

其他肿瘤

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.001693

REG γ 促进人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株发生
上皮-间充质转化的研究

易子楹, 杨得娟, 廖雪莲, 王小毅

(重庆医科大学附属第一医院内分泌乳腺外科, 重庆 400016)

【摘要】目的:研究 REG γ 基因促进人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 发生上皮-间充质转化的生物作用。**方法:**免疫组化检测乳腺癌组织、与癌旁组织 REG γ 的表达差异以及转移淋巴结中 REG γ 的表达水平。Western blot 和 RT-PCR 检测不同人乳腺癌细胞系 REG γ 的表达差异。构建 REG γ 基因过表达和干扰载体并将其导入 MDA-MB-231 细胞中, 然后用 RT-PCR 和细胞免疫荧光分别从转录水平和蛋白质水平检测上皮-间充质转化细胞标记物的表达水平的变化。分别通过划痕实验和 Transwell 证实 REG γ 对细胞侵袭迁移能力的影响。**结果:**免疫组化提示 REG γ 在乳腺癌组织(阳性表达率为 88.57%)和转移淋巴结(阳性表达率为 87.5%)中较癌旁组织(阳性表达率为 0)明显高表达($\chi^2=25.390, P=0.000$; $\chi^2=12.440, P=0.000$)。MDA-MB-231 细胞过表达 REG γ 后促进细胞发生上皮-间充质转化, 使细胞侵袭能力增强($t=22.974, P=0.000$); 干扰 REG γ 后抑制上皮-间充质转化, 使细胞侵袭能力减弱($t=12.118, P=0.000$)。**结论:**REG γ 促进人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞发生上皮-间充质转化, 并促进肿瘤细胞侵袭转移。

【关键词】REG γ ; MDA-MB-231; 上皮-间充质转化**【中图分类号】**R73-37; R730.23; 737.9**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2017-03-16**作者介绍:**易子楹, Email: ziyi1127@foxmail.com,

研究方向: 乳腺癌侵袭转移机制。

通信作者:王小毅, Email: wxytsf@sina.com。**基金项目:**国家自然科学基金面上资助项目(编号: 81272928); 重庆市卫生局资助项目(编号: 2015HBR003)。**优先出版:** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180507.0917.002.html>
(2018-05-07)

- [3] Sanno N, Teramoto A, Osamura RY. Long-term surgical outcome in 16 patients with thyrotropin pituitary adenoma[J]. J Neurosurg, 2000, 93(2): 194-200.
- [4] Socin HV, Chanson P, Delemer B, et al. The changing spectrum of TSH-secreting pituitary adenomas: diagnosis and management in 43 patients[J]. Eur J Endocrinol, 2003, 148(4): 433-442.
- [5] Yamada S, Fukuhara N, Horiguchi K, et al. Clinicopathological characteristics and therapeutic outcomes in thyrotropin-secreting pituitary adenomas; a single-center study of 90 cases[J]. J Neurosurg, 2014, 121(6): 1462-1473.
- [6] Zhao W, Ye H, Li Y, et al. Thyrotropin-secreting pituitary adenomas: diagnosis and management of patients from one Chinese center[J]. Wien Klin Wochenschr, 2012, 124(19-20): 678-684.
- [7] Kirby S, Purdy RA. Headache and brain tumors[J]. Curr Neurol Neurosci Rep, 2007, 7(2): 110-116.
- [8] 赵苇苇, 杨叶虹, 叶红英, 等. 垂体促甲状腺素分泌瘤 20 例临床分析[J]. 中华内科杂志, 2014, 53(1): 19-22.
- [9] Beck-Peccoz P, Persani L. Medical management of thyrotropin-secreting pituitary adenomas[J]. Pituitary, 2002, 5(2): 83-88.
- [10] Zada G, Lopes MBS, Mukundan Jr S, et al. Atlas of sellar and

parasellar lesions[M]. Switzerland: Springer International Publishing, 2016: 161-165.

[11] Clarke MJ, Erickson D, Castro MR, et al. Thyroid-stimulating hormone pituitary adenomas[J]. J Neurosurg, 2008, 109(1): 17-22.

[12] Brucker-Davis F, Oldfield EH, Skarulis MC, et al. Thyrotropin-secreting pituitary tumors: diagnostic criteria, thyroid hormone sensitivity, and treatment outcome in 25 patients followed at the National Institutes of Health[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1999, 84(2): 476-486.

[13] Capatina C, Christodoulides C, Fernandez A, et al. Current treatment protocols can offer a normal or near-normal quality of life in the majority of patients with non-functioning pituitary adenomas[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2013, 78(1): 86-93.

[14] Rimareix F, Grunenwald S, Vezzosi D, et al. Primary medical treatment of thyrotropin-secreting pituitary adenomas by first-generation somatostatin analogs: a case study of seven patients [J]. Thyroid, 2015, 25(8): 877-882.

[15] Malchiodi E, Profka E, Ferrante E, et al. Thyrotropin-secreting pituitary adenomas: outcome of pituitary surgery and irradiation[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2014, 99(6): 2069-2076.

(责任编辑: 方 济)

REG γ induces epithelial-mesenchymal transition in MDA-MB-231 cell lines

Yi Ziyang, Yang Dejuan, Liao Xuelian, Wang Xiaoyi

(Department of Endocrine and Breast Surgery, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

[Abstract] **Objective:** To study the biological role of REG γ gene in promoting epithelial-mesenchymal transition in MDA-MB-231 cell lines. **Methods:** Immunohistochemistry was used to detect the expression of REG γ in breast cancer tissues and adjacent tissues. Western blot and RT-PCR were used to detect the expression of REG γ in different human breast cancer cell lines. To construct the stable cell lines with overexpression or interference of REG γ gene, and RT-PCR and cellular immunofluorescence were utilized to detect the expression level of epithelial-mesenchymal transformed cell marker respectively. The effects of REG γ on cell migration and invasion were confirmed by scratch test and Transwell respectively. **Results:** Immunohistochemistry suggested that REG γ was significantly overexpressed in breast cancer ($\chi^2=25.390, P=0.000$; $\chi^2=12.440, P=0.000$). REG γ induced epithelial-mesenchymal transition and improved the cell invasion ($t=22.974, P=0.000$). After interfering with REG γ , epithelial-mesenchymal transition, the cell invasion capacity weakened ($t=12.118, P=0.000$). **Conclusion:** REG γ promotes epithelial-mesenchymal transition in human breast cancer MDA-MB-231 cells and promotes invasion and migration of tumor cells.

[Key words] REG γ ; MDA-MB-231; epithelial-mesenchymal transition

目前研究证实, REG γ 是与乳腺癌相关的一个癌基因, 首次发现于系统性红斑狼疮患者的血清中并命名为 Ki 抗原, 相对分子质量为 29.5 kD^[1]。随后的研究发现, REG γ 是一种蛋白酶体调节因子, 属于 PA(proteasome activators) 家族, 与家族中的 REG α 、REG β 具有 35% 的同源性, 在免疫组织中表达较高, 似乎在 MHC-I 相关的免疫系统中发挥作用^[2]; 而 REG γ 主要位于细胞核内, 并形成同源七聚体^[3]。多项研究证实, 乳腺癌细胞中 REG γ 表达明显较癌旁组织高^[4-6], 使得 SRC-3、p21、p16、p19 等蛋白质降解明显增加^[7-10], 调节细胞周期, 从而促进乳腺癌细胞增殖和抑制其凋亡^[11]。已有文献提示 REG γ 高表达导致乳腺癌不良预后^[5]。那么 REG γ 是否在乳腺癌侵袭和迁移的生物过程中发挥作用呢? 上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT) 是促进乳腺癌细胞增殖、侵袭和迁移的重要分子机制之一, 并参与调节多种恶性生物学过程^[12-13]。本研究通过调节人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株 REG γ 的表达, 验证其对细胞形态及增殖、侵袭和迁移能力的调节作用, 初步探讨 REG γ 是否能调控乳腺癌细胞发生 EMT, 从而促进肿瘤转移。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

免疫组化及免疫荧光试剂盒购自北京中杉金桥公司。胎牛血清购自 Gibco 公司, 1640 和 DMEM 培养基购自 HyClone

公司。嘌呤霉素购自 Thermo Fisher Scientific 公司。Mouse-anti human REG γ 一抗购自 Cell Signaling Technology 公司。总 RNA 提取试剂 TRIZOL 购自 Invitrogen 公司。逆转录试剂盒购自 Takara 公司。SYBR Green 购自 Bio-Rad 公司。结晶紫购自上海碧云天公司。具有 8.0 μ m 孔聚酯膜的 6.5 mm 的 Transwell 小室和 Matrigel 基质胶购自美国康宁公司。过表达质粒 pCDH-REG γ 及其空载质粒 pCDH-NC 由四川大学华西医学院王永生教授课题组赠予, 含有短发夹 RNA(shRNA) 干扰序列质粒 pLK0.1-shREG γ 及空载体质粒 pLK0.1-shNC 和病毒包装辅助质粒 pMD2G 和 psPAX2 购自 Thermo 公司。

1.2 组织标本免疫组化染色

选取本院病理科 2013 至 2015 年保存并被确诊为原发性乳腺癌, 随机选取不同组织学类型的病例共 35 例, 选取其中的 8 例癌旁组织的石蜡标本, 转移淋巴结组织的石蜡标本 8 例。癌旁组织, 即距离肿瘤组织 2 cm 处的乳腺组织。石蜡切片经脱蜡(65 $^{\circ}$ C, 2 h)及水化后行抗原修复 1:250 anti-REG γ 抗体 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 羊抗鼠二抗 37 $^{\circ}$ C 孵育后行 DAB 显色, 封片干燥后显微镜下观察拍照。显微镜下棕黄色颗粒突出于背景, 即阳性表达区域。REG γ 主要表达于细胞核内, 细胞核、细胞质同时为棕黄色则为阳性, 无细胞核着色而细胞质着色或者细胞核、细胞质均无着色则为阴性。

1.3 细胞培养及稳定株的构建

人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231、MDA-MB-435S、MDA-MB-453、MDA-MB-468、BT-474、BT-549、MCF-7、SKBR3 均购自 ATCC, BT-549 细胞株培养于 10% FBS 的 1640 培养基中, 其余细胞均培养于 10% FBS 的 DMEM 培养基中, 并放于 5% CO₂ 的 37 $^{\circ}$ C 恒温孵箱中培养。利用 CaCl₂ 体系分别将 pCDH-REG γ 、pCDH-NC、pLK0.1-shREG γ 、pLK0.1-shNC 与包装辅助质粒 pMD2G 和 psPAX2 共同转染 293TD 细胞, 24 h 后换液, 72 h 收集病毒上清干扰 MDA-MB-231 细胞

株。感染后 48 h 给予 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 嘌呤霉素进行稳定株筛选,每隔 2~3 d 换液,持续作用 7 d 后经过 Western blot 和 RT-PCR 进行 REG γ 表达量鉴定。经鉴定稳定株构建成功后用 0.25 $\mu\text{g/mL}$ 嘌呤霉素培养并传代、冻存。

1.4 Western blot 检测各细胞株及稳定株 REG γ 表达水平

用 RIPA 蛋白裂解液提取各组细胞总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,配平后行 10% SDS-PAGE 电泳 1.5 h,PVDF 膜 4 $^{\circ}\text{C}$ 转膜 1 h,5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h,anti-REG γ 抗体 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,二抗 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h 后,Millipore 高敏显影液作用 3~5 min,曝光拍照。

1.5 RT-PCR

用 TRIZOL 提取各细胞组总 RNA,脱氧核糖核酸酶 I 取出基因组 DNA,逆转录得到 cDNA,经过染色法进行 RT-PCR。PCR 反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s,58 $^{\circ}\text{C}$ 退火 10 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,39 个循环。REG γ 上游引物 5'-TCTGACATGAATCTCCAGTCC-3',下游引物 5'-CTCATC-CAACCTTCGCTTCTTAT-3';GAPDH 上游引物 5'-GAAGG-TGAAGGTCGGAGT-3',下游引物 5'-GAAGATGGTGATGG-GATTTC-3'。E-cadherin 和 Vimentin 引物参见文献[14]。反应结果用 Bio-Rad CFX Manager 软件进行分析。目的基因表达量以 GAPDH 作为参照,采用相对定量法,先计算 ΔCt ,对照组 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 为 1,以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 表示实验组目的基因 mRNA 的相对表达量。

1.6 细胞免疫荧光检测稳定株中 E-cadherin 和 Vimentin 的表达量

将各稳定株接种于底部已铺好无菌载玻片的 6 孔板中,继续培养 48 h。4% 多聚甲醛固定 15 min,将后续需要与 Vimentin 一抗孵育的载玻片用 0.1% Triton X-100 打孔 10 min,PBS 洗 3 次,山羊血清封闭 30 min,分别用 anti-E-cadherin 和 anti-Vimentin 抗体 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,PBS 洗 3 次,分别用 FITC 和 PE 荧光二抗避光 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h,PBS 洗 3 次,DAPI 染核 5 min,PBS 洗 3 次,封片干燥后荧光显微镜下观察拍照。

1.7 细胞划痕实验及侵袭实验

将各组细胞接种于 6 孔板中培养,每组细胞设置 3 个副孔,至密度达到 100%,用 200 μL 无菌移液管尖端在每个空隙中划 3 条平行且等距的直线,继续置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育箱中培养,并分别在 0、6、12、24 h 于显微镜下测量划痕边缘的距离。将在 100 μL 无血清培养基中的 6×10^4 个细胞/孔加入到预先用 Matrigel 基质胶(8 Δ 1)包被的小室上层,然后将小室置于具有 650 μL 含有 10% FBS 的 DMEM 的 24 孔板中,并在 37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 下孵育 24 h 后用结晶紫染色,在显微镜下计数拍照(每个小室 5 个视野)。

1.8 结晶紫染色实验观察 REG γ 对细胞形态的影响

将生长密度达到 50%~60% 的稳定株细胞用 4% 多聚甲醛固定 15 min,结晶紫染色 10 min 后,显微镜下观察并拍照。

1.9 统计学分析

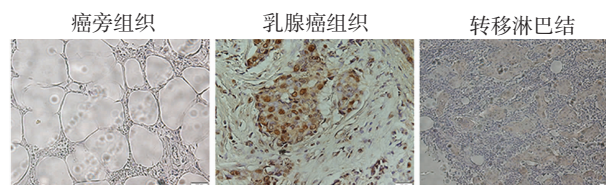
采用 GraphPad Prism 6 软件统计数据,两组间数据比较

采用两个独立样本的 t 检验或卡方检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

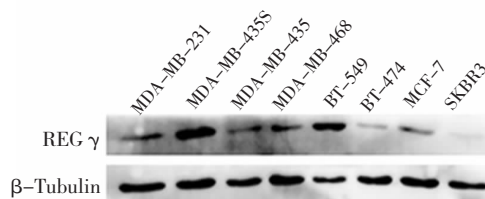
2 结果

2.1 REG γ 在乳腺癌组织和转移淋巴结中高表达及在乳腺癌细胞系中不同程度表达

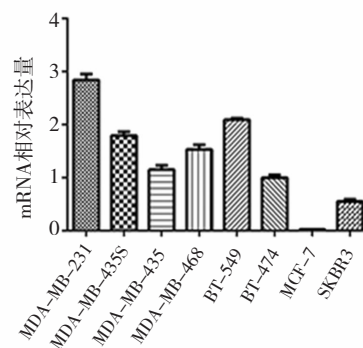
35 例乳腺癌患者的乳腺肿瘤组织中有 31 例 REG γ 呈强阳性表达,阳性表达率为 88.57%,明显高于癌旁组织的 0(0/8),如图 1A 所示,转移淋巴结阳性表达率为 87.5%(7/8) $\chi^2=25.390$, $P=0.000$; $\chi^2=12.440$, $P=0.000$ 。Western blot 结果证实,各细胞系中的 REG γ 在蛋白质水平也有不同程度表达(图 1B)。RT-PCR 结果证实,各细胞系中的 REG γ 在 mRNA 水平也有不同程度表达(图 1C)。



A. IHC 染色 REG γ 在乳腺肿瘤中的表达明显高于癌旁组织,转移淋巴结高表达 REG γ (200 $\times$)



B. Western blot 检测 REG γ 在乳腺癌细胞系中不同程度表达



C. RT-PCR 检测 REG γ 在乳腺癌细胞系中不同程度表达

图 1 REG γ 在乳腺癌组织及转移淋巴结中高表达及在多种乳腺癌细胞系中不同程度表达

Fig.1 The overexpression of REG γ in breast cancer tissue, metastatic lymph nodes and breast cancer cell lines

2.2 REG γ 过表达使 MDA-MB-231 细胞发生 EMT

在以上被检测人乳腺癌细胞株中,选择临床预后较差、REG γ 表达相对适中的 MDA-MB-231 细胞株,构建 REG γ 过表达稳定株(MDA-MB-231-exREG γ)。用 Western blot 检测

显示 MDA-MB-231-exREG γ 稳定株中的 REG γ 表达水平 (0.790 ± 0.076) 明显高于空载 MDA-MB-231-exNC 稳定株表达水平 (0.455 ± 0.047) (图 2A), 差异有统计学意义 ($t=6.242, P=0.003$)。RT-PCR 结果也证实, 过表达组细胞株 REG γ 表达水平 (6.496 ± 0.494) 明显高于空载组细胞表达水平 (1.000 ± 0.358), 差异有统计学意义 ($t=14.740, P=0.001$) (图 2B)。细胞免疫荧光提示 REG γ 过表达组 E-cadherin 表达水平 (0.083 ± 0.004) 明显低于空载组 (0.108 ± 0.005), 差异有统计学意义 ($t=7.094, P=0.002$); 且过表达组 Vimentin 表达水平 (0.118 ± 0.005) 明显高于空载组 (0.061 ± 0.003), 差异有统计学意义 ($t=17.250, P=0.000$) (图 2C)。RT-PCR 结果提示, E-cadherin 的表达水平在 REG γ 过表达组 (0.788 ± 0.069) 和空载组 (1.000 ± 0.336) 间无明显差异 ($t=1.071, P=0.345$); 但 REG γ 过表达组的 Vimentin 表达水平 (3.359 ± 0.216) 明显高于空载组 (1.000 ± 0.290), 差异有统计学意义 ($t=15.600, P=0.000$) (图 2D)。

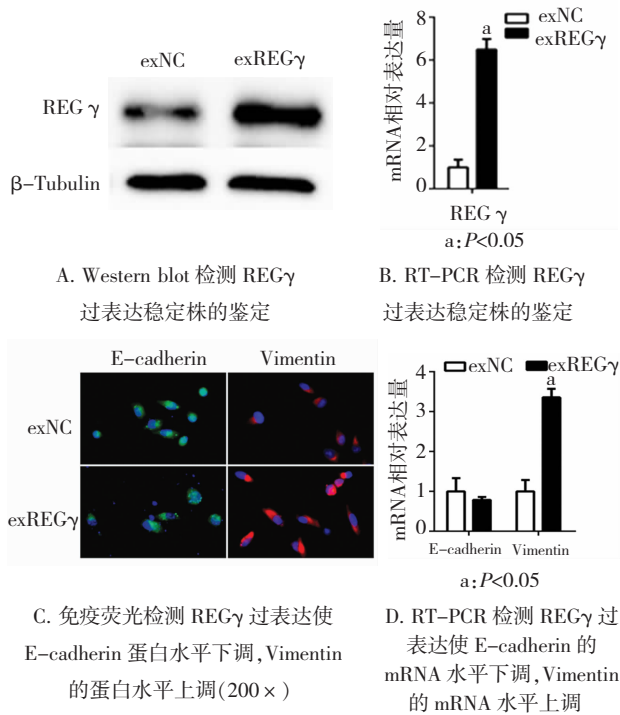


图 2 REG γ 过表达会促进 MDA-MB-231 细胞发生 EMT
Fig.2 The overexpression of REG γ promoted EMT in MDA-MB-231 cells

2.3 REG γ 过表达促进 MDA-MB-231 细胞侵袭迁移

划痕实验结果提示, MDA-MB-231-exREG γ 细胞迁移能力 (286.960 ± 31.420) 明显强于 MDA-MB-231-exNC 细胞 (199.150 ± 23.400) (图 3A), 差异有统计学意义 ($t=5.012, P=0.001$) (图 3B)。且 Transwell 结果表明, 过表达组细胞从 Transwell 小室上层侵袭至膜背面的数量 (567.200 ± 28.860) 也明显多于空载组细胞 (200.800 ± 20.950) (图 3C), 差异有统计学意义 ($t=22.974, P=0.000$) (图 3D)。

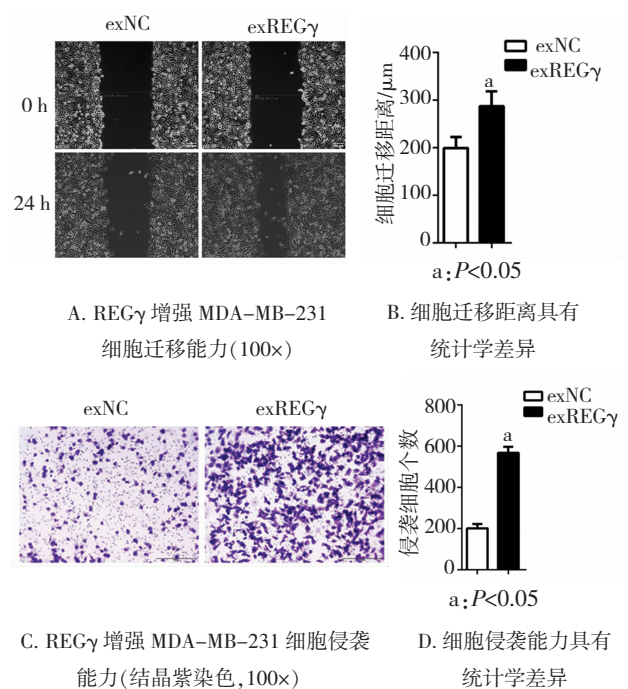


图 3 REG γ 促进 MDA-MB-231 细胞侵袭迁移

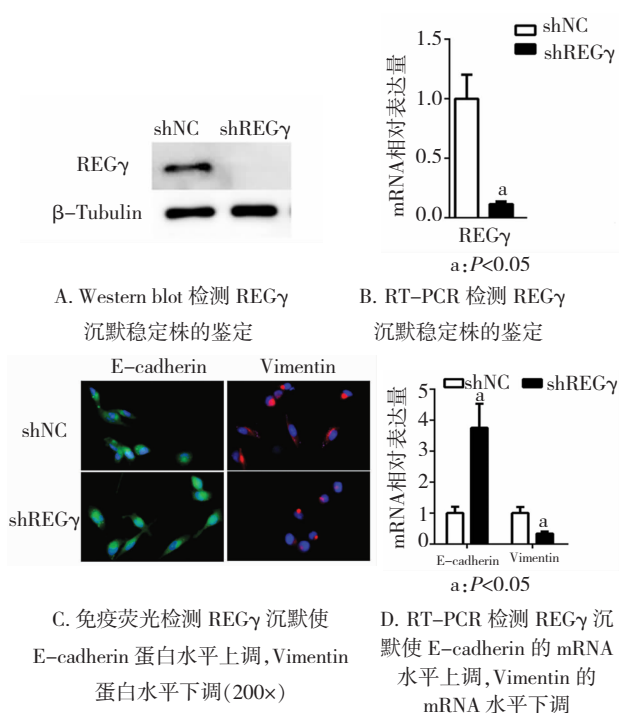
Fig.3 The overexpression of REG γ promoted migration and invasion in MDA-MB-231 cells

2.4 干扰 REG γ 抑制 MDA-MB-231 细胞发生 EMT

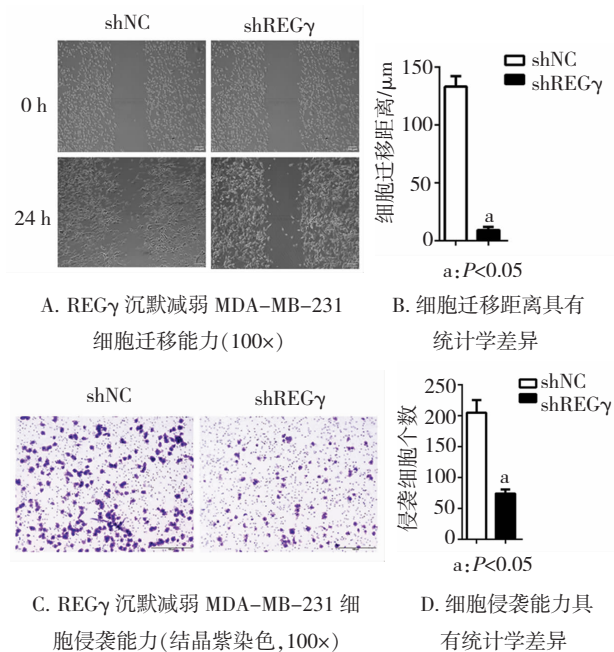
构建 REG γ 沉默稳定株 (MDA-MB-231-shREG γ), Western blot 检测显示 MDA-MB-231-shREG γ 稳定株中的 REG γ 表达水平 (0.035 ± 0.001) 明显低于空载 MDA-MB-231-shNC 稳定株表达水平 (0.498 ± 0.024) (图 4A), 差异有统计学意义 ($t=33.390, P=0.000$)。RT-PCR 结果也证实, 沉默组细胞株 REG γ 表达水平 (0.116 ± 0.022) 明显低于空载组细胞表达水平 (1.000 ± 0.201), 差异有统计学意义 ($t=6.173, P=0.002$) (图 4B)。细胞免疫荧光提示 REG γ 沉默组细胞种 E-cadherin 表达水平 (0.224 ± 0.005) 明显高于空载组 (0.143 ± 0.008) ($t=14.910, P=0.000$); 且沉默组 Vimentin 表达水平 (0.1892 ± 0.010) 明显低于空载组 (0.266 ± 0.013) ($t=4.851, P=0.008$) (图 4C)。RT-PCR 结果提示, REG γ 沉默组 E-cadherin 表达水平 (3.751 ± 0.780) 明显高于空载组 (1.000 ± 0.205), 差异有统计学意义 ($t=4.822, P=0.040$); 且 REG γ 沉默组的 Vimentin 表达水平 (0.339 ± 0.064) 明显低于空载组 (1.000 ± 0.197), 差异有统计学意义 ($t=5.776, P=0.010$) (图 4D)。

2.5 干扰 REG γ 抑制 MDA-MB-231 细胞侵袭转移

划痕实验结果提示, MDA-MB-231-shREG γ 细胞迁移能力 (9.000 ± 2.830) 明显弱于空载组细胞 (133.000 ± 9.130) (图 5A), 差异有统计学意义 ($t=29.118, P=0.000$) (图 5B)。且 Transwell 结果表明, MDA-MB-231-shREG γ 细胞侵袭能力 (74.000 ± 6.780) 也明显弱于空载组细胞 (204.80 ± 20.46) (图 5C), 差异有统计学意义 ($t=12.118, P=0.000$) (图 5D)。

图 4 REG γ 沉默会抑制 MDA-MB-231 细胞发生 EMTFig.4 The silencing of REG γ inhibited EMT

in MDA-MB-231 cells

图 5 REG γ 沉默阻碍 MDA-MB-231 细胞侵袭迁移Fig.5 The silencing of REG γ inhibited migration and invasion in MDA-MB-231 cells

3 讨论

REG γ 作为促癌因子调控着乳腺癌多个细胞株

的细胞周期,从而促进肿瘤细胞增殖和抑制细胞凋亡。以往研究已证实 REG γ 与乳腺癌具有明确的联系,主要以非泛素化非 ATP 依赖的方式发挥生物学作用,但具体致病分子机制及其信号通路尚不清楚。关于 REG γ 的信号通路研究也处于积极探索之中,现在已经发现 p53 信号通路与 REG γ 有明确的相关性^[15]。除乳腺癌外,研究发现 REG γ 在多种恶性肿瘤中存在高表达,如甲状腺癌^[16]、(非小细胞)肺癌^[17]、结直肠癌^[18]等。除此之外,一项研究发现 REG γ 缺失的小鼠中 casein kinase (CK)1 δ 和 p53 异常堆积,导致小鼠发生早衰,提示 REG γ 可能具有阻止衰老相关的疾病发生的功能^[19]。还有研究发现,REG γ 似乎和病毒感染性疾病有一定的相关性^[20]。以上说明,REG γ 在多种疾病中都存在某些重要的作用。诸多研究说明 REG γ 确实与乳腺癌存在联系,大多研究局限于研究 REG γ 与细胞周期的关系。

因此,本研究进一步明确了 REG γ 在乳腺癌组织及乳腺癌细胞系中高表达,提示 REG γ 可能是导致乳腺癌发病或进展的分子机制。EMT 是促进肿瘤细胞发生转移的重要机制之一,为探讨 REG γ 导致乳腺癌细胞侵袭迁移的具体途径,建立了 REG γ 过表达稳定株,首次发现 REG γ 过表达可以促进 MDA-MB-231 细胞中 E-cadherin 蛋白水平下调, Vimentin 的蛋白水平和 mRNA 水平上调,并促进肿瘤细胞侵袭迁移。但当过表达 REG γ 时并不能使 E-cadherin 的 mRNA 水平明显下调,可能是由于过表达的 REG γ 调节 E-cadherin 这一作用较为有限,它大多参与 E-cadherin 蛋白水平的调节,也有可能存在其他分子在 mRNA 水平参与 REG γ -E-cadherin 这条途径的调节。为进一步证实 REG γ 与 EMT 的关系,沉默了 MDA-MB-231 细胞株中 REG γ 的表达,研究证实沉默 REG γ 使 MDA-MB-231 细胞中 E-cadherin 蛋白水平和 mRNA 水平同时下调, Vimentin 的蛋白水平和 mRNA 水平同时上调,并抑制肿瘤细胞侵袭迁移。

上皮分子标记物 E-cadherin 下调、间质分子标记物 Vimentin 上调是乳腺癌发生 EMT 的重要标志^[21]。因此,本研究初步探讨了 REG γ 在乳腺癌细胞 EMT 中的作用,证实了过表达 REG γ 促进乳腺肿瘤细胞侵袭转移。众所周知,PI3K/Akt/mTOR 信号通路是参与 EMT 的最重要的信号通路之一,而本研究尚未更深入地探讨 REG γ 是否与 PI3K/Akt/mTOR

信号通路相关联^[22]。此外,若在后期的研究中进行乳腺癌组织学类型与 REG γ 相关性的研究有助于深层次分析 REG γ 在乳腺癌中的作用。深入研究 REG γ 与 EMT 之间关系为进一步研究乳腺癌靶向治疗提供了新的靶点和新的思路。因此,REG γ 参与乳腺癌 EMT 调控,促进乳腺癌细胞转移的具体信号通路有待更深入的研究。

参 考 文 献

- [1] Nikaido T, Shimada K, Shibata M, et al. Cloning and nucleotide sequence of cDNA for Ki antigen, a highly conserved nuclear protein detected with sera from patients with systemic lupus erythematosus[J]. Clin Exp Immunol, 1990, 79(2): 209–214.
- [2] Klotzel PM. The proteasome and MHC class I antigen processing[J]. Biochim Biophys Acta, 2004, 1695(1–3): 225–233.
- [3] Wilk S, Chen WE, Magnusson RP. Properties of the nuclear proteasome activator PA28gamma(REGgamma)[J]. Arch Biochem Biophys, 2000, 383(2): 265–271.
- [4] Chai F, Liang Y, Bi J, et al. REGgamma regulates ERalpha degradation via ubiquitin–proteasome pathway in breast cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 456(1): 534–540.
- [5] Chai F, Liang Y, Bi J, et al. High expression of REGgamma is associated with metastasis and poor prognosis of patients with breast cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(11): 7834–7843.
- [6] Shi Y, Luo X, Li P, et al. miR–7–5p suppresses cell proliferation and induces apoptosis of breast cancer cells mainly by targeting REGgamma[J]. Cancer Lett, 2015, 358(1): 27–36.
- [7] Li X, Lonard DM, Jung SY, et al. The SRC–3/AIB1 coactivator is degraded in a ubiquitin– and ATP–independent manner by the REGgamma proteasome[J]. Cell, 2006, 124(2): 381–392.
- [8] Li X, Amazit L, Long W, et al. Ubiquitin– and ATP–independent proteolytic turnover of p21 by the REGgamma–proteasome pathway[J]. Mol Cell, 2007, 26(6): 831–842.
- [9] Kobayashi T, Wang J, Al–Ahmadie H, et al. ARF regulates the stability of p16 protein via REGg–dependent proteasome degradation[J]. Mol Cancer Res, 2013, 11(8): 828–833.
- [10] Liu J, Wang Y, Li L, et al. Site–specific acetylation of the proteasome activator REGg directs its heptameric structure and functions[J]. J Biol Chem, 2013, 288(23): 16567–16578.
- [11] Moncsek A, Gruner M, Meyer H, et al. Evidence for anti–apoptotic roles of proteasome activator 28gamma via inhibiting caspase activity[J]. Apoptosis, 2015, 20(9): 1211–1228.
- [12] Song SJ, Poliseno L, Song MS, et al. MicroRNA–antagonism regulates breast cancer stemness and metastasis via TET–family–dependent chromatin remodeling[J]. Cell, 2013, 154(2): 311–324.
- [13] Ye X, Tam WL, Shibue T, et al. Distinct EMT programs control normal mammary stem cells and tumour–initiating cells[J]. Nature, 2015, 525(7568): 256–260.
- [14] Mani SA, Guo W, Liao MJ, et al. The epithelial–mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells[J]. Cell, 2008, 133(4): 704–715.
- [15] Ali A, Wang Z, Fu J, et al. Differential regulation of the REGg–proteasome pathway by p53/TGF– β signalling and mutant p53 in cancer cells[J]. Nat Commun, 2013, 4: 2667.
- [16] Zhang M, Gan L, Ren GS. REGg is a strong candidate for the regulation of cell cycle, proliferation and the invasion by poorly differentiated thyroid carcinoma cells[J]. Braz J Med Biol Res, 2012, 45(5): 459–465.
- [17] Xiong S, Zheng Y, Jiang P, et al. PA28gamma emerges as a novel functional target of tumour suppressor microRNA–7 in non–small–cell lung cancer[J]. Br J Cancer, 2014, 110(2): 353–362.
- [18] Roessler M, Rollinger W, Mantovani–Endl L, et al. Identification of PSME3 as a novel serum tumor marker for colorectal cancer by combining two–dimensional polyacrylamide gel electrophoresis with a strictly mass spectrometry–based approach for data analysis[J]. Mol Cell Proteomics, 2006, 5(11): 2092–2101.
- [19] Li L, Zhao D, Wei H, et al. REGgamma deficiency promotes premature aging via the casein kinase 1 pathway[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(27): 11005–11010.
- [20] Tripathi LP, Kambara H, Moriishi K, et al. Proteomic analysis of hepatitis C virus (HCV) core protein transfection and host regulator PA28gamma knockout in HCV pathogenesis: a network–based study[J]. J Proteome Res, 2012, 11(7): 3664–3679.
- [21] Liu T, Zhang X, Shang M, et al. Dysregulated expression of Slug, vimentin, and E–cadherin correlates with poor clinical outcome in patients with basal–like breast cancer[J]. J Surg Oncology, 2013, 107(2): 188–194.
- [22] Jiao D, Wang J, Lu W, et al. Curcumin inhibited HGF–induced EMT and angiogenesis through regulating c–Met dependent PI3K/Akt/mTOR signaling pathways in lung cancer[J]. Mol Ther Oncolytics, 2016, 3: 16018.

(责任编辑:冉明会)