

网络出版时间: 2019-9-19 10:04 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20190917.1059.018.html>

IGF-1 通过激活 EGR1 诱导肝细胞癌的迁移和侵袭

马 旸, 崔东倩, 韩陈陈, 罗婷婷, 魏 伟

摘要 目的 探讨胰岛素样生长因子-1 (IGF-1) 诱导肝细胞癌 (HCC) 迁移和侵袭的机制。方法 选用两株转移潜能不同的 HCC 细胞株 HepG2 和 HCCLM3, 分别加入 25、50 和 100 ng/ml 的 IGF-1, 用 transwell 的方法检测细胞的迁移和侵袭; Western blot、RT-PCR 和实时定量 PCR 法检测胞内信号通路的活化和早期生长反应蛋白 1 (EGR1) 的表达; 转染 EGR1 的 siRNA 抑制其表达, 观察 IGF-1 对 HCC 细胞株的迁移和侵袭的影响。结果 IGF-1 可浓度依赖地促进 HCC 细胞株的迁移和侵袭, IGF-1 增加 HCC 细胞株中 IGF1R、Akt 及 ERK 的磷酸化水平, 而对总表达无明显改变, 同时 EGR1 的蛋白和 mRNA 表达也随着 IGF-1 的浓度增高而增加, 转染 EGR1 的 siRNA 降低其表达后, IGF-1 对细胞的迁移侵袭能力明显减弱。结论 IGF-1 诱导 HCC 细胞株的迁移和侵袭作用是由 EGR1 所介导的。

关键词 肝细胞癌; 胰岛素样生长因子-1; 早期生长反应蛋白 1; 细胞迁移和侵袭

中图分类号 R 735.7

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2019)11-1750-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.11.018

肝癌是常见的恶性肿瘤, 肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 占原发性肝癌的 85% 以上, 预后不良, 5 年总生存率小于 12%^[1]。研究^[2]表明其预后不良与 HCC 复发和转移密切相关, 因此亟需确定介导肿瘤侵袭和转移的分子机制。

胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 在许多肿瘤细胞中表达上调, 参与肿瘤发生和发展, 通过作用在其受体——胰岛素样生长因子 1 受体 (insulin-like growth factor 1 receptor, IGF1R) 参与转导多种信号途径如 JNK、MAPK、PI3K/Akt 途径发挥作用^[3]。MCF-7 细胞中 IGF-1 通过 PI3K/Akt 信号通路依赖的方式升高附膜蛋白的表达促进肿瘤转移^[4]; 此外, IGF-1 可以通过上调

组织蛋白酶 B 的表达促进 HCC 细胞系的生长和转移^[5]。早期生长反应蛋白 1 (early growth response protein 1, EGR1) 是一个分子量为 82 ku 的转录因子, 属于即刻早期基因簇中的一员, 有丝分裂刺激包括血清, 非致死性应激, 例如辐射和缺氧, 均可激活 EGR1 表达^[6]。一旦激活, EGR1 与血清响应因子形成复合物与富含 GC 的区域结合, 控制下游多个基因的表达, 如细胞因子 TGF- β 1、PDGF-A 和 PDGF-B 和 bFGF, 这些因子被认为在肿瘤细胞增殖、凋亡、血管生成及肿瘤转移中发挥重要意义^[7]。

虽然 IGF-1 和 EGR1 都可以介导肿瘤细胞转移, 但它们在共同调节 HCC 的迁移侵袭中的作用和机制尚未发现。本研究中, 选用两株 HCC 细胞株, 加入不同浓度的 IGF-1 刺激细胞, 用 transwell 的方法检测了细胞的迁移和侵袭情况, 为了探究其分子机制, 利用 Western blot 和 RT-PCR 方法检测了胞内 Akt 及 ERK 信号通路的活化情况及 EGR1 的表达, 进一步利用 siRNA 的方法将 EGR1 的表达水平敲低, 对细胞进行迁移和侵袭的功能检测。本研究旨在揭示 HCC 细胞中 IGF-1 调控 EGR1 的作用, 为阐明 IGF-1 调节 HCC 迁移侵袭的新机制提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和抗体 EGR1、磷酸化 p44/42 MAPK (ERK1/2) 的抗体 (Thr202 / Tyr204)、p44/42 MAPK (ERK1/2)、磷酸化 Akt (Ser⁴⁷³)、Akt、磷酸化 IGF1R β (Tyr1135)、IGF1R β 购自美国 Cell Signaling Technology 公司; 人重组 IGF-1 来自美国 Peprotech 公司; SP1、 β -actin 抗体购自美国 Santa Cruz 公司; HRP 偶联抗兔、小鼠、山羊 IgG 购自美国 Sigma-Aldrich 公司。

1.1.2 细胞株的使用和培养 人源 HCC 细胞系 HepG2 购自美国 ATCC 细胞库; HCCLM3 购自复旦大学肝癌研究所, 并保持在 DMEM 加 10% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 和 2 nmol/L L-谷氨酰胺和青霉素、链霉素的培养基里, 将细胞在 37 °C、5%

2019-06-18 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81502123、81330081、81673444)

作者单位: 安徽医科大学临床药理研究所, 合肥 230032

作者简介: 马 旸, 女, 博士, 讲师;

魏 伟, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail:

wwwei@ahmu.edu.cn

CO₂ 的培养箱中培养。

1.2 方法

1.2.1 Transwell 法测定细胞迁移和侵袭 取对数生长期且无血清处理 12 ~ 24 h 的 HepG2 或 HCCLM3 细胞,经消化离心后,用无血清培养基进行重悬计数,在含有 8 μ m 孔径的聚碳酸酯纤维膜的 24 孔板中接种细胞,每个内室加入 200 μ l 含不同浓度 IGF-1 的细胞悬液,每孔均含 5×10^4 个细胞。于 24 孔板即外室中加入 700 μ l 的含 10% FBS 的 DMEM 培养基,避免有气泡产生,进行细胞迁移和侵袭实验,在侵袭实验中,将 Matrigel 混合 DMEM(4 : 3) 放于内室,使细胞在 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱中孵育 24 h。取出小室,90% 乙醇固定 10 min,用 PBS 溶液湿润的棉签轻轻擦去上室表面未侵袭的细胞,1% 结晶紫染液室温下染色 10 min。PBS 漂去多余染料,显微镜下每孔随机取 5 个视野拍照,计数并求平均值。

1.2.2 Western blot 用 RIPA 裂解缓冲液裂解 HepG2 或 HCCLM3 细胞株,裂解物在 4 $^{\circ}$ C、13 000 r/min 下离心 15 min。将可溶性蛋白质在 SDS 中变性,在其上分离 12% SDS-聚丙烯酰胺凝胶,转移到 PVDF 膜,并与封闭缓冲液(5% 脱脂奶粉的 TBST)一起孵育 4 $^{\circ}$ C 过夜。免疫印迹分别用一抗(1 : 1 000)和二抗 HRP-山羊抗兔抗体(1 : 15 000)与 PVDF 膜进行孵育,用增强的化学发光系统进行检测。

1.2.3 RT-PCR 和定量实时 PCR 按照 TRIzol 试剂说明书的方法提取细胞总 RNA,使用 cDNA 逆转录试剂盒将 1 μ g 总 RNA 转化为 cDNA,以下的引物用于 RT-PCR 和实时定量 PCR 反应。 β -actin-Fw: 5'-GAC CTG ACT GAC TAC CTC ATG AAG AT-3'; β -actin-Re: 5'-GTC ACA CTT CAT GAT GGA GTT GAA GG-3'; EGR1-Fw: 5'-CTG ACC GCA GAG TCT TTT CCT G-3'; EGR1-Re: 5'-TGG GTG CCG CTG AGT AAA TG-3'。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间差异的比较采用单因素方差分析(ANOVA), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IGF-1 增强 HCC 细胞的迁移和侵袭能力 为了确定 IGF-1 对 HCC 细胞转移的影响,将不同浓度的 IGF-1 加入 HCC 细胞株中,用 Transwell 法检测细胞迁移和侵袭的作用。结果表明,25、50 和 100 ng/ml 的 IGF-1 可以不同程度地增加 HepG2 细胞迁移

的穿膜数目(图 1A),统计结果表明,与空白组(182.6 ± 3.0)比较,IGF-1 刺激各组穿膜细胞数显著增多(285.3 ± 10.0 , 395.0 ± 5.0 , 547.3 ± 23.1),且具有浓度依赖性的特征($F = 437.1$, $P < 0.05$) (图 1B),HepG2 细胞侵袭的穿膜数目统计结果表明,与空白组(170.6 ± 9.0)比较,IGF-1 刺激各组穿膜细胞数显著增多(258.7 ± 15.5 , 369.7 ± 13.8 , 506.7 ± 13.9),差异具有统计学意义($F = 358.9$, $P < 0.05$) (图 1B); HCCLM3 细胞迁移的实验结果显示,与空白组(155.0 ± 5.0)比较,IGF-1 刺激各组可浓度依赖地增加细胞的迁移细胞数(268.7 ± 15.1 , 402.3 ± 8.7 , 625.7 ± 36.8) ($F = 290.9$, $P < 0.05$) (图 1C、1D),HCCLM3 细胞侵袭的实验结果显示,与空白组(168.3 ± 17.5)比较,IGF-1 刺激各组可浓度依赖地增加细胞的侵袭细胞数(223.0 ± 27.1 , 425.0 ± 27.8 , 595.7 ± 20.6) ($F = 205.3$, $P < 0.05$) (图 1C、1D)。以上结果表明,IGF-1 可增强 HepG2 和 HCCLM3 的迁移和侵袭能力。

2.2 IGF-1 对 EGR1 表达的影响 在 IGF-1 刺激 HCC 细胞株 4 h 时收集细胞,利用 Western blot、RT-PCR 和实时定量 PCR 的方法检测胞内 Akt 及 ERK 的活化及 EGR1 的表达,结果表明,不同浓度的 IGF-1 均可增加 HCC 细胞株中 IGF1R、AKT 及 ERK 的磷酸化水平而对总表达无明显改变,同时 EGR1 的蛋白表达也随着 IGF-1 的浓度增高而增加(图 2A),其 mRNA 水平也在 IGF-1 刺激下随浓度相应增加(图 2B),与未刺激组比较,EGR1 的 mRNA 水平显著增加(图 2C) ($F_{\text{HepG2}} = 578.2$, $F_{\text{HCCLM3}} = 325.6$, $P < 0.01$),以上结果表明,IGF-1 可促进 HepG2 和 HCCLM3 胞内 Akt 及 ERK 的活化,增加 EGR1 的 mRNA 及蛋白表达。

2.3 敲低 EGR1 的表达降低 IGF-1 诱导的 HCC 迁移和侵袭能力 将 EGR1 siRNA 分别转染至两株 HCC 细胞系中,首先用 Western blot、RT-PCR 方法检测 EGR1 的敲低效率,结果表明,HepG2 和 HCCLM3 细胞在转染 siRNA 后,EGR1 的蛋白和 mRNA 水平明显减少(图 3A、3B),在此基础上加入 50 ng/ml IGF-1,检测细胞的迁移和侵袭作用。HepG2 细胞迁移结果表明,与对照组比较,IGF-1 可显著增加 HepG2 细胞的迁移,而沉默 EGR1 表达后,IGF-1 刺激的细胞穿膜数目明显减少($F = 409.5$, $P < 0.01$),HepG2 细胞侵袭结果表明,与对照组比较,IGF-1 可显著增加 HepG2 细胞的侵袭,而沉默 EGR1 表达后,IGF-1 刺激的细胞穿膜数目明显减少($F =$

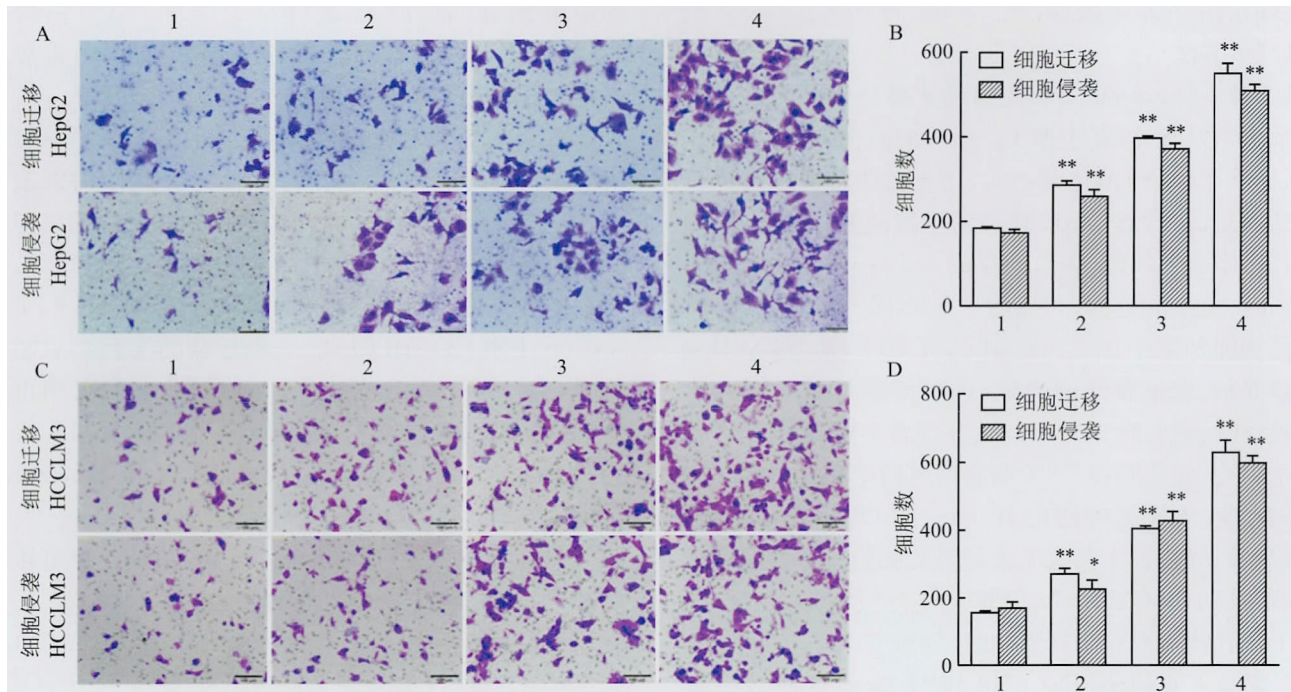


图1 IGF-1 增强 HCC 细胞的迁移和侵袭能力 ×100

A: Transwell 法检测 IGF-1 对 HepG2 细胞迁移和侵袭能力的影响; B: IGF-1 对 HepG2 细胞迁移和侵袭数目的统计数据; C: Transwell 法检测 IGF-1 对 HCCLM3 细胞迁移和侵袭能力的影响; D: IGF-1 对 HCCLM3 细胞迁移和侵袭数目的统计数据; 1: 空白组; 2: IGF-1 25 ng/ml 组; 3: IGF-1 50 ng/ml 组; 4: IGF-1 100 ng/ml 组; 与空白组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

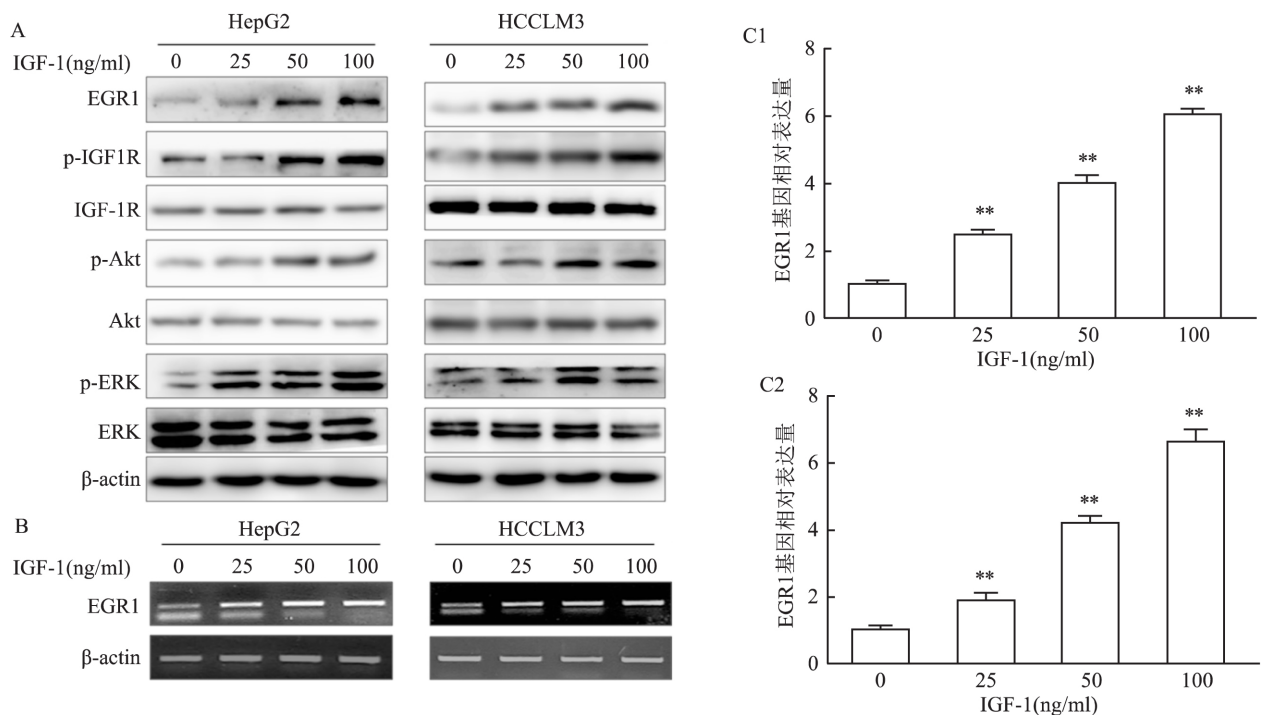


图2 IGF-1 对 Akt 及 ERK 信号通路活化及 EGR1 表达的影响

A: Western blot 方法检测不同浓度 IGF-1 刺激下胞内 Akt 及 ERK 信号通路的活化及 EGR1 的表达; B: RT-PCR 检测 IGF-1 刺激下 EGR1 的 mRNA 表达; C: 实时定量 PCR 检测 IGF-1 刺激下 EGR1 的 mRNA 表达; 1: HepG2; 2: HCCLM3; 与 IGF-1 0 ng/ml 组比较: ** $P < 0.01$

138.8, $P < 0.01$) (图 3C、3D); HCCLM3 细胞迁移结果表明,与对照组比较,IGF-1 可显著增加 HepG2

细胞的迁移,而沉默 EGR1 表达后,IGF-1 刺激的细胞穿膜数目明显减少 ($F = 131.6$, $P < 0.05$), HC-

CLM3 细胞侵袭结果表明,与对照组比较,IGF-1 可显著增加 HepG2 细胞的侵袭,而沉默 EGR1 表达后,IGF-1 (228.0 ± 21.5) 刺激的细胞穿膜数目明显减少 ($F = 51.7, P < 0.05$) (图 3E、3F),以上结果显示,抑制 EGR1 的表达降低 IGF-1 诱导的 HepG2 和 HCCLM3 细胞的迁移和侵袭能力,提示 EGR1 在介导 IGF-1 诱导的 HCC 迁移侵袭能力中发挥重要作用。

3 讨论

肿瘤转移的关键因素是肿瘤细胞获得迁移和侵袭能力,IGF-1 在肿瘤转移中的重要作用在很多文献中均有报道: IGF-1 通过 PI3K / PTEN / Akt / NF- κ B 信号通路影响胰腺癌细胞侵袭^[8]; IGF-1 与 TGF- β 联合作用可激活金属蛋白酶活性,导致乳腺癌细胞 EMT 的发生^[9]; IGF-1 通过激活 PI3K/Akt/

mTOR 信号增加 survivin 的表达,增加前列腺癌和结肠癌 EMT 的发生^[10-11]。但是,IGF-1 与 EGR1 在 HCC 迁移和侵袭中的关系尚不清楚。

EGR1 在肝细胞的增殖、迁移和侵袭中发挥重要作用,但是其在 HCC 中的表达及效应存在争议: 一项研究显示 EGR1 在 HCC 中过表达^[12],而另一个发现 HCC 中 EGR1 表达下调^[13]。最近研究数据表明 EGR1 在 HCC 中的不同生物学功能可能由其上游信号通路的激活有关,如肝细胞生长因子 (HGF) /c-Met 信号^[14] 或 IGF1R 信号通路^[15],研究表明 EGR1 是介导 HGF 诱导的细胞迁移、侵袭功能的关键转录因子,其可以通过转录激活下游基因如 MMP-2 和 MMP-9 的表达而调控细胞功能^[14];此外,在以往研究^[13]中也发现,胰岛素样生长因子结合蛋白-3 (insulin-like growth factor-binding protein-3, IGFBP-3) 通过抑制 IGF-1 诱导 IGF1R 信号通路,包

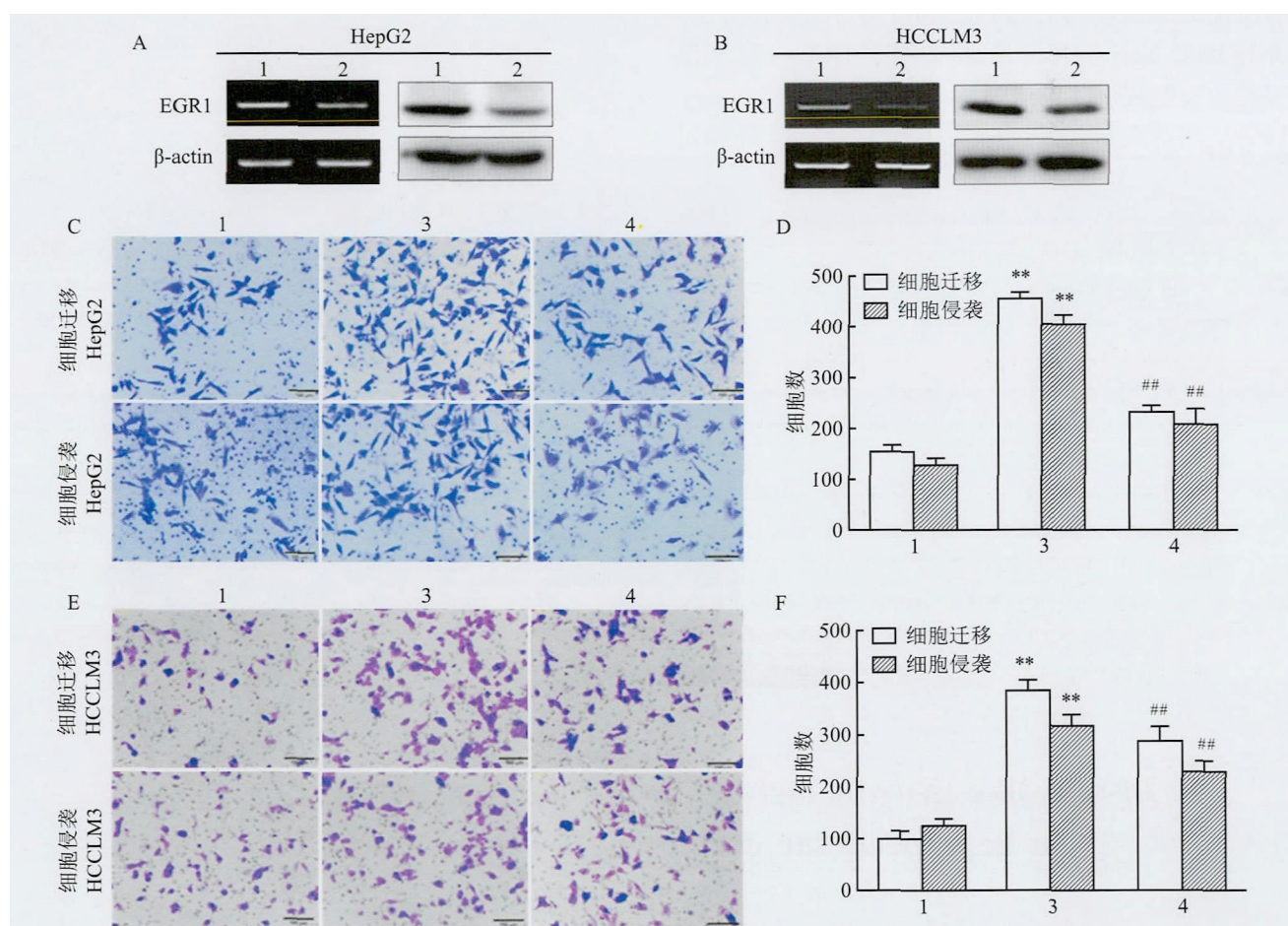


图3 敲低 EGR1 的表达降低 IGF-1 诱导的 HCC 迁移和侵袭能力 $\times 100$

A、B: EGR1 的 siRNA 分别转染至 HepG2 和 HCCLM3 细胞中, Western blot、RT-PCR 方法检测 EGR1 的敲低效率; C、D: 沉默 EGR1 表达后, transwell 法检测 IGF-1 刺激的 HepG2 细胞迁移和侵袭及其数据统计图; E、F: 沉默 EGR1 表达后, transwell 法检测 IGF-1 刺激的 HCCLM3 细胞迁移和侵袭及其数据统计图; 1: si-scramble 组; 2: si-EGR1 组; 3: si-scramble + IGF-1 组; 4: si-EGR1 + IGF-1 组; 与 si-scramble 组比较: ** $P < 0.01$; 与 si-scramble + IGF-1 组比较: ## $P < 0.01$

括抑制 Akt 和 ERK 激活,导致转录因子 EGR1 的抑制,从而导致其靶基因 bFGF 和 PDGF 的分泌降低,使 HCC 细胞的增殖减弱。

本研究选用两株不同转移特性的 HCC 细胞株 HepG2 和 HCCLM3,利用不同浓度的 IGF-1 刺激细胞,用 transwell 的方法检测细胞的迁移和侵袭情况,结果表明 IGF-1 可浓度依赖的增加 HCC 的迁移侵袭能力;为了探究其分子机制,利用 Western blot 和 RT-PCR 方法检测胞内 Akt 及 ERK 信号通路的活化情况及 EGR1 的表达,结果表明 IGF-1 可活化 HCC 中 Akt 及 ERK 信号通路,增加 EGR1 的蛋白及 mRNA 表达,进一步利用 siRNA 的方法将 EGR1 的表达水平敲低,对细胞进行迁移和侵袭的功能检测,结果表明敲低 EGR1 水平可降低 IGF-1 诱导的 HCC 细胞侵袭迁移。

综上,本研究初步揭示在 HCC 细胞株中 IGF-1 可活化 Akt 及 ERK 信号通路和增加 EGR1 的表达,介导 HCC 的迁移和侵袭,将为揭示 HCC 迁移和侵袭的新机制提供实验依据。

参考文献

- [1] El-Serag H B. Hepatocellular carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(12): 1118 – 27.
- [2] Van Zijl F, Zulehner G, Petz M, et al. Epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma [J]. *Future Oncol*, 2009, 5(8): 1169 – 79.
- [3] Haisa M. The type 1 insulin-like growth factor receptor signaling system and targeted tyrosine kinase inhibition in cancer [J]. *J Int Med Res*, 2013, 41(2): 253 – 64.
- [4] Liao G, Wang M, Ou Y, et al. IGF-1-induced epithelial mesenchymal transition in MCF-7 cells is mediated by MUC1 [J]. *Cell Signal*, 2014, 26(10): 2131 – 7.
- [5] Lei T, Ling X. IGF-1 promotes the growth and metastasis of hepatocellular carcinoma *via* the inhibition of proteasomemediated cathepsin B degradation [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(35): 10137 – 49.
- [6] Chu L, Wang T, Hu Y, et al. Activation of Egr-1 in human lung epithelial cells exposed to silica through MAPKs signaling pathways [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e68943.
- [7] Worden B, Yang X P, Lee T L, et al. Hepatocyte growth factor/scatter factor differentially regulates expression of proangiogenic factors through Egr-1 in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(16): 7071 – 80.
- [8] Ma J, Sawai H, Matsuo Y, et al. IGF-1 mediates PTEN suppression and enhances cell invasion and proliferation *via* activation of the IGF-1/PI3K/Akt signaling pathway in pancreatic cancer cells [J]. *J Surg Res*, 2010, 160(1): 90 – 101.
- [9] Walsh L A, Damjanovski S. IGF-1 increases invasive potential of MCF-7 breast cancer cells and induces activation of latent TGF- β 1 resulting in epithelial to mesenchymal transition [J]. *Cell Commun Signal*, 2011, 9(1): 10.
- [10] Fang Y J, Lu Z H, Wang G Q, et al. Elevated expressions of MMP7, TROP2, and survivin are associated with survival, disease recurrence, and liver metastasis of colon cancer [J]. *Int J Colorectal Dis*, 2009, 24(8): 875 – 84.
- [11] Li C, Li J, Wu D, et al. The involvement of survivin in insulin-like growth factor-1-induced epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(1): 1091 – 6.
- [12] Kawashita Y, Ohtsuru A, Kaneda Y, et al. Regression of hepatocellular carcinoma *in vitro* and *in vivo* by radiosensitizing suicide gene therapy under the inducible and spatial control of radiation [J]. *Human Gene Therapy*, 1999, 10(9): 1509 – 19.
- [13] Hao M W, Liang Y R, Liu Y F, et al. Transcription factor EGR-1 inhibits growth of hepatocellular carcinoma and esophageal carcinoma cell lines [J]. *World J Gastroenterol*, 2002, 8(2): 203 – 7.
- [14] Ozen E, Gozukizil A, Erdal E, et al. Heparin inhibits hepatocyte growth factor induced motility and invasion of hepatocellular carcinoma cells through early growth response protein 1 [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e42717.
- [15] Ma Y, Han C C, Li Y, et al. Insulin-like growth factor-binding protein-3 inhibits IGF-1-induced proliferation of human hepatocellular carcinoma cells by controlling bFGF and PDGF autocrine/paracrine loops [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 478(2): 964 – 9.

Insulin-like growth factor-1 induces migration and invasion in hepatocellular carcinoma by activating EGR1

Ma Yang, Cui Dongqian, Han Chenchun, et al

(*Institute of Clinical Pharmacology, Anhui Medical University, Hefei 230032*)

Abstract Objective To investigate the mechanism of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) -induced migration and invasion of hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** Two HCC cell lines HepG2 and HCCLM3 with different metastatic potentials were used, and IGF-1 was added at 25, 50 and 100 ng/ml respectively. Cell migration and invasion were detected by transwell method. Western blot, RT-PCR and quantitative real-time were performed to de-

网络出版时间: 2019-9-19 10:04 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20190917.1059.019.html>

FAT4 的表达对人卵巢癌细胞增殖和侵袭的影响

陈 颖, 周家德, 颜士杰, 肖 兰

摘要 目的 研究 FAT4 在上皮性卵巢癌组织中表达及其对上皮性卵巢癌细胞增殖和侵袭的影响。方法 采用免疫组化方法检测上皮性卵巢癌及正常卵巢上皮组织 FAT4 蛋白表达。FAT4-siRNA 转染人上皮性卵巢癌细胞 A2780, qRT-PCR 和 Western blot 方法检测 FAT4 基因沉默效果, CCK-8 及 Transwell 实验分析 FAT4 基因敲除后细胞增殖及侵袭能力的改变。结果 上皮性卵巢癌组织中 FAT4 为胞质和核分布, 明显高于正常卵巢上皮组织 ($P < 0.01$), FAT4 表达与患者年龄、月经情况和病理类型无明显相关性 ($P > 0.05$), 而与上皮性卵巢癌肿瘤大小 ($P = 0.020$)、FIGO 分期 ($P = 0.002$) 以及病理分级 ($P = 0.029$) 有明显相关性 ($P < 0.05$); FAT4 干扰可显著抑制人卵巢癌细胞 A2780 增殖及侵袭能力 ($P < 0.01$)。结论 FAT4 高表达与肿瘤临床分期及分化程度相关, 体外实验证实 FAT4 与卵巢癌细胞增殖及侵袭相关, 为上皮性卵巢癌治疗提供了新的靶点。

关键词 FAT4; 增殖; 侵袭; 上皮性卵巢癌

中图分类号 R 73-37; R 73-35; R 349.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2019)11-1755-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.11.019

卵巢上皮性肿瘤是女性生殖系统最常见的卵巢肿瘤, 一经确诊超过 70% 已是中晚期, 从而导致了

易复发、预后差以及病死率高等特点, 因此, 找寻与卵巢癌发生、发展相关的诊断指标对深入了解卵巢癌的发病机制具有重要的意义。

人类的 FAT4 亦称之 FAT-J, 于 2004 年首次报道^[1], FAT4 是一种单跨膜蛋白受体, 与调控哺乳动物的细胞分化、组织发育相关。研究表明, FAT4 蛋白在食管癌^[2]、肝癌^[3]中表达均显著降低; 在胃癌中, FAT4 低表达可导致胃癌细胞增殖^[4]; 另有报导, 乳腺癌中 FAT4 表达缺失与 FAT4 启动子甲基化有关^[5]; Bossuyt et al^[6]报道, FAT4 作为一个细胞黏附蛋白可影响细胞的迁移运动。国内外对 FAT 家族的研究主要集中于 FAT1, 而对 FAT4 研究较少, 目前对于 FAT4 与卵巢恶性肿瘤的研究几乎未见报道。本实验应用免疫组化法比较正常卵巢组织及上皮性卵巢癌组织中 FAT4 表达, 及其与临床病理特征间的联系; FAT4 体外干预对上皮性卵巢癌细胞增殖和侵袭力的影响, 以探讨上皮性卵巢癌发生发展与 FAT4 表达的相关性。

1 材料与方法

1.1 病例资料及试剂 选取 2016 年 1 月 ~ 2018 年 12 月在安徽医科大学第一附属医院病理确诊上皮性卵巢癌的石蜡标本 60 例 (患者术前均未行放疗或生物治疗), 分为实验组及对照组。实验组: 年龄 48 ~ 55 (52.21 ± 2.82) 岁, 其中 I ~ II 期 18 例, III ~ IV 期 42 例。卵巢肿瘤按照 WHO 组织学分级标准分为: 浆液性腺癌 25 例, 黏液性腺癌 27 例,

2019-07-29 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81603138); 安徽省中央引导地方科技发展专项项目 (编号: 2017070802D149)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院妇产科, 合肥 230022

作者简介: 陈 颖, 女, 硕士, 主治医师;

肖 兰, 女, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: emma_02000@163.com

tect the activation of intracellular signaling pathway and the expression of early growth response protein 1 (EGR1). The EGR1 siRNA was transfected to inhibit the expression and observed the effect of IGF-1 on the migration and invasion of HCC cells. **Results** IGF-1 could promote the migration and invasion of HCC cell lines in a dose-dependent manner. IGF-1 increased the phosphorylation levels of IGF1R, AKT and ERK in HCC cells without significant changes in total expression, and the protein and mRNA expression of EGR1 also increased with the increase of IGF-1 concentration. After the expression of EGR1 decreased by siRNA, IGF-1 significantly reduced the migration and invasion ability of cells. **Conclusion** The migration and invasion of IGF-1 induced HCC cell line is mediated by EGR1.

Key words hepatocellular carcinoma; insulin-like growth factor-1; early growth response protein 1; cell migration and invasion