



鸡 TGFβ1 对 MDCC-MSB1 细胞增殖、 凋亡、迁移与侵袭的影响

余祖华¹, 丁 轲^{1*}, 贾艳艳¹, 郁 川¹, 何 雷¹, 廖成水¹, 李 静¹, 张春杰¹,
李银聚¹, 吴庭才¹, 程相朝^{1,2}, 门凯凯¹, 张 瑾¹, 余祖玲¹, 周子誉^{1,3}, 罗 俊^{1,3}

(1. 河南科技大学动物疫病与公共卫生重点实验室, 洛阳市活载体生物材料与动物疫病防控
重点实验室, 洛阳 471023; 2. 洛阳职业技术学院, 洛阳 471003; 3. 河南省农业科学院动物免疫学
重点实验室, 农业部动物免疫学重点实验室, 河南省动物免疫学重点实验室, 郑州 450002)

摘 要: 旨在探讨鸡 TGFβ1 对 MDCC-MSB1 细胞增殖、凋亡、迁移与侵袭的影响。作者将构建的鸡 TGFβ1 过表达载体、干扰表达载体以及相应阴性对照转染 MDCC-MSB1 细胞, 然后检测转染后各组细胞鸡 TGFβ1 的表达水平、细胞增殖能力、细胞周期与凋亡, 细胞的迁移与侵袭能力。结果显示, 与相应阴性对照相比, 转染 TGFβ1 过表达质粒可显著上调 MDCC-MSB1 细胞的 TGFβ1 表达水平, 显著抑制 MDCC-MSB1 细胞的增殖, 且使 G1 期细胞增加, S 和 G2 期细胞减少, 同时增加细胞凋亡率, 降低细胞的迁移与侵袭能力; 转染 TGFβ1 干扰表达质粒可显著下调 MDCC-MSB1 细胞的 TGFβ1 表达水平, 显著促进 MDCC-MSB1 细胞的增殖, G1 期细胞减少, S 和 G2 期细胞增加, 同时降低细胞凋亡率, 增加细胞的迁移与侵袭能力。结果表明, 鸡 TGFβ1 可抑制 MDCC-MSB1 细胞增殖、迁移与侵袭, 促进其凋亡。

关键词: TGFβ1; MDCC-MSB1 细胞; 细胞增殖; 细胞凋亡; 迁移; 侵袭

中图分类号: S858.315.3; Q279; Q255

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2020)10-2567-09

Effect of *Gallus* TGFβ1 on the Proliferation, Apoptosis, Migration and Invasion of MDCC-MSB1 Cells

YU Zuhua¹, DING Ke^{1*}, JIA Yanyan¹, YU Chuan¹, HE Lei¹, LIAO Chengshui¹,
LI Jing¹, ZHANG Chunjie¹, LI Yinju¹, WU Tingcai¹, CHENG Xiangchao^{1,2},
MENG Kaikai¹, ZHANG Jin¹, YU Zuling¹, ZHOU Ziyu¹, LUO Jun^{1,3}

(1. Key Laboratory of Animal Disease and Public Health, Henan University of Science and
Technology, Luoyang Key Laboratory of Live Carrier Biomaterial and Animal Disease
Prevention and Control, Luoyang 471023, China; 2. Luoyang Vocational and Technical
College, Luoyang 471023, China; 3. Key Laboratory of Animal Immunology of Henan
Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Animal Immunology of Ministry of
Agriculture, Key Laboratory of Animal Immunology in Henan Province, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: This study aimed to detect the effect of *Gallus* TGFβ1 on the biological behavior of MDCC-MSB1 cells. MDCC-MSB1 cells were transiently transfected with *Gallus* TGFβ1 overexpression vector, interference expression vector, and the corresponding negative control.

收稿日期: 2020-03-23

基金项目: 国家自然科学基金(31702207, U1504308); 河南科技大学省部级科技创新平台培育项目(2015SPT004)

作者简介: 余祖华(1977-), 女, 河南商城人, 副教授, 博士, 主要从事动物分子免疫学研究, E-mail: yzhd05@163.com

* 通信作者: 丁 轲, 主要从事动物分子免疫学研究, E-mail: keding19@163.com

Then, the expression of *Gallus* TGF β 1, the cell proliferation, the cell cycle and apoptosis, the migration and invasion of each transfection groups were examined. Results showed that compared with the corresponding control, the MDCC-MSB1 cells transfected with overexpression vector of *Gallus* TGF β 1 could up-regulate the expression level of TGF β 1, the proliferation of MDCC-MSB1 cells was significantly inhibited, G1 phase cells were increased, S and G2 cells were decreased, the apoptosis rate of the cells was increased, the migration and invasion ability were decreased. However, the MDCC-MSB1 cells transfected with the interference expression vector of TGF β 1 significantly down-regulated the expression level of TGF β 1, cell proliferation was improved, G1 phase cells were decreased, S and G2 cells were increased, the cell apoptosis was decreased, the migration and invasion ability was increased. The results showed that *Gallus* TGF β 1 could inhibit the proliferation, migration and invasion of MDCC-MSB1 cells, and promote their apoptosis.

Key words: TGF β 1; MDCC - MSB1 cells; cell proliferation; apoptosis; migration; invasion

* **Corresponding author:** DING Ke, E-mail: keding19@163.com

马立克病(Marek's disease, MD)是由隶属于疱疹病毒的马立克病毒(Marek's disease virus, MDV)感染鸡后引起的一种以淋巴组织增生为主要特征的肿瘤性疾病,且 MDV 诱导肿瘤的发生可以用疫苗进行有效预防^[1-2]。因此,MDV 可作为研究肿瘤性疾病理理想的动物模型。

MD 的致病过程可以分为 4 个阶段,早期的溶细胞感染阶段、潜伏感染阶段、二次溶细胞感染阶段和淋巴瘤形成阶段^[3-4]。在早期溶细胞感染阶段(2-7 days post infection, 2-7 dpi),MDV 导致 B 细胞和少量 CD4⁺ T 淋巴细胞和 CD8⁺ T 淋巴细胞发生溶细胞感染,并伴随短暂的免疫抑制^[5]。MDV 的潜伏感染阶段(6~7 dpi)主要是在早期溶细胞感染阶段活化的 CD4⁺ T 淋巴细胞内建立潜伏感染,在此阶段,病毒的基因组持续存在于宿主细胞里,没有病毒抗原或肿瘤抗原的表达,也没有感染性病毒的生产^[6-7]。MDV 的二次溶细胞感染(10~14 dpi)主要发生在羽毛囊上皮细胞,在此阶段,潜伏感染的 MDV 重新激活,复制力增强,并引起发生二次免疫抑制^[8-11]。随后,MDV 导致鸡 CD4⁺ T 淋巴细胞发生淋巴瘤,进入淋巴瘤转化阶段,在此阶段,MDV 能导致感染鸡的不同组织发生 CD4⁺ T 淋巴细胞增生性肿瘤^[12]。

肿瘤的发生发展过程可能受到肿瘤细胞的各种细胞成分和/或肿瘤微环境因素的影响,肿瘤微环境是由多种非恶性间质细胞和炎性细胞因子组成,它们在肿瘤的发生、发展中起关键作用^[13-16]。转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF β)是一种分泌性、炎症性细胞因子,它可以通过激活多个

细胞内途径而调控细胞的分化、增殖过程,在组织动态平衡中起着至关重要的作用^[17-18]。已有研究表明,TGF β 与肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡、转移等多种生物学过程密不可分,在肿瘤发生发展中发挥重要地致癌或抑癌功能^[19-20],TGF β 信号通路分子对肿瘤的调控作用是当前学术界研究热点之一^[21-24]。TGF β 1 是 TGF β 其中一个亚型,可参与调节生物体内多种生物学功能,包括细胞的增殖、迁移、黏附、存活、分化和浸润和肿瘤的免疫抑制和免疫逃避,TGF β 1 异常表达可引起包括癌症在内的多种疾病的发生^[25-27]。研究发现,TGF β 1 可以促进乳腺癌干细胞的自我更新、入侵和迁移能力,增强干细胞的特性,在乳腺癌的发展中起着重要的作用^[28-29]。目前,还不明确 MDV 感染鸡淋巴瘤发生过程中 TGF β 1 具有什么样的作用。

因此,为了探求 TGF β 1 在 MD 淋巴瘤发生中对转化的 CD4⁺ T 淋巴瘤的功能,本研究利用 MDV 转化的淋巴细胞系 MSB1 细胞为模型,通过在 MDCC-MSB1 细胞中过表达和抑制表达 TGF β 1,检测 TGF β 1 对 MDCC-MSB1 细胞增殖、细胞周期、细胞凋亡、迁移、侵袭能力的影响,为揭示 TGF β 1 在 MDV 致癌过程中的作用提供新的科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞与质粒 MDCC-MSB1 细胞、鸡 TGF β 1 过表达 NC(pDC316-mCMV-ZsGreen 质粒)和鸡 TGF β 1 干扰表达 NC(pG1.2 质粒)为河南科技大学动物疫病与公共卫生重点实验室保存;鸡

TGF β 1 过表达质粒 pDC316-mCMV-Gallus-TGF β 1、鸡 TGF β 1 干扰表达质粒 pG1.2-Gallus-TGF β 1 由河南科技大学动物疫病与公共卫生重点实验室构建并保存。

1.1.2 主要试剂和耗材 转染试剂 LipofectamineTM2000、Trizol RNA 提取试剂购自 Invitrogen 公司, RNA 酶抑制剂购自 TransGen 公司; HiScript 逆转录酶、SYBR Green Master Mix、50 \times ROX Reference Dye 2 购自 Vazyme 公司; CCK-8 细胞增殖检测试剂盒购于碧云天生物技术有限公司; AnnexinV-APC/7-AAD 细胞凋亡检测试剂盒购于南京凯基生物有限公司; 24 孔板 Transwell 购自 Corning 公司; Penicillin-Streptomycin Solution 购自 Hyclone 公司; RPMI 1640 培养基、胎牛血清 (FBS) 均购于 Gibco 公司;

表 1 Real-time PCR 引物序列

Table 1 Real-time PCR primer sequences

名称 Name	引物序列 (5'→3') Primer sequences	片段大小/ bp Fragment size
TGF β 1 Forward primer	GTATTGGGCCAAAGAGCTGC	238
TGF β 1 Reverse primer	ATTGCCGTAACCCTGGTACA	
GAPDH Forward primer	CCAGAACATCATCCCAGCGT	132
GAPDH Reverse primer	CAGGTCAGGTCAACAACAGA	

1.2.2 MDCC-MSB1 细胞培养和质粒转染 用含 10% FBS、1% Penicillin-Streptomycin Solution 和 10% TPB 的 RPMI1640 培养基将处于对数生长期、生长状态良好的 MDCC-MSB1 细胞调整细胞密度到 $2.5 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$, 接种 6 孔细胞培养板, 每孔 2 mL 细胞悬液, 置于 5% CO₂、37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱培养过夜。根据 LipofectamineTM2000 转染试剂操作说明, 将过表达质粒 pDC316-mCMV-Gallus-TGF β 1、过表达 NC (pDC316-mCMV-ZsGreen 质粒)、干扰表达质粒 pG1.2-Gallus-TGF β 1 及干扰表达 NC (pG1.2 质粒) 转染 MDCC-MSB1 细胞, 6 h 后更换为含 10% FBS、1% Penicillin-Streptomycin Solution 和 10% TPB 的 RPMI1640 培养液, 并在转染后 48 h 收集细胞, 进行 TGF β 1 的表达检测及相关功能性试验。

1.2.3 SYBR Green Real-time PCR 检测 MDCC-MSB1 细胞中鸡 TGF β 1 的表达水平 于转染后 48 h 收集各转染组的细胞, 提取细胞总 RNA 后, 取 1 μg 的总 RNA 进行反转录, 然后用表 1 中的特异

胰蛋白胍磷酸肉汤 (TPB) 购自 Sigma 公司, 其他试剂均为国产分析纯。

1.1.3 主要仪器 CO₂ 恒温培养箱 (日本 Sanyo 公司), 倒置显微镜 (日本 Olympus 公司), NanoDrop ND-2000 超微量核酸蛋白测定仪 (美国 Thermo 公司), ABI7900 荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司), 酶标仪 (美国 Thermo 公司), 流式细胞仪 (美国 Beckman 公司) 等。

1.2 方法

1.2.1 荧光定量 PCR 引物的设计与合成 根据 GenBank 中鸡 TGF β 1 的核苷酸序列 (JQ423909.1), 用 Primer 5.0 软件设计鸡 TGF β 1 的荧光定量 PCR 扩增引物, 同时设计内参鸡 GAPDH (NM_204305.1) 的荧光定量 PCR 引物 (表 1), 引物送生工生物工程 (上海) 有限公司合成。

性的荧光定量 PCR 引物进行相应基因的 SYBR Green Real-time PCR 试验。反转录反应体系: 5 \times Hiscript Buffer 4 μL , Hiscript Reverse Transcriptase 1 μL , Ribonuclease Inhibitor 0.5 μL , dNTP ($2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 4 μL , Oligo (dT) 18 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 2 μL , RNA 1 μg , 用 Rnase free water 补足到总体积为 20 μL ; 反转录条件: 25 $^{\circ}\text{C}$ 5 min, 50 $^{\circ}\text{C}$ 15 min, 85 $^{\circ}\text{C}$ 5 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 10 min。Real-time PCR 反应体系: 2 \times SYBR Green Master Mix 10 μL , cForward primer ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 0.4 μL , Reverse Primer ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 0.4 μL , 50 \times ROX Reference Dye 2 0.4 μL , DNA (6 倍稀释) 4 μL , 去离子水补足至总体积为 20 μL ; 反应条件: 50 $^{\circ}\text{C}$ 2 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 共 40 个循环。鸡 GAPDH 基因作为内参。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法分析试验数据, 比较各转染组细胞中 TGF β 1 相对表达量的差异。

1.2.4 CCK-8 法检测 MDCC-MSB1 细胞的生长能力 将转染过表达质粒 pDC316-mCMV-Gallus-TGF β 1、干扰表达质粒 pG1.2-Gallus-TGF β 1 及其相

应对照的 MDCC-MSB1 细胞,以 5×10^3 个·孔⁻¹ 的细胞数接种于 96 孔细胞板,每组 3 个重复,设仅有培养基的孔为空白对照。分别再继续培养 24、48、72 h,按文献[30]方法检测并分析、绘制各组细胞的生长曲线。

1.2.5 流式细胞术检测 MDCC-MSB1 细胞周期

将 MDCC-MSB1 细胞分别转染过表达质粒 pDC316-mCMV-Gallus-TGF β 1、干扰表达质粒 pG1.2-Gallus-TGF β 1 及相应阴性对照(过表达 NC 和干扰表达 NC),于转染后 48 h,收集各组细胞,按照文献[30]方法进行细胞周期检测,统计分析并绘制细胞各期分布图。

1.2.6 流式细胞术检测 MDCC-MSB1 的凋亡

将 MDCC-MSB1 细胞分别转染过表达质粒 pDC316-mCMV-Gallus-TGF β 1、干扰表达质粒 pG1.2-Gallus-TGF β 1 及其相应对照,于转染后 48 h,收集各组细胞,按照文献[30]方法进行细胞凋亡检测。

1.2.7 Transwell 检测 MDCC-MSB1 细胞的迁移与侵袭 将 MDCC-MSB1 细胞分别转染过表达质粒 pDC316-mCMV-Gallus-TGF β 1、干扰表达质粒

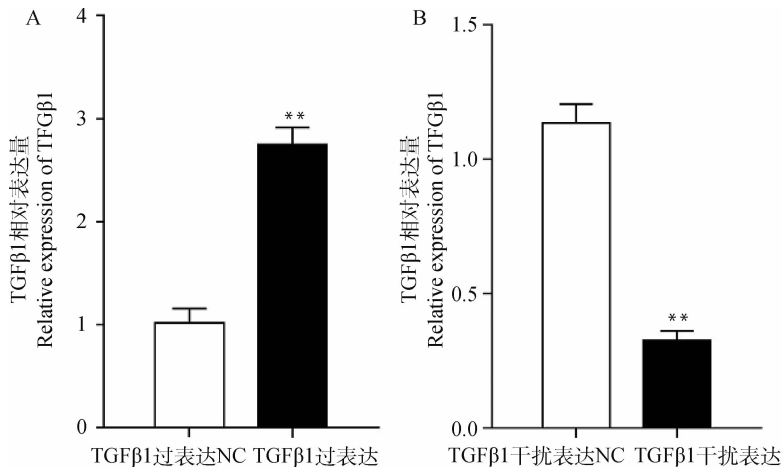
pG1.2-Gallus-TGF β 1 及其相应对照,于转染后 48 h 收集各组细胞,按照文献[30]方法进行细胞迁移与侵袭能力的检测。

1.2.8 数据分析 采用 SPSS18.0 软件 One-Way 分析或 *t*-test 进行统计学处理,用 Graphpad Prism7.0 软件作图,数据以“平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)”表示, $P < 0.05$ 用 * 表示, $P < 0.01$ 用 ** 表示。

2 结果

2.1 过表达质粒 pDC316-mCMV-Gallus-TGF β 1、干扰表达质粒 pG1.2-Gallus-TGF β 1 分别上调或下调 MDCC-MSB1 中 TGF β 1 的表达水平

MDCC-MSB1 细胞分别转染过表达质粒 pDC316-mCMV-Gallus-TGF β 1、干扰表达质粒 pG1.2-Gallus-TGF β 1 及相应对照后 48 h,实时荧光定量 PCR 检测 MDCC-MSB1 细胞中 TGF β 1 mRNA 的表达水平。结果显示,转染过表达质粒组的 TGF β 1 的表达量显著高于 TGF β 1 过表达 NC 组($P < 0.01$,图 1A),转染干扰表达质粒组 TGF β 1 的表达量显著低于 TGF β 1 干扰表达 NC 组($P < 0.01$,图 1B)。



A. TGF β 1 过表达; B. TGF β 1 干扰表达

A. TGF β 1 overexpression; B. TGF β 1 interference expression

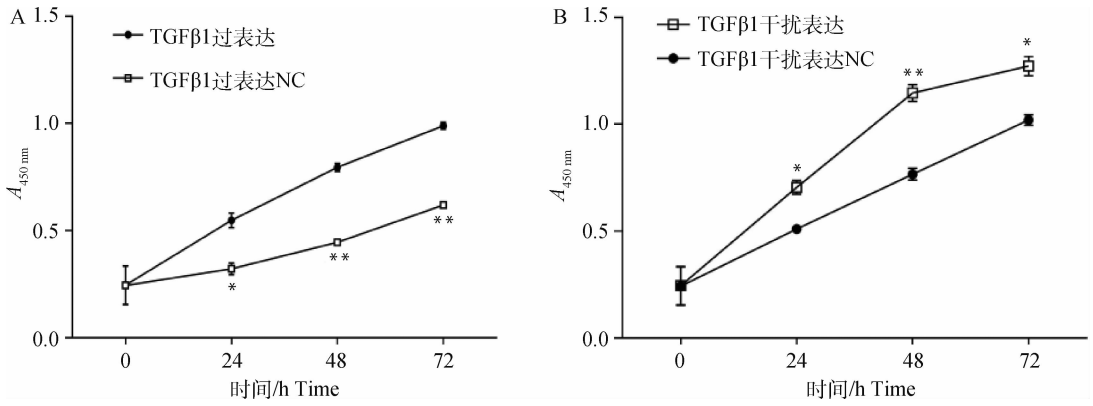
图 1 实时荧光定量 PCR 检测 TGF β 1 在 MDCC-MSB1 细胞中的表达

Fig. 1 The expression of TGF β 1 in MDCC-MSB1 cells by Real-time quantitative PCR

2.2 鸡 TGF β 1 对 MDCC-MSB1 细胞增殖的影响

MDCC-MSB1 细胞转染过表达质粒 pDC316-mCMV-Gallus-TGF β 1、干扰表达质粒 pG1.2-Gallus-TGF β 1 及其相应对照后,采用 CCK-8 法检测各组细胞增殖能力的变化。结果显示,与其阴性对照组相比,在转染后 24 h,过表达质粒 pDC316-mCMV-Gallus-TGF β 1 转染组 MDCC-MSB1 细胞的增殖水平显著下降($P < 0.05$),在转染后 48~72 h,过

表达质粒 pDC316-mCMV-Gallus-TGF β 1 转染组 MDCC-MSB1 细胞的增殖水平显著下降($P < 0.01$) (图 2A);在转染后 24 和 72 h,干扰表达质粒 pG1.2-Gallus-TGF β 1 转染组 MDCC-MSB1 细胞的增殖水平显著增强($P < 0.05$),在转染后 48 h,干扰表达质粒 pG1.2-Gallus-TGF β 1 转染组 MDCC-MSB1 细胞的增殖水平显著增强($P < 0.01$) (图 2B)。



A. TGF β 1 过表达组; B. TGF β 1 干扰表达组

A. TGF β 1 overexpression group; B. TGF β 1 interference expression group

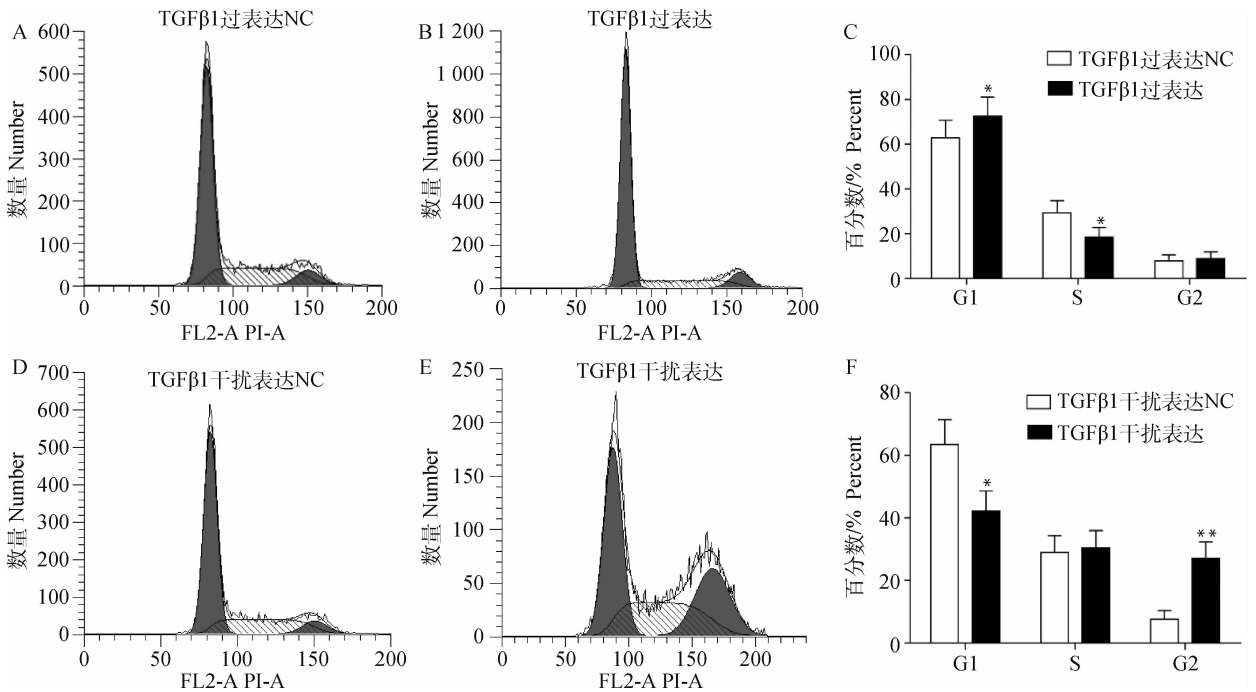
图 2 TGF β 1 对 MDCC-MSB1 细胞增殖的影响

Fig. 2 Effects of TGF β 1 on the proliferation of MDCC-MSB1 cells

2.3 TGF β 1 对 MDCC-MSB1 细胞周期的影响

MDCC-MSB1 细胞转染过表达质粒 pDC316-mCMV-Gallus-TGF β 1、干扰表达质粒 pG1.2-Gallus-TGF β 1 及其相应对照后,采用流式细胞术检测各组细胞周期的变化。结果显示,TGF β 1 过表达质粒转染组与 TGF β 1 过表达 NC 转染组相比,

MDCC-MSB1 细胞的 G1 期细胞分布增加,S 期和 G2 期细胞分布减少 ($P < 0.05$) (图 3A~C); TGF β 1 干扰表达质粒转染组与 TGF β 1 干扰表达 NC 转染组相比,MDCC-MSB1 细胞的 G1 期细胞分布减少($P < 0.05$),S 期和 G2 期细胞分布均极显著增加 ($P < 0.01$) (图 3D~F)。



A. TGF β 1 过表达 NC 组; B. TGF β 1 过表达组; C. TGF β 1 过表达组及 TGF β 1 过表达 NC 组数值统计; D. TGF β 1 干扰表达 NC 组; E. TGF β 1 干扰表达组; F. TGF β 1 干扰表达及 TGF β 1 干扰表达 NC 组数值统计。* . $P < 0.05$; * . $P < 0.01$

A. TGF β 1 overexpression NC group; B TGF β 1 overexpression group.; C. The numerical statistics of the TGF β 1 overexpression and TGF β 1 overexpression NC; D. TGF β 1 interference expression NC group; E. TGF β 1 interference expression group; F. The numerical statistics of the TGF β 1 interference expression group and TGF β 1 interference expression NC group. * . $P < 0.05$; * . $P < 0.01$

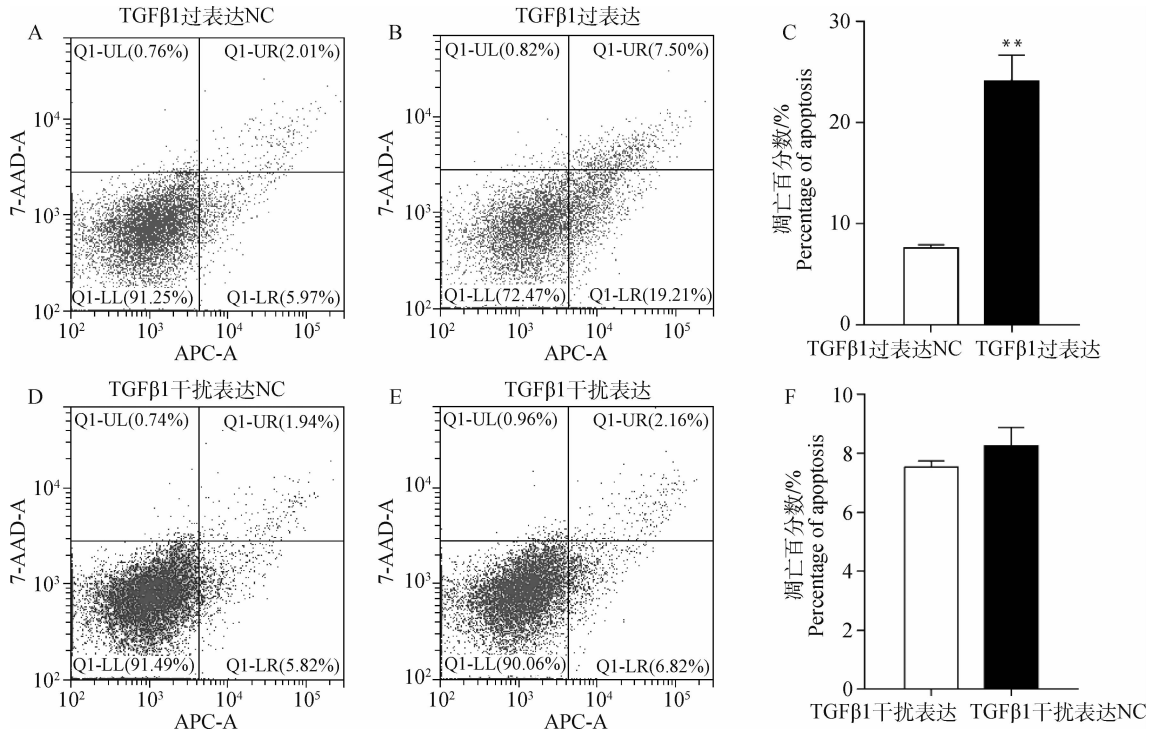
图 3 TGF β 1 对 MDCC-MSB1 细胞周期的影响

Fig. 3 Effects of TGF β 1 on the cell cycle of MDCC-MSB1 cells

2.4 TGFβ1 对细胞凋亡的影响

MDCC-MSB1 细胞转染过表达质粒 pDC316-mCMV-Gallus-TGFβ1、干扰表达质粒 pG1.2-Gallus-TGFβ1 及其相应对照后,采用流式细胞术检测各组细胞凋亡的变化。结果显示,过表达质粒

pDC316-mCMV-Gallus-TGFβ1 转染组与 TGFβ1 过表达 NC 转染组相比,凋亡细胞比例极显著增加 ($P < 0.01$,图 4 A~C),干扰表达质粒 pG1.2-Gallus-TGFβ1 转染组与 TGFβ1 干扰表达 NC 转染组相比,凋亡细胞比例差异不显著 ($P > 0.05$,图 4 D~F)。



A. TGFβ1 过表达 NC 组; B. TGFβ1 过表达组; C. TGFβ1 过表达组及 TGFβ1 过表达 NC 组数值统计; D. TGFβ1 干扰表达 NC 组; E. TGFβ1 干扰表达组; F. TGFβ1 干扰表达及 TGFβ1 干扰表达 NC 组数值统计。* * . $P < 0.01$

A. TGFβ1 overexpression NC group; B. TGFβ1 overexpression group.; C. The numerical statistics of the TGFβ1 overexpression and TGFβ1 overexpression NC; D. TGFβ1 interference expression NC group; E. TGFβ1 interference expression group; F. The numerical statistics of the TGFβ1 interference expression group and TGFβ1 interference expression NC group. * * . $P < 0.01$

图 4 TGFβ1 对 MDCC-MSB1 细胞凋亡的影响

Fig. 4 Effects of TGFβ1 on the apoptosis of MDCC-MSB1 cells

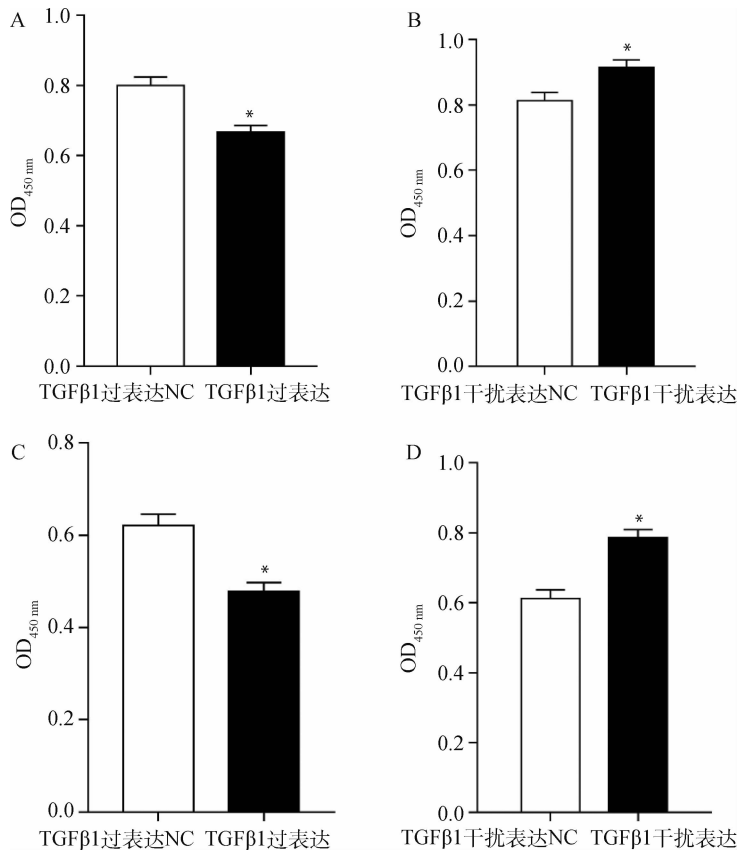
2.5 TGFβ1 对 MDCC-MSB1 细胞迁移、侵袭的影响

MDCC-MSB1 细胞转染过表达质粒 pDC316-mCMV-Gallus-TGFβ1、干扰表达质粒 pG1.2-Gallus-TGFβ1 及其相应对照后,采用 Transwell 检测各组细胞迁移、侵袭能力的变化。结果显示,与 TGFβ1 过表达 NC 转染组相比,TGFβ1 过表达质粒转染组 MDCC-MSB1 细胞的迁移、侵袭能力均显著下降 ($P < 0.05$,图 5A,C);与 TGFβ1 干扰表达 NC 转染组相比,TGFβ1 干扰质粒转染组 MDCC-MSB1 细胞的迁移、侵袭能力均显著增加 ($P < 0.05$,图 5B,D)。

种生理和免疫调节功能的多效性细胞因子,对维持细胞内稳态和组织完整性至关重要^[18]。TGFβ 1 表达和活性的异常调节会产生严重的病理后果,并导致多种疾病状态,包括许多癌症,有助于癌症进程的各个方面^[25,31-32]。早期的研究认为 TGFβ1 对细胞生长有抑制作用,它可通过抑制 c-Myc 的表达、改变 CDK 的表达和活性来抑制多种细胞增殖^[33-35]。近年来,研究表明,TGFβ1 在肿瘤发生的晚期起着促进作用,阻断 TGFβ1 信号可以降低肿瘤细胞生存和迁移能力,增加其凋亡^[36]。如,TGFβ1 可抑制卵巢颗粒细胞瘤细胞凋亡而增加其生存能力,抑制 TGFβ1 可诱导细胞凋亡,抑制其生存^[37]。干扰 TGFβ1 的表达可显著抑制间变性甲状腺癌细胞迁

3 讨论

TGFβ 1 是 TGFβ 的一个亚型,是一种具有多



A. TGF β 1 过表达对迁移的影响; B. TGF β 1 干扰表达对迁移的影响; C. TGF β 1 过表达对侵袭的影响; D. TGF β 1 干扰表达对侵袭的影响。* . $P < 0.05$

A. Effect of TGF β 1 overexpression on migration; B Effect of TGF β 1 interference expression on migration; C. Effect of TGF β 1 overexpression on invasion; D. Effect of TGF β 1 interference expression on invasion. * . $P < 0.05$

图 5 TGF β 1 对 MDCC-MSB1 细胞迁移、侵袭的影响

Fig. 5 Effects of TGF β 1 on the migrate and invasion of MDCC-MSB1 cells

移、侵袭和增殖,增加凋亡^[38]。研究表明,TGF β 通过两个跨膜丝氨酸-苏氨酸激酶受体 TGF β R1 和 TGF β R2 参与肿瘤发生的各个方面,在肿瘤的发生过程中 TGF β 通过组织微环境 Smad 和非 Smad 通路促进或抑制肿瘤发生^[39]。本研究荧光定量 PCR 检测结果显示,转染 TGF β 1 过表达质粒后,MDCC-MSB1 细胞中 TGF β 1 的表达水平显著上调,转染 TGF β 1 干扰表达质粒后 TGF β 1 表达水平显著下调,表明可以采用转染 TGF β 1 过表达质粒和干扰表达质粒继续进行 TGF β 1 对 MDCC-MSB1 细胞增殖、凋亡、迁移与侵袭影响的检测。随后,在 TGF β 1 过表达和抑制表达的基础上,本研究分别检测了 MDCC-MSB1 细胞增殖、细胞周期和凋亡、细胞迁移和侵袭。结果显示,上调 TGF β 1 表达,可显著抑制 MDCC-MSB1 细胞的增殖,并且使 G1 期细胞分布增加、S 期和 G2 期细胞的分布减少、细胞凋亡增

加、细胞的迁移和侵袭能力下降;相反,抑制 TGF β 1 表达,可显著促进 MDCC-MSB1 细胞的增殖,使 G1 期细胞分布减少、S 期和 G2 期增加、细胞凋亡减少、迁移和侵袭能力增强。这些结果表明,TGF β 1 可抑制 MDV 转化的 T 淋巴细胞系 MDCC-MSB1 细胞增殖、迁移和侵袭,促进其凋亡。而在前期的研究中,Chi 等^[40]发现 MDV1-miR-M4 可以靶向宿主潜伏转化生长因子 β 结合蛋白 1 (latent TGF- β binding protein 1, LTBP1) 而抑制 TGF β 通路的信号传递,促进细胞增殖。这些结果表明,MDV 诱导肿瘤发生受多种因子的影响,在 MD 肿瘤发生过程中,TGF β 1 信号对 MDCC-MSB1 肿瘤细胞的作用可能受到其他多种分子的调控。因此,还需进一步从调控 TGF β 1 分子及其通路方面研究其对 MDCC-MSB1 细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭能力的影响,以探求在 MD 肿瘤发生过程中基于 TGF- β 1 的调控

机制。

4 结 论

鸡 TGF β 1 可抑制 MDCC-MSB1 细胞增殖、迁移与侵袭,促进其凋亡。

参考文献 (References):

- [1] BUCKMASTER A E, SCOTT S D, SANDERSON M J, et al. Gene sequence and mapping data from Marek's disease virus and herpesvirus of turkeys: implications for herpesvirus classification[J]. *J Gen Virol*, 1988, 69(8):2033-2042.
- [2] DUNN J R, BLACK PYRKOSZ A, STEEP A, et al. Identification of Marek's disease virus genes associated with virulence of US strains[J]. *J Gen Virol*, 2019, 100(7):1132-1139.
- [3] OSTERRIEDER N, KAMIL J P, SCHUMACHER D, et al. Marek's disease virus; from miasma to model[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2006, 4(4):283-294.
- [4] NAIR V. Evolution of Marek's disease—a paradigm for incessant race between the pathogen and the host [J]. *Vet J*, 2005, 170(2):175-183.
- [5] CALNEK B W, SCHAT K A, ROSS L J N, et al. Further characterization of Marek's disease virus-infected lymphocytes. II. *In vitro* infection[J]. *Int J Cancer*, 1984, 33(3):399-406.
- [6] ABDUL-CAREEM M F, HUNTER B D, LEE L F, et al. Host responses in the bursa of Fabricius of chickens infected with virulent Marek's disease virus [J]. *Virology*, 2008, 379(2):256-265.
- [7] SHEK W R, CALNEK B W, SCHAT K A, et al. Characterization of Marek's disease virus-infected lymphocytes: discrimination between cytolytically and latently infected cells[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1983, 70(3):485-491.
- [8] ABDUL-CAREEM M F, HUNTER B D, SARSON A J, et al. Host responses are induced in feathers of chickens infected with Marek's disease virus [J]. *Virology*, 2008, 370(2):323-332.
- [9] ABDUL-CAREEM M F, READ L R, PARVIZI P, et al. Marek's disease virus-induced expression of cytokine genes in feathers of genetically defined chickens[J]. *Dev Comp Immunol*, 2009, 33(4):618-623.
- [10] COUTEAUDIER M, DENESVRE C. Marek's disease virus and skin interactions [J]. *Vet Res*, 2014, 45(1):36.
- [11] CALNEK B W, ADLINDER H K, KAHN D E. Feather follicle epithelium; a source of enveloped and infectious cell-free herpesvirus from Marek's disease [J]. *Avian Dis*, 1970, 14(2):219-233.
- [12] SCHAT K A, CHEN C L, CALNEK B W, et al. Transformation of T-lymphocyte subsets by Marek's disease herpesvirus [J]. *J Virol*, 1991, 65(3):1408-1413.
- [13] LIU S, CHEN S, ZENG J. TGF- β signaling: a complex role in tumorigenesis (Review) [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(1):699-704.
- [14] APONTE-LÓPEZ A, FUENTES-PANANÁ E M, CORTES-MUÑOZ D, et al. Mast cell, the neglected member of the tumor microenvironment; role in breast cancer[J]. *J Immunol Res*, 2018, 2018:2584243.
- [15] MITTAL S, BROWN N J, HOLEN I. The breast tumor microenvironment; role in cancer development, progression and response to therapy[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2018, 18(3):227-243.
- [16] YU T J, DI G H. Role of tumor microenvironment in triple-negative breast cancer and its prognostic significance[J]. *Chin J Cancer Res*, 2017, 29(3):237-252.
- [17] NARKHEDE A A, SHERWOOD J A, ANTONE A, et al. Role of surface chemistry in mediating the uptake of ultrasmall iron oxide nanoparticles by cancer cells[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(19):17157-17166.
- [18] CLARK D A, COKER R. Molecules in focus transforming growth factor-beta (TGF- β) [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 1998, 30(3):293-298.
- [19] IKUSHIMA H, MIYAZONO K. TGF β signalling; a complex web in cancer progression [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(6):415-424.
- [20] DERYNCK R, AKHURST R J, BALMAIN A. TGF- β signaling in tumor suppression and cancer progression[J]. *Nat Genet*, 2001, 29(2):117-129.
- [21] 陈玉红, 狄翠霞, 张倩婧, 等. TGF- β /Smads 信号传导通路在肿瘤中的作用[J]. *生理科学进展*, 2018, 49(3):187-192.
- CHEN Y H, DI C X, ZHANG Q Q, et al. The role of TGF- β /Smads signal transduction pathways in tumors [J]. *Progress in Physiological Sciences*, 2018, 49(3):187-192. (in Chinese)
- [22] YANG L, PANG Y L, MOSES H L. TGF- β and immune cells: an important regulatory axis in the tumor microenvironment and progression[J]. *Trends Immunol*, 2010, 31(6):220-227.
- [23] UNGEFROREN H, GIESELER F, KAUFMANN R, et al. Signaling crosstalk of TGF- β /ALK5 and

- PAR2/PAR1: a complex regulatory network controlling fibrosis and cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(6):1568.
- [24] PAPOUTSOGLOU P, LOUIS C, COULOUARN C. Transforming growth factor-beta (TGF β) signaling pathway in cholangiocarcinoma[J]. *Cells*, 2019, 8(9):960.
- [25] GORDON K J, BLOBE G C. Role of transforming growth factor- β superfamily signaling pathways in human disease[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1782(4):197-228.
- [26] MASSAGUÉ J. How cells read TGF- β signals[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2000, 1(3):169-178.
- [27] ROBERTS A B, WAKEFIELD L M. The two faces of transforming growth factor β in carcinogenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(15):8621-8623.
- [28] AULA H, SKYTTÄ T, TUOHINEN S, et al. Decreases in TGF- β 1 and PDGF levels are associated with echocardiographic changes during adjuvant radiotherapy for breast cancer[J]. *Radiat Oncol*, 2018, 13(1):201.
- [29] ZU X Y, ZHONG J, TAN J J, et al. TGF- β 1 induces HMGA1 expression in human breast cancer cells; implications of the involvement of HMGA1 in TGF- β signaling[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 35(3):693-701.
- [30] 余祖华, 丁 轲, 郁 川, 等. gga-miR-155 对 MDCC-MSB1 细胞生物学行为的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2018, 49(11):2496-2504.
- YU Z H, DING K, YU C, et al. Effect of gga-miR-155 on the biological behavior of MDCC-MSB1 cells [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2018, 49(11):2496-2504. (in Chinese)
- [31] SHARIAT S F, KIM J H, ANDREWS B, et al. Preoperative plasma levels of transforming growth factor β ₁ strongly predict clinical outcome in patients with bladder carcinoma[J]. *Cancer*, 2001, 92(12):2985-2992.
- [32] CHEN J L, WALTON K L, HAGG A, et al. Specific targeting of TGF- β family ligands demonstrates distinct roles in the regulation of muscle mass in health and disease[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(26):E5266-E5275.
- [33] TUCKER R F, SHIPLEY G D, MOSES H L, et al. Growth inhibitor from BSC-1 cells closely related to platelet type beta transforming growth factor [J]. *Science*, 1984, 226(4675):705-707.
- [34] PIETENPOL J A, HOLT J T, STEIN R W, et al. Transforming growth factor beta 1 suppression of c-myc gene transcription: role in inhibition of keratinocyte proliferation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1990, 87(10):3758-3762.
- [35] PILLAIRE M J, CASAGRANDE F, MALECAZE F, et al. Regulation by transforming growth factor- β 1 of G1 cyclin-dependent kinases in human retinal epithelial cells [J]. *Exp Eye Res*, 1999, 68(2):193-199.
- [36] MURAOKA R S, DUMONT N, RITTER C A, et al. Blockade of TGF- β inhibits mammary tumor cell viability, migration, and metastases [J]. *J Clin Invest*, 2002, 109(12):1551-1559.
- [37] MANSOURI-ATTIA N, TRIPURANI S K, GOKUL N, et al. TGF β signaling promotes juvenile granulosa cell tumorigenesis by suppressing apoptosis [J]. *Mol Endocrinol*, 2014, 28(11):1887-1898.
- [38] SUN W H, XU Y Y, ZHAO C, et al. Targeting TGF- β 1 suppresses survival of and invasion by anaplastic thyroid carcinoma cells[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(3):1418-1425.
- [39] SEOANE J, GOMIS R R. TGF- β family signaling in tumor suppression and cancer progression[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2017, 9(12):a022277.
- [40] CHI J Q, TENG M, YU Z H, et al. Marek's disease virus-encoded analog of microRNA-155 activates the oncogene c-Myc by targeting LTBP1 and suppressing the TGF- β signaling pathway [J]. *Virology*, 2015, 476:72-84.

(编辑 白永平)