浙江医学 2016 左第 38 卷第 15 期

TGF-β1 诱导胃癌细胞上皮间 质转化与 CD133 表达研究

钟志凤 杜金林 王建平 金晰函 戴剑

【摘要】目的 研究转化生长因子 – β 1(TGF– β 1)促进胃癌侵袭能力,诱导胃癌 MKN–45 细胞发生上皮间质转化(EMT)的机 制及其与 PI3K/Akt 信号通路调控肿瘤起始细胞标志物 CD133 表达的关系。方法 设空白对照,应用 TGF– β 1 处理 MKN–45 细胞 (TGF– β 1 处理组),观察其对细胞形态学的影响;Transwell 检测细胞侵袭能力的改变;RT–PCR 及 Western blot 检测细胞 EMT 相关因 子 Snail、E–cadherin、N–cadherin、p–Akt 及 CD133 的表达水平;PI3K 特异性抑制剂 LY294002 预处理后再应用 TGF– β 1 处理细胞 (TGF– β 1+LY294002 处理组),检测 p–Akt 及 CD133 市表达水平的变化;免疫磁珠分选 CD133⁺ 与 CD133⁻ 亚群细胞,检测 CD133⁺ 组 与 CD133⁻ 组细胞 EMT 相关因 CD133⁻ 组细胞 EMT 相关因子的表达差异。结果 TGF– β 1 处理 72h 后,TGF– β 1 处理组细胞由上皮形态转化为间质形态。 TGF– β 1 处理组 Snail、N–cadherin mRNA、蛋白表达水平均高于对照组(均 P<0.05);TGF– β 1 处理组 p–Akt 蛋白与 CD133 mRNA、蛋白表达水平均高于对照组(均 P<0.05);TGF– β 1 处理组 p–Akt 蛋白与 CD133 mRNA、蛋白表达水平均高于对照组(均 P<0.05);CD133⁺ 组 Snail、N–cadherin mRNA、蛋白表达水平均高于 CD133⁻ 组(均 P<0.05),而 E–cadherin mRNA、蛋白表达水平均低于 CD133⁻ 组(均 P<0.05))。结论 TGF– β 1 诱导胃癌细胞发生 EMT,并通过 PI3K/Akt 信号通路调控 CD133 表达从而增强胃癌 MKN–45 细胞的侵袭能力。

【关键词】 TGF-β1 胃 新生物 / 癌 MKN-45 上皮间质转化 CD133 PI3K/Akt

TGF-β1 induces epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer cells and its mechanism ZHONG Zhifeng, DU Jinlin, WANG Jianping, et al. Department of Colorectal and Anal Surgery, Jinhua Municipal Central Hospital, Jinhua 321000, China

[Abstract] Objective To investigate the effect of TGF- β 1 on the epithelial-mesenchymal transition (EMT) in gastric cancer cells and its mechanism. Methods Human gastric cancer MKN-45 cells were treated with TGF-B 1. The micromorphological changes were observed and the invasive potency of MKN-45 cells were examined with Transwell method; the mRNA and protein expressions of Snail, E-cadherin, N-cadherin, p-Akt and CD133 were detected by RT-PCR and Western blot, respectively. The MKN-45 cells were pretreated with PI3K special inhibitor LY294002, then treated with TGF-B1, and the expressions of p-Akt and CD133 were detected. CD133⁺ and CD133⁻ cells were sorted by MACS and the expression of EMT-related proteins were measured and compared between two subsets of MKN-45 cells. Results The micromorphology of culture cells was changed to mesenchymal profiles 72h after TGF-β1 treatment; and the mRNA and protein expression levels of Snail and N-cadherin were higher than those in control group (P<0.05), the mRNA and protein expression levels of E-cadherin were significantly lower than those in control group (P < 0.05). The invasion ability of TGF- β 1 treated group was higher than that of control group (P < 0.05). The relative protein expression levels of p-Akt and CD133 in TGF- β 1 treated group were higher than those in control group(P < 0.05). In LY294002 pretreated cells, the p-Akt and CD133were down-regulated(P < 0.05). 0.05). The relative mRNA and protein expression levels of Snail, N-cadherin in CD133⁺ group were higher than those in CD133⁻ group (P<0.05), the relative mRNA and protein expression levels of E-cadherin in CD133+ group were lower than those in CD133– group(P < 0.05). Conclusion TGF- β 1 can induce EMT in MKN-45 cells, enhance the invasion ability of MKN-45 cells and up-regulate the expression of CD133 via PI3K/Akt pathway.

[Key words] TGF-B1 Stomach Neoplasma/cancer MKN-45 EMT CD133 PI3K/Akt

作者单位:321000 金华市中心医院结直肠肛门外科 通信作者:钟志风,E-mail:zzf1373@163.com 胃癌是全球高发肿瘤,肿瘤转移是胃癌患者病死主要原因之一^[1]。上皮间质转化(EMT)是上皮细胞失去极性转变为间质细胞的过程,进而发生细胞迁移,是胚胎发育的重要特征。有研究指出,EMT 与肿瘤侵袭转移密

切相关^[2];转化生长因子-β1(TGF-β1)等多种细胞因子 通过 Smad 和 PI3K/Akt 等信号通路促进 EMT 发生,进 一步增强肿瘤细胞的侵袭能力^[8]。肿瘤细胞群体中存在 一群能自我更新、无限增殖、多向分化的亚群细胞,称为 肿瘤起始细胞(TICs)。TICs 具有肿瘤耐药特性,并与侵 袭转移密切相关^[4]。CD133 是多种肿瘤的代表性 TICs 标 志物^[5],也是胃癌 TICs 表面标志物,并受 PI3K/Akt 信号 通路中 p-Akt 蛋白表达的调控^[6]。本实验旨在研究 TGFβ1 能否增强胃癌细胞侵袭能力,探讨这种促进作用是 否经 EMT 及调控 CD133 的表达实现,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌 MKN-45 细胞(中国科学院细胞 库)、TGF- β 1(美国 Peprotech 公司)、基质胶(美国 BD 公司)、侵袭(Transwell)小室(美国 Corning 公司)、胎牛 血清(美国 Hyclone 公司)、兔抗人 Snail 单克隆抗体、兔 抗人 CD133 单克隆抗体、兔抗人 p-Akt 单克隆抗体、兔 抗人 Akt 单克隆抗体及兔抗人 E-cadherin 单克隆抗体 (美国 CST 公司)、鼠抗人 N-cadherin 单克隆抗体(美国 Thermo 公司)、Trizol 试剂和 PCR 试剂盒(日本 Takara 公司)、辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(美国 Jackson 公司)、LY294002(美国 Cayman 公司)、Snail、Ecadherin、N-cadherin 和 CD133 引物(中国上海生工生 物工程公司)及 ECL 发光液(美国 Thermo 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 MKN-45 细胞用含 10%胎牛血清、 100U/ml 青霉素、100U/ml 链霉素的 DMEM 培养基常规 培养于 5%二氧化碳、37℃培养箱中,每 2~3d 传代 1 次。 MKN-45 细胞用无血清培养基培养 24h 后分为对照组 (空白对照)、TGF-β1 处理组 (5ng/ml TGF-β1 处理细 胞)及 TGF-β1+LY294002 处理组 (先用 PI3K 抑制剂 LY294002 10µmol/L 预处理细胞 60min,再加入 5 ng/ml TGF-β1 处理细胞)。

1.2.2 细胞形态学观察 细胞培养 72h 后,于倒置显微 镜下观察 TGF-β1 处理组与对照组细胞形态学变化。

1.2.3 Transwell 侵袭实验 用无血清 DMEM 培养基按 1:3 比例稀释基质胶,取 50μl 铺于 Transwell 上室中,置 于 37℃培养箱内,待上室的基质胶凝结,收集对数生长 期 MKN-45 细胞;以无血清 DMEM 培养基重悬,取 100μl 加入 Transwell 上室中,细胞浓度为 1×10⁵ 个/孔, 下室加入含有 10%胎牛血清的完全培养基;TGF-β1 处 理组细胞加入 5ng/ml 的 TGF-β1,对照组加入等量 PBS;37℃培养 24h,取出 Transwell 小室,用棉签擦去上 室中的基质胶及细胞;4%多聚甲醛溶液固定 30min,1% 结晶紫染色 30 min,PBS 洗涤 3 次,高倍镜下计数膜背 面上的穿膜细胞数。

1.2.4 RT-PCR^[7] 提取 TGF-β1 处理组与对照组细胞 EMT 相关因子总 RNA, 行 PCR 反应,退火温度:CD133 55°C,Snail 56°C,E-cadherin 50°C,N-cadherin 54°C, GAPDH 55°C。EMT 相关因子引物序列及产物长度见表 1。 应用凝胶显像系统及凝胶图像分析软件行半定量分析 目的产物与对应 GAPDH 产物的灰度值。目的 mRNA 表 达水平以目的 mRNA 扩增条带灰度值与 GAPDH mRNA 扩增条带灰度值的比值表示并分析,实验重复 3 次取平均值。

表1 EMT 相关因子引物序列及产物长度

因子	引物序列	产物长度(bp)		
CD133	上游:5'-TTACGGCACTCTTCACCT-3'	170		
	下游:5'-TATTCCACAAGCAGCAAA-3'	172		
Snail	上游:5'-CCTCCCTGTCAGATGAGGAC-3'	224		
	下游:5'-CCAGGCTGAGGTATTCCTTG-3'	234		
E-cadherin	上游:5'-TGCCCAGAAAATGAAAAAGG-3'	200		
	下游:5'-GTGTATGTGGCAATGCGTTC-3'	200		
N-cadherin	上游:5'-ACAGTGGCCACCTACAAAGG-3'	201		
	下游:5'-CCGAGATGGGGTTGATAATG-3'	201		
GAPDH	上游:5'-ACGGATTTGGTCGTATTGGGCG-3'	107		
	下游:5'-CTCCTGGAAGATGGTGATGG-3'	197		

1.2.5 Western blot^[7] TGF-β1 处理组与对照组细胞提 取蛋白后行 Western blot 检测,实验重复3次取平均值。 目的蛋白表达水平以目的蛋白条带密度灰度值和条带 面积的乘积与 GAPDH 蛋白条带密度灰度值和条带面 积的乘积的比值表示。

1.2.6 免疫磁珠分选[™] 收集 TGF-β1 处理组、TGF-β1+ LY294002 处理组与对照组细胞,行 RT-PCR 及 Western blot 检测 3 组细胞 PI3K/Akt 信号通路调控因子 p-Akt 蛋白及 CD133mRNA、蛋白表达水平;将 3 组细胞调整细 胞密度至 1×10⁷ 个/ml,用 300μl PBS 重悬,按操作步骤经 miniMACS 分离柱分选出 CD133⁺及 CD133⁻亚群细胞,即 TICs 行后续 RT-PCR 及 Western blot 检测 CD133⁺组和 CD133⁻组细胞中 EMT 相关因子 mRNA、蛋白的表达水 平。RT-PCR 及 Western blot 实验步聚同上。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 13.0 统计软件;计量资料 以*x*±s表示,两组比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较 采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。

2 结果

2.1 TGF-β1 处理组与对照组细胞形态学比较 见图 1

浙江医学 2016 年第 38 卷第 15 期

(见插页)。

由图 1 可见,对照组细胞呈现典型的上皮细胞样 形态;TGF-β1 处理组部分细胞变为梭形,排列变得混 乱,细胞核聚集,呈成纤维细胞样形态,发生 EMT。

2.2 TGF-β1 处理组与对照组细胞侵袭能力比较 见 图 2(见插页)。

由图 2 可见, 对照组穿膜细胞数为(49.40±5.60)个/ 视野, TGF-β1 处理组穿膜细胞数为(193.33±10.33)个/ 视野, TGF-β1 处理组明显多于对照组(*P*<0.05)。

2.3 TGF-β1 处理组与对照组细胞 EMT 相关因子 mRNA、蛋白表达水平比较 见图 3、表 2。

由图 3、表 2 可见, TGF-β1 处理组细胞 Snail 与 Ncadherin mRNA、蛋白表达水平均高于对照组(均 P<



图 3 TGF-β1 处理组与对照组细胞 EMT 相关因子 mRNA(a)、蛋 白(b)表达条带图比较(1:对照组;2:TGF-β1 处理组)

0.05);E-cadherin mRNA、蛋白表达水平均低于对照组(均 *P*<0.05)。

 2.4 TGF-β1 处理组、TGF-β1+LY294002 处理组与对 照组细胞 p-Akt 蛋白及 CD133 mRNA、蛋白表达水平比
 较 见图 4-5、表 3。

表 2	TGF-β1 处理组与对照组细胞 EMT 相关因子 mRNA	、蛋白表达水平比较
-----	--------------------------------	-----------

n	Sn	Snail		dherin	N-cadherin		
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	
3	0.5219 ± 0.0147	0.4769 ± 0.0234	0.4701 ± 0.0215	0.1349 ± 0.0258	0.6640 ± 0.0124	0.5014 ± 0.0216	
3	0.2049 ± 0.0214	0.2534 ± 0.0345	0.6792 ± 0.0157	0.6055 ± 0.0227	0.2722 ± 0.0098	0.2026 ± 0.0268	
	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	
	n 3 3	$ \begin{array}{r} n & \frac{\text{Sr}}{\text{mRNA}} \\ 3 & 0.5219 \pm 0.0147 \\ 3 & 0.2049 \pm 0.0214 \\ \hline $	n Snail mRNA<蛋白	n Snail E-ca mRNA<蛋白	n Snail E-cadherin mRNA<	n Snail E-cadherin N-ca mRNA<	



图 4 TGF-β1 处理组、TGF-β1+LY294002 处理组与对照组细胞 p-Akt 蛋白表达条带图比较(1: 对照组;2:TGF-β1处理组;3: TGF-β1+LY294002 处理组)



图 5 TGF-β1 处理组、TGF-β1+LY294002 处理组与对照组细胞 CD133 mRNA (a)、蛋白表达 (b)条带图比较 (1:对照组;2: TGF-β1 处理组;3:TGF-β1+LY294002 处理组)

由图 4-5、表 3 可见,3 组细胞 p-Akt 蛋白表达水平 比较有统计学差异 (P<0.05);TGF-β1 处理组细胞 p-Akt 蛋白表达水平高于对照组(P<0.05);而 TGF-β1+ LY294002 处理组细胞 p-Akt 蛋白表达水平低于对照组 (P<0.05)。3 组细胞 CD133 mRNA、蛋白表达水平比较 有统计学差异(P<0.05);TGF-β1 处理组细胞 CD133 mRNA、蛋白表达水平均高于对照组(均 P<0.05);TGFβ1+LY294002 处理组细胞 CD133 mRNA、蛋白表达水 平均低于 TGF-β1 处理组(均 P<0.05)。 **表 3** TGF-β1 处理组、TGF-β1+LY294002 处理组与对照组 细胞 p-Akt 蛋白及 CD133 mRNA、蛋白表达水平比较

	p-Akt 蛋白	CD133			
п		mRNA	蛋白		
3	$0.5137 \pm 0.0257^{*}$	$0.5534 \pm 0.0269^{*}$	$0.4217 \pm 0.0361^{*}$		
2	0.1027 + 0.0246*	0.2150 + 0.0244	0 148 + 0 0255		
3	0.1927 ± 0.0340	0.2139 ± 0.0244	0.148 ± 0.0233		
3	0.4122 ± 0.0322	0.3453 ± 0.0237	0.3328 ± 0.0265		
	n 3 3 3	n p-Akt 蛋白 3 0.5137±0.0257* 3 0.1927±0.0346* 3 0.4122±0.0322	n p-Akt 蛋白 CD1 mRNA 3 $0.5137 \pm 0.0257^*$ $0.5534 \pm 0.0269^*$ 3 $0.1927 \pm 0.0346^*$ $0.2159 \pm 0.0244^{\triangle}$ 3 0.4122 ± 0.0322 0.3453 ± 0.0237		

注:与对照组比较,*P<0.05;与TGF-β1处理组比较,^ΔP<0.05

2.5 CD133⁺组与 CD133⁻组细胞 EMT 相关因子 mRNA、 蛋白表达水平比较 见图 6、表 4。

由图 6、表 4 可见, CD133⁺组细胞 CD133、Snail 与 N-cadherin mRNA、蛋白表达水平均高于 CD133⁻组(均 *P*<0.05), 但 E-cadherin mRNA、蛋白表达水平均低于 CD133⁻组(均 *P*<0.05)。

3 讨论

早期诊断和预防转移是肿瘤治疗和研究的重中之重,其中最为重要的是探索肿瘤侵袭转移的相关机制^[9]。 EMT 在细胞重塑、组织修复、创伤愈合及肿瘤转移中起 重要作用^[10-11],其特征包括上皮细胞表面标志物(如 Ecadherin)表达水平降低,间质细胞表面标志物(如 Ncadherin)表达水平增高,上皮细胞间失去紧密连接,细 胞骨架重构,从而获得高侵袭和高转移特性^[12]。

浙江医学 2016 年第 38 卷第 15 期



图 6 CD133⁺ 组与 CD133⁻ 组细胞 EMT 相关因子 mRNA(a)、蛋 白(b)表达条带图比较(1:CD133⁺ 组;2:CD133⁻ 组)

肿瘤转移是多步骤的瀑布式级联反应过程,包括肿瘤细胞间失去紧密连接、迁移和侵袭能力增加、进入并在血管中生存、穿过血管进入远处组织、克隆形成新的肿瘤组织^[13]。肿瘤细胞需克服上述肿瘤转移各阶段的每一个屏障才能形成新的远处转移灶,而EMT在其中发挥重要促进作用^[11]。此外,转移到远处的肿瘤细胞需具备能自我更新、无限增殖及多向分化潜能的TICs 特性,进而在远处形成新的转移灶。这一亚群细胞在肿瘤形成的早期阶段发挥重要作用,与肿瘤异常增殖和侵袭转移

表 4 CD133+组与 CD133-组细胞 EMT 相关因子 mRNA、蛋白表达水平比较

组别		CD133		Snail		E-cadherin		N-cadherin	
	n	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
CD133+组	3	0.4125 ± 0.0212	0.6010 ± 0.0315	0.3110 ± 0.0149	0.5127 ± 0.0148	0.2306 ± 0.0090	0.4258 ± 0.0301	0.5813 ± 0.0201	0.5384 ± 0.0277
CD133-组	3	0.1518 ± 0.0135	0.1458 ± 0.0120	0.2219 ± 0.0156	0.1793 ± 0.0227	0.4595 ± 0.0148	0.7483 ± 0.0274	0.2700 ± 0.0175	0.2015 ± 0.0321
P值		< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

密切相关吗。

胚胎发育过程中,多种信号通路介导 EMT 发生。这 些信号通路大部分是由 TGF-β 超家族成员、表皮生长 因子、成纤维生长因子等介导^[3,14]。TGF-β1 是 TGF-β 超 家族成员,在胚胎发育以及肿瘤侵袭相关的 EMT 中发 挥重要作用^[14]。TGF-β1 不仅能通过经典的 Smad 信号 通路,还能通过非经典的 PI3K/Akt 和 MEK/Erk 等信号 通路调节下游信号表达^[11,14]。也有研究提示 EMT 的发生 可能促进肿瘤获得 TICs 特性,从而在侵袭转移中起重 要作用^[4]。本实验用 TGF-β1 处理 MKN-45 细胞后,发 现 MKN-45 细胞由紧密的上皮样细胞形态变为排列混 乱的间质细胞样形态,E-cadherin 表达水平降低,Ncadherin 表达水平增高,同时,EMT 调节因子 Snail 表达 水平增高。这表明 TGF-β1 诱导了胃癌 MKN-45 细胞 EMT 的发生。

Yu 等[□]研究发现,胃癌原发灶脉管中的癌栓内存在 CD133⁺细胞,并且 CD133 mRNA、蛋白的表达与淋巴结 转移率及转移淋巴结数呈正相关,与反映肿瘤增殖状态 的 Ki-67 表达呈负相关。本研究通过 Transwell 检测发 现,TGF-β1 处理组穿膜细胞数明显高于对照组。同时, 与对照组相比,TGF-β1 处理组 CD133 mRNA、蛋白表 达水平均增高。以上结果说明 CD133 及 EMT 与胃癌侵 袭能力密切相关。

为进一步研究胃癌中 CD133 与 EMT 之间的相关性,本研究采用免疫磁珠分选出 CD133⁺与 CD133⁻胃癌 MKN-45 细胞。结果发现 CD133⁺亚群细胞中 Snail、N-cadherin 表达水平显著高于 CD133⁻亚群细胞,而 E-cadherin 表达水平显著低于 CD133⁻亚群细胞。这进一步

说明 EMT 与 CD133 有关,并在胃癌侵袭能力中扮演着 重要作用。

经典的 TGF-β 信号通路是 Smad 信号通路。TGFβ I 型受体和 TGF-β II 型受体通过结合为紧密复合体, 磷酸化 Smad,从而调节下游信号表达^[15]。此外,TGF-β1 还能通过非 Smad 信号通路调节下游信号,如 PI3K/Akt 和 MAPK/Erk1/2 等^[16-17]。本研究发现 TGF-β1 诱导 MKN-45 细胞发生 EMT 后,p-Akt 及 CD133 蛋白表达 水平明显增高;用 PI3K 特异性抑制剂 LY294002 预处 理细胞后,p-Akt 蛋白水平表达明显下降,CD133 mRNA、蛋白表达水平均降低。以上结果提示 PI3k/Akt 信号通路在 EMT 介导的 CD133 高表达中起重要作用, 而 PI3K/Akt 抑制剂 LY294002 可明显阻断这一过程。

综上所述,TGF-β1 能诱导胃癌细胞发生 EMT,并 通过 PI3K/Akt 信号通路上调 CD133 表达而增强胃癌 MKN-45 细胞侵袭能力,对 EMT 与 CD133 的研究有助 于更深入了解胃癌侵袭转移机制,为胃癌治疗寻找新的 靶点,对预防胃癌的转移提供新的可行的干预措施。

4 参考文献

- [1] 叶再元, 钱振渊. 消化道恶性肿瘤生物治疗现状与展望[J]. 浙江医学, 2013, 35(24): 2141-2145,2148.
- [2] Huber M A, Kraut N, Beug H. Molecular requirements for epithelialmesenchymal transition during tumor progression[J]. Curr Opin Cell Biol, 2005, 17(5): 548–558.
- [3] Ying J, Xu Q, Liu B, et al. The expression of the PI3K/AKT/mTOR pathway in gastric cancer and its role in gastric cancer prognosis
 [J]. Onco Targets Ther, 2015, 1(8):2427–2433.
- [4] Takaishi S, Okumura T, Wang T C. Gastric cancer stem cells[J]. J

浙江医学 2016 年第 38 卷第 15 期

Clin Oncol, 2008, 26(17): 2876–2882.

- [5] Hong I, Hong S W, Chang Y G, et al. Expression of the Cancer Stem Cell Markers CD44 and CD133 in Colorectal Cancer: An Immunohistochemical Staining Analysis[J].Ann Coloproctol, 2015, 31(3): 84–91.
- [6] 姜海广,陆瑞祺,吴巨钢,等.基质细胞源性因子 –1α/CXC 趋化因子 受体 –4 轴经 PI3K/Akt 通路对胃癌细胞 CD133 表达的调控作用[J]. 中华实验外科杂志, 2012, 29(3): 378–380.
- [7] Yu J W, Zhang P, Wu J G, et al. Expressions and clinical significances of CD133 protein and CD133 mRNA in primary lesion of gastric adenocacinoma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2010, 29(1):1–10.
- [8] Peichev M, Naiyer A J, Pereira D, et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors[J]. Blood, 2000, 95(3): 952–958.
- Yamamoto H, Oda Y. Gastrointestinal stromal tumor: recent advances in pathology and genetics[J]. Pathol Int, 2015, 65(1): 9-18.
- [10] Hay E D. The mesenchymal cell, its role in the embryo, and the remarkable signaling mechanisms that create it[J]. Dev Dyn, 2005, 233(3): 706–720.
- [11] Thiery J P. Epithelial-mesenchymal transitions in development

and pathologies[J]. Curr Opin Cell Biol, 2003, 15(6): 740-746.

- [12] Chaffer C L, Weinberg R A. A perspective on cancer cell metastasis[J]. Science, 2011, 331(6024): 1559–1564.
- [13] Bielenberg D R, Zetter B R. The Contribution of Angiogenesis to the Process of Metastasis[J]. Cancer J, 2015, 21(4): 267–273.
- [14] Chen X F, Zhang H J, Wang H B, et al. Transforming growth factor-beta1 induces epithelial-to-mesenchymal transition in human lung cancer cells via PI3K/Akt and MEK/Erk1/2 signaling pathways[J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(4): 3549–3556.
- [15] Derynck R, Zhang Y E. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signalling [J]. Nature, 2003, 425(6958): 577–584.
- [16] Janda E, Lehmann K, Killisch I, et al. Ras and TGF [beta] cooperatively regulate epithelial cell plasticity and metastasis: dissection of Ras signaling pathways[J]. J Cell Biol, 2002, 156 (2): 299–313.
- [17] Gotzmann J, Huber H, Thallinger C, et al. Hepatocytes convert to a fibroblastoid phenotype through the cooperation of TGF-beta1 and Ha-Ras: steps towards invasiveness[J]. J Cell Sci, 2002, 115(Pt 6): 1189–1202.

(收稿日期:2015-03-10) (本文编辑:李媚)

(上接第1233页)

需要进行体外实验的观察和研究,这将对本实验具有一 定的指导意义。

综上所述,调控 PON1 过表达能够缓解 AChE 抑制, 降低肝功能指标 AST、ALT 水平,并可能通过 NF-κBp65 通路减少炎症因子 TNF-α、IL-1β 的释放,降低炎症水 平,减轻肝损伤。本文从直接和间接两个方面阐述了 PON1 基因过表达对敌敌畏中毒导致的肝损伤具有一定 的保护作用,为 AOPP 的预防提供了新思路和新方向。

4 参考文献

- Alonso-Navarro H, Jimenez-Jimenez F J, Garcia-Martin E, et al. Genomic and pharmacogenomic biomarkers of Parkinson's disease[J].Curr Drug Metab,2014 ,15(2):129–181.
- [2] Menini T, Gugliucci A. Paraoxonase 1 in neurological disorders[J]. Redox Rep, 2014, 19(2):49–58.
- [3] 郭瑞娟,陈隆望,连洁,等.调控 PON1 基因对急性敌敌畏中毒小鼠肝氧 化损伤的保护作用[J]. 中华危重病急救医学,2015,27(4): 285-290.
- [4] 陈灏珠.实用内科学[M].12版.北京:人民卫生出版社, 2005:800-801.
- [5] Wang N N, Dai H, Yuan L, et al. Study of paraoxonase-1 function

on tissue damage of dichlorvos[J]. Toxicol Lett, 2010, 196(2):125–132.

- [6] Ozer J, Ratner M, Shaw M, et al. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity[J]. Toxicology, 2008, 245(3): 194–205.
- [7] Lasram M M, Lamine A J, Dhouib I B, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of N-acetylcysteine against malathioninduced liver damages and immunotoxicity in rats[J]. Life Sci, 2014, 107(1-2): 50-58.
- [8] 张国林, 王希英. 急性有机磷农药中毒患者血清脂蛋白(a)的变化[J]. 中华劳动卫生职业病杂志,2007,25(9):567.
- [9] 吴孟章, 欧阳荡玉,黄芳,等. 急性有机磷中毒患者早期血清中白细胞 介素 10 和肿瘤坏死因子 α 的表达[J]. 中华急诊医学杂志, 2011, 20 (7):746-748.
- [10] Luo J L, Kamata H, Karin M. IKK/NF-kappa B signaling: balancing life and death – a new approach to cancer therapy[J]. Journal of Clinical Investigation, 2005, 115(10):2625–2632.
- [11] Kim M J, Jeonq H J, Kim D W, et al. PEP-1-PON1 Protein Regulates Inflammatory Response in Raw 264.7 Macrophages and Ameliorates Inflammation in a TPA-Induced Animal Model[J]. PLoS One, 2014, 9(1):e86034.

(收稿日期:2015-07-06) (本文编辑:严玮雯)