

SLC16A2 基因缺失对 U2OS 骨肉瘤细胞的 EMT 过程的调节作用

刘松 金宇*

承德医学院附属医院

DOI:10.32629/bmtr.v8i1.18548

[摘要] 目的：本研究旨在探讨SLC16A2基因在U2OS骨肉瘤细胞上皮-间充质转化(EMT)过程中的作用。方法：通过转染技术敲低U2OS细胞中SLC16A2基因,构建SLC16A2缺失的U2OS细胞模型,进一步通过实时荧光定量PCR分析EMT相关标志物mRNA的表达。结果：qPCR结果显示,SLC16A2在U2OS细胞中敲低成功;与对照组相比,EMT相关标志物mRNA表达发生显著变化,提示SLC16A2参与调控U2OS细胞EMT过程。结论：SLC16A2基因通过调控EMT通路中的关键分子,进而降低U2OS骨肉瘤细胞的转移能力。

[关键词] SLC16A2基因; 骨肉瘤; 上皮-间充质转化(EMT)

中图分类号：R596.3 文献标识码：A

Regulatory Role of SLC16A2 Gene Deletion in the EMT Process of U2OS Osteosarcoma Cells

Song Liu Yu Jin*

Affiliated Hospital of Chengde Medical University

[Abstract] Objective: To investigate the role of SLC16A2 in epithelial-mesenchymal transition (EMT) in U2OS osteosarcoma cells. Methods: SLC16A2 was knocked out in U2OS cells by transfection to establish an SLC16A2-deficient model. EMT-related marker mRNA levels were quantified by real-time quantitative PCR (RT-qPCR). Results: RT-qPCR confirmed successful SLC16A2 knockout. Compared with the control group, EMT-related marker mRNA expression changed significantly, suggesting that SLC16A2 is involved in regulating EMT in U2OS cells. Conclusion: SLC16A2 may reduce the metastatic potential of U2OS osteosarcoma cells by regulating key molecules in the EMT pathway.

[Key words] SLC16A2 gene; osteosarcoma; epithelial-mesenchymal transition (EMT)

引言

骨肉瘤是一种常见的恶性骨肿瘤,尤其在儿童和青少年中发病率较高。尽管近年来治疗方法不断进步,但由于骨肉瘤的高转移性和复发率,患者的预后仍然较差。上皮-间充质转化(Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT)是肿瘤细胞获得侵袭性和转移能力的重要机制之一。EMT过程涉及细胞形态、细胞粘附和细胞迁移能力的显著变化,使上皮细胞转变为具有间充质特征的细胞,这一转变为肿瘤细胞的迁移和转移提供了基础。

SLC16A2基因编码的是一种细胞膜转运蛋白,主要参与甲状腺激素的转运。近年来,SLC16A2基因在肿瘤发生和转移中的作用逐渐受到关注。研究表明,SLC16A2不仅在内分泌系统中发挥重要作用,还可能通过调控细胞内外的信号传导通路,影响肿瘤

细胞的生长、迁移和侵袭性。已有研究显示,在肝细胞癌模型中,SLC16A2对免疫细胞功能发挥影响,提示其在肿瘤微环境调节中可能具有潜在作用^[1]。此外,在HPV+头颈部鳞状细胞癌的患者样本分析中,SLC16A2的表达水平与患者整体生存显著相关,暗示其在肿瘤预后评估中具有一定价值^[2]。然而,关于SLC16A2基因在骨肉瘤细胞EMT过程中的作用的研究仍较为有限。

1 材料与方法

1.1 材料

人永生化骨肉瘤细胞株U2OS(武汉普诺赛生命科技有限公司); siRNA三保一试剂盒(安徽通用生物股份有限公司); McCoy's 5A培养基、胎牛血清FBS、青霉素/链霉素溶液(武汉普诺赛生命科技有限公司); 胰酶(北京索莱宝科技有限公司); TRIZOL(北京索莱宝科技有限公司); FastKing cDNA第一链

合成试剂盒(天根生物); 上下游引物(上海生工); Lipofectamine RNAiMAX 转染试剂、Opti-MEM减血清培养基(Thermo Fisher Scientific)。

1.2 主要仪器

全波长酶标仪(Thermo Fisher Scientific); NanoDrop One 分光光度计(Thermo Fisher Scientific); Cobas[®]z480全自动荧光定量PCR分析仪(Roche)。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养

人骨肉瘤U2OS细胞在含10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素混合液的McCoy's 5A培养基中培养,于37°C、5% CO₂、饱和湿度条件下在恒温培养箱中维持培养。待细胞生长至70%~80%融合度时,采用0.25%胰蛋白酶消化传代,取对数生长期细胞用于后续实验,细胞状态良好、形态均一者用于基因转染及功能实验。

1.3.2 RT-qPCR检测U2OS细胞中SLC16A2基因敲低效率

将处于对数生长期的U2OS细胞消化并计数后,按约3.0×10⁵个细胞/孔的密度接种于6孔板中,于37°C、5% CO₂培养箱中培养过夜,待细胞贴壁并生长至约60%~70%融合度时进行转染处理。转染48 h后,收集各组U2OS细胞,弃去培养基,用PBS缓冲液清洗2次。采用TRIzol试剂按照说明书提取细胞总RNA,使用NanoDrop分光光度计检测RNA的浓度及纯度,选取A260/A280比值在1.8~2.0之间的RNA样品用于后续实验。按照反转录试剂盒说明书将总RNA反转录合成cDNA。采用实时荧光定量PCR检测SLC16A2基因的mRNA表达水平,以GAPDH作为内参基因。PCR反应体系及条件按照SYBR Green qPCR试剂盒说明书进行:95°C预变性3 min; 95°C变性5 s,60°C退火延伸30 s,共40个循环。每个样品设置3个复孔。采用2^{-ΔΔCt}方法计算SLC16A2基因的相对表达水平,以评估其敲低效率。

表1 SLC16A2基因RT-qPCR引物序列

基因名称	正向引物序列(5'→3')	反向引物序列(5'→3')
SLC16A2	CAACGGACTTACCGCATCTG	GTAGCCCAATACACACAA
GAPDH	GCACCGTCAGGCTGAGAAC	TGGTGAAGACGCCAGTGA

1.3.3 RT-qPCR检测转染后U2OS细胞中EMT通路关键分子mRNA的表达

将U2OS细胞以3.0×10⁵个细胞/孔的密度接种于6孔板中,分为si-NC组及si-SLC16A2组,每组3个复孔,分别转染48 h后,提取各组U2OS细胞总RNA并反转录合成cDNA。采用实时荧光定量PCR检测EMT通路关键因子mRNA的表达水平,包括E-cadherin、N-cadherin和Vimentin,以GAPDH作为内参基因。PCR反应体系及反应条件按照SYBR Green qPCR试剂盒说明书进行,每个样品设置3个复孔。采用2^{-ΔΔCt}方法计算各基因的相对表达水平,用以评估SLC16A2对U2OS细胞EMT过程的影响。

2 结果

2.1 验证SLC16A2基因在U2OS细胞中的敲低效率

表2 EMT通路关键因子RT-qPCR引物序列

基因名称	正向引物序列(5'→3')	反向引物序列(5'→3')
E-cadherin	TCACCACTGGGTGGACCGA	TACAGCTCCACGCTGGGG
N-cadherin	TCAAACACAGCACGGCGGT	CGGTCTGGATGGGAAACCGT
Vimentin	CCTGGAATCTTCAGACAGG	CTCC TGGATTTCCTCTCTGT
GAPDH	GCACCGTCAGGCTGAGAAC	TGGTGAAGACGCCAGTGA

为验证转染后SLC16A2基因的敲低效率,采用RT-qPCR检测各组U2OS细胞中SLC16A2 mRNA的表达水平。结果显示,转染siRNA后的U2OS细胞中SLC16A2 mRNA表达显著降低,差异具有统计学意义(P<0.05),表明SLC16A2基因在U2OS细胞中被有效敲低。

2.2 SLC16A2影响U2OS细胞EMT通路关键因子的表达

为进一步探讨SLC16A2影响细胞迁移的潜在机制,采用RT-qPCR检测EMT通路相关关键分子的mRNA表达水平。结果显示,SLC16A2敲低组中上皮标志物E-cadherin的mRNA表达显著上调,而间充质标志物N-cadherin和Vimentin的mRNA表达明显下调,差异均具有统计学意义(P<0.05)。上述结果提示,SLC16A2基因敲低可能通过抑制EMT过程,从而降低U2OS骨肉瘤细胞的迁移能力。

2.3 统计分析

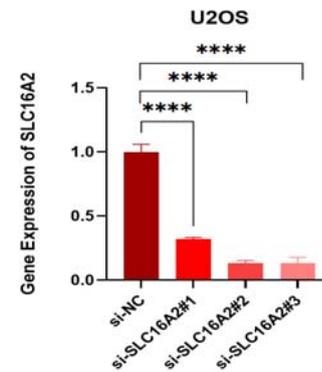


图1 SLC16A2敲低效率验证

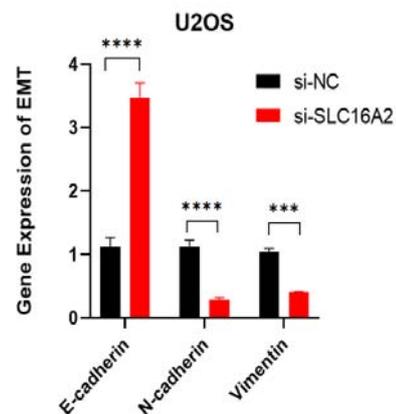


图2 SLC16A2促进U2OS细胞中EMT通路关键因子的表达

所有实验均重复3次, 结果用($\bar{x}\pm S$)表示, 采用GraphPad Prism 10.0软件进行统计学分析。多组均数比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

3 讨论

本研究系统性探讨了SLC16A2基因在U2OS骨肉瘤细胞中与EMT通路相关分子表达的关系。结果显示, 敲低SLC16A2后, U2OS细胞中上皮标志物E-cadherin mRNA上调、间充质标志物N-cadherin、Vimentin mRNA下调, 提示该基因可能通过调控EMT过程来影响骨肉瘤细胞的迁移特性。

EMT是肿瘤细胞获得侵袭能力和转移潜能的重要机制之一, 其标志性分子变化包括E-cadherin表达减少及N-cadherin、Vimentin等间充质标志物表达增加。在骨肉瘤等多种实体肿瘤中, 这种典型的“cadherin switching”被认为与细胞侵袭和远处转移密切相关^[3]。已有系统性综述显示, 在骨肉瘤细胞系中E-cadherin的失表达与间充质标志物的上调相关, 并与肿瘤侵袭性增强联系在一起^[4]。此外, 研究还表明E-cadherin和Vimentin表达变化不仅作为EMT的分子指标, 同时与侵袭性肿瘤表型、预后等临床指标相关。

SLC16A2又称单羧酸转运蛋白8 (MCT8), 主要参与甲状腺激素的跨膜转运, 在多种生理和病理状态中发挥作用。虽然该基因在肿瘤中的具体功能尚未完全明确, 但已有研究表明, SLC16A2在肿瘤微环境中可能参与免疫调节和代谢重编程, 并影响肿瘤进展。在乳腺癌组织分析中, SLC16A2表达存在明显差异, 表明其在肿瘤代谢重编程过程中可能发挥作用^[5]。泛癌层面的生信分析也发现SLC16家族成员在多种肿瘤中的表达与免疫浸润和预后相关, 其中SLC16A2的表达变化涉及多种实体瘤^[6]。这些研究提示该转运蛋白可能在肿瘤细胞的代谢和信号传导中发挥更为复杂的作用, 而本研究结果进一步扩展了其在肿瘤侵袭调控中的潜在功能。

需要指出的是, 本研究主要基于体外细胞模型, 还缺乏体内动物实验和临床样本验证, 以进一步确认SLC16A2在骨肉瘤发生发展中的生物学意义和机制。此外, 虽然RT-qPCR结果显示EMT标志物mRNA表达的显著改变, 但尚需结合蛋白水平分析以增强

证据力度。未来研究可进一步探索SLC16A2调控EMT的具体信号通路, 如TGF- β 、Wnt/ β -catenin等经典路径, 以及其对骨肉瘤细胞侵袭、转移的影响机制。

综上所述, 本研究揭示了SLC16A2能够通过抑制U2OS细胞EMT通路从而抑制肿瘤迁移转移, 为进一步开发针对骨肉瘤的治疗策略提供了实验依据。

[参考文献]

[1] Bi B, Tang L, Liang R, et al. MCT8 modulates metabolite uptake and T cell exhaustion to promote immunosuppression and tumor progression in hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Cancer Ther*, 2025-11-20. doi:10.1158/1535-7163.MCT-25-0564.

[2] Prusinkiewicz MA, Gameiro SF, Ghasemi F, et al. Survival-Associated Metabolic Genes in Human Papillomavirus-Positive Head and Neck Cancers[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(1):253.

[3] Yang J, Weinberg RA. Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis[J]. *Dev Cell*, 2008, 14(6):818-829.

[4] Issagholian L, Tabaie E, Reddy AJ, et al. Expression of E-cadherin and N-cadherin in Epithelial-to-Mesenchymal Transition of Osteosarcoma: A Systematic Review [J]. *Cureus*, 2023, 15(11):e49521.

[5] Sohrabi E, Moslemi M, Rezaie E, et al. The tissue expression of MCT3, MCT8, and MCT9 genes in women with breast cancer [J]. *Genes Genomics*, 2021, 43(9):1065-1077.

[6] Li J, Xie J, Wu D, et al. A pan-cancer analysis revealed the role of the SLC16 family in cancer [J]. *Channels (Austin)*, 2021, 15(1):528-540.

作者简介:

刘松(1996--), 男, 汉族, 湖北黄冈人, 硕士研究生, 研究方向: 外科学、肿瘤学。

*通讯作者:

金宇(1966--), 男, 汉族, 河北承德人, 硕士, 主任医师, 研究方向: 外科学、肿瘤学、儿科学。