

上调 NDRG1 基因表达对人胰腺癌细胞 MMP-9、VEGF 表达及侵袭 和迁移的影响

刘庆宏 姜琳 孙灿林 焦霞 朱晓蔚 林梅 姚娟 于鸿 黄俊星

【摘要】 目的 建立稳定转染含 N-myc 下游调节基因-1 (NDRG1) 的 SW1990 细胞株, 探讨 NDRG1 对 SW1990 细胞侵袭与迁移能力的影响及其可能的分子机制。方法 经脂质体介导将含有 NDRG1 重组表达质粒转染人胰腺癌细胞株 SW1990, 用 G418 筛选阳性细胞克隆, 逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR) 和 Western blot 鉴定阳性细胞克隆; 采用 RT-PCR 及 Western blot 检测阳性细胞克隆 MMP-9 及 VEGF mRNA 与蛋白表达; 采用 Transwell 小室侵袭实验与划痕实验分别检测细胞侵袭及迁移能力。结果 N17 克隆组、转空载体组及未转染组 NDRG1 mRNA 表达量分别为 0.53 ± 0.25 、 0.26 ± 0.11 、 0.25 ± 0.13 ; 相应的 MMP-9 mRNA 表达量分别为 0.33 ± 0.18 、 0.71 ± 0.45 、 0.76 ± 0.42 ; 相应的 VEGF mRNA 表达量分别为 0.27 ± 0.16 、 0.68 ± 0.36 、 0.69 ± 0.38 ; 相应的 NDRG1 蛋白表达量分别为 0.27 ± 0.13 、 0.11 ± 0.04 、 0.12 ± 0.06 ; 相应的 MMP-9 蛋白表达量分别为 0.12 ± 0.04 、 0.38 ± 0.15 、 0.36 ± 0.14 ; 相应的 VEGF 蛋白表达量分别为 0.15 ± 0.08 、 0.39 ± 0.21 、 0.40 ± 0.25 。较其他组, N17 克隆组 NDRG1 mRNA 及蛋白表达量显著增加 ($P < 0.01$), 而 MMP-9、VEGF mRNA 及蛋白表达量显著降低 ($P < 0.01$)。N17 克隆组、转空载体组及未转染组微孔滤膜外侧细胞数分别为 31.27 ± 11.54 、 58.93 ± 17.23 、 60.26 ± 19.38 , N17 克隆组较其他组微孔滤膜外侧细胞数显著减少 ($P < 0.01$)。N17 克隆组、转空载体组及未转染组细胞迁移距离分别为 51.35 ± 18.24 、 120.68 ± 42.97 、 124.54 ± 51.66 , N17 克隆组较其他组细胞迁移距离显著减少 ($P < 0.01$)。结论 SW1990 细胞 NDRG1 表达上调后, 细胞侵袭和迁移能力受到显著抑制, 其作用机制可能与 MMP-9 及 VEGF 表达降低有关。

【关键词】 基质金属蛋白酶9; 血管内皮生长因子类; 细胞运动; N-myc 下游调节基因-1; 细胞侵袭

Effect of NDRG1 upexpression on invasion and migration of pancreatic cancer cells LIU Qing-hong*, JIANG Lin, SUN Can-lin, JIAO Xia, ZHU Xiao-wei, LIN Mei, YAO Juan, YU Hong, HUANG Jun-xing. *Department of General Surgery, Taizhou People's Hospital, Taizhou 225300, China

Corresponding author: YU Hong, Email: yuhongmiaomiao@163.com

【Abstract】 Objective To evaluate the effect and mechanism of N-Myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1) on invasion and migration of pancreatic cancer cells. **Methods** pcDNA3.0-NDRG1 and pcDNA3.0 were transfected into SW1990 cells through lipofectamine and positive clones were screened by G418. RT-PCR and Western blot were performed to identify mRNA and protein expressions of NDRG1 in SW1990 cells respectively. The expressions of MMP-9 and VEGF in positive clones were detected by RT-PCR and Western blot. The cell invasion and migrating ability were detected by transwell migration assay and wound healing assay. **Results** The mRNA levels of NDRG1, MMP-9 and VEGF in N17 clone, pcDNA3.0 transfected and empty nutrient fluid groups were: NDRG1 0.53 ± 0.25 , 0.26 ± 0.11 , 0.25 ± 0.13 ; MMP-9 0.33 ± 0.18 , 0.71 ± 0.45 , 0.76 ± 0.42 ; VEGF 0.27 ± 0.16 , 0.68 ± 0.36 , 0.69 ± 0.38 , respectively. Accordingly, protein levels were: NDRG1 0.27 ± 0.13 , 0.11 ± 0.04 , 0.12 ± 0.06 ; MMP-9 0.12 ± 0.04 , 0.38 ± 0.15 , 0.36 ± 0.14 ; VEGF 0.15 ± 0.08 , 0.39 ± 0.21 , 0.40 ± 0.25 , respectively. Results showed that both mRNA and protein levels of NDRG1 were significantly increased in positive clone of N17, however the expressions of mRNA and protein of MMP-9 and VEGF were significantly decreased in N17 clone group, compared with the other two groups ($P < 0.01$). The cells that invaded through the

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.14.055

基金项目: 江苏省“333工程”培养资金资助项目(200924); 江苏省自然科学基金资助项目(BK2010357)

作者单位: 225300 江苏省泰州市人民医院普外科(刘庆宏), 麻醉科(姜琳、孙灿林), 病理科(焦霞、朱晓蔚、于鸿), 肿瘤科(林梅、姚娟、于鸿、黄俊星)

通讯作者: 于鸿, Email: yuhongmiaomiao@163.com

basement membrane filter in N17 clone, pcDNA3.0 transfected and control groups were 31.27 ± 11.54 , 58.93 ± 17.23 , 60.26 ± 19.38 . Cell migration was significantly decreased in N17 clone group, compared with other two groups ($P < 0.01$). Distance of cell migrating in N17 clone, pcDNA3.0 transfected and control groups were 51.35 ± 18.24 , 120.68 ± 42.97 , 124.54 ± 51.66 . The distance of cell migrating was significantly decreased in N17 clone group, compared with the other two groups ($P < 0.01$). **Conclusion** Upregulation of NDRG1 expression significant reduced invasion and migrating ability of SW1990 cells, which might be due to the downregulation of the MMP-9 and VEGF expressions in the SW1990 cells.

【Key words】 Matrix metalloproteinase 9; Vascular endothelial growth factors; Cell movement; N-Myc downstream-regulated gene 1; Cell invasion

N-myc 下游调节基因-1(N-myc downstream regulated gene-1, NDRG-1) 是 NDRG 基因家族成员, 目前已克隆的人源 NDRG 基因包括 NDRG1、NDRG2、NDRG3 和 NDRG4, 它们在人体内的组织分布各不相同^[1]。NDRG1 是该家族中最先被克隆并命名的基因, 与细胞增殖、细胞分化、组织器官发育及机体应激反应密切相关, 参与多种肿瘤的发生、发展、转移和血管形成, 多种生理或病理因素可诱导调控 NDRG1 的表达^[2], 但对于 NDRG1 在肿瘤进展过程中的确切功能及其具体机制, 迄今尚不甚明了。为此, 本研究采用脂质体介导的稳定转染, 将 NDRG1 导入人胰腺癌 SW1990 细胞, 获得稳定高表达 NDRG1 的细胞克隆, 观察该转基因细胞克隆侵袭和迁移能力的改变, 并探讨 NDRG1 对 SW1990 细胞生物学特征影响的可能分子机制。

材料和方法

一、主要材料

pcDNA3.0-NDRG1 重组真核表达质粒由日本久留米大学医学部 Maruyama 博士馈赠; 人胰腺癌细胞株 SW1990 由复旦大学附属肿瘤医院中西医结合科刘鲁明教授馈赠; RPMI-1640、无血清培养液 OPTIMEN、胎牛血清、G418、RT-PCR 试剂盒购于美国 Gibco 公司; Trizol 试剂、Lipofectamine 2000 转染试剂盒、Qiagen 试剂盒购自德国 Roche 公司; 二辛可宁酸 (BCA) 蛋白检测试剂盒及 Transwell 小室购于美国 Invitrogen 公司; 鼠抗人 NDRG1、鼠抗人 MMP-9、鼠抗人 VEGF 单克隆抗体及 ECL 化学发光试剂盒购于美国 Santa Cruz 公司; PCR 引物由上海生工生物有限公司合成; 基因测序由上海芯超生物科技有限公司进行。

二、细胞转染及阳性细胞克隆筛选

pcDNA3.0-NDRG1 重组真核表达质粒经常规酶切鉴定^[3], 测序后大量扩增, Qiagen 试剂盒纯化, -20°C 保存备用。SW1990 细胞于 37°C 、5% CO_2 、饱和湿度培养箱及含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中培养, 0.25% 胰蛋白酶消化传代。基因转染采用 Lipofectamine 介导, 阳性克隆用 G418 ($500 \mu\text{g}/\text{ml}$) 筛选, 具体流程参照文献^[4]。以未转染(仅加入 RPMI-1640

培养液) SW1990 细胞及转空载体 pcDNA3.0 SW1990 细胞作为对照。

三、RT-PCR 法及 Western blot 法鉴定稳定高表达 NDRG1 的阳性细胞克隆

RT-PCR 法: 各组细胞生长至亚融合时, 弃完全培养液, TBS 洗 2 次, Trizol 试剂抽提总 RNA, 分光光度计检测 RNA 浓度及纯度, 逆转录成 cDNA, 等量 cDNA 在 PCR 仪上进行扩增反应。其引物序列如下: 内参照 β -actin 上游 5'-GGTCTAGTACAACTCTGG AAGTTGTG-3'; 下游 5'-TGAGAAGGTCGGAAGGAA GGACCCGTA-3', 产物 420 bp。NDRG1 上游 5'-ACTCAA AATTGGACCCAACAAAG-3'; 下游 5'-CTGCTGG GAACAGCGCCGGGCCA-3', 产物 326 bp。PCR 反应条件为 94°C 预变性 5 min, 94°C 变性 30 s, 60°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min, 共 32 个循环。取 $5 \mu\text{l}$ 扩增产物进行 2% 琼脂糖凝胶电泳, 凝胶成像系统扫描条带, 以目的条带与内参 β -actin 条带灰度比值表示 mRNA 相对表达量。每一样本的最后结果为三次独立电泳实验的平均值。

Western blot 法: 各组细胞生长至亚融合时, 弃完全培养液, TBS 洗 2 次, 按本实验室常规方法提取总蛋白^[5], BCA 蛋白检测试剂盒定量, -70°C 保存。取 $20 \mu\text{l}$ 蛋白行 12% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 变性电泳, 恒定电压 100 mV, 电泳 2.5 h, 恒定电流 300 mA 转至硝酸纤维素膜 2.5 h, 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h 后 TBST 漂洗, 鼠抗人 NDRG1 单克隆抗体 (1:200) 4°C 孵育过夜, 含 0.05% 吐温 20 的 TBST 漂洗 3 次, 加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠二抗 (1:5000), 37°C 摇床孵育 1 h, 按 ECL 化学发光试剂盒说明书进行曝光显影。以目的条带与内参 β -actin 条带灰度比值表示蛋白相对表达量。每一样本的最后结果为三次独立电泳实验的平均值。

四、RT-PCR 法与 Western blot 法检测各组细胞 MMP-9 及 VEGF 表达

RT-PCR 法: 取各组细胞, 同上述抽提总 RNA, 进行逆转录及 PCR 反应。PCR 引物如下: MMP-9 上游 5'-GCCGGCAGGATGGCAAGCTCTGGTGTG-3';

下游 5'-ACCTCCACCACTGAGGAGGAGGAGGAG-3', 产物 347 bp。VEGF 上游 5'-ATCTGCGGTGCTTCCC TCATCTCTC-3', 下游 5'-GCCTCCCATGTCTTCCCTG CCGGCA-3', 产物 278 bp。内参照 β -actin 同上。每一样本的最后结果为三次独立电泳实验的平均值。

Western blot 法: 取各组细胞, 具体过程同上述。一抗为鼠抗人 MMP-9 单克隆抗体 (1:200) 及鼠抗人 VEGF 单克隆抗体 (1:200), 二抗为辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠二抗 (1:5000)。每一样本的最后结果为三次独立电泳实验的平均值。

五、细胞侵袭实验

取各组细胞, 用无血清培养液培养 12 h, 调整细胞浓度为 5×10^4 细胞/ml。在 24 孔板培养孔中加入 Transwell 小室, 小室底部由孔径 8 μ m 的微孔滤膜封闭, 滤膜上浮铺 1:5 稀释的人工基底膜。下层培养孔内加含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液, 上层小室内加 100 μ l (含 0.5×10^4 细胞数) 的各组细胞悬液, 继续培养 24 h, 取出上层小室, 90% 乙醇固定, 0.1% 结晶紫溶液染色, 置于倒置显微镜下观察拍照, 随机选取 10 个无重叠低倍视野 ($\times 100$) 对微孔滤膜外侧细胞进行计数, 结果取平均值。

六、细胞迁移能力检测 (划痕实验)

将各组细胞以 1×10^4 细胞/ml 的密度接种于 6 孔板内, 待细胞生长至 80% 融合左右, 换为无血清培养液培养 24 h, 用 200 μ l 的枪头在单层细胞上划痕, 用 PBS 洗一遍, 继续用无血清培养液培养 24 h, 倒置显微镜下, 同一视野内观察并测量 0 h 和 24 h 划痕两侧边缘的距离。实验重复三次, 结果取平均值。

七、统计学分析

所有数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 应用 SPSS 13.0 软件进行统计分析, 采用 One-Way ANOVA 作方差分析后, 组间两两比较使用 Bonferroni's post-hoc 检验。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、阳性细胞克隆鉴定

pcDNA3.0-NDRG1 重组真核表达质粒, 经 EcoR I 和 Xho I 双酶切及 EcoR I 单酶切鉴定, 证明 NDRG1 基因已被正确地重组至 pcDNA3.0 载体中 (图 1)。测序结果显示, 与基因库 (GI:207028746) NDRG1 cDNA 序列一致。转染 pcDNA3.0-NDRG1 的 SW1990 细胞经 G418 筛选 2 周后, 共获得 28 个克隆 (命名为 N1~N28), RT-PCR 和 Western blot 检测结果显示, 与转空载体组及未转染组比较, 其中 N17 克隆稳定高表达 NDRG1 mRNA 及蛋白 (P<0.01), 见图 2, 3, 表 1。以下实验中仅选择 N17 克隆作为实验对象。

表 1 各组细胞 NDRG1 mRNA 及蛋白表达 ($\bar{x} \pm s$, n=3)

组别	NDRG1 mRNA	NDRG1 蛋白
N17 克隆组	0.53 \pm 0.25	0.27 \pm 0.13
转空载体组	0.26 \pm 0.11 ^a	0.11 \pm 0.04 ^a
未转染组	0.25 \pm 0.13 ^a	0.12 \pm 0.06 ^a

注: 与 N17 克隆组比较, ^aP<0.01

二、各组细胞 MMP-9 与 VEGF mRNA 及蛋白的表达

RT-PCR 结果显示, N17 克隆组 MMP-9 mRNA 表达较转空载体组显著降低 (P<0.01), 转空载体组与未转染组间差异无统计学意义 (P>0.05); N17 克隆组 VEGF mRNA 表达较转空载体组显著降低 (P<0.01), 转空载体组与未转染组间差异无统计学意义 (P>0.05)。见图 2, 表 2。

表 2 各组细胞 MMP-9 及 VEGF mRNA 表达 ($\bar{x} \pm s$, n=3)

组别	MMP-9	VEGF
N17 克隆组	0.33 \pm 0.18	0.27 \pm 0.16
转空载体组	0.71 \pm 0.45 ^a	0.68 \pm 0.36 ^a
未转染组	0.76 \pm 0.42 ^a	0.69 \pm 0.38 ^a

注: 与 N17 克隆组比较, ^aP<0.01

Western blot 结果显示, N17 克隆组 MMP-9 蛋白表达较转空载体组显著降低 (P<0.01), 转空载体组与未转染组间差异无统计学意义 (P>0.05); N17 克隆组 VEGF 蛋白表达较转空载体组显著降低 (P<0.01), 转空载体组与未转染组间差异无统计学意义 (P>0.05)。见图 3, 表 3。

表 3 各组细胞 MMP-9 及 VEGF 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s$, n=3)

组别	MMP-9	VEGF
N17 克隆组	0.12 \pm 0.04	0.15 \pm 0.08
转空载体组	0.38 \pm 0.15 ^a	0.39 \pm 0.21 ^a
未转染组	0.36 \pm 0.14 ^a	0.40 \pm 0.25 ^a

注: 与 N17 克隆组比较, ^aP<0.01

三、细胞侵袭实验及细胞迁移能力检测结果

对 Transwell 小室微孔滤膜外侧细胞进行计数后结果显示, 与转空载体组比较, N17 克隆组微孔滤膜外侧细胞数显著减少 (P<0.01), 转空载体组与未转染组间差异无统计学意义 (P>0.05)。见图 4, 表 4。

表 4 各组细胞计数结果 ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	细胞数
N17 克隆组	31.27 \pm 11.54
转空载体组	58.93 \pm 17.23 ^a
未转染组	60.26 \pm 19.38 ^a

注: 与 N17 克隆组比较, ^aP<0.01

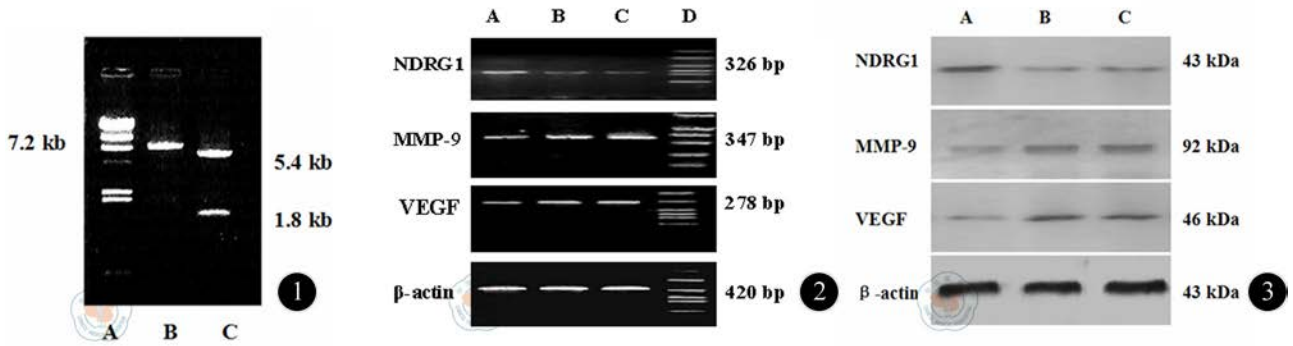


图1 重组真核表达质粒pcDNA3.0-NDRG1酶切鉴定。A: Lambda DNA/HindIII标记物; B: pcDNA3.0-NDRG1经单酶切显示7.2 kb的条带; C: pcDNA3.0-NDRG1经双酶切显示1.8 kb cDNA及7.2 kb质粒载体两条带 图2 RT-PCR法检测各组细胞NDRG1、MMP-9及VEGF mRNA的表达。A: N17克隆组; B: 转空载体组; C: 未转染组; D: DL-2000 DNA标准参照物 图3 Western blot法检测各组细胞NDRG1、MMP-9及VEGF蛋白的表达。A: N17克隆组; B: 转空载体组; C: 未转染组

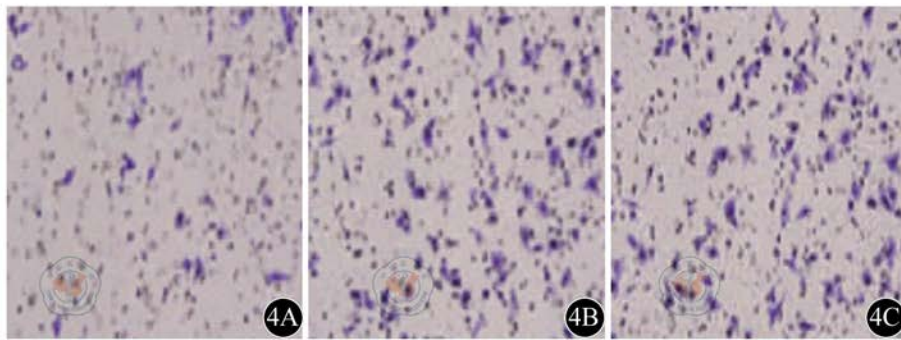


图4 Transwell小室微孔滤膜外侧细胞(结晶紫染色×100)。4A: N17克隆组; 4B: 转空载体组; 4C: 未转染组

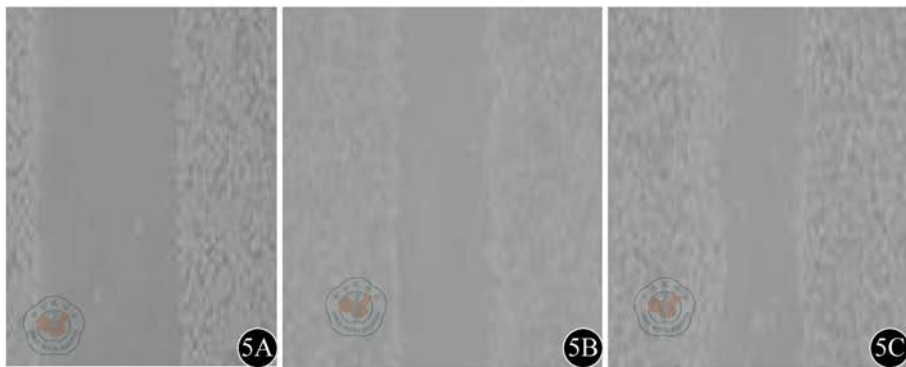


图5 各组细胞划痕实验结果(×40)。5A: N17克隆组; 5B: 转空载体组; 5C: 未转染组

划痕实验结果显示,与转空载体组比较,N17克隆组细胞迁移距离显著减少($P < 0.01$),转空载体组与未转染组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图5,表5。

表5 各组细胞划痕实验迁移距离($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	迁移距离(μm)
N17克隆组	51.35 ± 18.24
转空载体组	120.68 ± 42.97 ^a
未转染组	124.54 ± 51.66 ^a

注:与N17克隆组比较, $P < 0.01$

讨论

研究发现 NDRG1 在多种肿瘤组织及肿瘤细胞株中表达显著降低,NDRG1 基因有望成为一个候选的抑癌基因。Kovacevic 等^[6]报道,上调体外培养的乳腺癌、前列腺癌和膀胱癌细胞内 NDRG1 的表达后,癌细胞的生长受到显著抑制;动物实验结果也显示,将高表达或低表达 NDRG1 的膀胱癌细胞分别种植裸鼠皮下,前者在裸鼠皮下成瘤能力及肝转移发生率较后者明显降低。本实验为探讨 NDRG1 对胰腺癌细胞生物学特

征影响的作用机制,采用脂质体介导将 NDRG1 基因转染 SW1990 细胞,通过 G418 筛选,RT-PCR 和 Western blot 检测结果显示,N17 阳性克隆 NDRG1 mRNA 及蛋白表达均显著高于对照组,该结果证实成功获得稳定高表达 NDRG1 的 N17 阳性细胞克隆。本实验结果还显示,与对照组相比,N17 克隆细胞侵袭和迁移能力显著降低。

大量实验研究证实,基质溶解酶对细胞外基质(ECM)和基底膜的降解和破坏是肿瘤发生侵袭、转移的关键环节之一。MMP-9 作为基质金属蛋白酶系统重要成员,通过降解和破坏细胞外基质中的胶原和蛋白多糖,促进肿瘤内血管的生长及肿瘤的侵袭和转移^[7]。VEGF 是目前已知的血管生成过程中最重要的正向调控因子,促进新生毛细血管的形成,抑制新生血管内皮细胞的凋亡,与多种恶性肿瘤的生长、转移和预后密切相关^[8]。本实验结果显示,与对照组相比,N17 克隆 MMP-9 及 VEGF mRNA 及蛋白表达均显著降低,该结果不仅表明 NDRG1 参与 SW1990 细胞 MMP-9 及 VEGF 的代谢过程,而且提示 NDRG1 抑制胰腺癌细胞侵袭与迁移能力是通过下调 MMP-9 与 VEGF 的表达来实现的。然而,NDRG1 作为一种新的候选抑癌基因,目前对于其抑制胰腺癌的生长、侵袭及转移的作用机制还远未阐明。近几年,研究发现 NDRG1 除了可通过 P53 信号通路抑制肿瘤细胞增殖并促进细胞凋亡,甲基化抑制剂 5-氮杂胞嘧啶核苷、缺氧诱导因子 1 及多种分化调节剂如维甲酸、维生素 D 等也可上调胰腺癌细胞 NDRG1 的表达^[9]。N-myc/NDRG1 信号通路与 ERK、JNK、PKC、MAPK、RAS、AP-1、NF/kappaB 信号通路之间也存在着复杂的交叉及串联^[10]。这些实验结果提示,今后还必须进一步加强研究 N-myc/NDRG1

信号通路与其他信号通路及相关调控因子的相互关系,才可能从本质上阐明 NDRG1 抑制胰腺癌进展的作用机制及其相关调控机制,从而探索出更具有针对性和有效的治疗胰腺癌的方法。

志谢 对复旦大学病理国家重点实验室李慧博士在本文划痕实验及统计学处理方面给予的指导和帮助表示感谢

参 考 文 献

- [1] Tschan MP, Shan D, Laedrach J, et al. NDRG1/2 expression is inhibited in primary acute myeloid leukemia. *Leuk Res*, 2010, 34: 393-398.
- [2] Kim A, Kim MJ, Yang Y, et al. Suppression of NF-kappaB activity by NDRG2 expression attenuates the invasive potential of highly malignant tumor cells. *Carcinogenesis*, 2009, 30: 927-936.
- [3] 于鸿,陈琦,刘晔,等.转染 Smad7 基因的大鼠肾小球系膜细胞对 I、III 型胶原表达的改变. *复旦学报:医学版*, 2008, 35: 436-440.
- [4] Yu H, Zhao G, Li H, et al. Candesartan antagonizes pressure overload-evoked cardiac remodeling through Smad7 gene-dependent MMP-9 suppression. *Gene*, 2012, 497: 301-306.
- [5] 于鸿,叶军,焦霞,等.结缔组织生长因子反义寡核苷酸对胰腺癌细胞基质金属蛋白酶-9、血管内皮生长因子表达及细胞增殖与侵袭的影响[J/CD]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2012, 6: 40-43.
- [6] Kovacevic Z, Sivagurunathan S, Mangs H, et al. The metastasis suppressor, N-myc downstream regulated gene 1 (NDRG1), upregulates p21 via p53-independent mechanisms. *Carcinogenesis*, 2011, 32: 732-740.
- [7] Gondi CS, Rao JS. Therapeutic potential of siRNA-mediated targeting of urokinase plasminogen activator, its receptor, and matrix metalloproteinases. *Methods Mol Biol*, 2009, 487: 267-281.
- [8] Yang F, Jin C, Jiang YJ, et al. Potential role of soluble VEGFR-1 in antiangiogenesis therapy for cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2011, 11: 541-549.
- [9] Zhang AH, Rao JN, Zou T, et al. p53-dependent NDRG1 expression induces inhibition of intestinal epithelial cell proliferation but not apoptosis after polyamine depletion. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, 293: C379-389.
- [10] Said HM, Stein S, Hagemann C, et al. Oxygen-dependent regulation of NDRG1 in human glioblastoma cells in vitro and in vivo. *Oncol Rep*, 2009, 21: 237-246.

(收稿日期: 2013-05-13)

(本文编辑: 戚红丹)

刘庆宏,姜琳,孙灿林,等.上调 NDRG1 基因表达对人胰腺癌细胞 MMP-9、VEGF 表达及侵袭和迁移的影响[J/CD]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2013, 7(14): 6452-6456.