

Siglec - 15 调节 STAT1/STAT3 通路促进肝癌 细胞增殖和迁移的研究

Siglec - 15 regulates the STAT1/STAT3 pathway to promote the proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cells

闫家伟¹, 关璐璐^{2a}, 郭彩茹^{2b},
王金艳^{2c}, 张亚丽^{2c}, 文学军³,
金自立^{2c}, 亓 民^{2a,2c}

(1. 新乡医学院 研究生院, 河南 新乡 453003;
2. 洛阳市中心医院, a. 洛阳市肝癌个体化治疗
重点实验室; b. 河南省肿瘤细胞免疫与再生医
学国际联合实验室; c. 老年医学科, 河南 洛阳
471000; 3. 美国弗吉尼亚大学 再生医学重点实
验室, 美国 夏洛茨维尔市 22093)

YAN Jia - wei¹, GUAN Lu - lu^{2a},
GUO Cai - ru^{2b}, WANG Jin - yan^{2c},
ZHANG Ya - li^{2c}, WEN Xue - jun³,
JIN Zi - li^{2c}, QI Min^{2a,2c}

(1. Xinxiang Medical University
Graduate School, Xinxiang 453003,
Henan Province, China; 2. a. Key
Laboratory of Individualized Liver Cancer
Treatment; b. Henan International Joint
Laboratory of Tumor Cellular Immunity
and Regenerative Medicine;
c. Department of Geriatrics, Luoyang
Central Hospital, Luoyang 471000,
Henan Province, China; 3. Key
Laboratory of Regenerative Medicine,
University of Virginia, Charlottesville
22093, USA)

基金项目: 河南省医学科技攻关计划联合共建
基金资助项目 (LHGJ20230818)

作者简介: 闫家伟 (1996 -), 男, 硕士研究生, 主
要从事消化系统疾病方面的研究

通信作者: 亓民, 主任医师, 硕士生导师

MP: 15037922015

E - mail: Qimin19720629@163.com

摘要:目的 探究唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素 - 15 (Siglec - 15) 是否通过
调节信号传导与转录激活因子 1/3 (STAT1/STAT3) 通路促进肝细胞癌的增殖和
迁移。方法 将 SMMC - 7721 细胞分为 S - NC 组 (NC siRNA 转染至 SMMC -
7721 细胞) 和 S - si - Siglec - 15 - 3 组 (Siglec - 15 - 3 siRNA 转染至 SMMC -
7721 细胞), 将 BEL - 7402 细胞分为 B - NC 组 (NC siRNA 转染至 BEL - 7402 细
胞) 和 B - si - Siglec - 15 - 3 组 (Siglec - 15 - 3 siRNA 转染至 BEL - 7402 细胞)。
用噻唑蓝 (MTT) 法检测细胞的增殖能力; 用 Transwell 小室和划痕试验检测细胞
的纵向和横向迁移能力; 用蛋白质印迹法检测细胞中 STAT3、磷酸化 STAT3
(p - STAT3)、STAT1、磷酸化 STAT1 (p - STAT1)、Siglec - 15 蛋白相对表达水平。
结果 S - NC 组、S - si - Siglec - 15 - 3 组、B - NC 组、B - si - Siglec - 15 - 3 组在
24 h 时的细胞活力值分别为 0.93 ± 0.01 、 0.87 ± 0.03 、 0.96 ± 0.03 、 0.83 ± 0.02 ; 细
胞纵向迁移率分别为 100.00%、36.40%、100.00%、52.20%; 24 h 的细胞划痕愈
合率分别为 $(0.76 \pm 0.02)\%$ 、 $(0.53 \pm 0.02)\%$ 、 $(0.44 \pm 0.02)\%$ 、 $(0.36 \pm 0.03)\%$;
STAT3 蛋白相对表达水平分别为 1.11 ± 0.05 、 0.66 ± 0.05 、 1.07 ± 0.14 、 0.49 ± 0.04 ;
p - STAT3 蛋白相对表达水平分别为 1.07 ± 0.04 、 0.16 ± 0.06 、 0.78 ± 0.05 、 0.32 ± 0.03 ;
STAT1 蛋白相对表达水平分别为 1.32 ± 0.04 、 0.71 ± 0.04 、 0.91 ± 0.03 、 0.61 ± 0.04 ;
p - STAT1 蛋白的表达水平分别为 0.99 ± 0.04 、 0.29 ± 0.05 、 0.67 ± 0.04 、 0.20 ± 0.06 ;
Siglec - 15 蛋白相对表达水平分别为 1.51 ± 0.04 、 0.93 ± 0.05 、 0.73 ± 0.02 、 0.12 ± 0.01 。
S - si - Siglec - 15 - 3 组与 S - NC 组比较, 在统计学上差异均有统计学意义
($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$); B - si - Siglec - 15 - 3 组与 B - NC 组比较, 在统
计学上差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$)。**结论** Siglec - 15
通过 STAT1/STAT3 通路促进肝癌细胞的增殖、迁移能力。

关键词: 唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素 - 15; 信号传导与转录激活因子 1/3
通路; 肝癌; 增殖; 迁移

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.03.011

中图分类号: R97 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)03-0350-05

Abstract: Objective Probing whether salivary acid - binding
immunoglobulin - like agglutinin - 15 (Siglec - 15) promotes
hepatocellular carcinoma proliferation and migration by regulating the
signal transducer and activator of transcription 1/3 (STAT1/STAT3)
pathway. **Methods** SMMC - 7721 and BEL - 7402 cells were divided
into empty vector groups: S - NC and B - NC groups (NC siRNA was
transfected into SMMC - 7721 and BEL - 7402 cell, respectively),
Siglec - 15 knockdown expression group: S - si - Siglec - 15 - 3 and
B - si - Siglec - 15 - 3 groups (Siglec - 15 - 3 siRNA was transfected

into SMMC-7721 and BEL-7402 cell, respectively). The proliferation ability of the cells were detected by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT); the longitudinal and lateral migration ability of the cells were detected by Transwell and scratch assay; the expression of STAT3, phosphorylation of STAT3 (p-STAT3), STAT1, phosphorylation of STAT1 (p-STAT1), Siglec-15 was detected by Western blot. **Results** Cell viability values at 24 h in the S-NC group, S-si-Siglec-15-3 group, B-NC group and B-si-Siglec-15-3 group were 0.93 ± 0.01 , 0.87 ± 0.03 , 0.96 ± 0.03 and 0.83 ± 0.02 , respectively; the vertical migration rates of cells were 100.00%, 36.40%, 100.00% and 52.20%, respectively; the healing rate of cell scratches at 24 h were $(0.76 \pm 0.02)\%$, $(0.53 \pm 0.02)\%$, $(0.44 \pm 0.02)\%$ and $(0.36 \pm 0.03)\%$, respectively; STAT3 protein expression levels were 1.11 ± 0.05 , 0.66 ± 0.05 , 1.07 ± 0.14 and 0.49 ± 0.04 , respectively; p-STAT3 protein expression levels were 1.07 ± 0.04 , 0.16 ± 0.06 , 0.78 ± 0.05 and 0.32 ± 0.03 , respectively; STAT1 protein expression levels were 1.32 ± 0.04 , 0.71 ± 0.04 , 0.91 ± 0.03 and 0.61 ± 0.04 , respectively; p-STAT1 protein expression levels were 0.99 ± 0.04 , 0.29 ± 0.05 , 0.67 ± 0.04 and 0.20 ± 0.06 , respectively; Siglec-15 protein expression levels were 1.51 ± 0.04 , 0.93 ± 0.05 , 0.73 ± 0.02 and 0.12 ± 0.01 , respectively. The differences between the S-si-Siglec-15-3 group and the S-NC group, between the B-si-Siglec-15-3 group and the B-NC group were statistically significant in all comparisons ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$). **Conclusion** Siglec-15 promotes the proliferation and migration ability of hepatocellular carcinoma cells through the STAT1/STAT3 pathway.

Key words: salivary acid-binding immunoglobulin-like agglutinin-15; signal transducer and activator of transcription 1/3 pathway; hepatocellular carcinoma; proliferation; migration

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是一种高度致命的恶性肿瘤^[1]。尽管程序性死亡受体 1/程序性死亡受体-配体 1 (programmed death receptor 1/programmed death receptor-ligand 1, PD-1/PD-L1) 及细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA-4) 等相关免疫检查点抑制药已在 HCC 患者的治疗中显示出了明显的优势, 但客观反应率仍较低^[2]。因此急需寻找新的免疫抑制靶点来弥补此不足。唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素-15 (salivary acid-binding immunoglobulin-like agglutinin-15, Siglec-15) 和信号传导与转录激活因子 1/3 (signal transducer and activator of transcription 1/3, STAT1/STAT3) 是新发现的与肿瘤免疫逃逸相关的蛋白^[3], 且在细胞免疫应答和肿瘤发生发展中都起着关键作用^[4]。本文旨在研究 Siglec-15 通过调控 STAT1/STAT3 通路对 HCC 的影响。

材料与方法

1 材料

细胞 人正常肝细胞株 L02, 人肝癌细胞株 SMMC-7721、BEL-7402、Huh7, 均购自湖南丰晖生物科技有限公司。

试剂 si-Siglec-15-1 (干扰序列: GAGCTAC-CTCCAGATATTTA), 批号: STB001706001, 规格: 每瓶 5 nmol, si-Siglec-15-2 (干扰序列: AGGAATA-

AAGTTGGCTATATT), 批号: STB001706002, 规格: 每瓶 5 nmol, si-Siglec-15-3 (干扰序列: GCCTAAG-GATTCAAGCCATGGC), 批号: STB001706003, 规格: 每瓶 5 nmol, 均由广州锐博公司设计合成。STAT1、STAT3、磷酸化 STAT1 (phosphorylated-STAT1, p-STAT1)、p-STAT3 抗体, 均购自华安生物公司; 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 内参引物, 批号: B661104, 规格: 每瓶 100 μ L, 购自上海 Sangon 公司; 小干扰 RNA (Small interfering RNA, siRNA) 和 riboFECTTM CP 转染试剂, 均购自广州锐博公司; 实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR) SYBR[®] Green, 购自美国 MCE 公司; 总 RNA 提取试剂盒, 购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司; 噻唑蓝 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT) 试剂盒, 购自北京索莱宝公司; Transwell 小室, 购自美国 Corning 公司。

仪器 Mini-PROTEANTetra Systems 电泳仪、Mini Trans-Blot 蛋白转印仪, 均为美国 Bio-Rad 公司产品; Tanon 5200 multi 凝胶成像仪, 上海天能公司产品; VICTOR X3 酶标仪, 美国 Spectra Max 公司产品; DMI4000B 荧光显微镜, 美国 Leica 公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养、分组与处置方法

使用含有 10% 胎牛血清和 1% 青链霉素双抗的

DMEM 培养基作为完全培养基对 L02、SMMC-7721、BEL-7402、Huh7 细胞进行培养,细胞的培养条件:37℃、5% CO₂。

观察 Siglec-15 在 4 种细胞中的表达水平。将 NC siRNA 分别转染至 SMMC-7721、BEL-7402 细胞,构建为空载体组,将 3 种不同的 Siglec-15 siRNA 分别转染至 SMMC-7721、BEL-7402 细胞,构建敲低表达组,即 SMMC-7721 细胞分组为 S-NC 组、S-si-Siglec-15-1 组、S-si-Siglec-15-2 组、S-si-Siglec-15-3 组,BEL-7402 细胞分组为:B-NC 组、B-si-Siglec-15-1 组、B-si-Siglec-15-2 组、B-si-Siglec-15-3 组。根据结果筛选出干扰效率最佳的 Siglec-15-3 siRNA。将 NC siRNA 及干扰效率最佳的 Siglec-15-3 siRNA 分别转染至 SMMC-7721、BEL-7402 细胞中完成后续实验,SMMC-7721 细胞分为空载体组(S-NC 组)与 Siglec-15-3 敲低表达组(S-si-Siglec-15-3 组),BEL-7402 细胞分为空载体组(B-NC 组)与 Siglec-15-3 敲低表达组(B-si-Siglec-15-3 组)。

2.2 qRT-PCR 法检测 RNA 相对表达水平^[5]

提取 SMMC-7721、BEL-7402 细胞的总 RNA 逆转录为 cDNA,qRT-PCR 检测目的基因的相对表达水平。qRT-PCR 反应体系:cDNA 按照 1:4 稀释后取 5 μL,2 × SYBR 预混合物 10 μL,无 RNA 酶水 5 μL,正、反向引物各 0.4 μL。扩增实验条件:95℃ 5 min,95℃ 20 s,60℃ 40 s,扩增 40 个循环。

2.3 蛋白质印迹法检测蛋白相对表达水平^[6]

已测浓度的目的蛋白在 80 V、60 min 条件下电泳,100 V、100 min 条件下电转。5% 脱脂牛奶封闭 1 h;分别孵育对应目标一抗 4℃ 冰箱过夜;兔二抗稀释后室温孵育 1 h,最后发光并拍摄。

2.4 MTT 检测细胞增殖能力^[6]

取对数生长期的 SMMC-7721、BEL-7402 细胞接种于 96 孔板上,每组设 6 个复孔,每孔 100 μL,每孔 5 000 个细胞;按照实验时间点转染 NC、si-Siglec-15 后继续培养。培养结束按照 MTT 试剂进行处理,最后在酶标仪 490 nm 处测量各孔的光密度值。

2.5 Transwell 检测细胞纵向迁移能力^[6]

在 Transwell 小室上室分别加入 SMMC-7721 和 BEL-7402 细胞至含 1% FBS 的完全培养基中,细胞数为 3 × 10³ 个,下室加入 10% FBS 培养基 1 mL,培养 48 h 后取出小室,吸出孔中培养液,PBS 洗 2 遍,4% 多聚甲醛固定 30 min,结晶紫染色 20 min,PBS 洗 3 遍,室温晾干,将小室底部进行显微镜拍摄并计细胞数。

2.6 划痕实验检测细胞横向迁移能力^[5]

将处于对数生长期的 SMMC-7721 及 BEL-7402 细胞制成悬液,并计数,接种于 6 孔板,每孔接种约 5 × 10⁵ 个细胞;第 2 天用 200 μL 枪头垂直于细胞表面划痕;用 PBS 洗细胞 3 次,加入无血清培养基,根据实验目的进行试剂处理,放入温箱培养,在 0、24、48 h 用倒置显微镜观察特定位置细胞迁移情况并拍照。

3 统计学处理

用 Graphpad Prism 8.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较用成组 *t* 检验。

结 果

1 Siglec-15 在 L02 细胞以及 HCC 细胞株 SMMC-7721、BEL-7402、Huh7 细胞系中的相对表达水平

肝癌细胞株 SMMC-7721、BEL-7402、Huh7 及正常细胞株 L02 中 Siglec-15 mRNA 相对表达水平分别为 1.22 ± 0.12、1.10 ± 0.05、1.38 ± 0.06、1.00 ± 0.00;Siglec-15 蛋白相对表达水平分别为 2.55 ± 0.07、1.92 ± 0.08、4.42 ± 0.36、1.00 ± 0.00。HCC 细胞株 SMMC-7721、BEL-7402 与正常肝细胞株比较,Siglec-15 mRNA 以及蛋白的相对表达水平均显著升高(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。故最终选择 HCC 细胞株 SMMC-7721、BEL-7402 完成后续实验。

2 HCC 细胞干扰效率检测

如表 1 所示:S-si-Siglec-15-3 组与 S-NC 组比

表 1 各组细胞中 Siglec-15 mRNA 以及蛋白相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$, *n* = 4)

Table 1 Comparison of Siglec-15 mRNA as well as protein expression levels in cells of various groups($\bar{x} \pm s$, *n* = 4)

Group	Siglec-15 mRNA	Siglec-15 protein
S-NC	1.18 ± 0.25 *	1.40 ± 0.05 *
S-si-Siglec-15-1	1.68 ± 0.15 *	0.65 ± 0.04 *
S-si-Siglec-15-2	1.58 ± 0.24 **	0.89 ± 0.04 **
S-si-Siglec-15-3	0.39 ± 0.13	0.31 ± 0.04
B-NC	1.06 ± 0.09 ###	2.05 ± 0.07 ###
B-si-Siglec-15-1	1.09 ± 0.09 #	0.72 ± 0.02 #
B-si-Siglec-15-2	0.77 ± 0.10 ##	0.78 ± 0.02 ##
B-si-Siglec-15-3	0.47 ± 0.02	0.41 ± 0.01

Siglec-15; Salivary acid-binding immunoglobulin-like agglutinin 15; S-NC group: NC siRNA was transfected into SMMC-7721 cell; S-si-Siglec-15-1, -2, -3 groups: Siglec-15 siRNA-1, Siglec-15 siRNA-2, Siglec-15 siRNA-3 was transfected into SMMC-7721 cell, respectively; B-NC group: NC siRNA was transfected into BEL-7402 cell; B-si-Siglec-15-1, -2, -3 groups: Siglec-15 siRNA-1, Siglec-15 siRNA-2, Siglec-15 siRNA-3 was transfected into BEL-7402 cell, respectively; Compared with S-si-Siglec-15-3, * *P* < 0.05, ** *P* < 0.01; Compared with B-si-Siglec-15-3, # *P* < 0.05, ## *P* < 0.01, ### *P* < 0.001.

表2 各组细胞不同时间点的活力值的比较($\bar{x} \pm s$, $n=6$)Table 2 Comparison of viability values at different time points for each group of cells($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Group	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
S - NC	1.00 ± 0.00	0.93 ± 0.01	0.85 ± 0.02	0.81 ± 0.02	0.75 ± 0.01
S - si - Siglec - 15 - 3	1.00 ± 0.00	0.87 ± 0.03 ^{***}	0.78 ± 0.02 ^{**}	0.66 ± 0.02 ^{**}	0.55 ± 0.01 ^{***}
B - NC	1.00 ± 0.00	0.96 ± 0.03	0.89 ± 0.01	0.82 ± 0.01	0.75 ± 0.03
B - si - Siglec - 15 - 3	1.00 ± 0.00	0.83 ± 0.02 [#]	0.77 ± 0.01 ^{###}	0.64 ± 0.02 ^{###}	0.52 ± 0.02 [#]

Compared with S - NC group, ^{**} $P < 0.01$, ^{***} $P < 0.001$; Compared with B - NC group, [#] $P < 0.05$, ^{###} $P < 0.001$.

较, B - si - Siglec - 15 - 3 组与 B - NC 组比较, Siglec - 15 mRNA 和蛋白相对表达水平均显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$), 干扰效率最佳, 因此选取 si - Siglec - 15 - 3 组中的 Siglec - 15 - 3 siRNA 开展后续研究。

3 敲低 Siglec - 15 后抑制 HCC 细胞生长

S - si - Siglec - 15 - 3 组 24、48、72、96 h 的细胞活力值均显著低于 S - NC 组 ($P < 0.01$, $P < 0.001$); B - si - Siglec - 15 - 3 组 24、48、72、96 h 的细胞活力值均显著低于 B - NC 组 ($P < 0.05$, $P < 0.001$), 见表 2。

4 敲低 Siglec - 15 后降低 HCC 细胞的迁移水平

Transwell 结果显示: S - NC 组、S - si - Siglec - 15 - 3

组、B - NC 组、B - si - Siglec - 15 - 3 组的细胞纵向迁移率分别为 100.00%、36.40%、100.00%、52.20%。S - si - Siglec - 15 - 3 组与 S - NC 组比较, B - si - Siglec - 15 - 3 组与 B - NC 组比较, 纵向迁移能力均显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$), 见图 1。

划痕实验结果显示: S - si - Siglec - 15 - 3 组与 S - NC 组比较, B - si - Siglec - 15 - 3 组与 B - NC 组比较, 横向迁移能力均显著降低 (均 $P < 0.01$), 见表 3。

5 敲低 Siglec - 15 抑制 STAT1/STAT3 信号通路激活

生物信息学分析结果发现 Siglec - 15 和 STAT1/STAT3 之间具有相互作用, 可能存在上下游的调节关系 (<http://mirwalk.umm.uni-heidelberg.de/>)。如表 4 所示, S - si - Siglec - 15 - 3 组与 S - NC 组比较, B - si - Siglec - 15 - 3 组与 B - NC 组比较, STAT3、p - STAT3、STAT1、p - STAT1、Siglec - 15 蛋白的相对表达水平均显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$), 见表 4。

表3 各组细胞不同时间点的划痕愈合率的比较($\bar{x} \pm s$, %, $n=5$)Table 3 Comparison of Scratch healing rate at different time points for each group of cells($\bar{x} \pm s$, %, $n=5$)

Group	24 h	48 h
S - NC	0.76 ± 0.02	0.87 ± 0.01
S - si - Siglec - 15 - 3	0.53 ± 0.02 ^{**}	0.65 ± 0.01 ^{**}
B - NC	0.44 ± 0.02	0.55 ± 0.01
B - si - Siglec - 15 - 3	0.36 ± 0.03 ^{##}	0.43 ± 0.02 [#]

Compared with S - NC group, ^{**} $P < 0.01$; Compared with B - NC group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$.

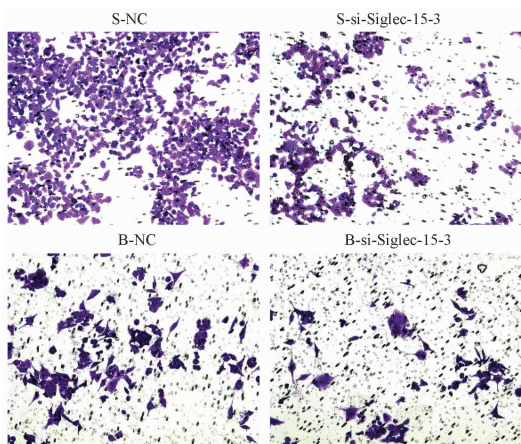


图1 Transwell 实验检测 si - Siglec - 15 - 3 转染 SMMC - 7721、BEL - 7402 后的细胞纵向迁移能力 ($\times 200$)

Figure 1 Transwell assay was used to detect the vertical migration ability of SMMC - 7721 and BEL - 7402 cells transfected with si - Siglec - 15 - 3 ($\times 200$)

表4 各组细胞中相关蛋白相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$, $n=4$)Table 4 Comparison of protein expression levels in cells of various groups($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

Group	STAT3	p - STAT3	STAT1	p - STAT1	Siglec - 15
S - NC	1.11 ± 0.05	1.07 ± 0.04	1.32 ± 0.04	0.99 ± 0.04	1.51 ± 0.04
S - si - Siglec - 15 - 3	0.66 ± 0.05 [*]	0.16 ± 0.06 ^{**}	0.71 ± 0.04 [*]	0.29 ± 0.05 ^{***}	0.93 ± 0.05 [*]
B - NC	1.07 ± 0.14	0.78 ± 0.05	0.91 ± 0.03	0.67 ± 0.04	0.73 ± 0.02
B - si - Siglec - 15 - 3	0.49 ± 0.04 ^{##}	0.32 ± 0.03 [#]	0.61 ± 0.04 ^{##}	0.20 ± 0.06 [#]	0.12 ± 0.01 ^{###}

STAT3: Signal transducer and activator of transcription 3; p - STAT3: Phosphorylated - STAT3; STAT1: Signal transducer and activator of transcription 1; p - STAT1: Phosphorylated - STAT1; Compared with S - NC group, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, ^{***} $P < 0.001$; Compared with B - NC group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, ^{###} $P < 0.001$.

讨 论

近年来,免疫疗法已逐渐成为治疗肝癌不可缺少的方法^[7]。虽然PD-1/PD-L1和CTLA-4等相关抗体药物已应用于临床治疗,且显示出了明显的优势,但因患者个体化差异较大的缘故,其总体疗效仍然不令人满意^[8]。

Siglec-15是唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素(sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin, Siglec)家族成员之一,其在肿瘤免疫治疗中是一个有吸引力的靶点^[9]。Siglec-15已被证实在多种癌症中高度表达,如结肠癌、甲状腺癌、肺癌、肾癌和膀胱癌等^[10],但在HCC中的研究却较少。本课题组通过qRT-PCR、蛋白质印迹法等方法证明了Siglec-15在HCC中也是高表达的,又用MTT、Transwell和划痕等实验发现敲低Siglec-15后,SMMC-7721、BEL-7402肝癌细胞的增殖及迁移能力均明显低于NC组,这提示Siglec-15可能是HCC中新的免疫检查点。

STAT1/STAT3是Janus激酶/信号传导与转录激活因子(Janus kinase/signal transducer and activator of transcription, JAK/STAT)信号通路中的重要因子^[11]。其在多种实体肿瘤中均起到促癌作用。有研究表明敲低Siglec-15可以显著抑制甲状腺癌细胞增殖,促进细胞凋亡。同时抑制STAT1和STAT3的表达,这表明Siglec-15和STAT1/STAT3之间可能存在调节关系^[12]。本研究首先通过生物信息学分析发现Siglec-15对STAT1/STAT3信号通路比较敏感,又用蛋白质印迹法验证Siglec-15对STAT1/STAT3通路的影响,结果发现敲低Siglec-15后,肝癌细胞中的STAT1、STAT3、p-STAT1、p-STAT3的表达均明显降低。这提示Siglec-15与STAT1/STAT3之间相互作用并参与HCC的发生发展。

Siglec-15通过STAT1/STAT3通路促进肝癌细胞增殖和迁移, Siglec-15有望成为HCC免疫治疗中的一个新基因靶点。

参考文献:

- [1] WANG J, SUN J, LIU L N, *et al.* Siglec-15 as an immune suppressor and potential target for normalization cancer immunotherapy[J]. *Nat Med*, 2019, 25(4): 656—666.
- [2] GRONER B, LUCKS P, BORGHOUTS C. The function of Stat3 in tumor cells and their microenvironment[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2008, 19(4): 341—350.
- [3] HAO J Q, NONG J Y, ZHAO D, *et al.* The significance of Siglec-15 expression in resectable non-small cell lung cancer[J]. *Neoplasma*, 2020, 67(6): 1214—1222.
- [4] GRIVENNIKOV S I, GRETEN F R, KARIN M. Immunity, inflammation, and cancer[J]. *Cell*, 2010, 140(6): 883—899.
- [5] 苏雪梅, 钟平玉, 孙银平. miR-520f-3p靶向LAMA3对结直肠癌癌细胞增殖、迁移的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2024, 44(2): 475—480.
- [6] YAN Y, JIN X, SUN H, *et al.* MiR-139-5p targetedly regulates YAF2 and mediates the AKT/P38 MAPK signaling pathway to alleviate the metastasis of non-small cell lung cancer cells and their resistance against cisplatin[J]. *Cancer Manag Res*, 2021, 13(8): 3639—3650.
- [7] LI N, GRIVENNIKOV S I, KARIN M. The unholy trinity: Inflammation, cytokines, and STAT3 shape the cancer microenvironment[J]. *Cancer Cell*, 2011, 19(4): 429—431.
- [8] SASIDHARAN NAIR V, TOOR S M, ALI B R, *et al.* Dual inhibition of STAT1 and STAT3 activation downregulates expression of PD-L1 in human breast cancer cells[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2018, 22(6): 547—557.
- [9] SONG K, MA J, GAO Y, *et al.* Knocking down Siglec-15 in osteosarcoma cells inhibits proliferation while promoting apoptosis and pyroptosis by targeting the Siglec-15/STAT3/Bcl-2 pathway[J]. *Adv Med Sci*, 2022, 67(2): 187—195.
- [10] ROMBERG N, MORBACH H, LAWRENCE M G, *et al.* Gain-of-function STAT1 mutations are associated with PD-L1 overexpression and a defect in B-cell survival[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 131(6): 1691—1693.
- [11] GEORGIEV P, MUISE E S, LINN D E, *et al.* Reverse translating molecular determinants of anti-programmed death 1 immunotherapy response in mouse syngeneic tumor models[J]. *Mol Cancer Ther*, 2022, 21(3): 427—439.
- [12] HOU X, CHEN C, HE X, *et al.* Siglec-15 Silencing inhibits cell proliferation and promotes cell apoptosis by inhibiting STAT1/STAT3 signaling in anaplastic thyroid carcinoma[J]. *Dis Markers*, 2022, 67(5): 187—195. (收稿日期 2024-08-17)