

胃癌细胞诱导脐带MSCs向癌相关MSCs转分化研究

梁 炜 朱梦楚 袁 潇 田伊卿 王 梅 钱 晖 许文荣*

(江苏大学医学院, 镇江 212000)

摘要 该文探讨了胃癌细胞培养液上清对人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cells, hucMSCs)向癌相关MSCs转分化的作用及转分化后的MSCs对胃癌细胞增殖和迁移的影响。收集胃癌细胞HGC-27的培养液上清, 与等体积的低糖DMEM混合后培养hucMSCs 48 h, 检测处理后hucMSCs中癌相关MSCs蛋白及miR-221表达的改变。用诱导后的hucMSCs培养液上清与等体积的高糖DMEM混合后培养HGC-27 48 h, 检测处理前后HGC-27的增殖和迁移能力的变化。将hucMSCs和HGC-27共培养, 检测共培养后HGC-27增殖和迁移能力。结果发现, 胃癌细胞培养液上清处理后, hucMSCs中波形蛋白(vimentin)和成纤维细胞活化蛋白(fibroblast activation protein, FAP)表达增强, miR-221表达上调。用处理后的hucMSCs培养液上清培养HGC-27, 细胞增殖以及迁移能力增强。共培养后HGC-27的增殖及迁移能力显著增强。以上结果表明, 胃癌细胞培养液上清可诱导hucMSCs获得癌相关MSCs样表型和促进胃癌细胞增殖和迁移的功能, 为肿瘤微环境细胞的重塑性和脐带MSCs应用的安全性评估提供实验依据。

关键词 间充质干细胞; 转分化; 肿瘤微环境; 胃癌

Transdifferentiation of Umbilical Cord MSCs into Cancer-associated MSCs Induced by Gastric Cancer Cells

Liang Wei, Zhu Mengchu, Yuan Xiao, Tian Yiqing, Wang Mei, Qian Hui, Xu Wenrong*

(School of Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212000, China)

Abstract This work was aimed to investigate the transdifferentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells (hucMSCs) into cancer-associated MSCs induced by the supernatant from gastric cancer cells culture medium and the effect of induced hucMSCs on the proliferation and migration of gastric cancer cells. The supernatant from gastric cancer cells HGC-27 culture medium was prepared, mixed with equal volume of low glucose DMEM and used to culture hucMSCs for 48 h. The expression of cancer-associated MSCs related proteins and miR-221 in hucMSCs were detected. After that the supernatant from induced hucMSCs culture medium was mixed with equal volume of high glucose DMEM to treat HGC-27 for 48 h and then the proliferation and migration of HGC-27 were observed. Moreover, HGC-27 was cocultured with hucMSCs and then the capabilities of proliferation and migration of HGC-27 were observed. The protein levels of vimentin and fibroblast activation protein (FAP) were increased and the expression of miR-221 was upregulated in hucMSCs after treated by the supernatant from gastric cancer cells culture medium. The supernatant from induced hucMSCs culture medium promoted HGC-27 proliferation and migration. The capabilities of proliferation and migration of HGC-27 after

收稿日期: 2015-04-27 接受日期: 2015-08-04

江苏省大学生创新创业训练计划项目(批准号: 201310299027)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0511-85038215, E-mail: icls@ujs.edu.cn

Received: April 27, 2015 Accepted: August 4, 2015

This work was supported by Jiangsu Students' Platform for Innovation and Entrepreneurship Training Program (Grant No.201310299027)

*Corresponding author. Tel: +86-511-85038215, E-mail: icls@ujs.edu.cn

网络出版时间: 2015-09-17 16:32:21

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150917.1632.004.html>

cocultured with hucMSCs were significantly enhanced. The results above declared that the supernatant from gastric cancer cells culture medium induced hucMSCs, equipping them with cancer-associated MSC-like phenotype and the capability of promoting the proliferation and migration of gastric cancer cells, which provided basis for the remodeling of the tumor microenvironment cells and the assessment of hucMSCs application safety.

Keywords mesenchymal stem cells; transdifferentiation; tumor microenvironment; gastric cancer

胃癌在全球的癌症死亡率居第二位^[1], 在中国则是最常见的消化道肿瘤, 占恶性肿瘤死亡率的第一位^[2], 已成为威胁人类健康的重要因素。肿瘤微环境由微环境细胞如癌相关成纤维细胞(carcinoma-associated fibroblasts, CAFs)、免疫细胞、血管内皮细胞和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)组成。研究表明, 肿瘤微环境可以通过分泌多种细胞因子促进肿瘤细胞的增殖、上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、迁移、侵袭, 还可以改变ECM, 促进血管生成以及促进肿瘤转移^[3]。在本课题组前期研究中, 分离出胃癌来源的间充质干细胞样细胞(gastric cancer-derived mesenchymal stem cells, GC-MSCs), 与癌旁MSCs和正常组织来源的MSCs相比, GC-MSCs的CAF标记的表达明显上调, 对肿瘤具有明显的促进作用^[4]。MSCs具有多向分化潜能, 是微环境细胞的重要来源。肿瘤微环境可招募MSCs至肿瘤部位, 影响肿瘤进程^[5]。本研究从体外实验探讨胃癌细胞培养液上清对脐带MSCs向癌相关MSCs转分化的作用及转分化后的hucMSCs对胃癌细胞增殖和迁移的影响。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

RIPA、PMSF购自Vazyme公司; Trizol试剂购自Gibco公司; miScript II RT Kit、Script SYBR Green PCR Kit及miRNA引物购自QIAGEN公司; 50 mL培养瓶、6孔培养板、24孔培养板、PVDF膜、Transwell迁移板购自Corning公司; 抗兔IgG荧光抗体购自Invitrogen公司; 去RNase移液枪头购自Axygen公司; 抗兔Donkey anti-rabbit IgG(cy3)、抗鼠Goat anti mouse IgG(Cy3)购自北京康为世纪生物科技有限公司; 兔抗vimentin抗体购自Bioworld公司; 兔抗FAP抗体购自Abcam公司; 牛血清白蛋白(BSA)购自Roche公司; Hoechst染料购自Sigma公司; 孔径0.22 μm 的一次性无菌滤器购自Millipore公司; 6孔嵌合板(3412)购自Corning公司。倒置显微镜购自Olympus公司;

共聚焦荧光显微镜购自Nikon公司; 电热恒温水浴箱购自上海一恒公司; 超净工作台购自苏州净化设备厂; 二氧化碳培养箱、超低温冰箱购自Forma公司; 倒置显微镜、数码相机购自Nikon公司; 核酸蛋白测定仪、化学发光凝胶成像仪购自GE公司; 台式离心机购自Eppendorf公司。

1.2 细胞培养

人脐带取自出生在镇江市第四人民医院的健康新生儿, 所有标本的采集均获得新生儿父母及镇江市第四人民医院知情同意, 符合镇江市第四人民医院及江苏大学伦理委员会规范。无菌获取胎儿新鲜脐带, 在含链霉素和青霉素的磷酸盐缓冲液(PBS)中浸泡, 洗去血液, 去表皮、血管, 剪碎成1.5~2.5 mm的小块培养。用含10%胎牛血清(FBS, Gibco公司)的低糖DMEM培养基(dulbecco's modified eagle's medium)(Gibco公司)在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的细胞培养箱中培养。4 d后第1次换液, 以后每3 d换液1次, 2周后去掉组织块, 待细胞生长至融合时传代。实验中所用MSCs为第4~6代细胞。胃癌细胞HGC-27购自中国科学院上海生命科学研究院细胞库。HGC-27使用含10%胎牛血清的高糖DMEM培养基培养。

1.3 胃癌细胞培养液上清处理hucMSCs

取对数生长期的胃癌细胞HGC-27, 用胰蛋白酶消化, 计数后以 5×10^5 接种于10 cm细胞培养皿, 贴壁过夜, 弃去上清, PBS冲洗2次, 重新加含10%胎牛血清的高糖DMEM基础培养基。48 h后收集HGC-27培养液, 1 000 r/min离心5 min去细胞碎片获得上清, 经0.22 μm 的滤膜过滤分装后, -70 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。取对数生长期的hucMSCs, 胰蛋白酶消化以 2×10^5 接种于50 mL细胞培养瓶, 贴壁过夜。用胃癌细胞培养液上清处理hucMSCs时按照上清与低糖DMEM 1:1进行。对照组为等量的高糖DMEM与低糖DMEM混合液。

1.4 胃癌细胞培养液上清诱导的hucMSCs培养液上清处理胃癌细胞

将1.3中所述处理后的hucMSCs的上清弃去, PBS冲洗2次, 换上新鲜10%胎牛血清的低糖DMEM

培养基, 48 h后收集hucMSCs的上清。取对数生长期的胃癌细胞HGC-27, PBS冲洗3次, 胰蛋白酶消化, 计数并以 5×10^5 接种于10 cm细胞培养皿, 贴壁过夜, 弃去上清, PBS冲洗2次。处理时按照hucMSCs上清与高糖DMEM 1:1进行, 以未处理MSC上清做对照, 并设置营养液的空白对照。

1.5 蛋白质提取

收集约 1×10^6 细胞沉淀, 加入50 μ L的PIRA: PMSF=1:250的混合液, 将混合液中的蛋白标本剧烈震荡1 min, 冰上静置10 min, 此过程重复3次。4 $^{\circ}$ C、11 200 r/min离心15 min, 收集上清, 用核酸蛋白仪测量蛋白浓度, 以4:1体积比加入5 $\times$ loading buffer, 100 $^{\circ}$ C或沸水浴加热5 min, 以充分变性蛋白, 分装后于-70 $^{\circ}$ C保存备用。

1.6 Western blot

配制12%的凝胶, 蛋白质总量按150 μ g上样进行SDS-PAGE电泳。冰浴350 mA转膜2 h, 室温封闭1 h。vimentin抗体以1:300比例稀释, FAP抗体以1:500比例稀释, GAPDH抗体以1:2 000比例稀释, 4 $^{\circ}$ C孵育过夜。用TBS+0.5% Tween 20洗涤。1:2 000比例稀释抗鼠/兔二抗, 37 $^{\circ}$ C孵育1 h, 用TBS+0.5% Tween 20洗涤。加预混HRP化学发光底物后进行显色、拍照及分析。

1.7 免疫荧光

取对数生长期的hucMSCs, 用PBS清洗3遍, 胰蛋白酶消化、计数并以 2×10^4 /孔种入24孔板, 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂的细胞培养箱中贴壁过夜。按照1.3所述处理hucMSCs 48 h, 用PBS清洗, 加入4%多聚甲醛固定。用PBS清洗后用0.5% Triton-100破膜10 min。PBS清洗, 室温封闭20 min。加入一抗, 4 $^{\circ}$ C孵育过夜。PBS清洗, 避光加入荧光二抗, 37 $^{\circ}$ C孵育45 min。PBS清洗, 用Hoechst 33342染核10 min, PBS清洗2次, 在荧光显微镜下观察并拍照。

1.8 细胞共培养

取对数生长期的HGC-27, 用PBS清洗3遍, 胰蛋白酶消化、计数并以 1×10^5 /孔接种于6孔嵌合板下层, 加含10%胎牛血清的高糖DMEM培养液2.5 mL, 取对数生长期的hucMSCs, 用PBS清洗3遍, 胰蛋白酶消化、计数并以 1×10^5 /孔接种于6孔嵌合板上层, 加含10%胎牛血清的低糖DMEM培养液1.5 mL, 对照组上层仅有含10%胎牛血清的低糖DMEM培养液1.5 mL, 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂的细胞培养箱中共培养2 d。

1.9 克隆形成实验

将1.4及1.8中所述的处理后HGC-27与对照组HGC-27分别用PBS清洗, 用胰蛋白酶消化计数, 重悬后接种于6孔板, 1 000/孔, 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂的细胞培养箱中培养10 d, 每3 d换液。弃去上清液, 用PBS清洗后加4%多聚甲醛固定。PBS清洗, 结晶紫染色。用PBS清洗干净后拍照。

1.10 细胞计数

将1.4及1.8所述处理后HGC-27与对照组HGC-27分别用PBS清洗3次, 用胰蛋白酶消化计数, 重悬后接种于24孔板, 1 000/孔, 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂的细胞培养箱中培养, 每3 d换液1次, 从第5 d开始, 每天于同一时间自细胞培养箱中取出24孔板, 用PBS清洗2遍, 胰蛋白酶消化, 用改良牛-鲍细胞计数板在低倍镜下计数。

1.11 细胞迁移实验

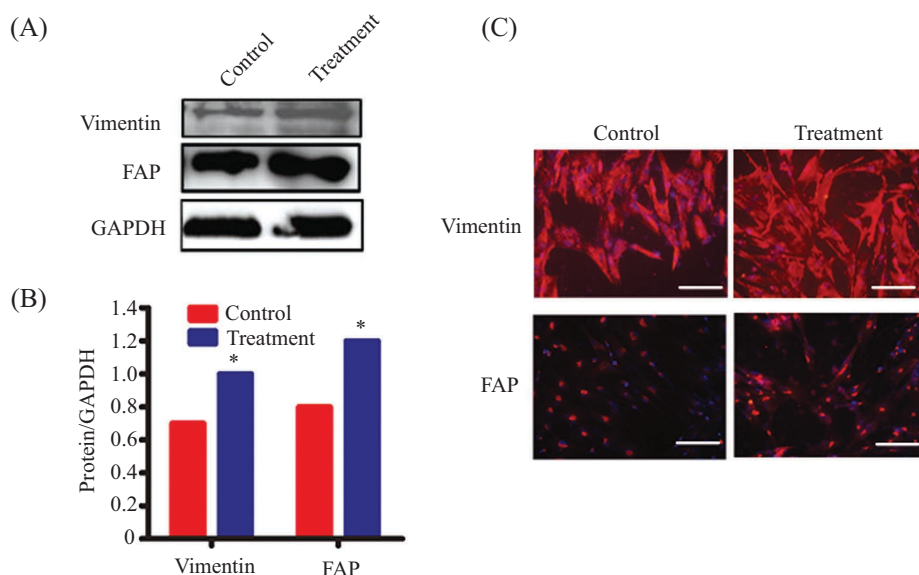
将1.4及1.8所述处理后HGC-27与对照组HGC-27分别用PBS清洗3次, 用胰蛋白酶消化计数, 重悬后以 5×10^4 /孔接种于24孔Transwell迁移板中, 上室为200 μ L无血清培养基, 下室为600 μ L含有10%胎牛血清的高糖DMEM基础培养基。在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱中培养12 h后, PBS清洗后用4%多聚甲醛固定。PBS清洗, 用棉签小心地擦去膜上层细胞, 用结晶紫染色后用PBS洗净, 显微镜下观察并拍照。

1.12 总RNA提取

收集约 1×10^6 细胞沉淀, 加入1 mL Trizol试剂, 吹打均匀, 装入1.5 mL的Rnase free Eppendorf管中, -70 $^{\circ}$ C保存。使用时从冰箱中取出, 融化后每份加入200 μ L 4 $^{\circ}$ C预冷的氯仿, 静置10 min, 在4 $^{\circ}$ C预冷的离心机中11 200 r/min离心10 min, 取上清至另外一个1.5 mL的Rnase free Eppendorf管中, 加入600 μ L 4 $^{\circ}$ C预冷的异丙醇, -20 $^{\circ}$ C静置2 h以上, 在4 $^{\circ}$ C预冷的离心机中11 200 r/min离心10 min, 弃上清, 加入0.1% DEPC水处理过的75%的酒精洗涤, 在4 $^{\circ}$ C预冷的离心机中11 200 r/min离心5 min, 重复1次, 弃去上清, 将沉淀置于无菌的超净台中吹风干燥约30 min至半透明, 加入20 μ L溶有0.1% DEPC的双蒸水, 混匀, 4 $^{\circ}$ C静置过夜, 使用核酸蛋白检测仪检测浓度。

1.13 RT-PCR和实时荧光定量PCR

采用QIAGEN公司试剂盒, 用Trizol提取的RNA进行RT-PCR获得cDNA。RT-PCR反应体系为: 2 μ L PCR buffer、1 μ g RNA模板、1 μ L dNTPs、1 μ L聚合酶,



A: Western blot检测处理前后hucMSCs中vimentin和FAP的表达; B: 处理前后hucMSCs中vimentin和FAP表达的定量统计图, $*P < 0.05$, 与对照组比较; C: 用免疫荧光检测处理前后hucMSCs中vimentin和FAP表达, 标尺=150 μm 。

A: the expressions of vimentin and FAP in hucMSCs treated before and after HGC-27 supernatant detected by Western blot; B: the bar graph of the quantity expression of vimentin and FAP in hucMSCs treated before and after HGC-27 supernatant, $*P < 0.05$ vs control group; C: the expressions of vimentin and FAP hucMSCs treated before and after HGC-27 supernatant detected by immunofluorescence staining, scale bars=150 μm .

图1 胃癌细胞培养液上清处理后hucMSCs中vimentin和FAP蛋白的检测

Fig.1 The expression of vimentin and FAP in hucMSCs after treated by supernatant from gastric cancer cells culture medium

用0.1% DEPC水配足10 μL 。反应条件为: 37 $^{\circ}\text{C}$ 60 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min。用获得的cDNA以1:100稀释作为模版进行实时荧光定量PCR, 采用10 μL 体系: PCR buffer 5 μL , dNTPs 2 μL , 上下游引物各1 μL , 模版1 μL 。反应条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性15 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性15 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s, 63 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s, 45个循环。以U6作为内参。

1.14 统计学分析

应用GraphPad Prism 5软件进行统计分析, 每个实验至少重复3次, 两组间的差异比较采用Student's-*t*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

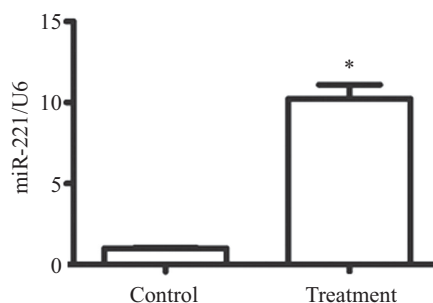
2 结果

2.1 HGC-27培养液上清处理后hucMSCs相关蛋白的检测

经HGC-27培养液上清处理后, hucMSCs的形态与对照组没有明显差别。Western blot检测处理前后hucMSCs中癌相关MSCs蛋白质水平, 发现处理后hucMSCs中vimentin和FAP水平上升(图1A和图1B)。将处理前后的hucMSCs固定, 用免疫荧光检测上述两种蛋白质的水平变化, 结果与Western blot一致, 处理后hucMSCs的vimentin和FAP的荧光强度明显增强(图1C)。

2.2 HGC-27上清处理后hucMSCs中miR-221的检测

我们前期的研究工作发现, 胃癌MSCs较正常MSCs和癌旁MSCs高表达miR-221, 其介导MSCs促进胃癌的发展^[6]。为进一步分析处理前后hucMSCs中miR-221的表达情况, 分别收集HGC-27培养液上清处理前后的MSCs并进行了实时荧光定量PCR检测。结果显示, miR-221在HGC-27培养液上清处理后的hucMSCs中表达明显增高(图2), 与前期结果一致。

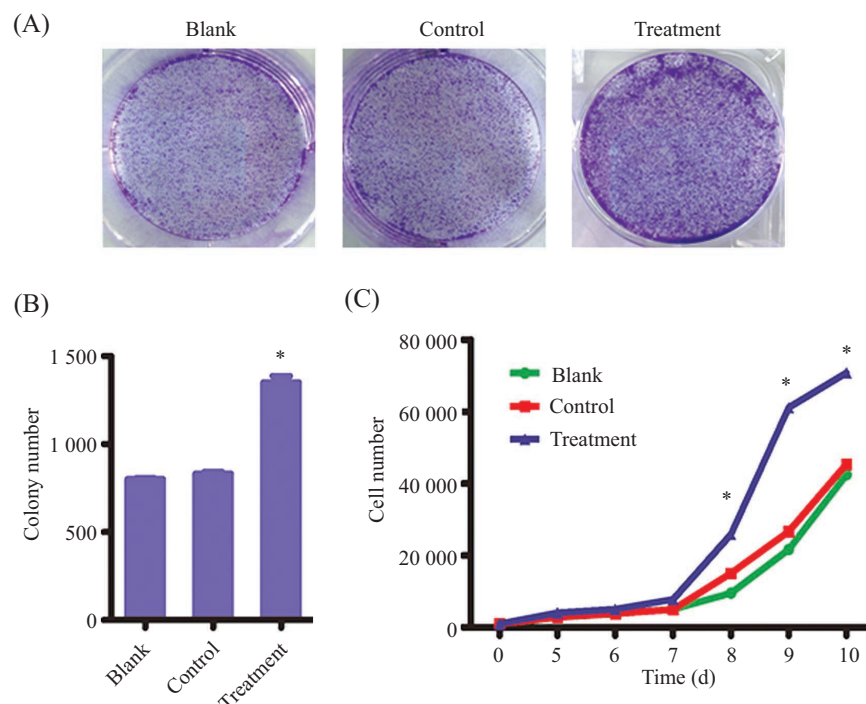


* $P < 0.05$, 与对照组比较。

* $P < 0.05$ vs control group.

图2 定量RT-PCR检测胃癌上清处理后hucMSCs中miR-221的表达情况

Fig.2 The expression of miR-221 in hucMSCs after treated with gastric cancer cell supernatant detected by quantitative RT-PCR

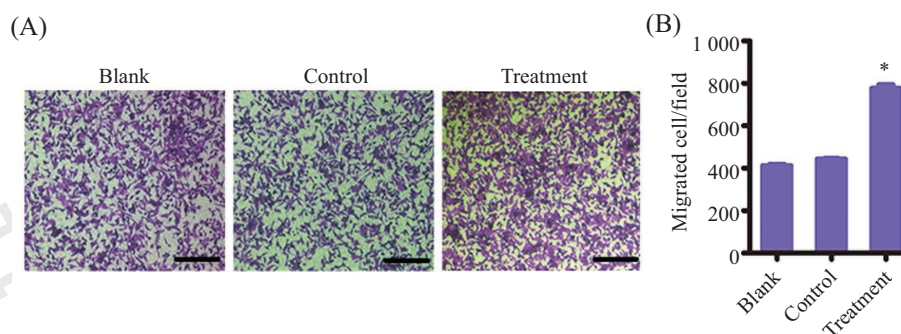


A: HGC-27克隆形成图; B: 克隆计数柱状图; C: 第5~10 d细胞计数图。* $P<0.05$, 与对照组比较。

A: HGC-27 colony formation assay; B: the bar graph of colony number; C: the chart of cell number from the fifth day to the tenth day. * $P<0.05$ vs control group.

图3 处理后hucMSCs对胃癌细胞增殖能力的影响

Fig.3 The effect of treated hucMSCs on proliferation capability of gastric cancer cells



A: 胃癌细胞迁移图, 标尺=200 μm ; B: 细胞迁移计数图, * $P<0.05$, 与对照组比较。

A: the picture of gastric cancer cell migration, scale bars=200 μm ; B: the bar graph of the migrated cell number, * $P<0.05$ vs control group.

图4 处理后hucMSCs对胃癌细胞迁移能力的影响

Fig.4 The effect of treated hucMSCs on migration capability of gastric cancer cells

2.3 处理后hucMSCs对HGC-27增殖能力的影响

为分析处理后hucMSCs是否对胃癌细胞的增殖有促进作用, 我们采用了克隆形成实验进行分析。按照1.4所述收集诱导后的hucMSCs培养液上清, 与等体积高糖DMEM混合后培养HGC-27 48 h, 以未处理hucMSCs的培养液上清作对照。结果显示, 处理组的HGC-27形成的集落较对照组直径大且数量多(图3A)。计数两组细胞所形成的集落数量, 发现处理组为对照组的2倍以上(图3B)。同时, 细胞计数实验结果发现, 处理后hucMSCs培养液上清作用的

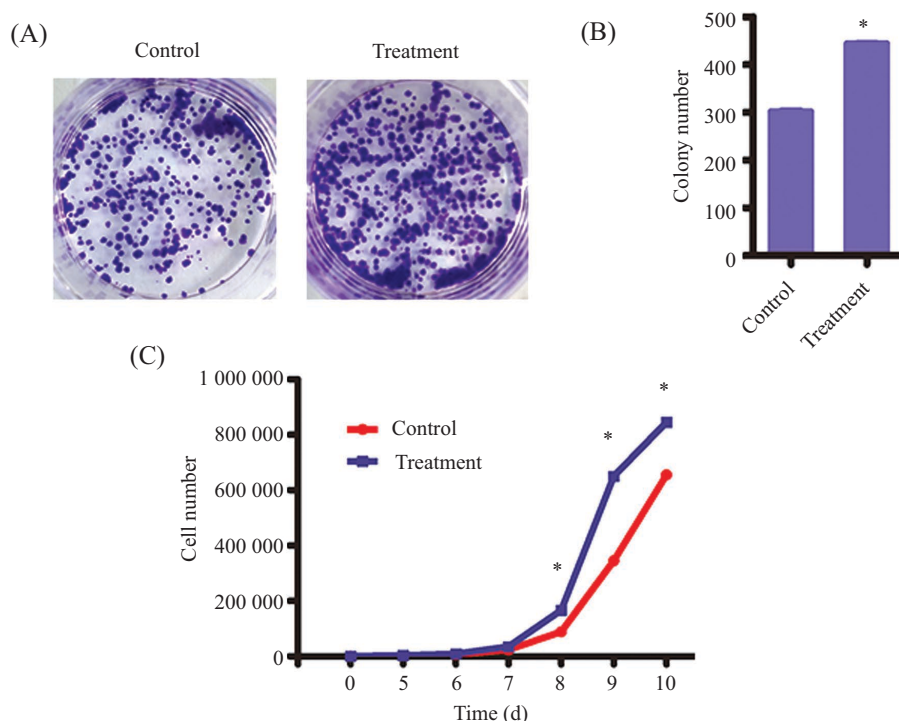
HGC-27细胞数目明显多于对照组(图3C)。

2.4 处理后hucMSCs对HGC-27迁移能力的影响

为检测处理后hucMSCs对HGC-27迁移的影响, 我们进行了细胞迁移实验。结果显示, 处理组较对照组有更多细胞迁移至膜下层, 在光学显微镜下两者细胞形态没有明显差异(图4A)。迁移细胞的计数结果显示, 处理组的迁移细胞数目明显高于对照组(图4B)。

2.5 共培养后HGC-27增殖能力的变化

为检测共培养对胃癌细胞增殖能力的影响, 将

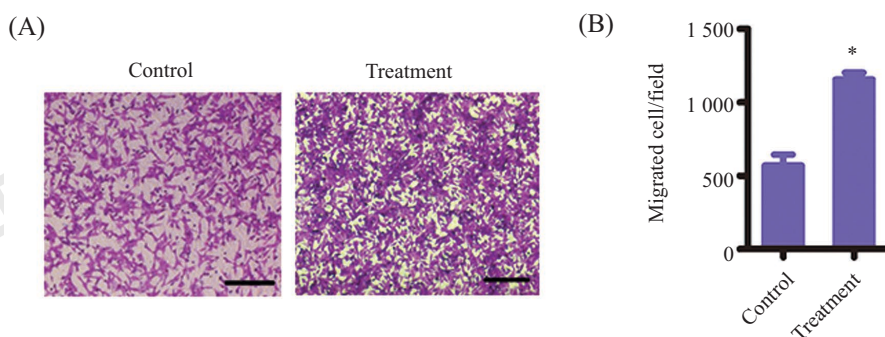


A: HGC-27克隆形成图; B: 克隆计数柱状图; C: 第5~10 d细胞计数图。* $P < 0.05$, 与对照组比较。

A: HGC-27 colony formation assay; B: the bar graph of colony number; C: the chart of cell number from the fifth day to the tenth day. * $P < 0.05$ vs control group.

图5 共培养后HGC-27增殖能力的变化

Fig.5 The changes of proliferation capability of gastric cancer cells before and after coculture



A: 胃癌细胞迁移图, 标尺=200 μm ; B: 细胞迁移计数图, * $P < 0.05$, 与对照组比较。

A: the picture of gastric cancer cell migration, scale bars=200 μm ; B: the bar graph of the migrated cell number. * $P < 0.05$ vs control group.

图6 共培养后HGC-27迁移能力的变化

Fig.6 The changes of migration capability of gastric cancer cells before and after coculture

hucMSC和HGC-27共培养2 d后, 胰酶消化, 分别接种于6孔板和24孔板。发现细胞克隆形成能力明显增强, 共培养组的细胞形成更大、更多的集落(图5A和图5B)。从第5 d起, 消化24孔板中的细胞, 发现共培养组细胞增殖速度显著快于对照组(图5C)。

2.6 共培养后HGC-27迁移能力的变化

为检测共培养对胃癌细胞迁移能力的影响, 将hucMSC和HGC-27共培养2 d后, 进行迁移实验。在光学显微镜下发现, 共培养组的迁移细胞明显多于

对照组(图6A)。计数膜下层的迁移细胞数, 结果显示, 共培养组的细胞数量显著高于对照组(图6B)。

3 讨论

MSCs在肿瘤治疗中体现出明显的优势。由于具有向肿瘤区域特异性募集的特点, MSCs可以作为治疗药物的载体靶向运输治疗因子^[7]。也可以通过基因修饰, 改变MSCs相关的miRNA和蛋白质表达而对肿瘤进程实现负向调控, 以达到有效干预肿瘤

的目的。脐带MSCs具有易于获得、可大量体外扩增、低免疫原性等优点,在组织损伤修复及肿瘤治疗的应用中备受青睐。近年来发现, MSCs是肿瘤微环境细胞的主要来源^[8],给脐带MSCs在抗肿瘤治疗中的应用带来安全隐患。研究表明, MSCs可参与形成肿瘤间质,促进肿瘤的生长与转移^[9]。Song等^[10]将间充质干细胞与肿瘤细胞共同注射到免疫抑制小鼠,发现瘤体的体积明显大于肿瘤细胞单独注射组。Cuiffo等^[11]证明, MSCs可通过调节miRNA与转录因子FOXP2的连接,促进肿瘤转移。

在前期研究中,我们从胃癌组织中分离出的胃癌间充质干细胞,即GC-MSC,具有MSCs的一般特性(如细胞呈纤维状贴壁生长),表达干细胞表面标记(如CD13、CD29、CD44以及CD105),不表达造血干细胞表面标记(如CD34、CD38和CD133),表达干性基因(如*Oct4*、*Nanog*、*Bmi1*、*Nucleostemin*、 *α -SMA*等)。但GC-MSCs在体外的增殖能力比正常MSCs强^[11],且GC-MSCs高表达miR-221,能显著促进胃癌细胞的增殖与迁移^[12]。在体内实验中,用GC-MSCs预处理肿瘤细胞,能够显著促进肿瘤生长^[13]。本实验发现,在体外条件下,胃癌细胞培养液上清可以诱导脐带MSCs,使其蛋白质和miRNA表达水平改变,获得GC-MSCs样表型以及促进肿瘤细胞增殖和迁移的能力,与上述报道吻合。前期研究还发现,胃癌细胞可通过分泌纳米级囊泡诱导脐带MSCs向CAFs分化,其中TGF- β /Smad通路参与了转分化调控作用。因此,在应用脐带MSCs进行抗肿瘤治疗时,胃癌细胞可能会诱导脐带MSCs转分化为支持肿瘤生长的癌相关MSCs,促进胃癌的生长、迁移。这些研究提示, MSCs的分化潜能以及促肿瘤的潜在作用使其应用存在安全隐患。为降低临床应用的风险,必须有效地改造脐带MSCs,尽可能发挥其治疗作用,同时避免其促进肿瘤发生发展以及恶性转化的效应。

综上所述,本研究初步探讨并发现体外胃癌细胞培养液上清处理脐带MSCs,可显著诱导其转分化并获得癌相关MSCs样表型和功能,不仅为肿瘤微环境细胞重塑提供了实验支持,也为MSCs的安全应用

提供了理论依据。

参考文献 (References)

- 1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127(12): 2893-917.
- 2 李 诚, 周 健, 裘炯良. 胃癌流行病学与分子生物学病因的研究进展. 肿瘤防治研究(Li Cheng, Zhou Jian, Qiu Jiongliang. *Advances in molecular biology and epidemiology of gastric cancer etiology. Cancer Research on Prevention and Treatment*) 2007; 31: 115-8.
- 3 Nienhuis HH, Gaykema SB, Timmer-Bosscha H, Jalving M, Brouwers AH, Lub-de Hooge MN, *et al.* Targeting breast cancer through its microenvironment: Current status of preclinical and clinical research in finding relevant targets. *Pharmacol Ther* 2015; 147: 63-79.
- 4 Xu X, Zhang X, Wang S, Qian H, Zhu W, Cao H, *et al.* Isolation and comparison of mesenchymal stem-like cells from human gastric cancer and adjacent non-cancerous tissues. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137(3): 495-504.
- 5 Droujinine IA, Eckert MA, Zhao W. To grab the stroma by the horns: From biology to cancer therapy with mesenchymal stem cells. *Oncotarget* 2013; 4(5): 651-64.
- 6 Wang M, Zhao C, Shi H, Zhang B, Zhang L, Zhang X, *et al.* Deregulated microRNAs in gastric cancer tissue-derived mesenchymal stem cells: Novel biomarkers and a mechanism for gastric cancer. *Br J Cancer* 2014; 110(5): 1199-210.
- 7 Park JS, Suryaprakash S, Lao YH, Leong KW. Engineering mesenchymal stem cells for regenerative medicine and drug delivery. *Methods* 2015; doi: 10.1016/j.ymeth.2015.03.002.
- 8 Crassini K, Mulligan SP, Best OG. Targeting chronic lymphocytic leukemia cells in the tumor microenvironment: A review of the *in vitro* and clinical trials to date. *World J Clin Cases* 2015; 3(8): 694-704.
- 9 Hamada H, Kobune M, Nakamura K, Kawano Y, Kato K, Honmou O, *et al.* Mesenchymal stem cells (MSC) as therapeutic cytoreagents for gene therapy. *Cancer Sci* 2005; 96(3): 149-56.
- 10 Song B, Kim B, Choi SH, Song KY, Chung YG, Lee YS, *et al.* Mesenchymal stromal cells promote tumor progression in fibrosarcoma and gastric cancer cells. *Korean J Pathol* 2014; 48(3): 217-24.
- 11 Cuiffo BG, Campagne A, Bell GW, Lembo A, Orso F, Lien EC, *et al.* MSC-regulated microRNAs converge on the transcription factor FOXP2 and promote breast cancer metastasis. *Cell Stem Cell* 2014; 15(6): 762-74.
- 12 Cao H, Xu W, Qian H, Zhu W, Yan Y, Zhou H, *et al.* Mesenchymal stem cell-like cells derived from human gastric cancer tissues. *Cancer Lett* 2009; 274(1): 61-71.
- 13 Huang F, Wang M, Yang T, Cai J, Zhang Q, Sun Z, *et al.* Gastric cancer-derived MSC-secreted PDGF-DD promotes gastric cancer progression. *J Cancer Res Clin Oncol* 2014; 140(11): 1835-48.