

分割剂量射线照射富集宫颈癌肿瘤干细胞的研究

谢玲玲, 卢淮武, 钟沅月, 吴妙芳, 陆晓楣, 姚婷婷, 林仲秋*

(中山大学孙逸仙纪念医院妇产科, 广东 广州 510120)

摘要:【目的】研究分割剂量射线照射的宫颈癌 HeLa 细胞表达肿瘤干细胞相关蛋白情况及裸鼠体内成瘤能力, 探讨经此法富集宫颈癌肿瘤干细胞的可行性。【方法】HeLa 细胞分组接受分割剂量分别为 2、4、6、8、10 及 12 Gy 的射线照射, 总照射剂量 24 ~ 42 Gy。流式细胞术检测各照射组及对照组细胞的 ABCG2、CD44 及 CD133 表达率; 各组细胞接种裸鼠皮下, 检测其体内成瘤能力。【结果】各照射组细胞的 ABCG2 表达率均明显上调, 以 HeLa-R2 组 (4 Gy×10 次) 细胞的表达率最高 [(46.89±1.20)%], 且随着照射次数的增加而升高 ($P < 0.05$); 各组细胞的 CD44 及 CD133 表达率变化均无明显趋势; HeLa-R2 组细胞的裸鼠体内成瘤能力最高, 其次为 HeLa-R5 组 (10 Gy×3 次)。【结论】分割剂量射线照射可在体外富集宫颈癌肿瘤干细胞, 以分割剂量为 4 Gy 组富集效果最好, 诱导 HeLa 细胞株表达 ABCG2 显著上调, 及提高其裸鼠体内成瘤能力。

关键词: HeLa 细胞; 分割剂量; 放射治疗; 肿瘤干细胞

中图分类号: R737.33

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2012)03-0330-06

Fractionated-dose Irradiation Enriching Cervical Cancer Stem Cells In Vitro

XIE Ling-ling, LU Huai-wu, ZHONG Yuan-yue, WU Miao-fang, LU Xiao-mei, YAO Ting-ting, LIN Zhong-qiu*

(Department of Gynecologic Oncology, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract:【Objective】The aim of the study was to investigate the fractionated-dose irradiated HeLa cells on the expression of cancer stem cell related proteins and the ability of in-vivo tumorigenicity, and to explore the feasibility of enriching cervical cancer stem cells by this method.【Methods】HeLa cells were treated with different fractionated rays of dose 2, 4, 6, 8, 10, and 12 Gy, cumulatively 24-42 Gy. The expressing rates of ABCG2, CD44, and CD133 in irradiation groups and control group were detected by flow cytometry. Cells in each group were inoculated subcutaneously into nude mice to test their tumorigenicity in vivo.【Results】The expression of ABCG2 was significantly increased in irradiation groups, which was the highest in HeLa-R2 group [(46.89 ± 1.20)%] and much more increased with more frequencies of radiation ($P < 0.05$). There was no significant trend in the expression of CD44 and CD133 among each group. Cells in HeLa-R2 group (4 Gy × 10) exhibited strongest tumorigenicity in vivo, followed by HeLa-R5 group (10 Gy × 3).【Conclusion】Fractionated-dose irradiation may enrich cervical cancer stem cells in vitro, with the best effect in dose 4 Gy group. Increased expression of ABCG2 and tumorigenicity in nude mice could be induced in HeLa cells by this way.

Key words: HeLa cells; fractionated-dose; radiotherapy; cancer stem cells

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2012, 33(3):330-335]

晚期和复发性宫颈癌的 5 年生存率仅为 3.2% ~ 13%。生存率低的原因主要在于复发和转移者多数对宫颈癌的传统治疗手段不敏感。近年的研究热点肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSC)理论揭示了肿瘤组织内部细胞的异质性, 提出 CSC 是肿瘤无限增殖、复发及转移的根源。我们既往的研究提示多次分割剂量照射后宫颈癌 HeLa 细胞

的增殖和克隆能力呈升高的趋势, 经此法建立的耐放疗模型有可能富集宫颈癌肿瘤干细胞^[1]。本研究将进一步探讨多次分割剂量射线照射诱导 HeLa 细胞表达肿瘤干细胞相关蛋白及裸鼠体内成瘤的作用, 研究经此法富集宫颈癌肿瘤干细胞的可行性, 探寻宫颈癌的细胞起源, 为宫颈癌的临床治疗提供新的线索及可能的生物学指标。

收稿日期: 2012-01-11

基金项目: 国家自然科学基金(30872743/C1701); 广州市科技项目(2010J-E291)

作者简介: 谢玲玲, 硕士研究生, 住院医师, 主要研究宫颈癌肿瘤干细胞, E-mail: xielingling86@sina.com; * 通信作者, 林仲秋, 教授, 博士生导师

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

人宫颈腺癌细胞株 HeLa 细胞购自上海生命科学研究院细胞资源中心, Balb/C 品系裸小鼠购自广东省医学动物实验中心; ABCG2 一抗(鼠抗人单克隆抗体)购自 Abcam 公司, FITC-CD44(鼠抗人单克隆抗体)购自 Beckman Coulter 公司, PE-CD133/1 (AC133)(鼠抗人单克隆抗体)购自 Miltenyi Biotec 公司。高糖 DMEM 培养基、胎牛血清为 GIBCO 公司产品, 0.25% 胰蛋白酶-EDTA 购自 Biological Industries 公司。PE 标记的羊抗鼠二抗购自 BD Pharmingen 公司, SIMENS PRIMUS H 型直线加速器购自 SIMENS 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 HeLa 细胞在 100 mL/L 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基中, 37 °C、体积分数 5% CO₂ 条件下传代培养。取对数生长期细胞进行实验。

1.2.2 细胞照射及实验分组 采用 SIMENS PRIMUS H 型直线加速器 6 MeV β 射线为放射源, 室温下照射对数生长期的 HeLa 细胞, 加 1.0 cm 标准填充物, 源物距 100 cm, 剂量率 300 mu/min。处理后置培养箱中继续培养。待细胞长满培养瓶壁 70%~80% 时, 胰酶消化传代, 细胞增殖进入对数生长期时, 再次进行照射, 如此反复。实验分 7 组: 组 1 为 HeLa-R1 组(2 Gy, 照射 17 次), 组 2 为 HeLa-R2 组(4 Gy, 照射 10 次), 组 3 为 HeLa-R3 组(6 Gy, 照射 7 次), 组 4 为 HeLa-R4 组(8 Gy, 照射 3 次), 组 5 为 HeLa-R5 组(10 Gy, 照射 3 次), 组 6 为 HeLa-R6 组(12 Gy, 照射 3 次), 组 7 为 HeLa 组(未行放射处理)。

1.2.3 流式细胞术检测干细胞相关蛋白表达 ① ABCG2: 收集各组足够的处于对数生长期细胞, 200 μ L PBS 重悬。加入 20 μ L 鼠抗人 ABCG2 一抗(1:100 稀释), 等体积 PBS 作为阴性对照组, 37 °C 孵育 30 min。180 \times g 离心 5 min, 弃去上清液, PBS 洗 2 次, 离心弃去上清液, 加入 200 μ L PBS 重悬细胞, 加入 20 μ L PE 标记的羊抗鼠二抗(1:50 稀释), 避光孵育 30 min, 离心 5 min 后弃去上清液, PBS 洗 2 次, 离心弃去上清液, 加固定液 10 g/L 多聚甲醛溶液 200 μ L, 上机检测。每种处理细胞均重复 3 次检测。② CD44 和 CD133: 取适量处于对数

生长期的细胞, PBS 洗涤 2 次, 予 100 μ L PBS 重悬。加入 10 μ L PE 标记的鼠抗人 CD133/1 (AC133) 抗体 10 μ L FITC 标记的鼠抗人 CD44 抗体, 鼠来源的 PE-IgG 2b 及 FITC-IgG 2b κ 抗体作为同型对照, 4 °C 下避光孵育 30 min。离心弃去上清液后, PBS 洗 2 次, 离心 5 min, 弃去上清后细胞重悬于 200 μ L PBS, 上机检测, 重复 3 次。

1.2.4 裸鼠体内成瘤实验 取 6~8 周龄的雌性 Balb/C 品系裸小鼠 36 只, 饲养于无菌室层流架 SPF 环境中, 灭菌水和饲料供自由食用。各组细胞分别以 5×10^5 个, 5×10^6 个及 5×10^7 个细胞悬浮于 200 μ L 含 100 mL/L 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基中, 将同组细胞接种到同一裸鼠的同侧腋背部皮下, 同组细胞内裸鼠接种数目分别为 3、3、3 只。每周观察肿块形成及增长情况 2 次, 8 周后统计成瘤率, 处死裸鼠, 分离瘤块, 部分肿瘤组织经 40 g/L 甲醛溶液固定, 石蜡包埋后切片, HE 染色。

1.3 统计分析

数据以均数 \pm 标准差表示, 采用 SPSS 16.0 软件分析数据, 多组间差异采用单因素方差分析, 两组间差异采用两独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 流式细胞术检测干细胞相关蛋白表达

因各照射组细胞的放疗次数和总剂量不尽相同。为比较各实验组随照射次数及剂量的增加, ABCG2、CD44 及 CD133 表达率的变化情况, 分别挑选了各组内的两组数据为例进行比较: HeLa-R1 组(2 Gy \times 6 次 VS 2 Gy \times 17 次), HeLa-R2 组(4 Gy \times 3 次 VS 4 Gy \times 10 次), HeLa-R3 组(6 Gy \times 2 次 VS 6 Gy \times 7 次), HeLa-R4 组(8 Gy \times 1 次 VS 8 Gy \times 3 次), HeLa-R5 组(10 Gy \times 1 次 VS 10 Gy \times 3 次), HeLa-R6 组(12 Gy \times 1 次 VS 12 Gy \times 3 次)。为比较相同照射总剂量下不同分割剂量组的干细胞标记物表达情况, 结合本研究的剂量设计方案, 取 12 Gy 为标准, 比较分割剂量为 2、4、6、12 Gy 的四组数据。

2.1.1 ABCG2 各组细胞的表达情况如图 1 所示。7 组细胞的 ABCG2 表达率分别为 (25.11 \pm 1.59)%、(46.89 \pm 1.20)%、(12.08 \pm 1.74)%、(33.57 \pm 2.42)%、(35.72 \pm 1.21)%、(12.42 \pm 1.43)% 及 (2.5 \pm 0.59)%。与对照组相比, 各照射组细胞的 ABCG2

表达率明显上调,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。①各实验组内随着照射次数增加,ABCG2 表达率均有不同程度升高,其中 HeLa-R1 组 $[(4.68 \pm 0.59)\% \text{ VS } (25.11 \pm 1.59)\%]$, HeLa-R2 组 $[(12.52 \pm 1.34)\% \text{ VS } (46.89 \pm 1.20)\%]$, HeLa-R4 组 $[(11.29 \pm 0.93)\% \text{ VS } (33.57 \pm 2.42)\%]$, HeLa-R5 组 $[(26.34 \pm 1.64)\% \text{ VS } (35.72 \pm 1.21)\%]$ 和 HeLa-R6 组 $[(7.58 \pm 1.26)\% \text{ VS } (12.42 \pm 1.43)\%]$ 的组内差异有统计学意义($P < 0.05$, 图 2)。②相同照射总剂量(12 Gy)不同分割剂量的 4 组细胞(2 Gy×6 次, 4 Gy×3 次, 6 Gy×2 次及 12 Gy×1 次), ABCG2 表达率如图 3 所示, 分别为 $(4.68 \pm 0.59)\%$, $(12.52 \pm 1.34)\%$, $(9.52 \pm 1.56)\%$ 和 $(7.58 \pm 1.26)\%$, 以 4 Gy×3 次组细胞最高, 2 Gy×6 次组细胞最低, 各组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.1.2 CD44 及 CD133 各组细胞的表达情况如图 4 所示。相比对照组, 各照射组细胞的 CD133 表达率虽均有上升, 但未呈剂量依赖性改变, 其中 HeLa-R3 组 $(3.21 \pm 1.07)\%$ 、HeLa-R6 组 $(6.74 \pm 1.83)\%$ 与 HeLa 组 $(0.20 \pm 0.02)\%$ 的差异有统计学意义($P < 0.05$)。各组细胞的 CD44 表达率尚无一

致的变化趋势, 与对照组相比, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。①各实验组内随着照射次数增加, CD133 和 CD44 的表达率均无统一变化趋势, 其中 HeLa-R2 组 $[(89.71 \pm 2.48)\% \text{ VS } (98.77 \pm 1.14)\%]$ 、HeLa-R4 组 $[(91.50 \pm 0.92)\% \text{ VS } (97.25 \pm 2.41)\%]$ 的 CD44 组内表达差异有统计学意义($P < 0.05$, 图 2); HeLa-R3 组 $[(0.85 \pm 0.64)\% \text{ VS } (3.21 \pm 1.07)\%]$ 、HeLa-R6 组 $[(1.52 \pm 0.92)\% \text{ VS } (6.74 \pm 1.83)\%]$ 的 CD133 组内表达差异有统计学意义($P < 0.05$, 图 2)。②同一照射总剂量(12 Gy)不同分割剂量的 4 组细胞(2 Gy×6 次, 4 Gy×3 次, 6 Gy×2 次及 12 Gy×1 次) CD44 和 CD133 表达率如图 3 所示, 4 组间的 CD44 表达率差异有统计学意义($P < 0.05$), 但 CD133 表达率差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 裸鼠体内成瘤

各组细胞的成瘤情况如表 1 所示, 其中 HeLa-R2 组及 HeLa-R5 组成瘤率最高(3/9), HeLa-R4 组次之(2/9), HeLa-R1 组和 HeLa-R6 组成瘤率均为 1/9。各组成瘤所需的肿瘤细胞均为 5×10^7 个。HeLa-R2 组细胞成瘤速度最快, 于接种裸鼠后 2 周即出现瘤块, 其次是 HeLa-R5 组, 接种后 3 周

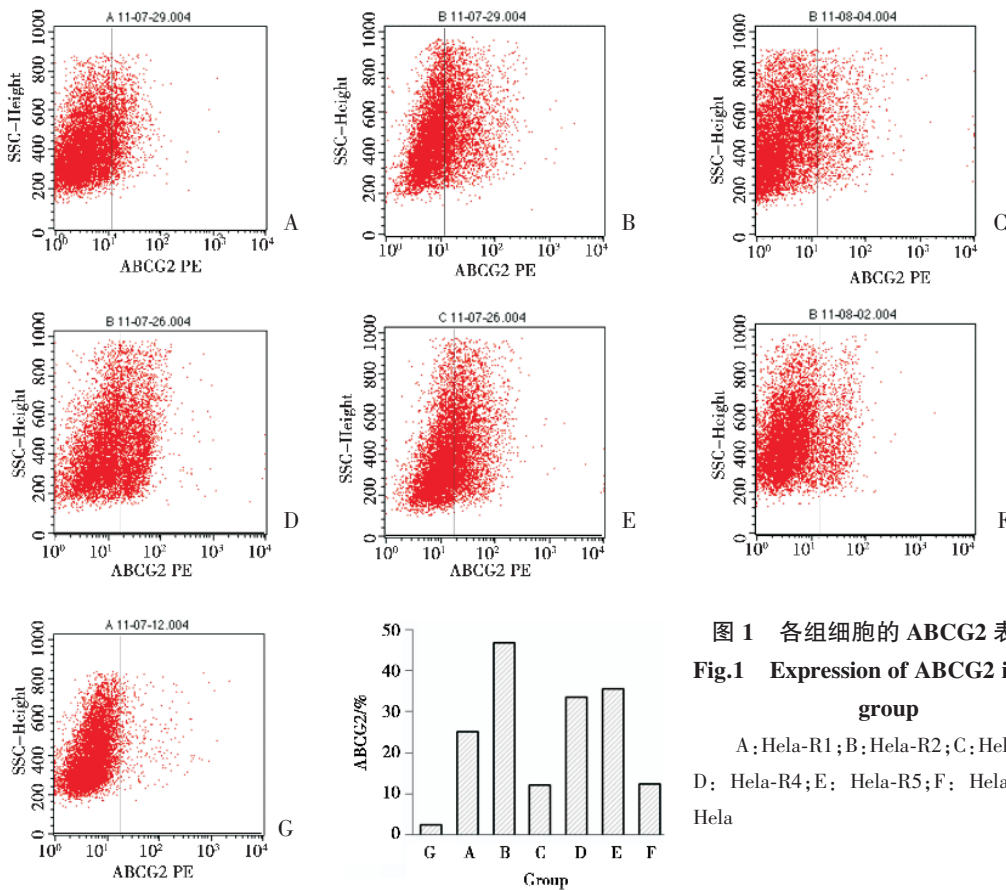


图 1 各组细胞的 ABCG2 表达率
Fig.1 Expression of ABCG2 in every group

A: HeLa-R1; B: HeLa-R2; C: HeLa-R3;
D: HeLa-R4; E: HeLa-R5; F: HeLa-R6. G: HeLa

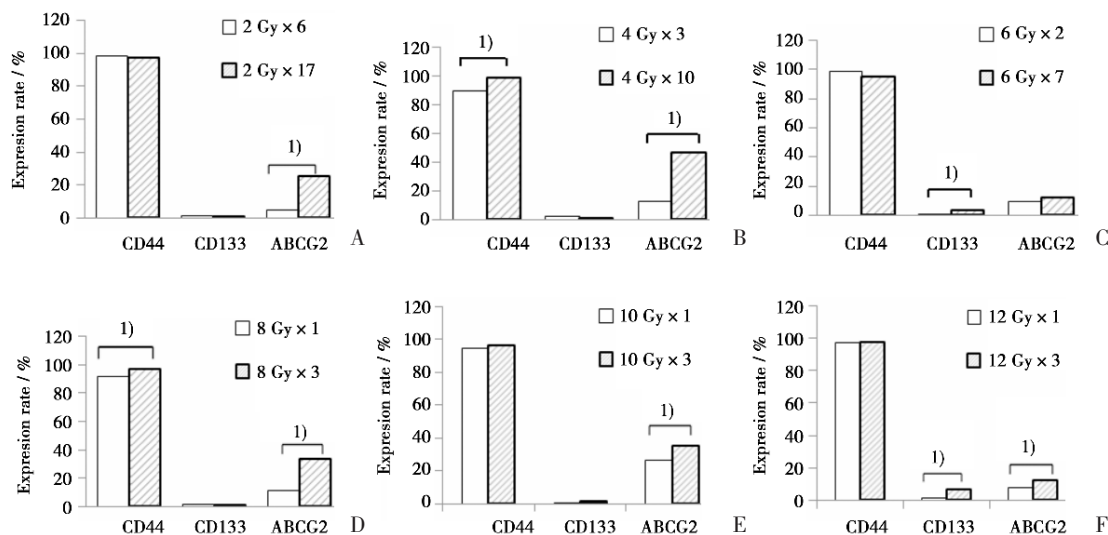


图2 各组内不同照射次数细胞的 ABCG2, CD44 及 CD133 表达率

Fig.2 Expression of ABCG2, CD44 and CD133 within each group with different frequencies of radiation

1) $P < 0.05$, A: Hela-R1; B: Hela-R2; C: Hela-R3; D: Hela-R4; E: Hela-R5; F: Hela-R6

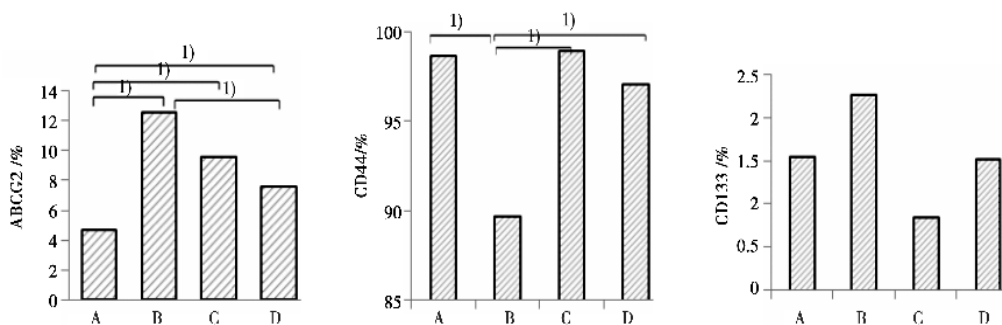


图3 总照射剂量 12 Gy 的四组细胞 ABCG2, CD44 和 CD133 表达率比较

Fig.3 Expression of ABCG2, CD44 and CD133 between four groups of cells with a total dose of 12 Gy

1) $P < 0.05$, A: 2 Gy × 6; B: 4 Gy × 3; C: 6 Gy × 2; D: 12 Gy × 1.

成瘤, 而 Hela-R1、Hela-R4 和 Hela-R6 则于 4 周后成瘤, 对照组及 Hela-R3 组接种后观察 8 周无瘤生成。

3 讨论

CSC 已被发现存在于多种人类肿瘤, 如急性髓系白血病、乳腺癌、卵巢癌、子宫内癌及脑肿瘤等^[2-6], 研究表明肿瘤耐药、放射抗拒及复发转移的根来自肿瘤干细胞的自我更新和无限增殖。宫颈癌的晚期复发和转移正是当前治疗的难点, 因此富集及鉴定宫颈癌 CSC 可为后续“靶向”治疗研究提供方向。中国 Feng 等^[7]从宫颈癌组织中成功分离鉴定了宫颈癌 CSC, Kondo 等^[8]则在宫颈癌 Hela 细胞株中分选出 1.2% 的侧群细胞 (side

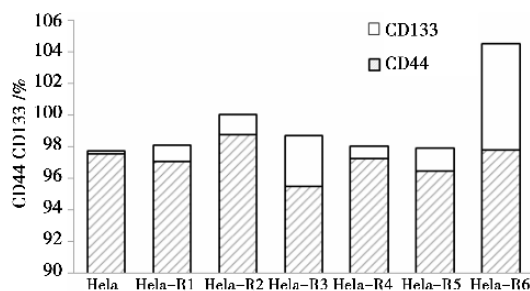


图4 各组细胞的 CD44 及 CD133 表达率

Fig.4 Expression of CD44 and CD133 in every group

population cell, SP), 表明宫颈癌中确实存在 CSC。López 等^[9]通过无血清培养法从 4 种人宫颈癌细胞株 (Hela, Siha, CaSki, C-41) 中分离鉴定出 CSC, 经基因检测表明, 该组具有自我更新能力的细胞相比对照组表达更高水平的 DNA 修复及活性氧

表 1 各组细胞的裸鼠成瘤情况

| Group | 5×10^5 | 5×10^6 | 5×10^7 |
|---------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Hela | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Hela-R1 | 0/3 | 0/3 | 1/3 |
| Hela-R2 | 0/3 | 0/3 | 3/3 |
| Hela-R3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Hela-R4 | 0/3 | 0/3 | 2/3 |
| Hela-R5 | 0/3 | 0/3 | 3/3 |
| Hela-R6 | 0/3 | 0/3 | 1/3 |

簇(reactive oxygen species, ROS)相关基因;检测放射敏感性的线性二次模型中, SF2 值均有不同程度的升高, 其中 Hela 细胞株从 0.42 ± 0.06 上升到 0.60 ± 0.11 , 表明其放射抗拒性增加, 揭示了 CSC 在宫颈癌放疗耐受中的作用。

不同于 CSC 的传统分选及鉴定方法, 本研究采用多次分割剂量 β 射线照射富集宫颈癌 CSC, 根据 CSC 的耐放疗特性, 经长期分割剂量照射后, 具有耐放疗特性的 CSC 可被筛选存活下来。流式检测显示各照射组细胞的 ABCG2 表达率均明显升高。ABCG2, 又称乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance protein, BCRP), 既往研究已表明, ABCG2 通过将多种化疗药物泵出细胞而保持很多恶性肿瘤细胞的耐药性^[10], 在干细胞研究中, 则利用其能将荧光染料 Hoechst 33342 排出胞外这一特性识别 SP 细胞^[11]。有研究表明, ABCG2 是 SP 细胞的一个重要决定因素, 通过调控干细胞 shh 通路维持细胞的“干性”, 可作为干细胞的特异性标记物之一^[12-14]。本研究中, Hela-R2 组的 ABCG2 表达水平最高表明分割剂量为 4 Gy 组的富集 CSC 效果最好, 这与我们既往研究显示分割剂量 4Gy 组的球囊形成率及平板克隆形成率最高相符, 且经裸鼠体内成瘤试验证实成瘤率最高, 成瘤速度也最快, 提示分割剂量 β 射线照射富集 CSC 的可行性, 也进一步验证 ABCG2 作为 CSC 特异性标记物的可能性。

流式结果显示, 照射组及对照组细胞均表达 CD44 和 CD133。前者在各组细胞中均有高达 90% 以上的表达率, 与 Bortolomai 等^[15]报道宫颈癌细胞株中 CD44 的表达水平 (88% ~ 95%) 是一致的。CD44 作为细胞表面黏附分子, 与肿瘤的浸润及转移密切相关, 主要用于乳腺癌 CSC 的表面标记^[3]。结合文献报道宫颈癌组织中也有少量的 CD133 表

达^[16], 表明 CD133 可能作为宫颈癌 CSC 的标记物。本研究中, CD133 表达率最高 (6.74%) 的 Hela-R6 组细胞经裸鼠皮下注射后成瘤率仅为 1/9, 可能与未行 CD133+细胞分选纯化有关, 导致 Hela-R6 组中 CSC 的总数不多, 影响其总体成瘤能力。

本研究中采用 2、4、6、8、10 及 12 Gy 的分割剂量射线照射法处理 Hela 细胞株, 仅 ABCG2 表达率表现为剂量依赖性改变, CD44 及 CD133 均无一致变化趋势。裸鼠体内成瘤试验中, 以 Hela-R2 组 (4 Gy \times 10 次) 细胞的成瘤能力最强, 其次为 Hela-R5 组 (10 Gy \times 3 次), 与流式检测结果基本相符。

综上所述, 多次分割剂量照射可在体外富集宫颈癌 CSC, 诱导 ABCG2 和 CD133 表达上调及提高照射组细胞的裸鼠体内成瘤能力, 以 Hela-R2 组细胞的成瘤能力最强。当然我们的研究结果及未来的临床应用还需要更多的研究加以证实, 分割剂量照射富集 CSC 的分子机制也需进一步探讨。

参考文献:

- [1] 黄靖然, 彭永排, 周晖, 等. 放疗耐受的宫颈癌 Hela 细胞的生物学特性[J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2012, 33(1): 001-008.
- [2] Wulf GG, Wang RY, Kuehnl I, et al. A leukemic stem cell with intrinsic drug efflux capacity in acute myeloid leukemia[J]. Blood, 2001, 98(4): 1166-1173.
- [3] Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(7): 3983-3988.
- [4] Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, et al. Identification of human brain tumour initiating cells [J]. Nature, 2004, 432(7015): 396-401.
- [5] Szotek PP, Pieretti-Vanmarcke R, Masiakos PT, et al. Ovarian cancer side population defines cells with stem cell-like characteristics and Mullerian inhibiting substance responsiveness[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(30): 11154-11159.
- [6] Friel AM, Sergent PA, Patnaude C, et al. Functional analyses of the cancer stem cell-like properties of human endometrial tumor initiating cells[J]. Cell Cycle, 2008, 7(2): 242-249.
- [7] Feng D, Peng C, Li C, et al. Identification and

characterization of cancer stem-like cells from primary carcinoma of the cervix uteri[J]. *Oncol Rep*, 2009, 22(5): 1129-1134.

- [8] Kondo T, Setoguchi T, Taga T. Persistence of a small subpopulation of cancer stem-like cells in the C6 glioma cell line[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(3): 781-786.
- [9] Lopez J, Poitevin A, Mendoza-Martinez V, et al. Cancer-initiating cells derived from established cervical cell lines exhibit stem-cell markers and increased radioresistance[J]. *BMC Cancer*, 2012, 12(6): 48-51.
- [10] Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters[J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(1): 48-58.
- [11] Goodell MA, Brose K, Paradis G, et al. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo[J]. *J Exp Med*, 1996, 183(4): 1797-806.
- [12] Zhou S, Schuetz JD, Bunting KD, et al. The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety

of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype [J]. *Nat Med*, 2001, 7(9): 1028-1034.

- [13] Krishnamurthy P, Ross DD, Nakanishi T, et al. The stem cell marker Bcrp/ABCG2 enhances hypoxic cell survival through interactions with heme [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(23): 24218-24225.
- [14] Balbuena J, Pachon G, Lopez-Torrents G, et al. ABCG2 is required to control the sonic hedgehog pathway in side population cells with stem-like properties[J]. *Cytometry A*, 2011, 79(9): 672-683.
- [15] Bortolomai I, Canevari S, Facetti I, et al. Tumor initiating cells: development and critical characterization of a model derived from the A431 carcinoma cell line forming spheres in suspension[J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(6): 1194-206.
- [16] Yao T, Chen Q, Zhang B, et al. The expression of ALDH1 in cervical carcinoma [J]. *Med Sci Monit*, 2011, 17(8): HY21-26.

(编辑 张恩健)

(上接第 329 页 from page 329)

得 vimentin 或 S100A4 (又称 FSP1, fibroblast-specific protein 1) 等间质细胞标记物的上皮细胞肿瘤拥有更强的转移潜能^[2],同时还伴随着 β -catenin 在细胞核内的过表达^[3]及上皮细胞黏附分子 E-cadherin 的丢失^[2,4],这说明,转移性的癌细胞的产生与 EMT 密切相关。研究发现,E-cadherin 的表达在转移的肿瘤细胞中是降低的^[5],而且 E-cadherin 的功能缺失也能促进 EMT^[6]。

众所周知,Snail 是抑制 E-cadherin 表达的,本研究中,瞬时及稳定表达 Snail 的结肠癌细胞其 E-cadherin 受到了明显抑制。但不仅如此,Snail 还调节了 EMT 的许多方面。比如上调间质细胞/纤维母细胞的标记表达,下调其它众多上皮细胞标记物的表达,提高了 MMP 的表达,并抑制了细胞的死亡。通过这一系列作用,Snail 促进了肿瘤上皮细胞向迁移、侵袭能力更强的间质细胞表型转化,从而促进了肿瘤的转移。本研究结果显示,转染 Snail 基因的结肠癌细胞在划痕实验和 transwell 小室侵袭实验中表现出了更强的迁移侵袭能力,由此推断,Snail 基因通过诱导 EMT,有促进结肠癌细胞转移的特性,其具体机制尚有待进一步的研究。

参 考 文 献:

- [1] Batlle E, Sancho E, Franci C, et al. The transcription

factor snail is a repressor of E-cadherin gene expression in epithelial tumour cells [J]. *Nat Cell Bio*, 2000, 2(2): 84-89.

- [2] Thompson EW, Torri J, Sabol M, et al. Oncogene-induced basement membrane invasiveness in human mammary epithelial cells [J]. *Clin Experi Metast*, 1994, 12(3): 181-194.
- [3] Brabletz T, Jung A, Hermann K, et al. Nuclear overexpression of the oncoprotein beta-catenin in colorectal cancer is localized predominantly at the invasion front [J]. *Path, Res Pract*, 1998, 194(10): 701-704.
- [4] Sommers CL, Walker-Jones D, Heckford SE, et al. Vimentin rather than keratin expression in some hormone-independent breast cancer cell lines and in oncogene-transformed mammary epithelial cells [J]. *Cancer Res*, 1989, 49(15): 4258-4263.
- [5] Hay ED, Zuk A. Transformations between epithelium and mesenchyme: normal, pathological, and experimentally induced [J]. *Am J Kidney Dis*, 1995, 26(4): 678-690.
- [6] Huber MA, Kraut N, Beug H. Molecular requirements for epithelial-mesenchymal transition during tumor progression [J]. *Cur Opin Cell Bio*, 2005, 17(5): 548-558.

(编辑 徐杰)