

肿瘤机制研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000621

应用 siRNA 敲低 TPM3 基因表达后对大鼠胰腺癌细胞侵袭转移能力的影响

马 翔, 张登勇, 孙万亮, 鲁 正

(蚌埠医学院第一附属医院肝胆外科, 安徽 233000)

【摘要】目的:探究原肌球蛋白 3(tropomyosin alpha-3 chain, TPM3)在大鼠胰腺癌细胞中对其侵袭转移能力的影响并初步阐述其可能的分子机制。**方法:**(1)将 70 只大鼠随机分为手术组 40 只[将 7, 12-二甲基苯并蒽(7, 12-dimethyl-1, 2-benzanthracene, DMBA)植入大鼠胰腺被膜下后荷包缝合被膜], 假手术组 15 只(只对胰腺进行荷包缝合而后关腹, 不置入 DMBA), 阴性对照组 15 只(不做任何处理), 建立大鼠胰腺癌模型。(2)通过组织免疫组化染色的方法对差异蛋白 TPM3 进行验证。(3)通过机械分离和酶阶段消化法分离胰腺癌组织的方法获取大鼠胰腺癌细胞, 体外传代培养获得纯度较高的细胞后, 应用 siRNA 敲低大鼠胰腺癌细胞中 TPM3 基因的表达; 通过 RT-PCR 技术检测其沉默效果。(4)通过 Transwell 实验和平板克隆实验分别对细胞的侵袭、迁移能力及生长增殖能力进行观察。**结果:**(1)经病理验证模型组有 37.83% (14/37) 形成胰腺癌, 证明大鼠胰腺癌模型建立成功。(2)免疫组化验证胰腺癌组织中 TPM3 阳性率(92.8%)明显高于正常胰腺组织(6.7%)。(3)RT-PCR 结果显示, 转染 TPM3-siRNA 的细胞中 TPM3 的表达量(0.31 ± 0.02)明显低于其余各组, 脂质体组(0.45 ± 0.02), 阴性对照组(0.45 ± 0.02), 空白对照组(0.43 ± 0.02) ($P < 0.05$), 其余各组之间 TPM3 表达量差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。(4)转染 TPM3-siRNA 的细胞其侵袭 [(161.63 ± 4.94) 个], 迁移能力 [(206.87 ± 4.21) 个] 及生长增殖能力 [(51.5 ± 2.327) 个] 较对照组明显降低 [分别为 (39.7 ± 1.40) 个, (67.27 ± 1.76) 个, (5.900 ± 0.767) 个] ($P < 0.05$)。**结论:**体外化学合成的 TPM3-siRNA 可有效的抑制大鼠胰腺细胞 TPM3 的表达, TPM3 表达降低后其侵袭能力、迁移能力及生长增殖能力下降。

【关键词】胰腺癌; RNA 干扰; 原肌球蛋白 3; 迁移; 侵袭

【中图分类号】R735.9

【文献标志码】A

【收稿日期】2014-07-21

Influence of small interfering RNA targeting TPM3 gene on capacities of migration and invasion of rat pancreatic cancer cells

Ma Xiang, Zhang Dengyong, Sun Wanliang, Lu Zheng

(Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College)

【Abstract】Objective: To investigate the biological effects of TPM3 in rat pancreatic cancer cells and related molecular mechanisms during tumorigenesis. **Methods:** (1) Totally 70 SD rat were randomly divided into three groups: operation group ($n=40$, DMBA was directly implanted into the pancreatic parenchyma), sham operation group ($n=15$, the pancreatic parenchyma was dissected, but no DMBA was implanted), blank control group ($n=15$, received no treatment). An animal model with pathological characteristics of human pancreatic cancer was established. (2) TPM3 was verified by immunohistochemistry. (3) Combination of mechanical separation and enzyme digestion and separation was used to get the rat pancreatic cancer cells, and then the expression of TPM3 in rat pancreatic cancer cells was knocked down by transfecting TPM3-siRNA into cancer cells. Expression of TPM3 was confirmed by RT-PCR. (4) Transwell membrane assays were used to examine migration and invasion potentials. Colony formation assay was used to test cell growth capacity. **Results:** (1) 37.83% (14/37) rats in model groups generated pancreatic carcinoma with pathologically verification. (2) The increased level of TPM3 protein in rat pancreatic cancer was further confirmed by immunohistochemical (92.8%). (3) RT-PCR result

showed that, compared with other groups (liposome group (0.45 ± 0.02), negative control group (0.45 ± 0.02), blank control group (0.43 ± 0.02)), the ratios of relative TPM3 expression in interference group were significantly reduced (0.31 ± 0.02) ($P < 0.05$). (4) Silencing of TPM3 led to significantly inhibited capacities of invasion (161.63 ± 4.94 and 39.7 ± 1.40 respectively) and

作者介绍: 马 翔, Email: mxbyxy@163.com,

研究方向: 胰腺外科。

通信作者: 鲁 正, Email: luzhengdr@163.com。

基金项目: 安徽省教育厅基金资助项目 (编号: KJ2009B016)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150414.2228.003.html>

(2015-04-14)

migration (206.87 ± 4.21 and 67.27 ± 1.76 respectively) in rat pancreatic cells, and colony formation of PC cells was suppressed after TPM3 knockdown (51.5 ± 2.327 and 5.900 ± 0.767 respectively) ($P < 0.05$). **Conclusion:** Overexpression of TPM3 will increase potentials of invasion or migration of cancer cells during tumorigenesis.

【Key words】pancreatic cancer; RNA interference; tropomyosin alpha-3 chain; migration; invasion

胰腺癌是严重影响人类健康的恶性肿瘤,其恶性程度高,早期诊断困难,预后差,死亡率极高。据估计,中国 2009 年胰腺癌在恶性肿瘤死亡率中居第七位,死亡率大于 90%(死亡发病比为 5 650/6 220)^[1],其 5 年生存率低于 5%,探究胰腺癌的发生机制和寻找敏感性及特异性均较高的肿瘤标记物仍然是目前较为急迫的工作。

在先前研究工作中,通过差异蛋白质组学的方法初步筛选出了在大鼠胰腺组织中高表达的原肌球蛋白 3(tropomyosin alpha-3 chain, TPM3)。非肌肉细胞或组织中的原肌球蛋白表达上调可能与肿瘤的发展有关^[2-5],同时也可能与肿瘤细胞的迁移和转移相关^[6-7],但其分子机制目前尚不清楚。

本实验以 7,12-二甲基苯并蒽(7,12-dimethyl-1,2-benzanthracene, DMBA)诱导形成与人类胰腺癌的病理学特性很相近的大鼠胰腺癌^[8],采用 RNA 干扰技术敲低原代培养的大鼠胰腺癌细胞 TPM3 的表达,继而观察其生物学行为的改变,初步揭示 TPM3 表达量的高低对胰腺癌细胞迁移或转移等生物学行为的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及耗材

DMBA 购自 Gibco 公司, cDNA 合成试剂盒和 PCR 反应体系均购于美国 FERMENTAS 公司, II 型胶原酶粉剂购于 Gibco 公司, 兔抗鼠 TPM3 蛋白抗体购于美国 proteintech 公司, Trizol 购于美国 Invitrogen 公司, Lipofectamine™ 2000 购于美国 Invitrogen 公司, Transwell 小室购于美国 Corning 公司, Matrigel 胶购于美国 BD Biosciences 公司。

1.2 siRNA 的设计与合成

购于上海吉玛制药技术有限公司, 各组序列分别为(5' to 3'): negative control siRNA oligo 序列正义链: UUCUCC-GAACGUGUCACGUTT, 反义链: ACGUGACACGUUCGAG-AATT; negative control FAM siRNA oligo 序列正义链: UUCU-CCGAACGUGUCACGUTT, 反义链: ACGUGACACGUUCGGA-GAATT; TPM3 siRNA-1 oligo 序列正义链: GAGGUAUGAA-GGUGAUUGATT, 反义链: UCAAUCACCUCAUACCUCTT;

TPM3 siRNA-2 oligo 序列正义链: GCUCGUAAGUUGGUGA-UUATT; 反义链: UAAUCACCAACUUACGAGCTT。

1.3 PCR 引物

使用 Primer 5.0 软件设计 GAPDH 和 TPM3 基因 PCR 引物, 各种引物均由上海生工合成, TPM3 引物: 上游引物: CAGTGCCAGCCTCGTCTCAT, 下游引物: AGGGGCCATCCA-CAGTCTTC, 扩增片段大小为 362 bp; 内参 GAPDH 引物: 上游引物: CAGTGCCAGCCTCGTCTCAT, 下游引物: AGGGGCC-ATCCACAGTCTTC, 扩增片段大小为 595 bp。

1.4 实验动物

清洁级 SD 大鼠 70 只, 全雌性, 体质量 100 g 左右, 购自南通大学实验动物中心。70 只大鼠随机分为手术组 40 只, 假手术对照组 15 只, 阴性对照组 15 只。手术组将 DMBA 植入大鼠胰腺被膜下后荷包缝合被膜, 假手术对照组只对胰腺进行荷包缝合而后关腹, 不置入 DMBA, 阴性对照组不做处理。所有大鼠均在标准条件下饲养。

1.5 大鼠胰腺癌细胞的培养

建模后 3~5 个月, 当大鼠出现消瘦、腹水、腹部包块等症状时即开始行组织病理学检查和细胞原代培养。病理结果显示胰腺组织癌变则对应的细胞继续培养, 否则停止培养。初期细胞传代, 用反复贴壁法^[9]去除成纤维细胞等杂质细胞。

1.6 免疫组化法观察正常及癌变胰腺组织 TPM3 表达

采用双盲法统计试验结果, 显微镜下, 每张切片随机选取 5 个视野(400×)统计阳性细胞所占百分比。

1.7 细胞转染

本实验所有指标检测按如下分组: 实验中以 PBS 代替脂质体和 siRNA 混合物设置为空白对照组(blank control), 只含脂质体而不含有 siRNA 的混合物设置为脂质体组(liposome control), 转染无义序列 siRNA 组(negative control), 转染 TPM3 siRNA 组(TPM3 siRNA-1, TPM3 siRNA-2)。按照说明书方法转染上述 5 组研究对象的同时, 另外转染 1 组 FAM 荧光标记的与目的基因无同源性的 siRNA, 用来测定转染效率; 转染方法: 取对数生长期的大鼠胰腺癌细胞, 均以每孔 2×10^5 个细胞接种在 6 孔培养板, 37℃, 5%CO₂ 温育过夜, 待细胞生长至密度为 70%~90%时, 进行转染。用无血清培养基洗涤待转染的细胞, 将 siRNA 200 pmol, Lipofectamine™ 2000 4 μl 分别稀释至 200 μl 混匀后室温放置 5 min, 然后将二者混匀, 室温放置 20 min 后加入 6 孔培养板中。37℃, 5%CO₂ 培养 24 h 后, 进行转染后的其他检测步骤。

1.8 RT-PCR 检测行 RNA 干扰后 TPM3 基因 mRNA 的表达

Trizol 法提取细胞总 RNA, 参照说明书将 RNA 逆转录为

cDNA,再以上述逆转录成的 cDNA 为模板,PCR 扩增 GAPDH 和 TPM3 基因序列。RT-PCR 反应参数:95 ℃ 预变性 3 min 后,95 ℃ 30 s,57 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,共 30 个循环,72 ℃ 终止反应 5 min。分别取各个样本和 GAPDH 引物的 PCR 产物各 5 μl 混匀,于 15 g/L 的琼脂糖电泳,并采用 UVP 凝胶成像仪 BI2000 清晰图像处理系统软件进行半定量分析,目的基因的表达强度用 TPM3 与 GAPDH 的光密度比值表示,实验重复 10 次。

1.9 体外侵袭实验及迁移实验

在 8 μm 孔径 Transwell 小室上将 50 mg/L Matrigel 胶用不含血清的 RPMI 1640 培养基按 1:4 的比例稀释后取 80 μl 包被小室底部膜的上室面,置 37 ℃ 30 min,使 Matrigel 胶聚合成凝胶,取 100 μl 细胞悬液加入上室中,下室中加入 600 μl 含 10%FBS 的培养基,常规培养 24 h。将小室取出,擦去上室的基质胶和未穿过膜的细胞,结晶紫染色,镜下(200×)选取膜中央部分和周围 10 个不重复视野计数侵袭细胞的数目,实验重复 3 次。细胞迁移实验除小室不用 Matrigel 胶外,余步骤与细胞侵袭实验相同。

1.10 平板克隆形成实验

按每皿 100 个细胞的密度接种平皿中静置培养,约 2 周后当培养皿中出现肉眼可见的克隆时,终止培养。甲醇固定, Giemsa 染色,肉眼直接计数克隆,每组细胞实验重复 3 次。

1.11 统计学方法

利用 SPSS 19.0 软件进行数据分析和处理。免疫组化统计处理所得数据用 Fisher 确切概率法和 Spearman 秩相关分析分析相关性。各组实验数据采用($\bar{x} \pm s$)表示。多组之间比较采用单因素方差分析,采用 SNK-*q* 法进行组间两两比较,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 大鼠胰腺癌模型的建立

建模后 3 个月左右,模型组部分大鼠出现消瘦、腹胀、腹部肿块等情况。模型组胰腺组织质地较硬与正常胰腺组织明显不同,于植入部形成包块并与胃肠等周围器官黏连明显。切开包块可见少量残留的黄色 DMBA 颗粒。经病理验证模型组有 37.83%(14/37)形成胰腺癌。

2.2 大鼠正常胰腺组织及胰腺癌组织免疫组化染色

在大鼠正常胰腺细胞及胰腺癌细胞中,TPM3 阳性表达主要定位于细胞胞浆中,呈棕黄色颗粒反应(图 1)。在模型组、假手术组及阴性对照组中,TPM3 的阳性表达率分别为 92.8%、13.3% 和 6.7%(表 1),Fisher 确切概率法统计结果显示 $P=0.00$ 。3 组间两两比较结果示,模型组同假手术组及阴性对照组胰腺组织中 TPM3 表达量的变化均有统计学意义($P<0.05$),而假手术组同阴性对照组胰腺组织中 TPM3 表达量的变化

无统计学意义($P>0.05$)。相关性分析同样表明,胰腺组织中 TPM3 的表达升高与胰腺癌的发生率升高呈正相关($r_s=0.707$, $P<0.05$)。这些说明在大鼠胰腺癌组织中,TPM3 阳性表达率明显增加,胰腺 TPM3 的表达可能作为今后胰腺肿瘤检测指标之一。

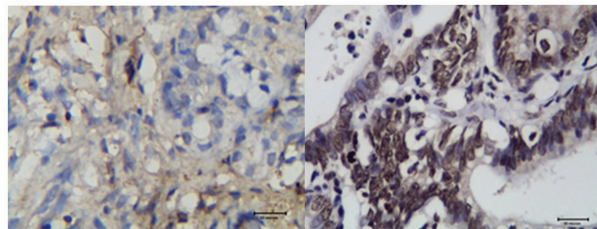


图 1 大鼠正常胰腺组织及胰腺癌组织 TPM3 免疫组化染色 (400×)

Fig.1 Rat normal pancreatic tissues and TPM3 immunohistochemical staining of pancreatic tissues (400×)

表 1 TPM3 在模型组、假手术组及阴性对照组中的表达情况

Tab.1 Expressions of TPM3 in model group, sham operation group and negative control group

分组	例数 (n)	TPM3 的表达				阳性 表达率
		-	+	++	+++	
模型组	14	1	4	6	3	92.8%
假手术组	15	13	1	1	0	13.3%
阴性对照组	15	14	0	1	0	6.7%

2.3 肿瘤细胞的原代培养和传代培养

原代培养初期可见少量细胞于瓶底贴壁生长,细胞生长缓慢;5 d 后细胞数量增多,形态不规则,呈三角形、梭形、多边形等,排列紊乱;通过反复贴壁法逐渐去除杂质细胞,1 个月后细胞生长加快,可见细胞呈铺路石样排列生长,其间可见少量成纤维细胞等杂质细胞;继续培养至 2 个月后,细胞生长良好,每 2 d 传代 1 次,不见杂质细胞生长(图 2)。

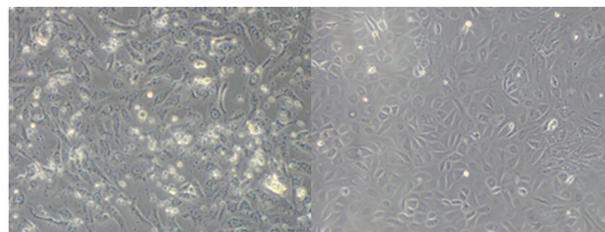


图 2 大鼠胰腺癌细胞原代培养第 5 天及 1 月后的细胞形态改变 (200×)

Fig.2 Shapes of primary cells at different time points (5 days, 1 month) (200×)

2.4 转染阴性对照 FAM siRNA 观察转染效率

图 3 所示为同一视野下常光及荧光显微镜下所见,转染成功的细胞可见绿色荧光;转染率测定发现转染效率在 80% 以上,完全可满足实验的要求。

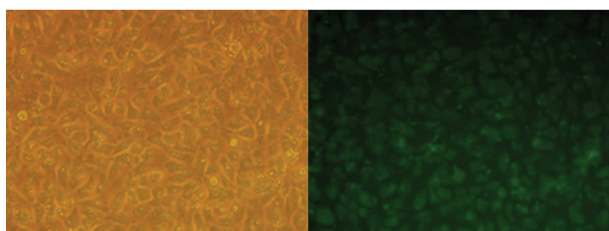


图3 FAM siRNA 转染大鼠 PC 细胞 48h 后转染效率的观察
(200 ×)

Fig.3 Expression of FAM after FAM siRNA being tansfected into rat PC cell at 48 h (200 ×)

2.5 RT-PCR 检测 RNA 干扰后 TPM3 mRNA 表达

实验重复 10 次。灰度值比值分析结果为:liposome group (0.45 ± 0.02), negative control group (0.45 ± 0.02), blank control group (0.43 ± 0.02), siTPM3-1 (0.43 ± 0.04) and siTPM3-2 (0.31 ± 0.02), $F=6.042$, $P=0.000$ 。siTPM3-2 与上述各组比较, P 值分别为 0.002、0.001、0.006、0.008, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。siTPM3-2 与其余各组比较, TPM3 表达量明显下降, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 其余各组间比较 TPM3 表达量差异无统计学意义 ($P>0.05$)。说明转染 TPM3 siRNA-2 的大鼠胰腺癌细胞内 TPM3 mRNA 的表达明显受到抑制。而 TPM3 siRNA-1 无干扰效应, 因此, 仅将 siTPM3-2 用于后续实验并称之为 siTPM3 (图 4)。

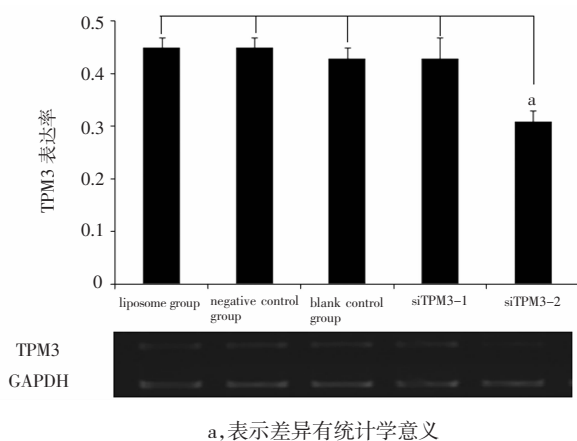


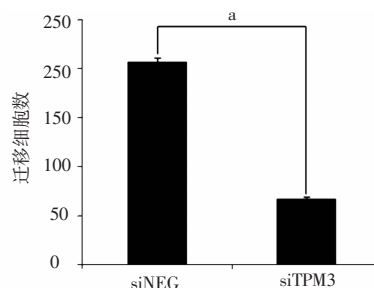
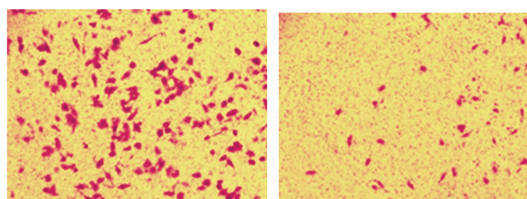
图4 各组 TPM3 在大鼠胰腺癌细胞中表达的 PCR 结果 ($\bar{x} \pm s$)

Fig.4 Relative TPM3 expression ratio in different grouping methods ($\bar{x} \pm s$)

2.6 Tanswell 侵袭实验和迁移实验

实验均重复 3 次, 在迁移实验中, 大鼠胰腺癌细胞中无义序列组和 siTPM3 组平均迁移细胞数分别为 (206.87 ± 4.21) 个和 (67.27 ± 1.76) 个, $t=30.58$, $P=0.000$ (图 5); 大鼠胰腺癌细胞中无义序列组迁移细胞数明显高于 siTPM3 组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。在侵袭实验中, 大鼠胰腺癌细胞中无义序列组和 siTPM3 组平均侵袭细胞数分别为 (161.63 ± 4.94)

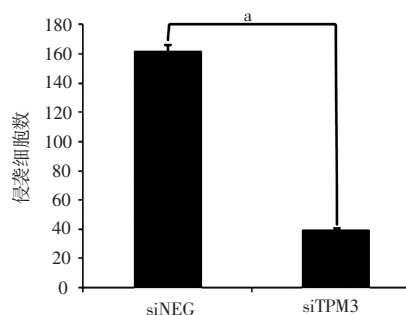
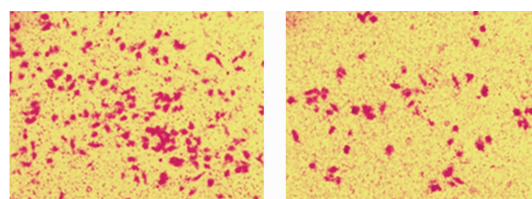
个和 (39.70 ± 1.40) 个, $t=23.74$, $P=0.000$ (图 6), 大鼠胰腺癌细胞中无义序列组侵袭细胞数明显高于 siTPM3 组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。



a, 表示差异有统计学意义

图5 实验组和对照组迁移细胞数 ($\bar{x} \pm s$)

Fig.5 A significant decrease in the number of cells that passed through the bottom surface following siTPM3 treatment ($\bar{x} \pm s$)



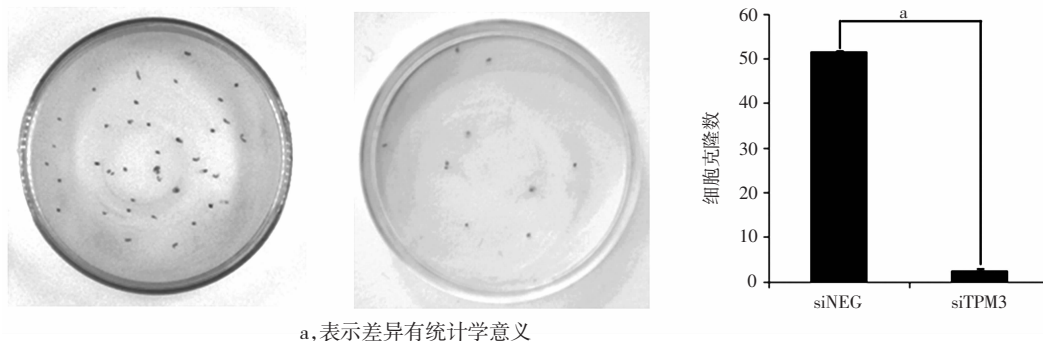
a, 表示差异有统计学意义

图6 实验组和对照组侵袭细胞数 ($\bar{x} \pm s$)

Fig.6 A significant decrease in the number of cells that passed through the bottom surface of the Matrigel-coated membrane following siTPM3 treatment ($\bar{x} \pm s$)

2.7 平板克隆形成实验

实验重复 3 次, 分别计数大鼠胰腺癌细胞中无义序列组和 siTPM3 组培养皿中形成的克隆数, 分别为 (51.500 ± 2.327) 个和 (5.900 ± 0.767) 个, $t=18.29$, $P=0.000$ (图 7), 大鼠胰腺癌细胞中无义序列组培养皿中形成的克隆数明显高于 siTPM3 组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。



a, 表示差异有统计学意义

图 7 实验组和对照组克隆形成数 ($\bar{x} \pm s$)

Fig.7 Significantly decreased colony numbers following siTPM3 treatment ($\bar{x} \pm s$)

3 讨论

RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 是由双链 RNA 引发的诱导转录后的基因沉默的过程。利用 RNAi 技术也可以成功阻断基因的表达, 实现了细胞水平的基因敲除。近年来 RNAi 技术已广泛应用于基因功能的研究, 并对肿瘤的分子机制和治疗研究等方面显示极大的应用价值。

因为 RNAi 的高度特异性和高效性, 现在, RNAi 不仅可作为研究基因功能的重要工具, 也已被看作人类癌症的潜在治疗手段。因此, 在不同肿瘤细胞模型中应用 RNAi 技术敲低特定的目的基因后, 产生了一些深远的生物学效应。

大鼠胰腺癌原位模型具有潜伏期短、生长迅速、转移早且转移率高, 同时还保持了胰腺癌的生理和解剖特性, 是体内研究的理想模型。DMBA 诱导的大鼠胰腺癌表达细胞角蛋白 19、20 等导管细胞标志物, 而不表达腺泡细胞标志物糜蛋白酶, 表明 DMBA 诱导的胰腺癌为导管起源。此外, DMBA 诱导的胰腺癌具有较高的 K-ras 基因突变发生率, 与人胰腺癌近似且不诱导其他脏器肿瘤。

在本实验研究中, 以在大鼠胰腺癌组织中高表达的 TPM3 蛋白为研究对象, 通过 RNAi 的方法敲低 TPM3 的表达。通过实验发现 TPM3 的表达被抑制后, 大鼠胰腺癌细胞的侵袭和迁移能力较对照组明显下降。Miyado 等^[10]的研究发现, 原肌球蛋白在小鼠高转移性肿瘤细胞的表达量远高于小鼠低转移性肿瘤细胞的表达量, 这个结果与本实验结果相一致。

近年来, 肌动蛋白结合蛋白在肿瘤细胞侵袭、转移中的作用引起了越来越多的关注^[11], 原肌球蛋白的表达下降与细胞的致瘤性转化、细胞形态学的改变以及肿瘤的转移息息相关^[12]。在胰腺癌细胞中, E-cadherin 表达下调被认为是在胰腺癌中肿瘤细胞具有侵袭力的表现, 同时也是上皮间质转化 (Epithelial Mesenchymal Transition, EMT) 始发的标志^[13-15]。Choi 等^[16]对人肝癌细胞的研究中发现, 通过 siTPM3 降低肝癌细胞中 TPM3 的表达后, E-cadherin 的表达出现上调, 而 Snail 的表达却明显受到了抑制, 随后他们又在通过 siTPM3 干扰处理的肝癌细胞中观察到提高 Snail 基因的表达可抑制 E-cadherin 的表达。这是因为包括胰腺癌在内的肿瘤中, Snail 转录因子可以通过和位于 E-cadherin 启动子上的 E-boxes 结合, 从而抑制 E-cadherin 的表达^[17-18]。同时, Snail 也被认为是诱导 EMT 发生的关键调控分子^[19]。由此推测, 胞浆中 TPM3 的过表达可能会激活 Snail, 随后 Snail 的激活会抑制 E-cadherin 在细胞核中的表达, 从而在胰腺癌的发生过程中使得肿瘤细胞获得侵袭和迁移的能力。降低细胞中 TPM3 的表达还可以使波形蛋白 (Vimentin) 以及纤连蛋白 (fibronectin) 的表达下降^[16]。波形蛋白和纤连蛋白是间叶细胞的标志物, 在迁移的细胞中二者的表达量明显上调, 且二者的表达同样与 EMT 的发生相关^[20]。所有的这些实验结果表明, TPM3 在胰腺癌组织中的高表达可能会通过激活 EMT 的发生从而增加肿瘤细胞的侵袭性和转移性。

本研究还观察了 TPM3 表达降低后肿瘤细胞的克隆形成能力的变化, 实验发现肿瘤细胞在 TPM3 表达受抑制后其克隆形成能力也明显的下降。先前

有报道称 Snail 表达上调与肿瘤细胞的存活以及肿瘤的侵袭性相关^[21-22],结合实验结果可以推测,低表达 TPM3 的肿瘤细胞其生长速度下降可能是由于 TPM3 表达降低的同时 Snail 的表达也下调的缘故。

总的说来,胰腺癌恶性程度高,死亡率居高不下而早期诊断又较困难,寻找特异性及敏感性均较高的检查方法在临床上仍是一个挑战。使用蛋白质组学寻找组织癌变中的蛋白质的变化,并进一步通过上调或下调相关蛋白,研究其与肿瘤发生发展的关系,探究其背后可能存在的分子机制,寻找有效的肿瘤标志物现已成为对肿瘤研究的热点。本实验发现通过 RNAi 技术敲低大鼠胰腺癌细胞中 TPM3 的表达可明显降低肿瘤细胞的侵袭、转移能力以及生长增殖能力,并且提出可能参与这些现象的分子机制,这为进一步深入研究 TPM3 在肿瘤细胞中的作用提供了重要的理论依据。然而,胰腺癌的发生发展其过程复杂,参与其中的分子及蛋白种类繁多,其分子生物学机制目前尚未清楚,还需要后续进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 赫杰,陈万青.2012 中国肿瘤登记年报[M].北京:军事医学科学出版社,2012:67-71.
- [2] Lawrence B, Perez-Atayde A, Hibbard MK, et al. TPM3-ALK and TPM4-ALK oncogenes in inflammatory myofibroblastic tumors[J]. Am J Pathol, 2000, 157(2): 377-384.
- [3] Armstrong F, Lamant L, Hieblot C, et al. TPM3-ALK expression induces changes in cytoskeleton organisation and confers higher metastatic capacities than other ALK fusion proteins[J]. Eur J Cancer, 2007, 43(4): 640-646.
- [4] Butti MG, Bongarzone I, Ferraresi G, et al. A sequence analysis of the genomic regions involved in the rearrangements between TPM3 and NTRK1 genes producing TRK oncogenes in papillary thyroid carcinomas[J]. Genomics, 1995, 28(1): 15-24.
- [5] Rosati R, La Starza R, Luciano L, et al. TPM3/PDGFRB fusion transcript and its reciprocal in chronic eosinophilic leukemia[J]. Leukemia, 2006, 20(9): 1623-1624.
- [6] Helfman DM, Flynn P, Khan P, et al. Tropomyosin as a regulator of cancer cell transformation[J]. Adv Exp Med Biol, 2008(644): 124-131.
- [7] Bach CT, Creed S, Zhong J, et al. Tropomyosin isoform expression regulates the transition of adhesions to determine cell speed and direction[J]. Mol Cell Biol, 2009, 29(6): 1506-1514.
- [8] Z'Graggen K, Warshaw AL, Werner J, et al. Promoting effect of a high-fat/high-protein diet in DMBA-induced ductal pancreatic cancer in rats[J]. Ann Surg, 2001, 233(5): 688-695.
- [9] Inagaki T, Matsuwari S, Shimada K, et al. Effective removal of the contaminating host fibroblasts for establishment of human-tumor cultured lines[J]. Hum Cell, 1993, 6(2): 137-142.
- [10] Miyado K, Kimura M, Taniguchi S. Decreased expression of a single tropomyosin isoform, TM5/TM30nm, results in reduction in motility of highly metastatic B16-F10 mouse melanoma cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1996, 225(2): 427-435.
- [11] Gross SR. Actin binding proteins: their ups and downs in metastatic life[J]. Cell Adh Migr, 2013, 7(2): 199-213.
- [12] Assinder SJ, Au E, Dong Q, et al. A novel splice variant of the beta-tropomyosin (TPM2) gene in prostate cancer[J]. Mol Carcinog, 2010, 49(6): 525-531.
- [13] Hu Y, Ou Y, Wu K, et al. miR-143 inhibits the metastasis of pancreatic cancer and an associated signaling pathway[J]. Tumour Biol, 2012, 33(6): 1863-1870.
- [14] Huber MA, Kraut N, Beug H. Molecular requirements for epithelial-mesenchymal transition during tumor progression[J]. Curr Opin Cell Biol, 2005, 17(5): 548-558.
- [15] Grosse-Steffen T, Giese T, Giese N, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition in pancreatic ductal adenocarcinoma and pancreatic tumor cell lines: the role of neutrophils and neutrophil-derived elastase[J]. Clin Dev Immunol, 2012(2012): 720768.
- [16] Choi HS, Yim SH, Xu HD, et al. Tropomyosin3 overexpression and a potential link to epithelial-mesenchymal transition in human hepatocellular carcinoma[J]. BMC Cancer, 2010(10): 122.
- [17] Hu CT, Wu JR, Chang TY, et al. The transcriptional factor Snail simultaneously triggers cell cycle arrest and migration of human hepatoma HepG2[J]. J Biomed Sci, 2008, 15(3): 343-355.
- [18] Barrallo-Gimeno A, Nieto MA. The Snail genes as inducers of cell movement and survival: implications in development and cancer[J]. Development, 2005, 132(14): 3151-3161.
- [19] Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies[J]. Curr Opin Cell Biol, 2003, 15(6): 740-746.
- [20] Kokkino MI, Wafai R, Wong MK, et al. Vimentin and epithelial-mesenchymal transition in human breast cancer—observations in vitro and in vivo[J]. Cells Tissues Organs, 2007, 185(1-3): 191-203.
- [21] Kurrey NK, Jalgaonkar SP, Joglekar AV, et al. Snail and slug mediate radioresistance and chemoresistance by antagonizing p53-mediated apoptosis and acquiring a stem-like phenotype in ovarian cancer cells[J]. Stem Cells, 2009, 27(9): 2059-2068.
- [22] Hoshino H, Miyoshi N, Nagai K, et al. Epithelial-mesenchymal transition with expression of SNAI1-induced chemoresistance in colorectal cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 390(3): 1061-1065.

(责任编辑:关蕴良)