad-CaM; 4: Rg3 + Ad-CaM

2.2 Rg3 和/或 Ad-CaM 对胃癌 BGC-823 细胞的生长抑制作用

MTT 检测结果显示,Rg3 组细胞增殖抑制率高于对照组,差异具有统计学意义[(81.96 ± 4.12)% vs (35.32 ± 2.04)% , $P = 0.014$];而 Ad-CaM 组 [(14.64 ± 1.05)% , $P = 0.032$]和 Rg3 + Ad-CaM 组 [(16.17 ± 1.31)% , $P = 0.036$]细胞增殖抑制率均显著低于对照组。

2.3 Rg3 和/或 Ad-CaM 对胃癌 BGC-823 细胞凋亡的影响

流式细胞术检测结果(图 2)显示,Rg3 组细胞的凋亡率显著高于对照组[(58.96 ± 3.56)% vs (28.80 ± 1.41)% , $P = 0.029$]; Ad-CaM 组 [(15.94 ± 1.68)% , $P = 0.037$]和 Rg3 + Ad-CaM 组 [(16.00 ± 1.01)% , $P = 0.039$]细胞凋亡率显著低于对照组。

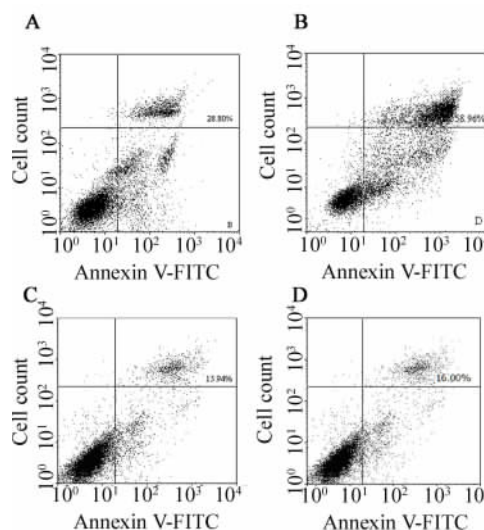


图 2 Rg3 和/或 Ad-CaM 对胃癌 BGC-823 细胞凋亡的影响

Fig. 2 Effects of Rg3 and/or Ad-CaM on apoptosis of BGC-823 cells

A:Control; B:Rg3; C: Ad-CaM; D:Rg3 + Ad-CaM

2.4 Rg3 和/或 Ad-CaM 对胃癌 BGC-823 细胞侵袭能力的影响

Transwell 实验检测结果(图 3)显示,Rg3 组 BGC-823 细胞穿膜细胞数显著低于对照组[(31 ± 2) vs (86 ± 5)个, $P = 0.029$]; Ad-CaM 组 [(164 ± 9)个, $P = 0.023$]和 Rg3 + Ad-CaM 组 [(156 ± 8)个, $P = 0.026$]穿膜细胞数显著高于空白对照组。

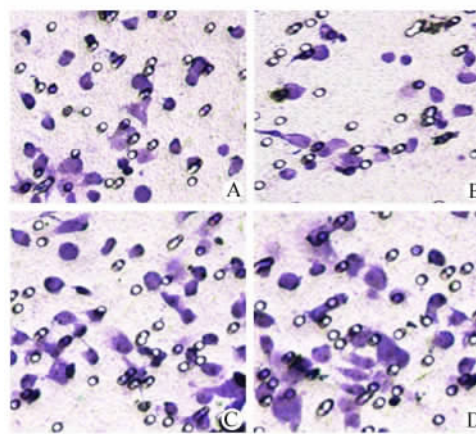


图 3 Rg3 和/或 Ad-CaM 对胃癌 BGC-823 细胞侵袭能力的影响($\times 400$)

Fig. 3 Effects of Rg3 and/or Ad-CaM on invasion ability of BGC-823 cells($\times 400$)

2.5 Rg3 和/或 Ad-CaM 对 BGC-823 细胞 NF- κ B、

CaMK II 和 IκB 的影响

Western blotting 检测结果(图 4)显示,与空白对照组比较,Rg3 组细胞内 NF-κB 和 CaMK II 的表达均被明显抑制($P = 0.012, P = 0.015$), IκB 的表达被明显增强($P = 0.031$); Ad-CaM 组和 Rg3 + Ad-CaM 组细胞内 NF-κB($P = 0.020, P = 0.029$)和 CaMK II($P = 0.023, P = 0.031$)的表达均被明显增强,而 IκB 的表达均被明显抑制($P = 0.031, P = 0.033$)。

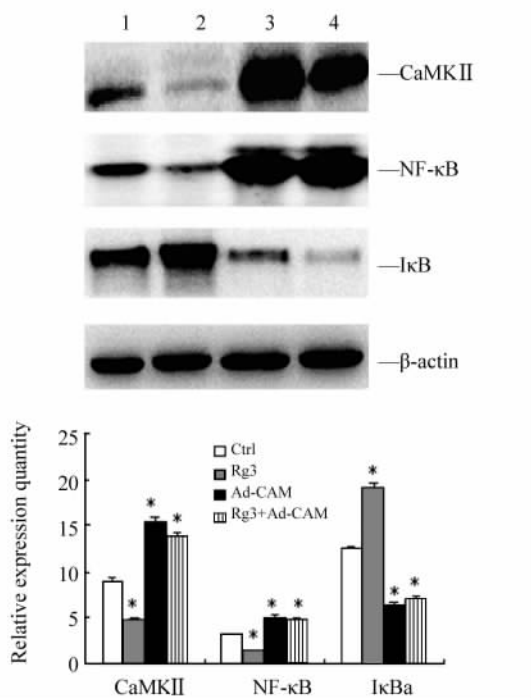


图 4 Rg3 和/或 Ad-CaM 对 BGC-823 细胞 CaMK II、NF-κB 和 IκB 表达的影响

Fig. 4 Effects of Rg3 and/or Ad-CaM on the expression of CaMK II, NF-κB and IκB of BGC-823 cells

A: Western blotting. 1: Control; 2: Rg3; 3: Ad-CaM; 4: Rg3 + Ad-CaM. B: Data statistics
* $P < 0.05$ vs Ctrl group

3 讨论

Rg3 不但具有抑制肿瘤细胞生长、诱导肿瘤细胞凋亡、选择性抑制肿瘤细胞转移和浸润及抑制肿瘤新生血管形成的作用,还能够增加肿瘤细胞的化疗敏感性,进而进一步抑制肿瘤细胞生长^[9-10]。CaM 是分布最广泛的 Ca^{2+} 受体, Ca^{2+} /CaM 复合物是一种参与多种信号转导途径的信号分子,为细胞信号传递的重要物质。现已证明, CaM 广泛存在于多种肿瘤细胞内, Ca^{2+} 的许多功能如物质代谢、细胞

生长和基因表达等都是通过 CaM 完成的。因此, CaM 可能成为抗肿瘤治疗的一个新靶点。本研究发现, Rg3 能够通过抑制胃癌细胞中 CaM 的表达, 促进胃癌 BGC-823 细胞的凋亡、抑制胃癌 BGC-823 细胞的生长和侵袭, 但当 CaM 的表达升高时 Rg3 的抑瘤作用被明显降低。表明 Rg3 可能是通过抑制 CaM 的表达来实现杀灭胃癌 BGC-823 细胞。

研究^[11]发现, Rg3 具有直接的抗肿瘤特性, 其机制可能是通过抑制 NFκB 信号的活化来实现的。NFκB 是一种转录因子复合物, 这种转录因子可以调节细胞的增殖、凋亡和炎症反应, 从而影响肿瘤的发生, 而 IκB 是 NF-κB 的一种抑制因子, 通过与 NF-κB 的结合使其不能进入细胞核内, 进而达到使 NF-κB 信号通路失活的作用^[12-13]。CaMK II 是 Ca^{2+} /CaM 信号通路下游的一种重要的蛋白激酶, 可以通过激活 NF-κB 信号通路来促进肿瘤细胞的生长, 因此在调控肿瘤细胞的生长过程中起着十分重要的作用^[14-15]。本研究结果显示, Rg3 能够抑制 BGC-823 细胞内 NF-κB 和 CaMK II 的表达、促进 IκB 的表达; Ad-CaM 和 Rg3 + Ad-CaM 的作用则相反。推测 Rg3 可能是通过抑制 CaM 的表达来降低 NF-κB 信号通路的活性, 进而抑制胃癌细胞的生长。

综上, Rg3 可以抑制胃癌 BGC-823 细胞的增殖, 其可能是通过降低 Ca^{2+} /CaM 信号通路的表达, 进而抑制 NF-κB 信号通路的活性来实现的。

[参考文献]

[1] 陈迪, 王光兰, 倪劲松, 等. 20(S)人参皂苷 Rg3 诱导宫颈癌 Hela 细胞凋亡的研究 [J]. 中国实验诊断学, 2008, 12(4): 466-470.
 [2] 张荣, 赵翌, 刘基巍, 等. 人参皂苷 Rg3 诱导小鼠肝癌细胞凋亡及抑制肿瘤血管内皮生长因子生成的研究 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(1): 130-134.
 [3] 简捷, 刘利珍, 李小燕, 等. 人参皂苷 Rg3 对人肝癌细胞 Pim-3 及 Bad 凋亡蛋白表达的影响 [J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(20): 2229-2233.
 [4] 袁国荣, 叶再元. 人参皂苷 Rg3 联合紫杉醇抗胃癌转移的作用及机制研究 [J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(3): 625-628.
 [5] 王吉, 史桂英, 袁耀宗, 等. 人参皂甙 Rg3 在体外对胃癌细胞生长和凋亡的影响 [J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2009, 29(11): 1336-1340.
 [6] Kim JH, Kim SJ. Downregulation of arfgef1 and camk2b by promoter hypermethylation in breast cancer cells [J]. BMB Rep, 2011, 44(8): 523-528.
 [7] Cuddapah VA, Sontheimer H. Molecular interaction and functional regulation of CIC-3 by Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II (CaMK II) in human malignant glioma [J]. J Biol Chem,

- 2010, 285(15): 11188-11196.
- [8] 王妍,周建奖,谢渊,等. 钙调蛋白、钙网蛋白及周期蛋白依赖性激酶 1 基因在胃癌组织中的表达 [J]. 肿瘤防治研究, 2013, 40(2): 151-154.
- [9] Park EH, Kim YJ, Yamabe N, et al. Stereospecific anticancer effects of ginsenoside Rg3 epimers isolated from heat-processed American ginseng on human gastric cancer cell [J]. J Ginseng Res, 2014, 38(1): 22-27.
- [10] Kim BM, Kim DH, Park JH, et al. Ginsenoside Rg3 induces apoptosis of human breast cancer (MDA-MB-231) cells [J]. J Cancer Prev, 2013, 18(2): 177-185.
- [11] Kim SM, Lee SY, Cho JS, et al. Combination of ginsenoside Rg3 with docetaxel enhances the susceptibility of prostate cancer cells via inhibition of nf-kappab [J]. Eur J Pharmacol, 2010, 631(1/3): 1-9.
- [12] Hinohara K, Kobayashi S, Kanauchi H, et al. ErbB receptor tyrosine kinase/nf-kappab signaling controls mammosphere formation in human breast cancer [J]. Proc Natl Acad, 2012, 109(17): 6584-6589.
- [13] Jani TS, DeVecchio J, Mazumdar T, et al. Inhibition of NF-kappaB signaling by quinacrine is cytotoxic to human colon carcinoma cell lines and is synergistic in combination with tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) or oxaliplatin [J]. J Biol Chem, 2010, 285(25):19162-19172.
- [14] Si J, Collins SJ. Activated Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase IIgamma is a critical regulator of myeloid leukemia cell proliferation [J]. Cancer Res, 2008, 68(10): 3733-3742.
- [15] Kang DW, Hur CG, Park JY, et al. Acetylcholine increases Ca^{2+} influx by activation of CaMK II in mouse oocytes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 360(2): 476-482.
- [收稿日期] 2014 - 11 - 19 [修回日期] 2015 - 02 - 05
- [本文编辑] 黄静怡

· 科技动态 ·

长链非编码 RNA *PACER* 通过阻止抑制性的 NF- κ B 复合物促进 *COX-2* 表达

长链非编码 RNA (lncRNA) 是一类长度大于 200 bp, 不编码蛋白的一类 RNA, 其参与调控多种生理过程, 包括细胞分化、细胞周期、细胞迁移等, 最主要的功能是调节基因的表达。环加氧酶 2 (cyclo-oxygenase 2, COX-2) 是一种催化花生四烯酸生成前列腺素的酶, 其能被细胞因子、炎症信号等诱导表达, 在发热、疼痛、炎症、肿瘤等一些生理病理过程中发挥着重要的作用。鉴于 COX-2 能上调炎症信号, 促进肿瘤的发生发展, 本文作者对 lncRNA 介导的 COX-2 转录调控作了细致探讨。

作者首先利用染色质免疫共沉淀的方法在 COX-2 基因上游 (从转录起始位点到约 -1 000 bp) 处发现有较强的 RNA 聚合酶 II 的结合, 由此推测这个区域可能存在一个转录本。采用随机引物 PCR 的方法在这一区域找到了与 COX-2 基因转录方向相反的一个转录本, 并利用 RACE (rapid-amplification of cDNA ends) 方法测序, 结合生物学信息分析等方法证明这段基因不表达蛋白质, 因此确定这段基因的转录本是 lncRNA, 并将其命名为 PACER。根据这段基因的序列特征推测其表达可能受到 CTCF (CCCTC-binding factor) 的调控, 于是干扰 CTCF 的表达, 发现 COX-2 基因以及 PACER 的表达均受到了抑制, 并且这种抑制状态与 PACER 的染色质表观修饰有关。

PACER 主要分布在胞核中, 为明确其功能, 干扰 PACER 表达发现, 巨噬细胞和 LPS 刺激的巨噬细胞中的 COX-2 的 mRNA 和蛋白表达均发生下调, 且这种作用于 CTCF 无关; COX-2 基因上游与基因表达激活相关的表观修饰 H3Ac、H4Ac 均发生下调。随后利用 ChIP 证明这是由于组蛋白乙酰化酶 p300 在此区域招募减少所致, 另外此区域在干扰了 PACER 之后 RNA 聚合酶 II 的结合也减少, 说明 PACER 可能参与 p300 所诱导的启动子区的组蛋白的乙酰化, 从而影响了转录起始复合物的形成继而调控 COX-2 的表达。为阐明其具体机制, 作者采用 RNA 免疫共沉淀的方法证明 PACER 可以与 p50 结合而不与 p300、p65、CTCF 等结合。干扰 PACER 表达后, p50 在 COX-2 的启动子区结合增多; 并且在巨噬细胞中干扰了 p50 之后, COX-2 的表达增加, 尤其在 LPS 刺激之前增加更明显; 干扰了 p65 之后, COX-2 的表达降低, 尤其在 LPS 刺激之后降低更加明显。于是得出了 PACER 的作用模式图: 在静息期, p50 结合在 COX-2 的启动子区, 致使基因表达沉默; 当 LPS 作用时, PACER 开始表达, 并与 p50 结合, 使其与 COX-2 的启动子区相脱离, 使得 p65 可以与之结合, p65 结合后又通过招募 p300, RNAP II 等从而促进 COX-2 的表达。

本文的亮点在于发现了 COX-2 上游的 lncRNA PACER 是通过结合抑制性的转录因子 p50 从而促进了 COX-2 的表达, 为 lncRNA 的作用模式以及 COX-2 转录层面的调控提出了新的见解。

[赵锴 摘译, 张迁 审阅. Krawczyk M, Emerson BM. eLife, 2014, 3: e01776.]