

论著

文章编号:1000-5404(2013)13-1388-06

S100A4上调表达对HBL-100和MCF-7细胞增殖和侵袭的影响

黎玉叶,孙双双,邹正渝,叶立伟,段亮,武睿,陈娴,杨霞,罗进勇,周兰 (400016 重庆,重庆医科大学医学检验系临床检验诊断学教育部重点实验室)

[摘要] 目的 探讨S100A4对人乳腺上皮细胞HBL-100和人乳腺癌细胞MCF-7的增殖、迁移、侵袭和凋亡以及对这两种细胞中的Wnt/ β -catenin及Wnt/JNK信号途径的影响。方法 用表达S100A4的重组腺病毒(AdS100A4)感染细胞,采用MTT、划痕愈合实验、Transwell侵袭实验和Hoechst染色分别检测细胞增殖、迁移、侵袭和凋亡活性的变化;同时通过PCR和Western blot检测S100A4对两种细胞中Wnt/ β -catenin及Wnt/JNK信号途径的影响。结果 (1)HBL-100和MCF-7细胞在第4天的增殖分别增加53.3%和59.1% ($P < 0.05$);24 h的划痕愈合率分别增加73.6%和64.8% ($P < 0.05$);S100A4对HBL-100的穿膜细胞数无明显影响 ($P > 0.05$),但使MCF-7的穿膜细胞数增加1倍 ($P < 0.05$);HBL-100和MCF-7细胞在48 h的凋亡率分别减少约30%和36% ($P < 0.05$);(2)感染AdS100A4后的HBL-100和MCF-7细胞中 β -catenin较GFP组分别增加49%和55% ($P < 0.05$);尽管两种细胞中t-GSK3 β 无显著改变,但是其p-GSK3 β 却较GFP组分别增加73%和55% ($P < 0.05$),c-Myc的表达量分别增加38%和30% ($P < 0.05$);(3)S100A4对HBL-100中的t-JNK、p-JNK和c-Fos的mRNA以及MCF-7细胞的t-JNK的水平均无影响,但是,却致MCF-7中的p-JNK增加39% ($P < 0.05$),c-Fos的mRNA增加32.3% ($P < 0.05$)。结论 S100A4可促进HBL-100和MCF-7细胞的增殖、迁移,并抑制这两种细胞的凋亡;增强MCF-7细胞的侵袭能力。S100A4可增强HBL-100和MCF-7细胞中的Wnt/ β -catenin信号途径活性以及MCF-7细胞中的Wnt/JNK信号途径活性。

[关键词] S100A4;乳腺癌;细胞行为;Wnt信号途径

[中图分类号] R394.2; R730.23; R737.9

[文献标志码] A

Effects of S100A4 up-regulation on cell proliferation and invasion of HBL-100 and MCF-7 cell lines

Li Yuye, Sun Shuangshuang, Zou Zhengyu, Ye Liwei, Duan Liang, Wu Rui, Chen Xian, Yang Xia, Luo Jinyong, Zhou Lan (Key Laboratory of Laboratory Medical Diagnostics of Ministry of Education, College of Medical Laboratory, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of S100A4 on the proliferation, migration, invasion and apoptosis of HBL-100 and MCF-7 cell lines, and to explore the effects of S100A4 on Wnt/ β -catenin signaling pathway and Wnt/JNK signaling pathway in the two cell lines. **Methods** The recombinant retrovirus that carries human S100A4 gene (AdS100A4) was used to infect HBL-100 and MCF-7 cells, and the retrovirus carrying GFP (AdGFP) was used as control. The effects of S100A4 on the proliferation, migration, invasion and apoptosis of HBL-100 and MCF-7 cells were detected by MTT assay, wound healing assay, Transwell invasion assay and Hoechst staining, respectively. The effects of S100A4 on the activities of Wnt/ β -catenin signaling pathway and Wnt/JNK signaling pathway were detected by PCR and Western blotting. **Results** (1) The activities of cell proliferation were increased by 53.3% and 59.1% at 4 d after infection for HBL-100 and MCF-7 cells, respectively ($P < 0.05$), and the wound healing rates were increased by 73.6% and 64.8%, respectively at 24 h after infection ($P < 0.05$). Compared with the AdGFP group, the number of transmembrane HBL-100 cells had no significant difference ($P > 0.05$), but the number of transmembrane MCF-7 cells was doubled ($P < 0.05$). The apoptotic rates of HBL-100 and MCF-7 cells at 48 h after infection were decreased by about 30% and 36%, respectively ($P < 0.05$). (2) Compared with the AdGFP group, the β -catenin level in HBL-100 and MCF-7 cells was increased by 49% and 55%, respectively ($P < 0.05$), the c-Myc level increased by 38% and 30%, respectively ($P < 0.05$), and the p-GSK3 β level were increased by 73% and 55%, respectively ($P < 0.05$), with no significant change of t-GSK3 β level. (3) The mRNA levels of t-JNK, p-JNK and c-Fos in HBL-100 cells as well as the mRNA level of t-JNK in MCF-7 cells did not change

after infection ($P > 0.05$), but the mRNA levels of p-JNK and c-Fos were increased by 39% and 32.3% in HBL-100 and MCF-7 cells, respectively ($P < 0.05$). **Conclusion** (1) S100A4 can promote cell proliferation and migration, and inhibit apoptosis in HBL-100 and MCF-7 cell lines. (2) S100A4 can promote invasion of MCF-7 cell lines. (3) S100A4 can enhance the activities of Wnt/ β -catenin signaling pathway in HBL-100 and MCF-7 cells as wells as the activity of Wnt/JNK signaling pathway in MCF-7 cells.

[**Key words**] S100A4; breast cancer; cell behavior; Wnt signaling pathway

Corresponding author: Zhou Lan, E-mail: zhoulan0111@foxmail.com

乳腺癌是威胁妇女健康的主要疾病之一,研究发现 S100A4 与乳腺癌的发生、发展有紧密联系,它的表达与患者预后呈负相关^[1]。Wnt 信号途径的异常与肿瘤的发生、发展有密切的联系,在乳腺癌中也存在该途径的异常^[2]。Wnt 信号途径包括 Wnt/ β -catenin 经典途径和不依赖 β -catenin 的非经典 Wnt 途径。 β -catenin 是经典途径中的关键分子,它可以被其降解复合物(由 APC、Axin、GSK-3 β 等组成)磷酸化而降解。当 Wnt 途径激活后, β -catenin 降解复合物解体,胞浆中 β -catenin 集聚,进而入核与转录因子结合启动下游靶基因(如:c-Myc)的转录^[3];Wnt/c-Jun NH2-terminal kinases (JNK)途径是非经典 Wnt 途径的重要支路,活化的 JNK 可以磷酸化 AP-1 家族蛋白而发挥作用。同时,已经发现 Wnt 途径与 S100A4 在结直肠癌中有密切联系^[4]。为探讨 S100A4 对乳腺癌增殖、迁移、侵袭、凋亡及上述 2 个信号途径的影响,本研究选用携带 S100A4 基因的重组腺病毒(AdS100A4)感染人乳腺上皮细胞 HBL-100 和人乳腺癌上皮细胞 MCF-7,以探明 S100A4 对这 2 种细胞的生物学作用,以期为乳腺癌发生、发展机制的阐明和临床诊治新策略的发现提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞、培养基以及病毒载体 人乳腺上皮细胞 HBL-100 以及人乳腺癌上皮细胞 MCF-7 购自中国科学院典藏培养物保藏委员会细胞库,均用含 10% FBS 的 DMEM 高糖培养基培养。AdS100A4 及其对照腺病毒(AdGFP)由芝加哥大学何通川教授馈赠。

1.1.2 主要试剂 S100A4、 β -actin、 β -catenin、c-Myc、总的 GSK3 β 以及磷酸化的 GSK3 β 的一抗均购自 Santa Cruz,总的以及磷酸化的 JNK 一抗购自 Cell Signal,基质胶 ECM、MTT、DMSO 购自 Sigma,Hoechst 试剂购自北京晶美公司,Millicell 小室购自 Millipore,磷酸酶抑制剂和蛋白酶抑制剂均购自 Roche,引物均由 TaKaRa 合成,具体见表 1。

表 1 基因引物序列片段大小

基因	引物序列	片段大小
人 S100A4	上游:5'- TCAGAACTAAAGGAGCTGCTGACC -3'	210 bp
	下游:5'- TTTCTCTCTGGGCTGCTTATCTGG -3'	
人 c-Fos	上游:5'-CCGGTGCTCACCTGTAC-3'	190 bp
	下游:5'-AGGAAGGCTCATTGCTG-3'	
人 GAPDH	上游:5'-CAGCGACACCCACTCTC-3'	120 bp
	下游:5'-TGAGGTCCACCACCTGT-3'	

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和分组 HBL-100 和 MCF-7 用完全培养基(含 10% 胎牛血清,青霉素、链霉素各 50 U/L 的 DMEM 高糖培养基)培养,置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 饱和湿度孵箱中,隔天换液,对数生长期传代。实验分组:①空白组(Blank);②AdGFP 实验对照组(GFP 组);③AdS100A4 实验组(S100A4 组)。实验均重复 3 次。

1.2.2 AdS100A4 在 HBL-100 和 MCF-7 细胞中的表达鉴定

提取各组细胞总 RNA,通过 RT-PCR 检测并比较各组 S100A4 mRNA 水平。

1.2.3 MTT 法检测 S100A4 对 HBL-100 和 MCF-7 细胞增殖的影响 常规培养的 HBL-100、MCF-7 细胞,用 0.25% 胰蛋白酶消化,制成单细胞悬液,再以 1 000 个/孔将之接种于 96 孔板中,补齐培养基至 200 μ L。8 h 后加入相应腺病毒进行实验干预,24 h 时感染效率约 30% 的孔再继续培养,此时记为 0 d。在 1~4 d 相应的时间点加入 MTT 试剂,测定波长 492 nm 处的光密度值[$D(492)$],以此指征两种细胞的增殖活性,每组均设置 5 个复孔。

1.2.4 划痕愈合实验检测 S100A4 对 HBL-100 和 MCF-7 细胞迁移能力的影响 划痕愈合分析:接种适量的 HBL-100 和 MCF-7 细胞于 6 孔板中,待细胞融合度达到 70% 左右时,加入病毒处理,24 h 时感染效率在 30% 左右的细胞培养孔用无菌笔芯划“十”字痕,PBS 洗涤飘浮细胞,更换成 1% FBS 的培养基,此时记为 0 h,拍照“十”字痕;继续培养细胞,分别于 12 h 和 24 h 再在相同位置拍照,最后测量多个点的划痕宽度来计算划痕愈合率。

划痕愈合率 = (0 h 划痕宽度 - 12 h 或 24 h 划痕宽度) / 0 h 划痕宽度 \times 100%

1.2.5 Transwell 侵袭实验检测 S100A4 对 HBL-100 和 MCF-7 细胞侵袭能力的影响 用无血清的 DMEM 培养基以 1:8 的比例稀释 ECM 基质胶,取 34 μ L 小心加于 Transwell 小室底部的微孔膜上,紫外照射过夜。将病毒感染的 HBL-100 和 MCF-7 细胞用 0.25% 胰蛋白酶消化制成单细胞悬液,加 10 000 个于 Transwell 小室中,下室加入 600 μ L 含 20% FBS 的完全培养基,将细胞培养板放入细胞培养箱,24 h 后取出小室,用棉签擦去微孔膜上层未穿过去的细胞,风干,无水乙醇固定 20 min,HE 染色。显微镜下照相,镜下随机选取 5 个视野计数穿膜细胞数,取平均值代表细胞的迁移能力。

1.2.6 Hoechst 染色法检测 S100A4 对 HBL-100 和 MCF-7 细胞凋亡的影响 将对数生长期的 HBL-100 和 MCF-7 细胞以每孔 5 000 个接种于 24 孔板中,每孔加入 500 μ L 完全培养基,待细胞贴壁后加入病毒处理,24 h 的病毒感染效率约为 30%,此

时记为凋亡检测开始的0 h,分别于0、24、48 h取出一块24孔板,吸弃上清,PBS洗2次,加入1:1 000稀释的Hoechst染液200 μL,37℃孵箱放置10 min,PBS洗2次,荧光显微镜下采用紫外光观察染色效果,每孔选择3个视野,每视野计数300个细胞,计算凋亡率。

凋亡率 = 凋亡细胞数 / 细胞总数 × 100%

1.2.7 RT-PCR与Western blot鉴定S100A4对HBL-100和MCF-7细胞中Wnt/β-catenin及Wnt/JNK信号途径的影响

提取各组细胞的总RNA和总蛋白,通过RT-PCR及Western blot检测S100A4对细胞中β-catenin mRNA、β-catenin蛋白、p-GSK3β和c-Myc以及p-JNK和c-Fos mRNA的影响。

1.3 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 12.0统计软件进行单因素方差分析。

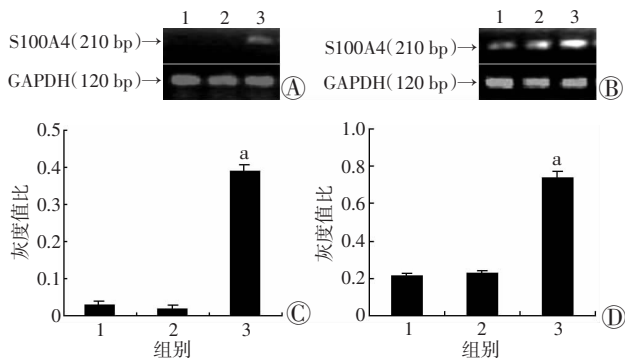
2 结果

2.1 AdS100A4能够有效上调S100A4在HBL-100和MCF-7细胞中的表达

PCR电泳结果(图1A~D)显示,就S100A4的内源性表达,MCF-7细胞明显高于HBL-100细胞;经AdS100A4感染的HBL-100和MCF-7细胞中的S100A4 mRNA分别较相应的GFP组增加14倍和3倍($P < 0.05$),而空白组与GFP组之间的差异均无统计学意义($P > 0.05$);Western blot结果(图2A~D)显示:经AdS100A4感染的HBL-100和MCF-7细胞中的S100A4蛋白水平分别较相应的GFP组增加13倍和4.3倍($P < 0.05$),而空白组与GFP组之间的差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结果提示,AdS100A4感染这两种细胞后,其所携带的S100A4基因可以在这些细胞中成功表达。因此,该干预工具可用于后续的实验研究。

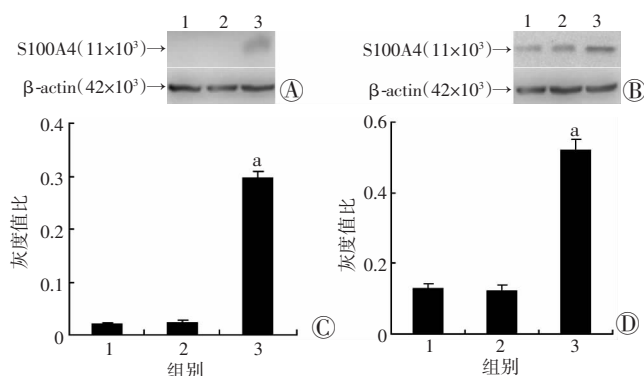
2.2 S100A4促进HBL-100和MCF-7细胞的增殖

MTT结果显示:经AdS100A4感染的HBL-100细胞在第4天的D(492)值为0.46,较GFP组的0.30增加53.3%($P < 0.05$);经AdS100A4感染的MCF-7细胞,其第3.4天的D(492)值分别为0.48和0.70,较相应GFP组增加65.5%和59.1%,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。2种细胞GFP组和空白组在各时间点的D(492)值差异均无统计学意义($P > 0.05$)。提示S100A4可增强HBL-100和MCF-7细胞的增殖能力。



A, B: RT-PCR 检测结果; C, D: 半定量分析 1: 空白组; 2: GFP 组; 3: S100A4 组 a: $P < 0.05$, 与空白组和 GFP 组比较

图1 RT-PCR检测AdS100A4携带的S100A4基因在HBL-100(A,C)和MCF-7(B,D)细胞中的表达

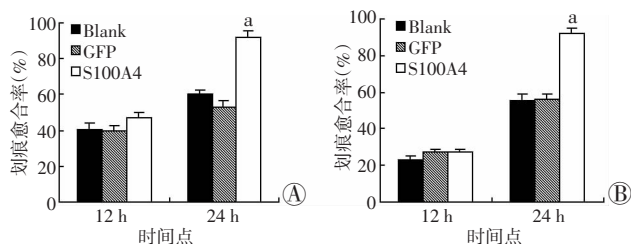


A, B: Western blot 检测结果; C, D: 半定量分析 1: 空白组; 2: GFP 组; 3: S100A4 组 a: $P < 0.05$, 与空白组和 GFP 组比较

图2 Western blot检测AdS100A4携带的S100A4基因在HBL-100(A,C)和MCF-7(B,D)细胞中的表达

2.3 S100A4促进HBL-100和MCF-7细胞的迁移

划痕愈合实验(图3)显示:各组在12 h的愈合率差异无统计学意义($P > 0.05$)。24 h时,S100A4组的HBL-100细胞和MCF-7细胞的划痕愈合率分别为92%和92.3%,分别较各自的GFP组增加73.6%和64.8%,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。2种细胞的GFP组与空白组各时间点的愈合率差异无统计学意义($P > 0.05$)。提示S100A4可增强HBL-100和MCF-7的迁移能力。



a: $P < 0.05$, 与 GFP 组比较

图3 S100A4促进HBL-100(A)和MCF-7(B)细胞的迁移能力

2.4 S100A4对HBL-100和MCF-7细胞的侵袭能力影响

Transwell实验显示:经AdS100A4处理的HBL-100的穿膜细胞数为5,与GFP组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);经AdS100A4处理的MCF-7细胞穿膜细胞数为50,为GFP组的2倍,差异有统计学意义($P < 0.05$);两种细胞的GFP组与空白组之间的穿膜细胞数的差异无统计学意义($P > 0.05$)。提示S100A4对HBL-100细胞的侵袭能力无明显影响,但是它可增强MCF-7细胞的侵袭能力。

2.5 S100A4抑制HBL-100和MCF-7细胞的凋亡

Hoechst染色(图4,5)显示:经AdS100A4处理的HBL-100和MCF-7细胞的24 h凋亡率与各自的GFP组间无显著性差异($P > 0.05$)。HBL-100细胞的48 h凋亡率为8.9%,较GFP组的12.7%显著降低($P < 0.05$);MCF-7细胞的48 h凋亡率为8.8%,较GFP组的13.7%显著降低($P < 0.05$);两种细胞GFP组与空白组之间在48 h的凋亡率均无显著性差异($P > 0.05$)。提示S100A4可以抑制这两种细胞的凋亡。

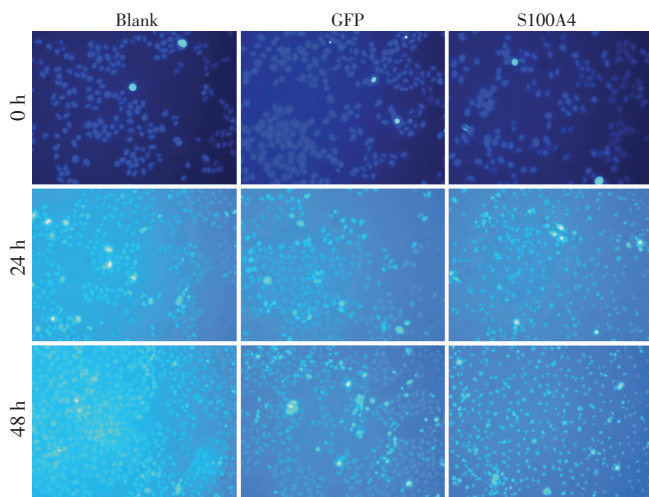


图4 S100A4抑制HBL-100的凋亡 (Hoechst ×100)

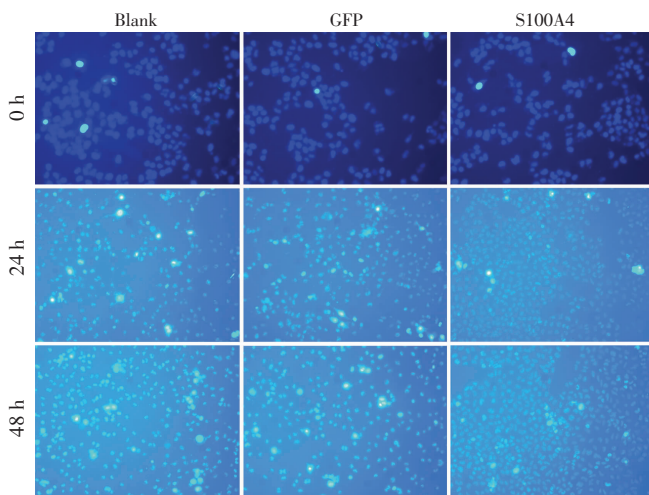
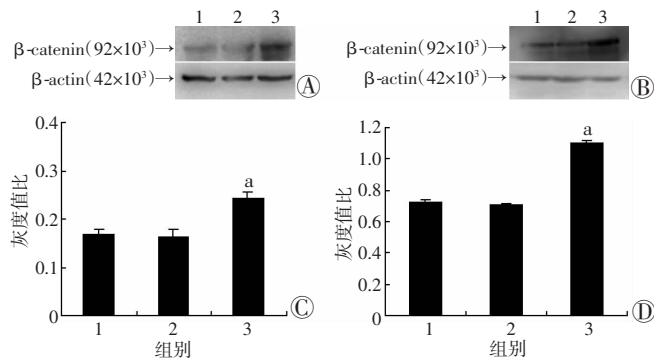


图5 S100A4抑制MCF-7细胞的凋亡 (Hoechst ×100)

2.6 S100A4增强HBL-100和MCF-7中的Wnt/ β -catenin信号途径活性

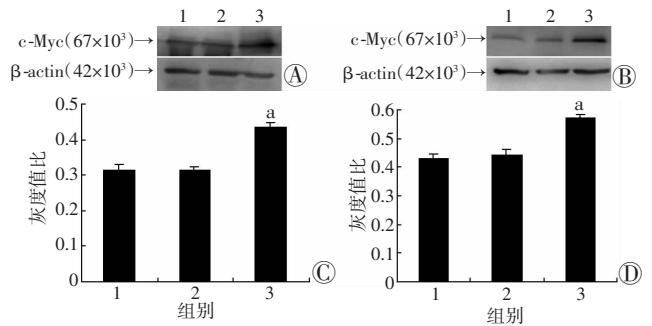
AdS100A4处理HBL-100和MCF-7细胞后 β -catenin较GFP组分别增加49%和55% ($P < 0.05$); GFP组与空白组之间的差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图6。提示S100A4可以增高HBL-100和MCF-7细胞中的 β -catenin水平。



A、B: Western blot 检测结果; C、D: 半定量分析 1: 空白组; 2: GFP组; 3: S100A4组 a: $P < 0.05$, 与 GFP 组比较

图6 S100A4上调HBL-100(A、C)和MCF-7(B、D)细胞中 β -catenin的水平

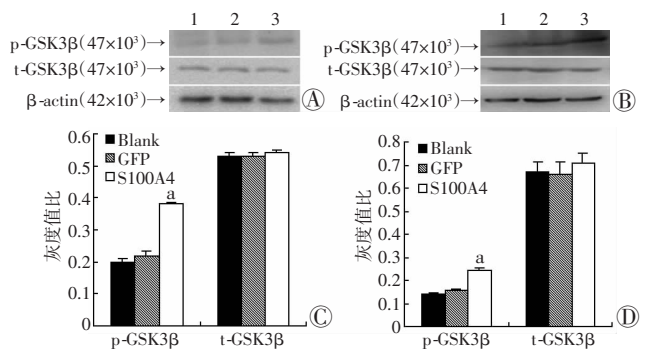
AdS100A4的干预不仅导致细胞 β -catenin水平增高,同时有Wnt/ β -catenin信号途径的经典靶基因产物c-Myc的水平上调,见图7。AdS100A4干预后的HBL-100和MCF-7细胞的c-Myc蛋白较相应GFP组分别增加38%和30% ($P < 0.05$); 两种细胞的GFP组与空白组之间的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。



A、B: Western blot 检测结果; C、D: 半定量分析 1: 空白组; 2: GFP组; 3: S100A4组 a: $P < 0.05$, 与 GFP 组比较

图7 S100A4促进HBL-100(A、C)和MCF-7(B、D)细胞中c-Myc的表达

β -catenin水平的增加多是因为其降解减少所致。本实验分析AdS100A4处理的HBL-100和MCF-7细胞中总的GSK3 β 及其磷酸化水平,以探讨 β -catenin上调的可能机制。S100A4对总的GSK3 β 水平无明显影响,但却使p-GSK3 β 分别较相应的GFP组增加73%和55% ($P < 0.05$); 2种细胞的GFP组与空白组之间的差异均无显著性 ($P > 0.05$)。见图8。提示: S100A4可以促进HBL-100和MCF-7细胞中GSK3 β 的磷酸化,并因此致 β -catenin降解复合体的功能即磷酸化 β -catenin的能力降低,终致 β -catenin水平增加。

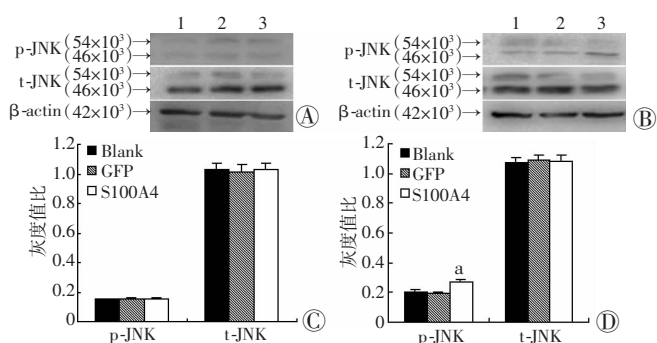


A、B: Western blot 检测结果; C、D: 半定量分析 1: 空白组; 2: GFP组; 3: S100A4组 a: $P < 0.05$, 与 GFP 组比较

图8 S100A4增加HBL-100(A、C)和MCF-7(B、D)细胞中GSK3 β 的磷酸化

2.7 S100A4对HBL-100和MCF-7细胞中Wnt/JNK信号途径的影响

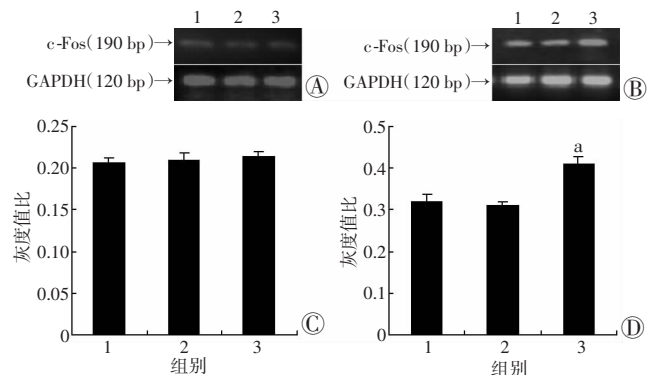
经AdS100A4处理后的HBL-100中的t-JNK和p-JNK均与GFP组无显著性差异 ($P > 0.05$); 而经AdS100A4处理后的MCF-7细胞中,虽然t-JNK无明显变化,但是p-JNK较GFP组增加39% ($P < 0.05$); 两细胞的GFP组与空白组之间t-JNK和p-JNK的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图9。提示: S100A4对HBL-100细胞中的JNK活性无明显影响,但是可增加MCF-7细胞中的JNK活性。



A, B: Western blot 检测结果; C, D: 半定量分析 1: 空白组; 2: GFP 组; 3: S100A4 组 a: $P < 0.05$, 与 GFP 组比较

图9 S100A4 对 HBL-100 (A, C) 和 MCF-7 (B, D) 细胞中 JNK 磷酸化水平的影响

经 AdS100A4 处理的 HBL-100 细胞中 JNK 效应蛋白 c-Fos 较 GFP 组无显著性改变 ($P > 0.05$), 而经 AdS100A4 处理的 MCF-7 细胞中 c-Fos 则较 GFP 组增加 32.3% ($P < 0.05$); 两细胞的 GFP 组与空白组的 c-Fos 的差异无显著性 ($P > 0.05$)。见图 10。提示 S100A4 对 HBL-100 细胞中 c-Fos 的转录无影响, 但是可增加其在 MCF-7 中的转录。



A, B: RT-PCR 检测结果; C, D: 半定量分析 1: 空白组; 2: GFP 组; 3: S100A4 组 a: $P < 0.05$, 与 GFP 组比较

图10 S100A4 对 HBL-100 (A, C) 和 MCF-7 (B, D) 细胞中 c-Fos 的 mRNA 水平的影响

3 讨论

S100A4 的增加可以促进人肺动脉平滑肌细胞增殖^[5]; 抑制 SW620 结肠癌细胞中的 S100A4 表达后, 可以明显减弱其细胞增殖^[6]。本研究结果也发现 S100A4 能促进 HBL-100 和 MCF-7 细胞的增殖, 与以上研究结果相符。但是也有研究者指出干扰胰腺癌细胞 BxPC-3 的 S100A4 表达后, 细胞的增殖无明显改变^[7], 这可能是细胞种类不同导致的不同结果。

细胞骨架的重排在细胞运动中有重要作用。研究发现 S100A4 与肌动蛋白等细胞骨架成分有相互作用^[8], 这可能是其刺激细胞迁移的机制所在。在实验过程中我们发现加入 AdS100A4 处理后的 HBL-100 和 MCF-7 细胞形态均有所改变, 我们猜测在这 2 种细胞中 S100A4 可能通过重排细胞骨架而促进它们的迁移, 此假设有待进一步验证。

S100A4 通过增加 MMP-13 的表达而增强 MDA-MB-231 细胞的侵袭能力^[9], 抑制 S100A4 的表达能明显抑制胰腺癌细胞 BxPC-3 的侵袭力^[7]; 但是也有研究称 S100A4 对鼠乳腺癌细胞系 CSML0 的侵袭能力无影响^[10]。在本研究中发现 S100A4 可以促进 MCF-7 的侵袭能力但是不影响 HBL-100 的侵袭, 这可能是 S100A4 通过增强 MCF-7 细胞中的 JNK 信号途径活性而诱导其分泌 MMPs 导致的。

S100A4 可以与 P53 的四聚化区域结合, 导致其处于低聚状态, 通过这一结合可以干扰 P53 生理功能的发挥; 它还可以下调凋亡基因 Bax 的转录^[11]; 它还可以通过调节 αv 和 $\alpha 5$ 的整合而抑制胃癌细胞凋亡^[12], 本研究发现 S100A4 可以抑制 HBL-100 和 MCF-7 细胞的凋亡, 这一结果可能是通过以上作用来实现的, 有待后续验证。

S100A4 在结肠癌细胞中与 β -catenin 有密切联系^[13], 卡西霉素通过抑制 Wnt/ β -catenin 途径而抑制 S100A4 在结肠癌细胞中的表达^[14]; 但是在某些上皮性癌中有 Wnt 活性的增高, 而 S100A4 的水平却很低^[15]。本研究结果显示: 经 AdS100A4 处理细胞后, β -catenin 的蛋白水平有所增高, 接着从降解复合物重要成分 GSK3 β 入手, 通过检测 GSK3 β 的磷酸化水平, 发现 S100A4 可以增加它的磷酸化水平, 从而抑制其磷酸化 β -catenin 活性, 减少其降解, 从而导致其胞内水平升高, 信号途径激活, 终致其靶基因 c-Myc 表达上升^[3], 在本研究中发现 S100A4 可以增强 Wnt/ β -catenin 信号途径的活性, 与 Sack 等^[4]的结果不一致, 我们认为这可能是 S100A4 与 Wnt/ β -catenin 途径之间存在相互作用的缘故, 该相互作用形成一个正反馈效应, 从而促进肿瘤的发生、发展, 明确的结论尚待进一步研究。

多西紫杉醇可以抑制 JNK 途径而降低肺癌细胞 CL1-5 中 MMP-2 的表达, 从而降低细胞的侵袭能力^[16]; Nasrazadani 等^[17]发现 JNK2 可以促进鼠乳腺肿瘤的转移, 以上表明 JNK 活性与肿瘤的转移有密切联系。本研究发现 S100A4 可以增强 Wnt/JNK 信号途径活性, 对比发现增强的 JNK 活性可能与 MCF-7 细胞的侵袭能力增强相关, 与以上结果基本相符。

本研究发现 S100A4 对乳腺癌具有促进性作用, 其机制可能涉及 Wnt/ β -catenin 以及 Wnt/JNK 信号途径活性的上调。提示, S100A4 可能是一个潜在的乳腺癌治疗靶点, 尚待进一步验证。

参考文献:

- [1] Ismail N I, Kaur G, Hashim H, et al. S100A4 overexpression proves to be independent marker for breast cancer progression [J]. Cancer Cell Int, 2008, 8: 12.
- [2] Howe L R, Brown A M. Wnt signaling and breast cancer [J]. Cancer Biol Ther, 2004, 3(1): 36-41.
- [3] He T C, Sparks A B, Rago C, et al. Identification of c-MYC as a target of

- the APC pathway[J]. *Science*, 1998, 281(5382): 1509-1512.
- [4] Sack U, Walther W, Scudiero D, et al. S100A4-induced cell motility and metastasis is restricted by the Wnt/ β -catenin pathway inhibitor calcimycin in colon cancer cells[J]. *Mol Biol Cell*, 2011, 22(18): 3344-3354.
- [5] Dempsey Y, Nilsen M, White K, et al. Development of pulmonary arterial hypertension in mice over-expressing S100A4/Mts1 is specific to females[J]. *Respir Res*, 2011, 12: 159.
- [6] Huang L, Xu Y, Cai G, et al. Downregulation of S100A4 expression by RNA interference suppresses cell growth and invasion in human colorectal cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2012, 27(4): 917-922.
- [7] Li N, Song M M, Chen X H, et al. S100A4 siRNA inhibits human pancreatic cancer cell invasion *in vitro* [J]. *Biomed Environ Sci*, 2012, 25(4): 465-470.
- [8] Chen H, Fernig D G, Rudland P S, et al. Binding to intracellular targets of the metastasis-inducing protein, S100A4 (p9Ka) [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 286(5): 1212-1217.
- [9] Wang L, Wang X, Liang Y, et al. S100A4 promotes invasion and angiogenesis in breast cancer MDA-MB-231 cells by upregulating matrix metalloproteinase-13[J]. *Acta Biochim Pol*, 2012, 59(4): 593-598.
- [10] Ford H L, Salim M M, Chakravarty R, et al. Expression of Mts1, a metastasis-associated gene, increases motility but not invasion of a nonmetastatic mouse mammary adenocarcinoma cell line[J]. *Oncogene*, 1995, 11(10): 2067-2075.
- [11] Schmidt-Hansen B, Klingelhofer J, Grum-Schwensen B, et al. Functional significance of metastasis-inducing S100A4 (Mts1) in tumor-stroma interplay[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(23): 24498-24504.
- [12] Shen W, Chen D, Fu H, et al. S100A4 protects gastric cancer cells from anoikis through regulation of α v and α 5 integrin[J]. *Cancer Sci*, 2011, 102(5): 1014-1018.
- [13] Stein U, Arlt F, Walther W, et al. The metastasis-associated gene S100A4 is a novel target of beta-catenin/T-cell factor signaling in colon cancer[J]. *Gastroenterology*, 2006, 131(5): 1486-1500.
- [14] Sack U, Walther W, Scudiero D, et al. S100A4-induced cell motility and metastasis is restricted by the Wnt/ β -catenin pathway inhibitor calcimycin in colon cancer cells[J]. *Mol Biol Cell*, 2011, 22(18): 3344-3354.
- [15] Li Y, Liu Z L, Zhang K L, et al. Methylation-associated silencing of S100A4 expression in human epidermal cancers[J]. *Exp Dermatol*, 2009, 18(10): 842-848.
- [16] Deng Y T, Lin J K. EGCG inhibits the invasion of highly invasive CL1-5 lung cancer cells through suppressing MMP-2 expression *via* JNK signaling and induces G2/M arrest[J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(24): 13318-13327.
- [17] Nasrazadani A, Van-Den-Berg C L. c-Jun N-terminal Kinase 2 Regulates Multiple Receptor Tyrosine Kinase Pathways in Mouse Mammary Tumor Growth and Metastasis[J]. *Genes Cancer*, 2011, 2(1): 31-45.
- (收稿:2012-11-07;修回:2013-01-30)
(编辑 汪勤俭)

文章编号:1000-5404(2013)13-1393-01

个案与短篇

原发性甲状旁腺亢进骨改变致延误诊2例分析

杜明珊,陈伟 (400038 重庆,第三军医大学西南医院放射科)

[关键词] 甲状旁腺亢进;囊状骨质破坏
[中图分类号] R736.2 [文献标志码] B

1 临床资料

病例1:男性,24岁,以右侧股骨骨质破坏待查于2012年1月31日入院,入院后行右股骨病变穿刺活检术,病理提示:右大腿软组织巨细胞肿瘤(考虑恶性),遂行右股骨肿瘤的瘤段切除、大段异体股骨移植及内固定术,术后病理提示:右股骨富含巨细胞肿瘤性病变,倾向骨巨细胞瘤,建议进一步检查血钙及甲状旁腺功能,除外甲状旁腺功能亢进所致的骨病变。随后完善相关检查,发现全身骨质疏松(图1),多发骨质呈囊状破坏(图2);实验室检查发现甲状旁腺激素及血钙增高;颈部彩超检查发现甲状腺左叶后方低回声结节,考虑为甲状旁腺腺瘤;甲状腺核显像检查发现甲状腺左叶区域异常高代谢灶,结合病史考虑左甲状旁腺功能亢进,以左甲状旁腺腺瘤可能性大。遂行手术治疗,术中左侧甲状腺下极外侧见一大小约3.0 cm × 2.0 cm × 1.0 cm包块,质地中等,包膜完整、光滑,边界清,术后病理提示左侧甲状旁腺腺瘤,术后复查血钙、血磷及甲状旁腺

素(parathyroid hormone, PTH)均恢复正常后出院。

病例2:男性,42岁,患者以骨关节疼痛为主要症状多次在骨科门诊就诊,一直以退行性关节炎进行治疗,患者症状无好转,且呈进行性加重,随后行多部位X线检查,发现全身骨质疏松,多发囊状骨质破坏,考虑骨肿瘤,进一步行甲状腺核素显像检查发现左侧甲状腺下方异常高代谢灶,诊断为甲状旁腺功能亢进,由腺瘤所致可能性大。入院后完善血生化检查即发现血钙、PTH增高,遂行手术治疗,术中左侧甲状腺上方见直径约4 cm包块,类圆形,包膜亦光滑、完整,术后病理结果提示左侧甲状旁腺腺瘤,术后恢复良好出院。



图1 原发性甲状旁腺亢进骨改变患者骨盆正位X线表现
图2 原发性甲状旁腺亢进骨改变患者股骨侧位X线表现

(下转 1397 页)

[通信作者] 陈伟,电话:(023)68754721, E-mail:landew@hotmail.com
[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130201.1715.007.html> (2013-02-01)