

肿瘤病因探索

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002475

TM4SF1 与肺癌细胞 JAK2-STAT3 信号通路相互作用机制
及其在 NSCLC 中的表达

牛雨萌, 洗 磊, 邓海龙, 李利鹏

(广西医科大学第二附属医院胸心血管外科, 南宁 530007)

【摘要】目的:探讨四次跨膜蛋白 1(four transmembrane protein 1, TM4SF1)在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中的表达情况及其与 NSCLC 患者临床病理特征之间的关系。构建高表达 TM4SF1 的慢病毒表达载体稳定转染肺癌 A549 细胞, 研究 TM4SF1 与肺癌细胞 JAK2-STAT3 信号通路的相互作用机制。**方法:**收集 61 例 NSCLC 患者手术切除的癌组织、相应配对的癌旁组织及因良性肺部疾病切除的正常肺组织 10 例。采用 qRT-PCR 及 Western blot 检测 NSCLC 组织、癌旁组织及正常肺组织中 TM4SF1 的表达水平。利用慢病毒转染技术在肺癌 A549 细胞中高表达 TM4SF1 基因, 应用 qRT-PCR 及 Western blot 分析 TM4SF1 基因及 JAK2-STAT3 信号通路下游 Sox2 基因的表达水平, 采用 Transwell 检测 TM4SF1 高表达对 A549 迁移的影响。**结果:**癌组织中 TM4SF1 mRNA 及蛋白表达水平明显高于癌旁组织($P<0.05$)及正常肺组织($P<0.05$); TM4SF1 的表达与患者年龄及性别无明显关联, 与肿块的大小、分化程度、淋巴结转移、临床分期相关($P<0.05$)。成功在肺癌细胞株中高表达 TM4SF1, 高表达 TM4SF1 后对 A549 细胞的迁移能力明显增强, 并且上调 JAK2-STAT3 信号通路下游 Sox2 表达水平。**结论:**TM4SF1 在 NSCLC 中呈现高表达, 过表达该基因可以促进 A549 细胞的迁移并且上调 JAK2-STAT3 信号通路下游 Sox2 表达水平。TM4SF1 可能通过该通路促进 NSCLC 的发生发展及远处转移, TM4SF1 可能成为 NSCLC 的潜在治疗靶点。

【关键词】四次跨膜蛋白 1; 非小细胞肺癌; 迁移; JAK2-STAT3 信号通路

【中图分类号】R73-37

【文献标志码】A

【收稿日期】2019-11-26

Interaction mechanism between four transmembrane protein 1 and
JAK2-STAT3 signaling pathway in lung cancer cells and analysis
of its expression in non-small cell lung cancer

Niu Yumeng, Xian Lei, Deng Hailong, Li Lipeng

(Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, The Second Affiliated Hospital of Guangxi Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the expression of four transmembrane protein 1(TM4SF1) in non-small cell lung cancer(NSCLC) and its relationship with clinicopathological features in NSCLC patients, to construct TM4SF1 lentiviral expression vector for stably transfecting lung cancer A549 cells, and to investigate the mechanism of interaction between TM4SF1 and JAK2-STAT3 signaling pathway in lung cancer cells. **Methods:** Resected cancer tissue and corresponding adjacent paracarcinoma of 61 patients with NSCLC and resected benign lung tissue of 10 patients were collected. Real-time immunofluorescence quantitative PCR(qRT-PCR) and Western blot were used to detect the expression of TM4SF1 in NSCLC tissues, paracancerous tissues and normal lung tissues. Lentiviral transfection was used to detect highly expressed TM4SF1 gene in lung cancer A549 cells. The qRT-PCR and Western blot were used to analyze the expression level of TM4SF1 gene and Sox2 gene. Transwell was used to examine the effect of high-expression TM4SF1 on A549 migration. **Results:** The expression of TM4SF1 mRNA and its protein in cancer tissues was significantly higher than that in adjacent tissues($P<0.05$) and in normal lung tissues($P<0.05$); TM4SF1 expression was not associated with age and gender, but

作者介绍: 牛雨萌, Email: 625762660@qq.com,

研究方向: 非小细胞肺癌相关研究。

通信作者: 洗 磊, Email: xianlei59@163.com。

基金项目: 广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用资助项目(编号: S2017011)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20200619.1514.006.html>
(2020-06-20)

was associated with tumor size, degree of differentiation, lymph node metastasis, and clinical stage ($P<0.05$). High-expressing TM4SF1 in lung cancer A549 cell line was successfully constructed, which was able to significantly enhance the migration ability of A549 cells and up-regulate the expression level of Sox2 in the downstream of AK2-STAT3 signaling pathway.

Conclusion: TM4SF1 is highly expressed in NSCLC and overexpression of this gene can promote the migration of A549 cells and up-regulate the expression level of Sox2 in the downstream of JAK2-STAT3 signaling pathway. TM4SF1 may promote the development and distant metastasis of NSCLC through this pathway, and TM4SF1 may become a potential therapeutic target for NSCLC.

[Key words] four transmembrane protein 1; non-small cell lung cancer; apoptosis; JAK2-STAT3 signal path

根据 2018 年发布的最新数据估计,全球将新增癌症病例 1 810 万例(不包括非黑素瘤皮肤癌的 170 万例)、癌症死亡人数 960 万例(不包括非黑素瘤皮肤癌的 950 万例)。其中,肺癌的发病率(病例总数的 11.6%)和死亡率(癌症死亡总数的 18.4%,预计将造成 180 万人死亡)均占首位。肺癌是男性中最常见的癌症,也是导致死亡的主要原因;在女性中,肺癌的发病率与死亡率均占第二位^[1]。超过 85% 的患者被诊断为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)。肺癌的传统治疗手段包括手术、放疗、化疗,各种新兴靶向治疗手段的兴起也使肺癌尤其是 NSCLC 的治疗效果明显提升,但远期转移仍是临床治疗肺癌尤其是 NSCLC 面临的主要挑战。因此,深入探讨 NSCLC 的迁移机制及靶向治疗的靶基因变得十分必要^[2]。四次跨膜蛋白 1(four transmembrane protein 1, TM4SF1)又称肿瘤相关抗原 L6(tumor-associated antigen L6),最初由 Marken 等提出,属于人类各种上皮性恶性肿瘤,是四次跨膜蛋白超家族成员之一。最近研究发现, TM4SF1 基因在多种肿瘤的进展中起重要作用^[3]。研究 TM4SF1 在 NSCLC 同一标本不同水平的表达情况及其与临床病理关系的研究并不多见。因此,本研究通过构建过表达 TM4SF1 慢病毒载体稳定转染 A549 细胞,检测过表达该基因对 A549 细胞迁移能力的影响;在 A549 细胞及过表达该基因的 A549 细胞中加入 AG490,探究其对 JAK2-STAT3 信号通路下游 Sox2 表达水平的影响^[4]。探讨 TM4SF1 不同水平的表达及其在 NSCLC 发生发展过程中的作用,为 NSCLC 的早期诊断提供新的指标,为 NSCLC 浸润转移提供新的治疗思路及方法。

1 材料与方法

1.1 主要材料

收集广西医科大学第二附属医院胸外科 2018 年 6 至 11 月通过手术切除的 NSCLC 患者资料 61 例,其中男 45 例,女 16 例;年龄 32~81 (58.08 ± 11.81) 岁;所有患者均为初次诊治,术前未经任何放化疗治疗;经病理学检测均为原发性

非小细胞肺癌,相应的癌旁组织为距离癌组织边缘大于 5 cm 的正常肺组织。分化程度:低分化 17 例,中-高分化 44 例;临床分期:Ⅰ期 16 例,Ⅱ期 28 例,Ⅲ期 16 例,Ⅳ期 1 例。对照组为同期收集的肺部良性疾病切除的正常肺组织标本。男 7 例,女 3 例;年龄 25~56 (40.53 ± 12.45) 岁;良性肉芽肿 4 例,真菌感染 2 例,炎性假瘤 3 例,肺大泡 1 例。所有标本均在离体后 20 min 内放置在 -80 ℃ 冰箱中保存,标本均经医院伦理委员会同意,并与患者家属签署相关知情同意书。

1.2 主要检测方法及试剂

1.2.1 细胞培养 人肺癌细胞 A549 购自中科院上海细胞库, TM4SF1 慢病毒过表达载体购自上海吉凯基因科技有限公司, AG490 购自 MCE 公司。人肺癌 A549 细胞在 37 ℃ 恒温水浴箱中快速解冻,将细胞接种于含有 10% 胎牛血清的 1640 培养基[维森特生物技术(南京)有限公司]中,培养基中加入 1% 青霉素-链霉素双抗(大连美仑生物技术有限公司),在 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养, 2~3 d 传代 1 次,传代时用胰蛋白酶(大连美仑生物技术有限公司)消化 1 min, 1:3 传代,取对数生长的细胞进行试验。

1.2.2 慢病毒转染 过表达慢病毒载体由上海吉凯基因公司合成并构建。设计 3 个平行实验分组。第一组为过表达 TM4SF1 组(过表达组),第二组为转染阴性病毒组(阴性对照组),第三组为不转染病毒组(空白组)。转染流程按照公司说明书进行。于转染前一天将 A549 细胞按照 4 × 10⁴ 个细胞/mL 接种至 6 孔板上,转染当天当细胞融合度达 30%~50% 时开始转染。吸去旧培养基, PBS 洗 2 次,转染 MOI 值设计为 10 和 100 两组,总液量为 1 mL/孔。转染 12 h 后将 6 孔板内培养基换为含 10% 胎牛血清的 1640 培养基继续培养。转染后 72 h 随机选取多个视野计数荧光下可见细胞数,比较不同转染条件下的转染效率。转染 MOI=100 时,转染后 72 h 荧光最强,于此时收获细胞用于下一步实验。

1.2.3 qRT-PCR 使用 DMSO(北京索莱宝公司)配置 AG490 溶液,并加入适量含有 10% 胎牛血清的培养基进行稀释,使稀释液中 DMSO 终浓度 < 0.1%,将 AG490 浓度配置为 40 μmol/L。取对数生长期的细胞进行试验,使用含 AG490 的培养基培养过表达组、阴性对照组及空白组细胞,药物处理 48 h 后提取细胞 mRNA 进行试验,将 3 种细胞分为药物处理组与对照组。使用 mRNA 柱式提取试剂盒(购自生工公司),按照说明书步骤在低温环境下提取标本及细胞总 mRNA,采用分光仪根据 OD_{260 nm}/OD_{280 nm} 评估所提取的 mRNA 质量,并运用测定值计算 mRNA 的浓度。将提取的 mRNA 根据浓度稀释配比,采用逆转录试剂盒(Monad 生物技术有限公司)逆转录合成 cDNA。使用 MonAmp™ SYBR Green qPCR Mix(High Rox; Monad 生

物科技有限公司)qRT-PCR 技术检测标本中 TM4SF1 表达量,引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司设计并合成;TM4SF1 引物正链:5'-CTCAGCCGCTTCGTGTGGTTC-3',负链:5'-CAGCAGCCACAGCAGTCATCC-3'。Sox2 引物正链:5'-GCTCGCAGACCTACATGAACGG-3',负链:5'-AGCTGG-CCTCGGACTTGACC-3',GAPDH 引物序列正链:5'-CAGG-AGGCATTGCTGATGAT-3',负链:5'-GAAGGCTGGGGCTC-ATT-3'。反应条件:95℃预变性 30 s,95℃变性 5 s,60℃退火 10 s,72℃延伸 30 s,共 40 个循环。采用 2^{-ΔΔCt} 定量^[9]计算组织及细胞中 TM4SF1 和 Sox2 的表达水平。每组设置 3 个复孔,计算平均值。实验均独立重复 3 次。

1.2.4 Western blot 使用蛋白裂解液(碧云天有限公司)裂解 3 种组织及细胞,提取细胞总蛋白,使用 BCA 法测定蛋白质浓度后加入 5×SDS 蛋白上样缓冲液(碧云天有限公司)进行 12% SDS-PAGE(北京索莱宝科技有限公司)分离蛋白,电泳结束后将蛋白质条带转移至 PVDF 膜(北京索莱宝科技有限公司),使用 5%脱脂奶粉室温封闭 1 h,分别将条带放入兔抗人 TM4SF1 多克隆一抗(美国 Abcam 公司)和 β-actin 单克隆一抗(工作液体积稀释比例均为 1:1 000)中,4℃反应过夜;洗膜后加入荧光二抗(工作液稀释比例 1:5 000),室温反应 1 h,洗膜后,使用 Odyssey 双色红外荧光成像系统分析蛋白表达水平。TM4SF1 蛋白相对表达水平=目的基因条带的灰度值/内参 β-actin 条带的灰度值。每组实验均独立重复 3 次。

1.2.5 Transwell 检测 收集转染后 72 h 的 3 组细胞并计

数,以 2×10⁵ 个细胞/孔加入到 Transwell 上室,上室为 200 μL 的 1640 空培,下室为 500 μL 含 10%胎牛血清培养基。温箱培养 12 h 后用棉签擦去上室表面的细胞。下室表面的细胞使用结晶紫染色 2 min。显微镜下随机选取 5 个视野观察计数,计算平均穿膜细胞数。每组实验重复 3 次。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 26.0 软件进行分析。2 组间均数比较采用 *t* 检验,多组间均数比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法。不同临床病理类型的患者 NSCLC 组织中 TM4SF1 的阳性表达率用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 TM4SF1 在癌组织、癌旁组织及正常肺组织的表达

癌组织与癌旁组织及正常肺组织中 TM4SF1 mRNA 的表达水平具有统计学差异($F=18.864, P=0.000$),而癌旁组织与正常肺组织的表达量并无统计学差异($t=0.109, P>0.05$) (表 1)。癌组织中 TM4SF1 mRNA 的表达水平是癌旁组织的 4.90 倍,是正常肺组织的 5.17 倍。NSCLC 组织的 TM4SF1 mRNA 表达量升高与患者的临床分期、肿瘤大小、淋巴结转移、病理分化程度相关($P<0.05$)。但与患者的性别、年龄及组织学类型没有相关性($P>0.05$) (表 2)。NSCLC 组织、癌旁组织及正常肺组织中目的基因的相对灰度值分别为 3.740 ± 0.160 、 0.920 ± 0.013 和 0.820 ± 0.045 ,说明 NSCLC 组织的

表 1 TM4SF1 mRNA 在癌组织、癌旁组织及正常肺组织中的相对表达量 ($\bar{x} \pm s$)

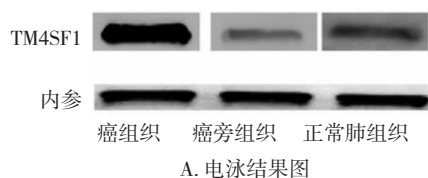
组别	TM4SF1 mRNA 表达水平 (ΔCt)	$\Delta\Delta Ct$	2 ^{-ΔΔCt}	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
癌组织与癌旁组织	3.57 ± 2.10 vs. 5.86 ± 2.34	-2.29	4.89	5.752	0.000
癌组织与正常肺组织	3.57 ± 2.10 vs. 5.94 ± 0.40	-2.37	5.17	3.541	0.001
癌旁组织与正常肺组织	5.86 ± 2.34 vs. 5.94 ± 0.40	-	-		

表 2 NSCLC 中 TM4SF1 mRNA 的表达水平与临床病理特征之间的关系 ($\bar{x} \pm s$)

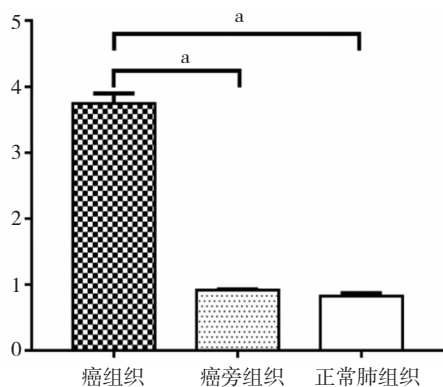
临床病理特征	例数	mRNA 相对表达水平	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
性别				
男	44	3.40 ± 2.09	-1.005	0.319
女	17	4.00 ± 2.07		
年龄/岁				
≤60	31	3.49 ± 2.19	-0.279	0.781
>60	30	3.64 ± 2.01		
病理分化程度				
中-高分化	44	2.67 ± 1.76	2.138	0.037
低分化	17	3.91 ± 2.12		
肿瘤大小/cm				
≤3	24	1.72 ± 1.28	15.574 ^a	0.000
>3 且 ≤5	25	3.13 ± 1.70		
>5	12	4.94 ± 1.90		
淋巴结转移				
无	36	2.69 ± 1.82	-2.887	0.005
有	25	4.17 ± 2.07		
组织学类型				
腺癌	44	3.47 ± 2.26	-0.580	0.564
其他	17	3.82 ± 1.59		
临床 TNM 分期				
I~II 期	44	1.68 ± 1.07	5.285	0.000
III~IV 期	17	4.30 ± 1.92		

注:a 为 *F* 值,肿瘤大小 3 组之间进行方差分析,3 组之间两两比较 mRNA 的表达水平均有差异($P<0.05$)

TM4SF1 蛋白表达水平高于癌旁组织和正常肺组织,差异具有统计学意义 ($F=924.039, P=0.000$);而癌旁组织与正常肺组织的水平并无差异,结果无统计学意义 ($P=0.172$) (图 1)。



A. 电泳结果图



注:a,癌组织与癌旁组织及正常肺组织中目的基因相对灰度值差异具有统计学意义 ($P<0.05$)

B. 直条图

图 1 Western blot 检测癌组织、癌旁组织及正常肺组织中 TM4SF1 的蛋白表达

2.2 过表达 TM4SF1 慢病毒载体转染细胞

应用荧光显微镜对转染细胞进行观察,检测慢病毒转染细胞的转染效率,发现过表达组和阴性对照组均有绿色荧光蛋白表达,且在转染 72 h 后荧光强度最强。这一结果表明过表达 TM4SF1 慢病毒载体成功转染细胞 (图 2)。

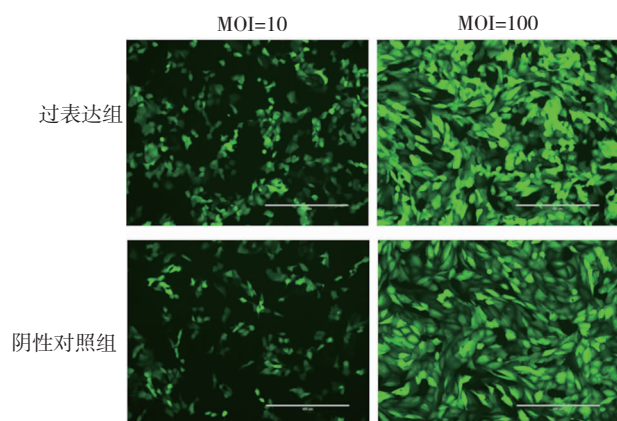


图 2 TM4SF1 与阴性对照病毒转染肺癌细胞

2.3 过表达 TM4SF1 的 A549 细胞表达水平明显高于未转染细胞

过表达组、空白组及阴性对照组中 TM4SF1 的相对灰度值分别为 1.38 ± 0.02 、 0.99 ± 0.03 、 1.00 ± 0.02 ,过表达组中 TM4SF1 蛋白水平明显高于阴性对照组及空白组 ($P=0.001$)

(图 3)。转染后细胞内 TM4SF1 和 Sox2 mRNA 表达水平明显高于阴性对照组及空白组 ($P=0.003$),证明慢病毒载体成功稳定转染肺癌 A549 细胞并使 TM4SF1 过表达且过表达 TM4SF1 可以上调 JAK2-STAT3 信号通路下游 Sox2 的表达水平 (表 3)。

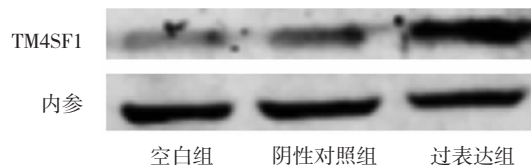


图 3 Western blot 检测过表达组、空白组及阴性对照组中 TM4SF1 的蛋白表达

表 3 TM4SF1 与 Sox2 mRNA 在肺癌细胞空白组、阴性对照组、过表达组及其相应处理组中的表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

	TM4SF1 mRNA 相对表达水平	P 值	Sox2 mRNA 表达水平	P 值
空白组	0.94 ± 0.83	0.006 ^a	1.09 ± 1.04	0.003 ^a
阴性对照组	1.14 ± 0.96	0.007 ^a	1.00 ± 0.75	0.003 ^a
过表达组	8.05 ± 0.41	—	7.12 ± 0.92	—
空白处理组	—	—	-0.55 ± 0.20	—
阴性处理组	—	—	-0.64 ± 0.13	0.006 ^b
过表达处理组	—	—	-1.43 ± 0.14	—

注:a,与过表达组比较, $P<0.05$;b:过表达处理组与过表达组比较, $P<0.05$

2.4 AG490 处理细胞后的 Sox2 表达水平

经过 AG490 处理后,空白组及阴性对照组 Sox2 表达水平均有少许下降,但 2 组之间无明显差别。过表达组经处理后 Sox2 表达水平明显下降,低于阴性对照组 ($P=0.006$) (表 3)。

2.5 过表达 TM4SF1 对 A549 细胞迁移能力的影响

对 3 组细胞进行 Transwell 迁移实验,实验结果显示过表达组细胞迁移率明显高于阴性对照组和空白组 ($F=74.607$, $P<0.01$),后 2 组之间无统计学差异 ($P=0.434$),表明 TM4SF1 的过表达能够明显促进肺癌 A549 细胞的迁移 (图 4)。

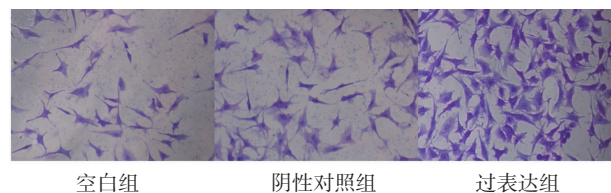


图 4 细胞迁移侵袭实验检测 TM4SF1 对细胞迁移能力的影响 (400 ×)

3 讨论

目前,肺癌在世界范围内仍是发病率及死亡率位于第一位的癌症,而且我国近年来肺癌发病率呈逐年升高趋势,其中 NSCLC 占绝大多数。现阶段针

对 NSCLC 的治疗仍以手术为主,放化疗、靶向治疗及生物治疗为辅的治疗模式。但是由于 NSCLC 的发生发展及远期迁移,患者总体生存率并不理想。

TM4SF1 的分子量为 21 kD,包含 202 个氨基酸,其中有 3 个末端疏水跨膜区,随后是 2 个潜在的 N-糖基化亲水区和 1 个 COOH 末端跨膜区。这些跨膜区可能参与了多种信号转导通路。许多肿瘤细胞的实验证明, TM4SF1 对肿瘤细胞的生长、迁移、浸润和转移起着非常重要的作用^[6]。TM4SF1 在上皮来源的恶性肿瘤中广泛表达,近年来许多国内外研究证实 TM4SF1 在结肠癌^[7]、胰腺癌^[8]、乳腺癌^[9]、卵巢癌^[10]等组织中异常高表达,并与肿瘤细胞的迁移、患者的预后生存密切相关。本研究证实 NSCLC 组织中 TM4SF1 的 mRNA 和蛋白表达水平明显高于癌旁组织及正常肺组织,表明 TM4SF1 在转录及翻译水平的表达是一致的, TM4SF1 的表达水平与患者的肿瘤大小、临床分期及淋巴结转移情况密切相关,提示 TM4SF1 可能通过某种机制参与 NSCLC 的发生发展及远期迁移。最近的研究证实, TM4SF1 可能通过 JAK2-STAT3 信号通路调控下游 Sox2 的表达水平,进而影响乳腺癌的预后及远处转移^[11]。

在细胞水平选择慢病毒作为 TM4SF1 过表达载体, Western blot 及 qRT-PCR 检测显示表达载体成功转入细胞之中,而 Transwell 实验结果表明, TM4SF1 的表达上调可增强肺癌细胞株 A549 的迁移能力,提示 TM4SF1 的高表达与肺癌的转移密切相关。TM4SF1 在肺癌的转移过程中可能承担着重要的功能角色。Gao H 等^[11]最近发现乳腺癌多靶器官转移的新信号通路, TM4SF1 耦联具有酪氨酸蛋白激酶活性的胶原蛋白受体 DDR1,通过招募 syntenin 2 和 PKC,激活下游的 JAK2-STAT3 信号通路,进而促进下游 Sox2 等转录因子的表达。这个新的 DDR1 信号转导通路促进了乳腺癌向肺、骨、脑等靶器官的转移。而有研究显示在 NSCLC 的发生发展过程中, JAK2-STAT3 信号通路的活化对肿瘤细胞的增殖、转移有重要作用^[12]。本研究检测到在肺癌细胞 A549 中过表达 TM4SF1 可以介导 Sox2 的上调。而加入 JAK2-STAT3 信号通路抑制剂 AG490 后,下游 Sox2 表达水平明显受到抑制,证明 TM4SF1 通过 JAK2-STAT3 信号通路促进下游 Sox2 因子的表达。最新研究显示, DDR1 及其下游靶点 ERK/Akt-mTOR 相互作用可能是 TM4SF1 增强 NSCLC 化疗敏感性的机制^[13],但 TM4SF1 可能通过上调 JAK2-

STAT3 信号通路调控下游 Sox2,进而对 NSCLC 的转移起促进作用的机制仍不明确。本课题组将会对 DDR1 及其下游靶点 ERK/Akt-mTOR 的相互作用等可能机制做更深入的验证。

综上所述,本研究从 mRNA 及蛋白水平分析了 TM4SF1 与 NSCLC 患者临床特征的关系,并且从细胞水平证明过表达 TM4SF1 可以促进肺癌细胞株 A549 的迁移能力,可以通过 JAK2-STAT3 信号通路介导下游 Sox2 转录因子的表达水平,为肺癌的治疗提供新的有意义的靶点。

参 考 文 献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] 王雅梅, 徐晓艳. 与肺癌相关的靶基因研究简介[J]. 临床与病理杂志, 2016, 36(4): 525-530.
- [3] 姚红羽, 阳志军. TM4SF1 在恶性肿瘤研究中的进展[J]. 医学与哲学, 2018, 39(6): 60-63.
- [4] 李家树, 史家欣, 胡蓉, 等. JAK-STAT 信号通路阻断剂 AG490 对肺癌细胞凋亡的影响[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(2): 293-295.
- [5] 奉水东, 谭红专, 凌宏艳, 等. 实时定量 PCR 2^{-ΔΔCt} 法检测非小细胞肺癌 HER2 基因的过表达[J]. 中国肺癌杂志, 2011, 14(12): 938-942.
- [6] Lin CI, Merly A, Sciuto TE, et al. TM4SF1: a new vascular therapeutic target in cancer[J]. Angiogenesis, 2014, 17(4): 897-907.
- [7] Yang H, Shen C, Zhang B, et al. Expression and clinicopathological significance of CD9 in gastrointestinal stromal tumor[J]. J Korean Med Sci, 2013, 28(10): 1443-1448.
- [8] Yang JC, Zhang Y, He SJ, et al. TM4SF1 promotes metastasis of pancreatic cancer via regulating the expression of DDR1[J]. Sci Rep, 2017, 7: 45895.
- [9] 高新雅, 张伟杰, 崔黎, 等. TM4SF1 在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 吉林大学学报(医学版), 2017, 43(6): 124-130.
- [10] 刘慧敏, 俸艳英, 高彩云, 等. TM4SF1 蛋白在上皮性卵巢癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中国癌症防治杂志, 2014, 6(1): 20-24.
- [11] Gao H, Chakraborty G, Zhang Z, et al. Multi-organ site metastatic reactivation mediated by non-canonical discoidin domain receptor 1 signaling[J]. Cell, 2016, 166(1): 47-62.
- [12] Looyenga BD, Hutchings D, Cherni I, et al. STAT3 is activated by JAK2 independent of key oncogenic driver mutations in non-small cell lung carcinoma[J]. PLoS One, 2012, 7(2): e30820.
- [13] Ye L, Pu C, Tang J, et al. Transmembrane-4 L-six family member-1(TM4SF1) promotes non-small cell lung cancer proliferation, invasion and chemo-resistance through regulating the DDR1/Akt/ERK-mTOR axis[J]. Respir Res, 2019, 20(1): 106.

(责任编辑:唐秋姗)