

Molecular Mechanism of miR-135b-targeting APC Gene in Promoting Invasion and Metastasis of Hodgkin's Lymphoma Cells

Ning HU

Department of Physiology, Basic Medical College of Anhui Medical University,
Hefei, Anhui, China

SUMMARY. The objective of this study is to discuss the molecular mechanism of miR-135b-targeting APC gene in promoting invasion and metastasis in Hodgkin's lymphoma cells. Hodgkin's lymphoma cell strain L428 was cultivated. Successfully cultivated cells were inoculated on 12-pore plates and divided into three groups: NC group (L428 cells grown naturally without any treatment), NC-miR-135b group (transfected with negative reference substance containing negative segments), and IN-miR-135b group (transfected with miR-135b depressor), with each group having four complex pores. After 24 h cultivation, Transwell™ invasion experiment was performed to determine the number of cells that invaded to the lower chamber. After cultivation for 24 and 48 h separately, a scratch experiment was performed to determine the migration rate of cells in every group. After cultivation for 48 h, fluorescence quantitation PCR was conducted to determine miR-135b and APC mRNA expression levels in each group, and Western blot analysis was used to test the expression of APC protein in every group. After cultivation for 24 h, the number of cells that invaded the lower chamber in the IN-miR-135b group was lower than those in the NC-miR-135b and NC groups, and the difference showed statistical significance ($P < 0.05$). After cultivation for 24 and 48 h, the cell migration rate in the IN-miR-135b group was lower than those in the NC-miR-135b and NC groups ($P < 0.05$), and the difference between the NC-miR-135b group and NC group was not remarkable ($P > 0.05$). The expression of miR-135b mRNA in the IN-miR-135b group was lower than those in the NC-miR-135b and NC groups ($P < 0.05$). APC mRNA and protein expression levels in the IN-miR-135b group were higher than those in the NC-miR-135b and NC groups ($P < 0.05$), and the difference showed statistical significance. By reducing the expression of miR-135b, the invasive and metastatic capacity of Hodgkin's lymphoma cells decreased, and the expression of Hodgkin's lymphoma and protein increased. In the experiment, miR-135b regulated and controlled target gene APC and further activated the Wnt/ β -catenin signal channel, thereby causing invasion and metastasis of Hodgkin's lymphoma cells.

RESUMEN. El objetivo de este estudio es analizar el mecanismo molecular del gen APC dirigido a miR-135b para promover la invasión y metástasis en células de linfoma de Hodgkin. Se cultivó la cepa L428 de células de linfoma de Hodgkin. Las células cultivadas con éxito se inocularon en placas de 12 poros y se dividieron en tres grupos: grupo NC (células L428 cultivadas de forma natural sin ningún tratamiento), grupo NC-miR-135b (transfectadas con sustancia negativa de referencia que contiene segmentos negativos) e IN-miR-Grupo 135b (transfectado con el depresor miR-135b), teniendo cada grupo cuatro poros complejos. Después de 24 h de cultivo se realizó el experimento de invasión Transwell™ para determinar el número de células que invadieron la cámara inferior. Después del cultivo durante 24 y 48 h por separado, se realizó un experimento de raspado para determinar la velocidad de migración de las células en cada grupo. Después de cultivar durante 48 h, se llevó a cabo una PCR de cuantificación por fluorescencia para determinar los niveles de expresión de mRNA de miR-135b y APC en cada grupo y se usó análisis de transferencia Western para probar la expresión de proteína APC en cada grupo. Después del cultivo durante 24 h, el número de células que invadieron la cámara inferior en el grupo IN-miR-135b fue menor que en los grupos NC-miR-135b y NC, y la diferencia mostró significación estadística ($P < 0,05$). Después del cultivo durante 24 y 48 h, la tasa de migración celular en el grupo IN-miR-135b fue menor que en los grupos NC-miR-135b y NC ($P < 0,05$), y la diferencia entre el NC-miR-135b el grupo grupo y NC no fue notable ($P > 0,05$). La expresión del ARNm de miR-135b en el grupo IN-miR-135b fue menor que en los grupos NC-miR-135b y NC ($P < 0,05$). Los niveles de expresión de ARNm y proteína de APC en el grupo IN-miR-135b fueron mayores que los de los grupos NC-miR-135b y NC ($P < 0,05$) y la diferencia fue estadísticamente significativa. Al reducir la expresión de miR-135b, la capacidad invasiva y metastásica de las células del linfoma de Hodgkin disminuyó y aumentó la expresión del linfoma de Hodgkin y la proteína. En el experimento, miR-135b regulaba y controlaba el gen diana APC y activaba adicionalmente el canal de señal Wnt/ β -catenina, causando de este modo la invasión y metástasis de células de linfoma de Hodgkin.

KEY WORDS: APC, Hodgkin's lymphoma cells, invasion and metastasis miR-135b.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: ning_hu666@yeah.net