

转化生长因子 $\beta 1$ 诱导胰腺癌肿瘤干细胞产生的研究

史壹雄 梁雅琴 叶百亮 胡炳仁 阮小蛟

摘要 目的 本研究拟予 TGF- $\beta 1$ 作用于不同种系胰腺癌细胞,观察胰腺癌细胞的生长状态及表面抗原表达情况,寻求胰腺癌 TGF- $\beta 1$ 的临床靶向治疗的新策略。方法 本研究将 TGF- $\beta 1$ 作用于以下 3 种胰腺癌细胞系: PANC-1、BxPC-3 以及 AsPC-1。评估 TGF- $\beta 1$ 作用后 3 种胰腺癌细胞系的细胞生长状态以及表面抗原表达,形成及侵袭能力,同时比较 E-Cadherin 和 Vimentin 在不同组中的表达情况。结果 TGF- $\beta 1$ 对 PANC-1、BxPC-3 和 AsPC-1 胰腺癌细胞系生长均存在明显抑制作用,在生长曲线的后期对照组胰腺癌细胞数量不同程度高于实验组胰腺癌细胞数量 ($P < 0.05$),细胞群体倍增时间明显增加。流式细胞检测结果表明,PANC-1、BxPC-3 及 AsPC-1 3 种胰腺癌细胞实验组与对照组比较,CD133⁺ 细胞比例实验组较对照组明显升高 ($P < 0.05$)。Western blot 法检测结果显示, TGF- $\beta 1$ 处理组 PANC-1 胰腺癌细胞,E-Cadherin 表达较正常组有降低趋势,Vimentin 表达较对照组有升高趋势,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 TGF- $\beta 1$ 虽然对 BxPC-3、AsPC-1 及 PANC-1 3 种胰腺癌细胞系均有抑制其细胞生长作用,但 TGF- $\beta 1$ 作用增加 CSC 比例,提示非选择性应用 TGF- $\beta 1$ 可能并不利于胰腺癌生长。

关键词 转化生长因子 $\beta 1$ 流式细胞学 胰腺癌 CD133 肿瘤干细胞

中图分类号 R73 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.03.024

Transforming Growth Factor $\beta 1$ and Its Receptor Regulated Growth of Pancreatic Adenocarcinoma Stem Cell. Shi Yixiong, Liang Yaqin, Ye Biliang, et al. The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, 325000 Zhejiang, China

Abstract Objective To investigate the effect of TGF- $\beta 1$ on the growth and metastasis of pancreatic cancer, different pancreatic cancer cell lines were treated with TGF- $\beta 1$ in vitro. The growth status and surface antigen expression of pancreatic cancer cells were observed to explore a new strategy for the targeted therapy of pancreatic cancer with TGF- $\beta 1$. **Material and Methods** In this study, the following pancreatic cancer cell lines: PANC-1, BxPC-3, and AsPC-1 was treated with TGF- $\beta 1$. We evaluated the cell growth state, surface antigen expression, formation and invasion ability of three pancreatic cancer cell lines after treatment of TGF- $\beta 1$, and compared the expression of E-Cadherin and Vimentin in different groups. **Results** TGF- $\beta 1$ showed significant inhibitory effects on the growth of pancreatic cancer cell lines. The number of pancreatic cancer cells in the control group was higher than that in the experimental group after treatment of TGF- $\beta 1$. The cell population doubling time prolonged significantly in TGF- $\beta 1$ treated groups. The results of flow cytometry showed that the proportion of CD133 cells in PANC-1, BxPC-3 and AsPC-1 groups was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). In PANC-1 pancreatic cancer cells lines, Western blot showed that the expression of E-Cadherin in TGF- $\beta 1$ treated group was lower than that in the control group ($P < 0.05$). Reversely, the expression of Vimentin was higher than that of the control group, but both had no significant differences ($P > 0.05$). **Conclusion** Although TGF- $\beta 1$ has inhibitory effect on cell growth of BxPC-3, AsPC-1 and PANC-1 cell lines, but CSC ratio increases after TGF- $\beta 1$ treated pancreatic cancer cells, which suggests that non-selective application of TGF- $\beta 1$ might not be good for the growth of pancreatic cancer.

Key words TGF- $\beta 1$; Flow cytometry; Pancreatic adenocarcinoma; CD133; Cancer stem cells

胰腺癌细胞具有极强的运动侵袭能力,早期即可出现胰周组织侵袭浸润或远处转移,导致根治性手术切除率极低和术后短期内肿瘤复发转移,造成患者死

亡^[1,2]。肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)是肿瘤组织中具有永久自我更新能力并能产生异质性肿瘤细胞的细胞,所占比例极少,但因具有永久自我更新能力,故是肿瘤源源不断产生的根源^[3,4]。白细胞分化抗原(cluster of differentiation, CD)133 是最常用的干细胞的表面标志物,CD133 阳性细胞具有自我更新和无限增殖、致瘤性强等特点,而 CD133 阴性的细胞缺乏这种潜力^[5]。最近研究发现,CD133 与肿瘤恶性

基金项目:浙江省温州市科技局科技计划项目(2017Y0596)

作者单位:325000 温州医科大学附属第一医院结直肠肛门外科(史壹雄),儿科(梁雅琴),胃肠外科(叶百亮、阮小蛟),肝胆外科(胡炳仁)

通讯作者:阮小蛟,电子信箱:sy85615304@163.com

程度和侵袭性相关,并且其表达程度与胰腺癌患者的存活率降低相关^[6]。通过上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),上皮细胞失去了细胞极性,失去与基底膜的连接等上皮表型,获得了较高的迁移与侵袭、抗凋亡和降解细胞外基质的能力等间质表型,能为肿瘤细胞提供运动迁徙和向邻近组织侵袭的能力^[7,8],EMT 典型表现为钙黏蛋白 E(E-cadherin)丢失。研究表明胰腺癌患者体内 TGF- β 1 呈现过度表达状态,高血清转化生长因子 β 1(TGF- β 1)水平与胰腺癌的不良预后相关^[9]。TGF- β 1 是 EMT 的重要诱导因子,EMT 在增强肿瘤细胞运动侵袭能力的同时,还能诱导肿瘤细胞获得 CSC 特性^[10,11]。本研究通过将 TGF- β 作用于 PANC-1、BxPC-3、AsPC-1 3 种胰腺癌细胞系,研究 TGF- β 对胰腺癌细胞生长的影响及 CD133 表达的影响,并检测胰腺癌细胞 EMT 相关因子,E-cadherin 和波形蛋白(vimentin)的表达,探讨 TGF- β 在胰腺癌的发展过程中的所起作用,为从干细胞的层面上抑制胰腺癌的侵袭、转移提供新的思路。

材料与方法

1. 细胞系和细胞培养:本研究采用 3 种人类胰腺癌细胞系:PANC-1、BxPC-3 和 AsPC-1 细胞株作为体外模型,购于中国科学院上海细胞生物学研究所。PANC-1 细胞和 BxPC-3 细胞培养于添加了 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基(Dulbecco's Modified Eagle Media 培养基,500ml C11995,美国 Gibco 公司)中进行,AsPC-1 细胞培养于添加了 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基(RPMI-MEDIUM 1640,500ml,C11875,美国 Gibco 公司)中进行。以上 3 种细胞均培养于 CO₂ 含量 5%,37℃ 及饱和湿度的恒温培养箱中。TGF- β 1(美国 R&D systems 公司)储存于添加了 0.1% 的胎牛血清的 4mmol/L 晶体盐酸溶液中冻存于 -20℃ 冰箱,在每次实验前融化并溶解在各细胞相应的含 10% 胎牛血清的培养基中。

2. 细胞计数法:取 3 种人类胰腺癌细胞系对数生长期细胞,制成单细胞悬液,对照组培养基为含 10% 胎牛血清的普通培养基,实验组培养基为含 10ng/ml TGF- β 1 的 10% 胎牛血清培养基,各 2ml,第 1~6 孔细胞分别培养 1、2、3、5、6 天,每 3 天更换培养液,第 1 天取第 1 孔细胞分别取实验组及对照组用细胞计数器行癌细胞计数,第 2 天取第 2 孔细胞行癌细胞计数,依次类推。上述实验重复 3 次。使用 Excel 绘制

生长曲线,并作图法在细胞生长曲线的对数生长期找出细胞增加一倍所需的时间即细胞倍增时间,即在 Excel 内添加生长曲线的趋近线,并同时显示公式 $y = k \times e^x$, k 为一常数系数,在细胞指数生长期内分别取两个呈倍增关系的 y 值,根据公式 $y = k \times e^x$ 计算相应 x 值,两 x 值相减即为细胞倍增时间。

3. 流式细胞学:每种胰腺癌细胞系处理时分 3 组,即空白组、对照组、实验组,每种胰腺癌细胞以 5×10^5 个/ml 的浓度种植于 6 孔板内,每孔包含 10% 胎牛血清的培养基 2ml,实验组孵育过夜后换用 TGF- β 1 浓度为 10ng/ml 的 10% 胎牛血清的相应培养基 2ml,空白组与对照组则加不包含 TGF- β 1 的普通 10% 胎牛血清的培养基 2ml。作用 72h 后获得对数生长期的胰腺癌细胞,胰酶(0.25% Trypsin-EDTA, 1X, 100ml, 美国 Gibco 公司)消化获得单细胞悬液,对照组与实验组均在避光条件下在细胞液内加样反应。避光条件下在细胞培养液内加样反应:依次加入 80 μ l PBSE(pH 值为 7.2 的 PBS,含 0.5% BSA, 2mmol/L 的 EDTA 液即 10ml PBS 液中加入 0.05g BSA 和 7.45mg EDTA),再加入 20 μ l FCR blocker 试剂(德国 Miltenyi Biotec 公司)及 10 μ l CD133/1(AC133)-PE, human(德国 Miltenyi Biotec 公司,货号:130-080-801),室温避光孵育 20min 后再次用 PBSE 漂洗 2 次,振荡混匀后于 1h 内使用 Beckman Coulter FC500 流式细胞仪,使用 CXP 流式细胞学软件(美国 Beckman Coulter 公司)上机检测 CD133⁺ 的表达率,空白组不经过上述加样过程直接使用 CXP 流式细胞学软件上机检测 CD133⁺ 的表达率。

4. PANC-1 及 TGF- β 1 表达 Western blot 法检测:蛋白样品制备:组织匀浆,裂解,台式离心机,11000r/min,4℃ 离心 10min。BCA 法测定蛋白浓度,聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜,封闭,孵育一抗,洗膜,孵育二抗,洗膜,化学发光显影。actin 作为参照基因。E-cadherin (cell signaling, #3195),一抗浓度 1:1000,二抗浓度(anti rabbit)1:3000,135000;Vimentin(美国 R&D system 公司,AF2105),一抗浓度 1:1000,二抗浓度(anti goat)1:3000,55000。

5. 统计学方法:采用 SPSS 17.0 统计学软件对数据进行分析处理,所得计数资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,细胞学计数两两均值比较采用配对 t 检验,3 组及以上均值比较采用方差分析,流式细胞学检测结果两两均值比较采用独立样本 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. TGF- β 1 对 3 种胰腺癌细胞生长的影响:
TGF- β 1 处理 PANC-1 实验组细胞及无处理对照组 6 天培养结果显示两组细胞均呈对数生长,培养前 3 天,两组生长速度相似,两组细胞计数无显著性差异 ($P>0.05$),培养第 5 天及第 6 天,与对照组比较,实验组胰腺癌细胞生长明显受抑制,其细胞计数显著低于对照组 (P 均 <0.05),PANC-1 对照组、实验组培养 5 天的 PANC-1 胰腺癌细胞数分别为 $(13.70 \pm 1.03) \times 10^5$ 个、 $(9.97 \pm 0.95) \times 10^5$ 个;两组培养 6 天的 PANC-1 胰腺癌细胞数分别为 $(24.10 \pm 2.64) \times 10^5$ 个、 $(15.41 \pm 1.35) \times 10^5$ 个,详见图 1。计算对照组和实验组细胞群体倍增时间分别为 29.0 和 35.2h,倍增时间明显延长。

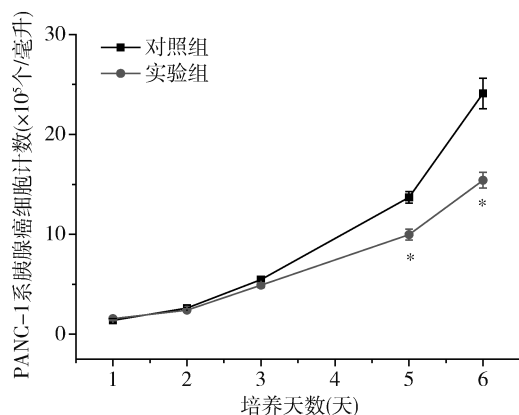


图 1 TGF- β 1 对 PANC-1 细胞生长的影响

每次 6 孔,重复 3 次结果,细胞数 $d1(\times 10^5$ 个/毫升)表示第 1 天的第 1 孔内的癌细胞浓度 $\bar{x} \pm s(\times 10^5$ 个/毫升),与对照组比较, * $P<0.01$

TGF- β 1 处理 BxPC-3 实验组细胞及无处理对照组 6 天培养结果显示两组细胞亦呈指数生长,培养前 2 天,两组生长速度相似,两组细胞计数比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$),培养第 3 天及第 5 天,与对照组比较,实验组胰腺癌细胞生长明显受抑制,其细胞计数显著低于对照组 (P 均 <0.05),第 6 天实验组细胞计数较对照组有降低趋势,但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。BxPC-3 对照组、实验组培养 3 天的 BxPC-3 胰腺癌细胞数分别为 $(5.24 \pm 0.31) \times 10^5$ 个、 $(4.85 \pm 0.33) \times 10^5$ 个;两组培养 5 天的 BxPC-3 胰腺癌细胞数分别为 $(12.97 \pm 0.64) \times 10^5$ 个、 $(8.78 \pm 0.36) \times 10^5$ 个;两组培养 6 天的 BxPC-3 胰腺癌细胞数分别为 $(20.71 \pm 2.51) \times 10^5$ 个、 $(14.36 \pm 3.55) \times 10^5$ 个,详见图 2。计算对照组和实验组细胞

群体倍增时间分别为 34.8 和 41.2h,倍增时间明显延长。

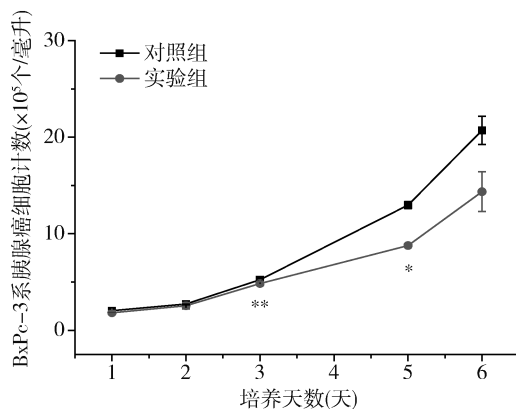


图 2 TGF- β 1 对 BxPC-3 细胞生长的影响

与对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

TGF- β 1 处理 AsPC-1 实验组细胞及无处理对照组 6 天培养结果显示两组细胞均呈对数生长,培养前 2 天,两组生长速度相似,两组细胞计数比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),培养第 3 天、第 5 天及第 6 天,与对照组比较,实验组胰腺癌细胞生长明显受抑制,其细胞计数显著低于对照组 (P 均 <0.05),AsPC-1 对照组和实验组培养 3 天的 AsPC-1 胰腺癌细胞数分别为 $(4.75 \pm 0.35) \times 10^5$ 个、 $(3.83 \pm 0.06) \times 10^5$ 个;两组培养 5 天的 AsPC-1 胰腺癌细胞数分别为 $(12.67 \pm 0.81) \times 10^5$ 个、 $(10.93 \pm 1.37) \times 10^5$ 个;两组培养 6 天的 AsPC-1 胰腺癌细胞数分别为 $(18.72 \pm 1.21) \times 10^5$ 个、 $(14.53 \pm 2.34) \times 10^5$ 个,详见图 3。对照组和实验组细胞群体倍增时间分别为 30.8 和 34.49h,倍增时间延长。

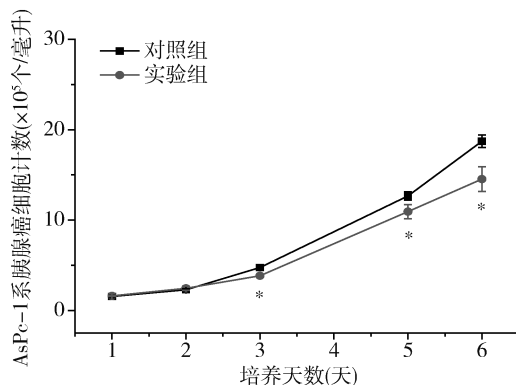


图 3 TGF- β 1 对 AsPC-1 细胞生长的影响

与对照组比较, * $P<0.05$

2.3 种胰腺癌细胞系 CD133⁺ 胰腺癌细胞比例:
TGF- β 1 作用于人类胰腺癌 PANC-1、BxPC-3 及

AsPC-1 细胞系 72h 后,流式细胞术检测胰腺癌细胞系中 CD133⁺ 细胞比例变化情况,结果显示 PANC-1 胰腺癌细胞系空白组、对照组、实验组 CD133⁺ 细胞率分别为 $(23.57 \pm 5.46) \times 10^4$ 、 $(28.78 \pm 14.38) \times 10^4$ 及 $(105.90 \pm 27.82) \times 10^4$, BxPC-3 胰腺癌细胞系空白组、对照组、实验组 CD133⁺ 细胞率分别为

$(47.73 \pm 5.86) \times 10^4$ 、 $(51.60 \pm 7.75) \times 10^4$ 及 $(124.73 \pm 52.84) \times 10^4$, AsPC-1 胰腺癌细胞系空白组、对照组、实验组 CD133⁺ 细胞率分别为 $(39.20 \pm 4.81) \times 10^4$ 、 $(39.96 \pm 5.13) \times 10^4$ 及 $(88.80 \pm 15.94) \times 10^4$, 详见图 4、图 5。

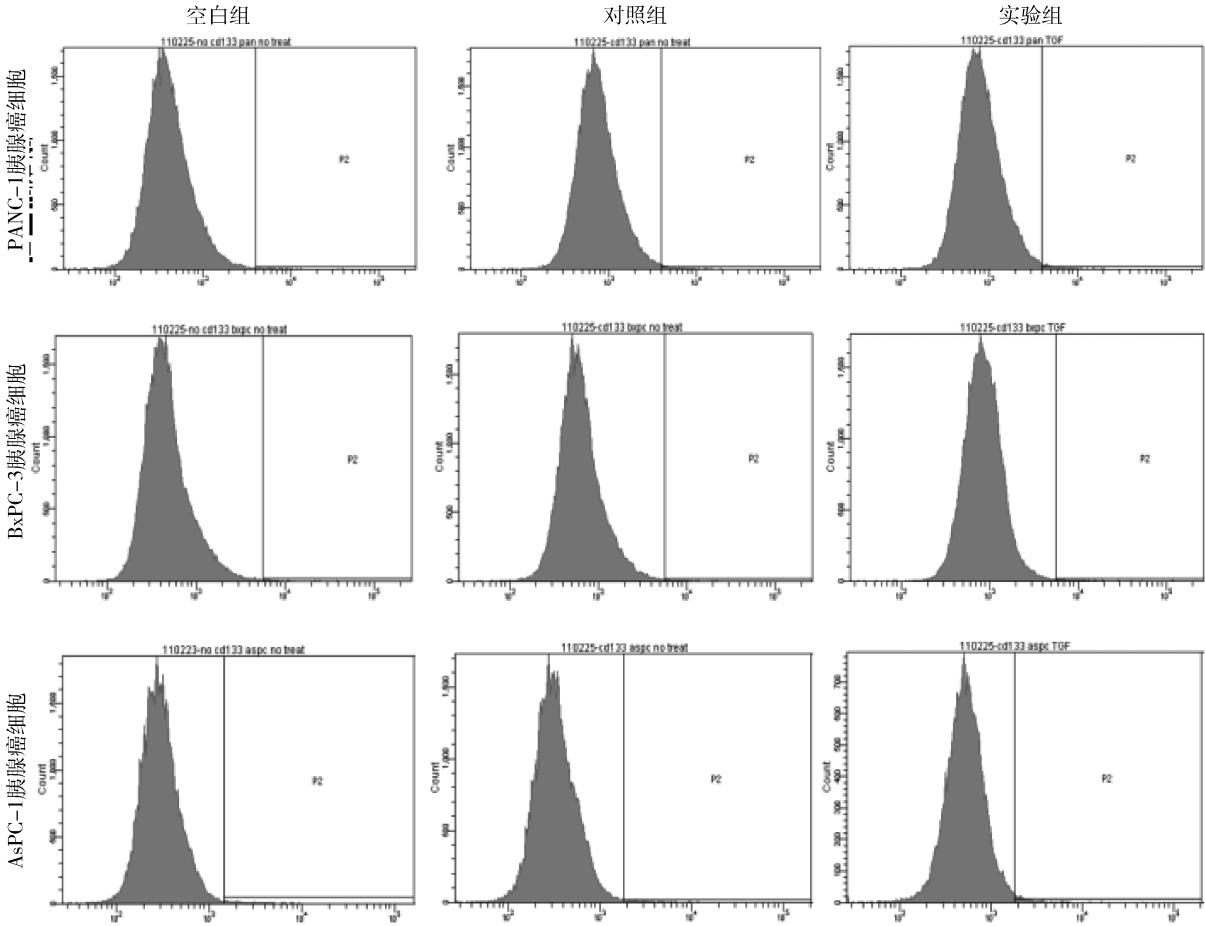


图 4 3 种胰腺癌细胞空白组、对照组及实验组流式细胞学检测 CD133⁺ 细胞率

空白组细胞培养过程中未加用 TGF-β 及 CD133 抗体,对照组在细胞培养过程中加用 CD133 抗体,但未加用 TGF-β1,实验组在细胞培养过程中加用 TGF-β1 及 CD133 抗体(TGF-β1 处理 72h 后结果)

独立样本 *t* 检验显示,PANC-1、BxPC-3 及 AsPC-1 3 种胰腺癌细胞系空白组与对照组 CD133⁺ 细胞比例比较,差异无统计学意义,3 种胰腺癌细胞系实验组与对照组比较,CD133⁺ 细胞比例实验组较对照组明显升高($P < 0.05$,图 5)。

3. Western blot 法检测结果:(1) PANC-1 胰腺癌细胞系 E-cadherin 表达:Western blot 法检测结果显示,10ng/ml TGF-β1 处理组 PANC-1 胰腺癌细胞 E-cadherin 表达较正常组有降低趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$,图 6)。(2) PANC-1 胰腺癌细胞系 Vimentin 表达:Western blot 法检测结果显示,

10ng/ml TGF-β1 处理组 PANC-1 胰腺癌细胞 Vimentin 表达较对照组有有升高趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$,图 7)。

讨 论

在肿瘤形成过程中,TGF-β1 可能以自分泌或旁分泌的方式而对肿瘤的进展起双相调节作用。早期肿瘤形成过程中,TGF-β1 起抑制细胞周期进程的作用,进而抑制肿瘤生长。相反,癌细胞后来通过增加 TGF-β1 拮抗剂的表达、突变 TGF-β1 受体或使 SMAD4 失活逐渐对 TGF-β1-介导的生长抑制作用产生了适应和抵抗,最终,TGF-β1 对肿瘤的生

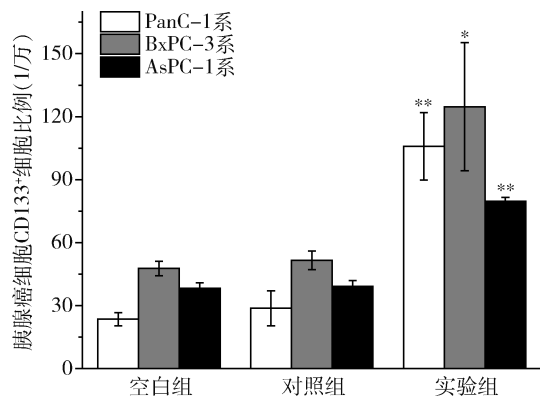


图5 3种胰腺癌细胞不同处理组CD133⁺细胞比例(1/万)与对应细胞系对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

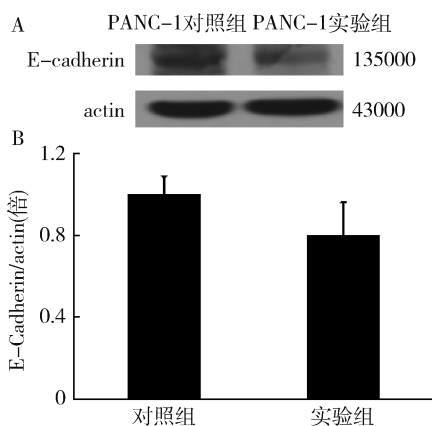


图6 E-cadherin Western blot 法检测结果

A. PANC-1 胰腺癌 E-cadherin Western blot 法检测结果;B. 重复3次细胞培养 E-cadherin Western blot 法检测结果统计图, E-cadherin/actin

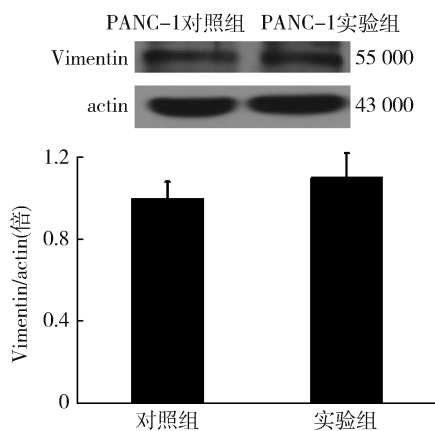


图7 Vimentin Western blot 法检测结果

A. PANC-1 胰腺癌 Vimentin Western blot 法检测结果;B. 重复3次细胞培养 Vimentin Western blot 法检测结果统计图,Vimentin/actin

本研究发现,胰腺癌细胞在 TGF- β 1 作用后生长速度减缓,倍增时间延长,TGF- β 1 在生长的中后期均能显著抑制3种肿瘤细胞的生长速率,但起效及作用持续时间不同。

TGF- β 1 作用后能显著提高胰腺癌 BxPC-3 及 AsPC-1 细胞系中 CD133⁺ 细胞比例($P < 0.05$)。而 CD133⁺ 阳性细胞代表胰腺癌 CSC,CD133⁺ 胰腺 CSC 已被证明是具有完全的致瘤性,以及对放化疗高度抵抗,且 CD133 阳性的胰腺癌 CSC 对肿瘤的转移至关重要^[14-16]。

流式细胞学实验结果提示 10ng/ml 的 TGF- β 1 作用后3种胰腺癌细胞系的 CD133⁺ 表达增加了。这里似乎有矛盾之处,TGF- β 1 抑制了胰腺癌细胞的生长,但却提高了 CSC 的比例,可能有两种原因造成以上结果:(1)TGF- β 1 抑制了非致肿瘤细胞的生长,但对 CSC 的作用甚微,故导致 CSC 相对增多,其比例增高。(2)10ng/ml 的 TGF- β 1 虽抑制了普通非致肿瘤细胞的生长,但诱导 CSC 干细胞形成,TGF- β 1 作为肿瘤 EMT 的诱导剂,肿瘤细胞的 EMT 和 CSC 之间存在着“相辅相成”的有机联系,肿瘤细胞可通过 EMT 而获得 CSC 的特性,从而获得高致瘤能力。You 等^[17]研究采用 EMT 的诱导因子 TGF- β 作用于 CD133⁻ 的肝癌细胞,发现能诱导产生 CD133⁺ 的肝癌细胞,且体内荷瘤实验证明诱导产生的 CD133⁺ 肝癌细胞与野生型 CD133⁺ 肝癌细胞的致瘤能力未见明显差异,具有肝癌 CSC 特性。

肿瘤细胞的运动侵袭能力和 CSC 特性对于实现肿瘤进展同等重要,两者缺一不可。上皮屏障功能和完整性依赖于细胞间连接的形成。钙黏蛋白(E-cadherin)构成的主要跨膜组件和黏合连接处并且对上皮和信息交互至关重要。钙黏蛋白丢失常被病理学家使用作为肿瘤细胞入侵的一个标志。用转基因动物实验证明钙黏蛋白的过表达可预防肿瘤的转移和侵袭。本研究发现 PANC-1 胰腺癌细胞系 E-cadherin 有降低趋势,且 Vimentin 有增高趋势,但均无显著性差异,考虑细胞培养时间尚短,相当于胰腺癌细胞发展早期,故 TGF- β 1 诱导 EMT 作用不显著有关。研究显示,采用不同剂量(5、10、20、50ng/ml)的 TGF- β 1 作用 BxPC-3 胰腺癌细胞均 24h,各剂量 E-cadherin 的表达比较,差异无统计学意义;而采用不同时间(0、4、7、14 天)的 TGF- β 1,剂量均为 10ng/ml 作用 BxPC-3 胰腺癌细胞,结果显示 E-cadherin 的表达随着作用时间的延长而降低,从 4~7

长抑制作用消失,并进而转变为通过提升 EMT 或诱导血管生成而促进肿瘤细胞的转移^[12,13]。

天开始有差异^[18]。研究证实,Erk 途径的激活参与 TGF- β 1 诱导的 EMT 过程^[19]。TGF- β 1 虽然对 BxPC-3、AsPC-1 及 PANC-1 3 种胰腺癌细胞系均有抑制其细胞生长作用,但 TGF- β 1 作用增加 CSC 比例,故提示非选择性应用 TGF- β 1 可能并不利于胰腺癌细胞的生长,却能提高 CD133⁺ 的比例,增加胰腺癌细胞的侵袭性及致瘤性,TGF- β 1 在不同时期对胰腺癌细胞的作用及其具体机制将成为未来的研究重点。

参考文献

1 田明,严俊,胡进静,等. 胰腺癌流行现状及危险因素综述[J]. 中国社会医学杂志, 2016, 33(2):137-140

2 杨尹默. 胰腺癌外科治疗的现状、存在问题与展望[J]. 中国普通外科杂志, 2016, 25(9):1231-1235

3 王耀焄,张培彤. 影响肿瘤干细胞侵袭转移的相关机制[J]. 中国肿瘤, 2016, 25(9):699-705

4 石小军,江华. 胰腺肿瘤干细胞研究进展[J]. 同济大学学报:医学版, 2016, 37(4):119-123

5 李小汀,贾英杰,中医药对肺癌干细胞干预作用的研究概况[J]. 中医杂志,2012,53(8):708-710

6 Perera RM, Bardeesy N. Ready, set, go: the EGF receptor at the pancreatic cancer starting line[J]. Cancer Cell, 2012, 22(3):281-282

7 Thierry JP, Acloque H, Huang RY, *et al.* Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease[J]. Cell, 2009, 139(5):871-890

8 陈文浩,杨明,张艳桥. 上皮-间质转化在恶性肿瘤中发生机制的研究进展[J]. 中国肿瘤, 2016, 25(1):51-57

9 Heldin CH, Miyazono K, ten Dijke P. TGF- β signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins[J]. Nature,1997,390(6659):465-471

10 孙志亮,李洪利,尹崇高. TGF- β 1 通过 F-actin 聚合促进乳腺癌细胞 MCF-7 发生上皮-间质转化[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(5):735-736

11 钟志凤,杜金林,王建平,等. TGF- β 1 诱导胃癌细胞上皮间质转化与 CD133 表达研究[J]. 浙江医学, 2016, 38(15):1241-1245

12 Muraoka-Cook RS, Kurokawa H, Koh Y, *et al.* Conditional overexpression of active transforming growth factor β 1 in vivo accelerates metastases of transgenic mammary tumors[J]. Cancer Res,2004, 64(24):9002-9011

13 Villanueva A, García C, Paules AB, *et al.* Disruption of the antiproliferative TGF- β signaling pathways in human pancreatic cancer cells[J]. Oncogene,1998, 17(15):1969-1978

14 Hermann PC, Huber SL, Herrler T, *et al.* Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer[J]. Cell Stem Cell, 2007,1(3):313-323

15 Lee HJ, You DD, Choi DW, *et al.* Significance of CD133 as a cancer stem cell markers focusing on the tumorigenicity of pancreatic cancer cell lines[J]. J Korean Surg Soc,2011, 81(4):263-270

16 Jimeno A, Feldmann G, Suarez-Gauthier A, *et al.* A direct pancreatic cancer xenograft model as a platform for cancer stem cell therapeutic development[J]. Mol Cancer Ther,2009, 8(2):310-314

17 You H, Ding W, Rountree CB. Epigenetic regulation of cancer stem cell marker CD133 by transforming growth factor- β [J]. Hepatology,2010,51(5):1635-1644

18 封明轩. TGF- β 1 对胰腺癌细胞 EMT 及侵袭性的影响[D]. 上海:上海交通大学, 2007

19 吴腾云,张威,曹冬梅. TGF- β 诱导上皮间充质转化的信号通路研究[J]. 临床与病理杂志, 2011, 31(1):81-86

(收稿日期:2018-05-23)

(修回日期:2018-06-13)

MiR-449a 和 PLAGL2 在卵巢癌中的表达关系及临床意义

王秋宇 李晓翔 朱军义

摘要 目的 探讨 MiR-449a、PLAGL2 在卵巢癌中的表达及其与临床病理参数和预后的关系。方法 选取笔者医院卵巢癌患者 136 例,酶联免疫吸附法及免疫组化法测定卵巢癌组织及正常卵巢组织中 MiR-449a、PLAGL2 蛋白的表达水平,分析其与临床病理参数和预后的关系。**结果** 卵巢癌组 MiR-449a 蛋白表达水平低于癌旁组,PLAGL2 蛋白表达水平高于癌旁组($t=113.821,88.774,P<0.01$);卵巢癌组 MiR-449a 阳性率低于癌旁组、PLAGL2 阳性率高于癌旁组($\chi^2=18.708,151.786,P<$

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(201603097)
作者单位:473000 南阳市中心医院妇产科(王秋宇、朱军义);473000 南阳市疾病预防控制中心(李晓翔)
通讯作者:王秋宇,电子信箱:wangqiuyu1970@163.com