

Celastrol Induces Apoptosis of HT29 Cells through Inhibiting miR-21 Regulation of Bcl-2 Expression

Wenzong LU *, Guangfeng JIA, Chen ZHAO, Haixian PAN & Gun LI

*Department of Biomedical Engineering, College of Electronic and Information Engineering,
Xi'an Technological University, Xi'an, Shaanxi Province, 710021, China*

SUMMARY. We evaluated the apoptosis induction effects of celastrol in human colorectal cancer cell line HT29 via miRNA-mediated pathway. Microarray analysis was used to profile miRNA expressions in human colorectal adenocarcinoma HT29 cells treated with celastrol. The effect of celastrol on miR-21 expression was assessed by real-time PCR. MiR-21 mimics and inhibitor were transfected to HT29 cells, respectively. Next experiments were performed treating cells concomitantly with miR-21 mimics or inhibitor together with celastrol. Cellular growth inhibition was evaluated by MTT assay, and apoptosis was detected through Tdt-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) assay. Target gene of miR-21 was identified using dual luciferase reporter assay and confirmed with western blot analysis. Significant downregulation of miR-21 expression was seen in celastrol-treated HT29 cells. MiR-21 inhibitor led to a significant decrease of proliferation activity of HT29 cells, whereas miR-21 mimics exerted no significant effect on the proliferation of the transfected cells. The apoptotic cells were increased significantly following transfection of miR-21 inhibitor compared with inhibitor control. Moreover, miR-21 mimics significantly inhibited apoptosis of the cells. Bcl-2 was identified as a target of miR-21 using dual luciferase reporter assay and western blot analysis. In summary, our results demonstrated celastrol induce apoptosis of colorectal cancer cells by inhibiting miR-21 regulation of Bcl-2 expression.

RESUMEN. Se evaluaron los efectos de inducción de la apoptosis por celastrol en la línea celular HT29 de cáncer colorrectal humano mediante la vía miRNA-mediacado. Se utilizó el análisis de microarrays para establecer las expresiones de miRNA en células HT29 de adenocarcinoma colorrectal humanos tratadas con celastrol. El efecto de celastrol en la expresión de miR-21 se evaluó mediante PCR en tiempo real. Una imitación de miR-21 y el inhibidor se transfectaron a células HT29. Los siguientes experimentos se llevaron a cabo tratando las células de forma concomitante con la imitación miR-21 o inhibidor junto con celastrol. La inhibición del crecimiento celular se evaluó mediante el ensayo de MTT, y la apoptosis se detectó a través del ensayo dUTP mediado por Tdt etiquetado (TUNEL). El gen diana de miR-21 se identificó usando el ensayo dual reportero de luciferasa y se confirmó con el análisis de Western blot. Una significativa disminución de la expresión de miR-21 se observó en células HT29 tratadas con celastrol. El inhibidor de miR-21 condujo a una disminución significativa de la proliferación de células HT29, mientras que el imitador de miR-21 no ejerció ningún efecto significativo sobre la proliferación de las células transfectadas. Las células apoptóticas se incrementaron significativamente después de la transfección del inhibidor miR-21 en comparación con el control. Por otra parte, el imitador de miR-21 inhibió significativamente la apoptosis de las células. Bcl-2 fue identificado como un objetivo de miR-21 usando un ensayo indicador de luciferasa dual y Western blot. En resumen, nuestros resultados demostraron que celastrol induce la apoptosis de células de cáncer colorrectal mediante la inhibición de la regulación de la expresión Bcl-2 por miR-21.

KEY WORDS: Apoptosis, Celastrol, Colorectal cancer, miR-21.

* Author to whom correspondence should be addressed. *E-mail:* wenzonglu@126.com