

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.12.007
文章编号: 1005-8982 (2022) 12-0039-06

实验研究·论著

N-myc 下游调节基因对胰腺癌细胞增殖、侵袭及迁移的影响及其机制研究

白阳¹, 周洪兴², 姜玉², 严永敏¹

(1. 江苏大学医学院, 江苏 镇江 212013; 2. 南京医科大学附属常州市第二人民医院
检验科, 江苏 常州 213004)

摘要: **目的** 探究N-myc下游调节基因(NDRG1)对胰腺癌细胞增殖、侵袭及迁移的影响, 并分析可能的机制。**方法** 体外培养人胰腺癌细胞系MZ-3262细胞, 并分为空白对照组(细胞不做特殊处理)、pcDNA-NC组(细胞转染pcDNA-NC)、pcDNA-NDRG1组(细胞转染pcDNA-NDRG1)、通路抑制剂组[转染pcDNA-NDRG1后加入含终浓度为1 mmol/L 磷脂肌醇3-激酶(PI3K)通路激活剂bpv的培养液]; 采用实时荧光定量聚合酶链反应检测NDRG1 mRNA的表达; CCK-8法检测细胞存活情况; 划痕实验、Transwell实验分别检测细胞迁移、侵袭能力; Western blotting检测NDRG1、增殖及侵袭迁移相关蛋白[细胞增殖相关核抗原(PCNA)、E-钙黏附蛋白(E-Cadherin)、N-钙黏附蛋白(N-Cadherin)、波形蛋白(Vimentin)]及蛋白激酶B/转录激活因子3(Akt/STAT3)通路蛋白[PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、STAT3]的表达。**结果** 与空白对照组、pcDNA-NC组比较, pcDNA-NDRG1组、通路激活剂组MZ-3262细胞NDRG1 mRNA和蛋白、E-Cadherin蛋白相对表达量升高($P < 0.05$), 细胞存活率、侵袭细胞数、划痕愈合率、PCNA、N-Cadherin、Vimentin蛋白及p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-STAT3/STAT3相对表达量降低($P < 0.05$); 但通路激活剂组MZ-3262细胞NDRG1 mRNA和蛋白、E-Cadherin蛋白相对表达量低于pcDNA-NDRG1组($P < 0.05$), 细胞存活率、侵袭细胞数、划痕愈合率、PCNA、N-Cadherin、Vimentin蛋白及p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-STAT3/STAT3相对表达量高于pcDNA-NDRG1组($P < 0.05$)。**结论** 过表达NDRG1表达可能通过抑制PI3K/Akt/STAT3通路活化, 抑制胰腺癌MZ-3262细胞增殖、侵袭及迁移。

关键词: 胰腺癌; N-myc下游调节基因; 细胞; 增殖; 侵袭; 迁移; 磷脂肌醇3-激酶/蛋白激酶B/转录激活因子3通路

中图分类号: R735.9

文献标识码: A

The role of NDRG1 in the proliferation, invasion and migration of pancreatic cancer cells and its mechanisms

Yang Bai¹, Hong-Xing Zhou², Yu Jiang², Yong-min Yan¹

(1. Medical College of Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Changzhou Second People's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Changzhou, Jiangsu 213004, China)

Abstract: Objective To investigate the role of N-Myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1) in the proliferation, invasion and migration of pancreatic cancer (PC) cells, and to analyze the potential mechanisms.

Methods The human PC MZ-3262 cells were cultured in vitro and divided into control group (no special treatment), pcDNA-NC group (transfected with pcDNA-NC), pcDNA-NDRG1 group (transfected with pcDNA-NDRG1) and pathway activation group (transfected with pcDNA-NDRG1 and cultured in the medium containing 1 mmol/L of

收稿日期: 2021-12-07

[通信作者] 周洪兴, E-mail: rudashi@foxmail.com; Tel: 0519-81087716

phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) pathway activator bpv). The mRNA expression level of NDRG1 was measured via quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). The cell survival was detected via CCK-8, and the migration and invasion abilities of the cells were detected via scratch assay and transwell assay. The protein levels of NDRG1, molecules associated with proliferation, invasion and migration including proliferating cell nuclear antigen (PCNA), E-cadherin, N-cadherin and vimentin, and those associated with Akt/STAT3 pathway including PI3K, p-PI3K, Akt, p-Akt, and STAT3, were detected via Western blotting. **Results** The mRNA expression of NDRG1 and protein expressions of NDRG1 and E-Cadherin in MZ-3262 cells were higher in the pcDNA-NDRG1 and pathway activation group than those in the control group and pcDNA-NC group ($P < 0.05$). The cell survival rate, the number of invasive cells, the rate of gap closure, the protein expressions of PCNA, N-cadherin, and vimentin, and the relative expressions of P-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and p-STAT3/STAT3 were lower in the pcDNA-NDRG1 and the pathway activation group than those in the control group and pcDNA-NC group ($P < 0.05$). However, mRNA expression of NDRG1 and protein expressions of NDRG1 and E-cadherin in MZ-3262 cells were lower in the pathway activation group compared with those in the pcDNA-NDRG1 group ($P < 0.05$). Besides, the cell survival rate, the number of invasive cells, the rate of gap closure, the protein expressions of PCNA, N-cadherin, and vimentin, and the relative expressions of P-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and p-STAT3/STAT3 were higher in the pathway activation group than those in the pcDNA-NDRG1 group ($P < 0.05$). **Conclusions** Overexpression of NDRG1 may inhibit the proliferation, invasion and migration of MZ-3262 cells by attenuating the activation of PI3K/Akt/STAT3 pathway.

Keywords: pancreatic cancer; N-Myc downstream-regulated gene 1; cell; proliferation; invasion; migration; PI3K/AKT/STAT3 pathway

胰腺癌是临床常见消化系统恶性肿瘤,发病率及病死率居恶性肿瘤的前 10 位,早期症状不明显,缺乏特异性筛查指标,80% 患者确诊时多为中晚期,仅 5% 左右患者进行手术治疗,但术后易发生肿瘤转移,5 年生存率 < 5%^[1-2]。因此,探寻胰腺癌新型生物治疗靶标,改善患者预后已成为临床研究热点。N-myc 下游调节基因 (N-myc downstream-regulated gene 1, NDRG1) 参与细胞分化、增殖及凋亡等生物学过程^[3]。研究显示,上调 NDRG1 表达可抑制胰腺癌细胞侵袭及迁移^[4]。既往研究显示,抑制蛋白激酶 B/转录激活因子 3 (protein kinase B/signal transducer and activator of transcription 3, Akt/STAT3) 通路活化,可抑制胰腺癌细胞增殖、侵袭及迁移^[5]。目前有关 NDRG1 对胰腺癌细胞生物学行为的影响及其对 Akt/STAT3 通路的调控作用少见报道,因此本研究探究 NDRG1 对胰腺癌细胞增殖、侵袭及转移的作用,并分析其对 Akt/STAT3 通路的调控作用,期为临床寻找胰腺癌新型生物治疗靶点提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞来源

人胰腺癌细胞系 MZ-3262、MZ-3674、MZ-3355、MZ-3353 细胞购自宁波明舟生物科技有限公司。

1.2 主要试剂与仪器

1.2.1 主要试剂 RPMI 1640 培养基 (武汉楚锐科

药业科技有限公司), CCK-8 试剂盒 (上海吉至生化科技有限公司), Lipofectamine™ 2000 转染试剂盒 (北京泽平科技有限责任公司), NDRG1 过表达质粒载体 pcDNA-NDRG1、不含 NDRG1 的空白质粒 pcDNA-NC 由上海艾博思生物科技有限公司设计合成,盐酸布比卡因注射液 (bpv 注射液) (国药准字 H43021020, 湖南正清制药集团股份有限公司), 兔抗人 NDRG1、细胞增殖相关核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、E-钙黏附蛋白 (E-cadherin)、N-钙黏附蛋白 (N-cadherin)、波形蛋白 (Vimentin)、磷脂肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、p-PI3K、蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、p-Akt、转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、 β -actin 多克隆抗体、山羊抗兔 HRP 二抗 (武汉楚锐科药业科技有限公司)。

1.2.2 主要仪器 CCL-050A-8 型二氧化碳 CO₂ 培养箱 (北京泽平科技有限责任公司), Elx800 型酶标仪 (北京泰泽嘉业科技发展有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 取 MZ-3262、MZ-3674、MZ-3355、MZ-3353 细胞解冻及复苏,置于含 10% 灭活胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS)+100 u/mL 青霉素+100 μ g/mL 链霉素的 RPMI 1640 培养液,在 37℃、5% CO₂、95% O₂ 培养箱中培养,每 2~3 天更换 1 次培养液,待细胞稳定传代后进行后续实验。

1.3.2 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测各细胞系 NDRG1 mRNA 的表达 提取各细胞系总 RNA 并测浓度,以 RNA 为模板逆转录生成 cDNA,以 cDNA 为模板行 qRT-PCR。反应体系 20 μL : UltraSYBR mixture 10 μL 、cDNA 2.0 μL 、正反向引物各 2.0 μL 、 H_2O_2 4.0 μL ; 反应条件: 95 $^\circ\text{C}$ 变性 15 s, 65 $^\circ\text{C}$ 退火 62 s, 共 40 个循环; 熔解曲线: 60 $^\circ\text{C}$ 至 95 $^\circ\text{C}$, 每 15 秒升温 0.3 $^\circ\text{C}$ 。NDRG1 以 β -actin 为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 NDRG1 mRNA 相对表达量, 引物由上海江林生物科技有限公司设计合成(见表 1)。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	引物序列	引物长度/bp
NDRG1	正向: 5'-CTCCTGCAAGAGTTTGATGTCC-3'	327
	反向: 5'-TCATGCCGATGTCATGCTAGG-3'	
β -actin	正向: 5'-CTCCATCTGGCCTCGCTGT-3'	3454
	反向: 5'-GCTGTACCTTACCGTTCC-3'	

1.3.3 细胞瞬时转染及分组 由 1.3.2 筛选出 MZ-3262 细胞为研究细胞。取对数生长期的 MZ-3262 细胞, 按 1.3×10^5 个/孔的密度接种于 48 孔板, 融合至 80% 时, 更换无 FBS 的 RPMI 1640 培养液。将细胞分为 4 组: MZ-3262 细胞不做特殊处理为空白对照组; 依据 LipofectamineTM 2000 转染试剂盒说明书, 先将脂质体 LipofectamineTM 2000 分别与质粒载体 pcDNA-NDRG1、pcDNA-NC 按 8 μL : 4 μg 在 250 μL Opti-MEM 中稀释, 混匀后加入培养液中转染细胞, 分别作为 pcDNA-NC 组(阴性对照组)、pcDNA-NDRG1 组(过表达 NDRG1); 转染 pcDNA-NDRG1 后, 加入含 PI3K 通路激活剂 bpv 1 mmol/L^[6] 的培养液, 培养 MZ-3262 细胞作为通路激活剂组。以上各组用无 FBS 培养液继续培养 24 h。每组设置 6 个复孔, 实验重复 3 次。

1.3.4 qRT-PCR 检测各组 NDRG1 mRNA 的表达 分别提取各组稳定转染的 MZ-3262 细胞总 RNA 并测浓度, 参照 1.3.2 方法测定各组 MZ-3262 细胞 NDRG1 mRNA 相对表达量。

1.3.5 CCK-8 法检测细胞存活情况 取各组稳定转染的 MZ-3262 细胞, 胰酶消化后按 1.3×10^5 个/孔的密度接种至 48 孔板, 培养 24 h 后加入 CCK-8 试剂, 继续培养 2 h, 酶标仪检测 570 nm 处各孔细胞

光密度(optic density, OD)值, 计算细胞存活率。存活率=(实验组 OD 值/空白对照组 OD 值) \times 100%。每组设置 6 个复孔, 实验重复 3 次。

1.3.6 Transwell 实验检测细胞侵袭能力 取液态 Matrigel 基质胶(2.0 mg/mL, 50 μL)于 Transwell 小室上层, 37 $^\circ\text{C}$ 凝固 30 min, 取各组细胞重悬, 按 3.0×10^3 个/孔的密度接种至小室上层, 下层加入含 10% FBS 600 μL 的培养基; 棉签擦除上层未迁移细胞, 下层固定 15 min; 0.2% 结晶紫染色 20 min, 冲洗, 晾干、封片。拍照、统计细胞侵袭数。每组设置 6 个复孔, 实验重复 3 次。

1.3.7 划痕实验检测细胞迁移能力 取各组稳定转染的 MZ-3262 细胞, 胰酶消化后按 1.3×10^5 个/孔的密度接种至 48 孔板, 利用 10 μL 灭菌枪头划痕, PBS 冲洗, 孔内加入无 FBS 的 RPMI-1640 培养液继续培养细胞, 分别于 0 h、24 h 后显微镜下取点, 观察并拍照。以初始距离为对比, 测量细胞迁移距离并计算细胞划痕治愈率。划痕愈合率(%) = $(d_{0h} - d_{24h}) / d_{0h} \times 100\%$ 。每组设置 6 个复孔, 实验重复 3 次。

1.3.8 Western blotting 检测 NDRG1 增殖及侵袭迁移相关蛋白、Akt/STAT3 通路蛋白的表达 收集各组稳定转染的 MZ-3262 细胞, 以 RIPA 裂解液提取总蛋白并检测浓度及纯度, 分别取 10 μg 电泳、转膜、脱脂奶粉(5%)溶液封闭 2 h, 分别加入一抗 NDRG1(1:1 000)、PCNA(1:1 000)、E-Cadherin(1:1 000)、N-Cadherin(1:1 000)、Vimentin(1:1 000)、PI3K(1:1 000)、p-PI3K(1:1 000)、Akt(1:1 000)、p-AKT(1:1 000)、p-STAT3(1:1 000)、STAT3(1:1 000)、 β -actin(1:1 000), 4 $^\circ\text{C}$ 过夜, 加入 HRP 标记山羊抗兔二抗(1:5 000), 室温孵育 1 h, 显影、定影, 以 β -actin 为内参, 采用半定量法分析蛋白相对表达量。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 比较用方差分析, 进一步两两比较用 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞系筛选

MZ-3262、MZ-3674、MZ-3355、MZ-3353 细胞系 NDRG1 mRNA 相对表达量分别为 (1.00 ± 0.16) 、 (0.81 ± 0.16) 、 (0.76 ± 0.51) 、 (0.66 ± 0.20) , 经方差分析, 差异有统计学意义($F=4.380, P=0.008$)。进一步两两

比较结果:与 MZ-3262 细胞比较, MZ-3674、MZ-3355、MZ-3353 细胞 NDRG1 mRNA 相对表达量降低 ($P < 0.05$), 因此选择 MZ-3262 细胞进行后续试验。

2.2 各组细胞 NDRG1 mRNA 相对表达量比较

空白对照组、pcDNA-NC 组、pcDNA-NDRG1 组、通路激活剂组 MZ-3262 细胞 NDRG1 mRNA 相对表达量分别为 (1.00 ± 0.15) 、 (1.02 ± 0.16) 、 (2.38 ± 0.51) 、 (1.30 ± 0.20) , 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 45.749, P = 0.000$)。进一步两两比较结果:与空白对照组、pcDNA-NC 组比较, pcDNA-NDRG1 组 MZ-3262 细胞 NDRG1 mRNA 相对表达量升高 ($P < 0.05$), pcDNA-NC 组、pcDNA-NDRG1 组细胞成功转染。

2.3 各组 MZ-3672 细胞存活情况比较

空白对照组、pcDNA-NC 组、pcDNA-NDRG1 组、通路激活剂组 MZ-3262 细胞存活率分别为 $(100.00 \pm 0.00)\%$ 、 $(99.12 \pm 0.78)\%$ 、 $(35.78 \pm 5.35)\%$ 、 $(63.12 \pm 9.51)\%$, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 456.284, P = 0.000$)。进一步两两比较结果:与空白对照组、pcDNA-NC 组比较, pcDNA-NDRG1 组、通路激活剂组 MZ-3262 细胞存活率降低 ($P < 0.05$); 但通路激活剂组 MZ-3262 细胞存活率比 pcDNA-NDRG1 组升高 ($P < 0.05$)。

2.4 各组 MZ-3262 细胞侵袭能力比较

空白对照组、pcDNA-NC 组、pcDNA-NDRG1 组、通路激活剂组 MZ-3262 细胞侵袭细胞数分别为 (316.52 ± 47.45) 个、 (320.89 ± 48.15) 个、 (112.26 ± 16.85) 个、 (210.15 ± 31.53) 个, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 96.859, P = 0.000$)。进一步两两比较结果:与空白对照组、pcDNA-NC 组比较, pcDNA-NDRG1 组、通路激活剂组 MZ-3262 细胞侵袭细胞数减少 ($P < 0.05$); 但通路激活剂组 MZ-3262 细胞侵袭细胞数比 pcDNA-NDRG1 组增多 ($P < 0.05$)。见图 1。

2.5 各组 MZ-3262 细胞迁移能力比较

空白对照组、pcDNA-NC 组、pcDNA-NDRG1 组、通路激活剂组 MZ-3262 细胞划痕愈合率分别为 $(26.79 \pm 4.11)\%$ 、 $(27.10 \pm 4.07)\%$ 、 $(10.03 \pm 1.51)\%$ 、 $(19.35 \pm 2.91)\%$, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 89.544, P = 0.000$)。进一步两两比较结果:与空白对照组、pcDNA-NC 组比较, pcDNA-NDRG1 组、通路激活剂组 MZ-3262 细胞划痕愈合率降低 ($P < 0.05$); 但通路激活剂组 MZ-3262 细胞划痕愈合率比 pcDNA-NDRG1 组升高 ($P < 0.05$)。见图 2。

2.6 各组 MZ-3672 细胞 NDRG1 蛋白和增殖、侵

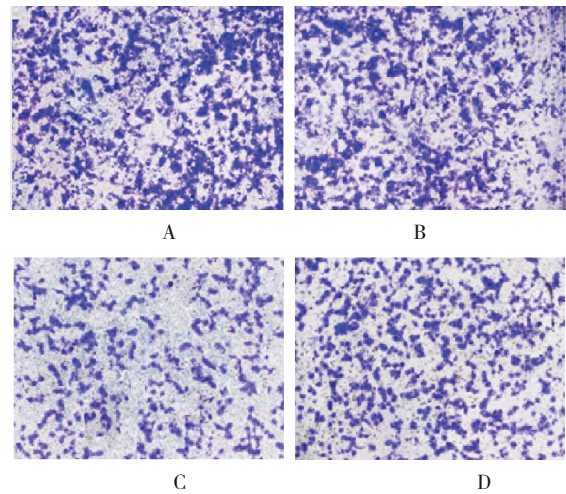


图 1 各组 MZ-3262 细胞侵袭能力 ($\times 400$)
A:空白对照组; B:pcDNA-NC 组; C:pcDNA-NDRG1 组; D:通路激活剂组。

图 1 各组 MZ-3262 细胞侵袭能力 ($\times 400$)

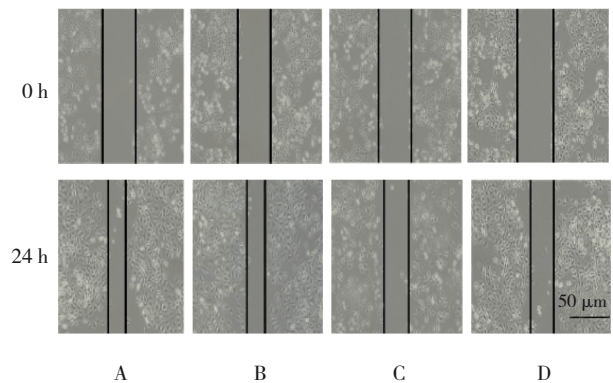


图 2 各组 MZ-3262 细胞迁移能力 ($\times 400$)
A:空白对照组; B:pcDNA-NC 组; C:pcDNA-NDRG1 组; D:通路激活剂组。

图 2 各组 MZ-3262 细胞迁移能力 ($\times 400$)

侵袭迁移相关蛋白相对表达量比较

4 组 MZ-3262 细胞 NDRG1、PCNA、E-Cadherin、Vimentin、N-Cadherin 蛋白相对表达量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较结果:与空白对照组、pcDNA-NC 组比较, pcDNA-NDRG1 组、通路激活剂组 MZ-3262 细胞 PCNA、N-Cadherin、Vimentin 蛋白相对表达量降低 ($P < 0.05$), NDRG1、E-Cadherin 蛋白相对表达量升高 ($P < 0.05$); 但通路激活剂组 MZ-3262 细胞 PCNA、N-Cadherin、Vimentin 蛋白相对表达量高于 pcDNA-NDRG1 组 ($P < 0.05$), NDRG1、E-Cadherin 蛋白相对表达量低于 pcDNA-NDRG1 组 ($P < 0.05$)。见表 2 和图 3。

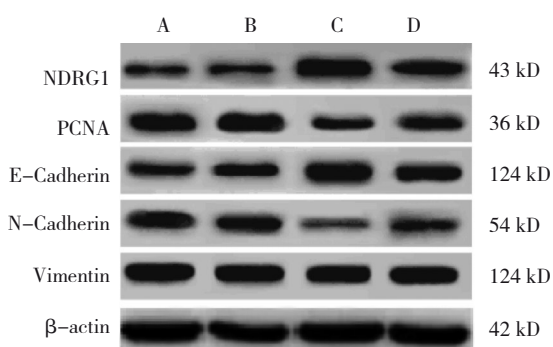
2.7 各组 MZ-3672 细胞 PI3K/Akt/STAT3 通路蛋白相对表达量比较

4 组 MZ-3262 细胞 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-

表 2 各组 MZ-3672 细胞 NDRG1 蛋白及增殖、侵袭迁移相关蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

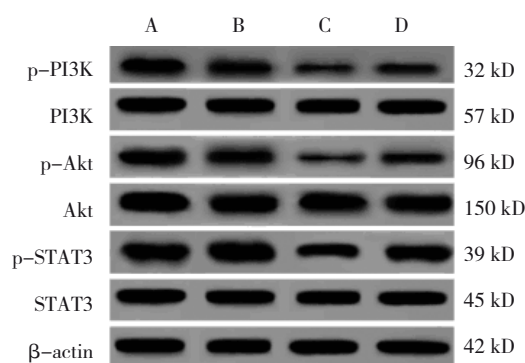
组别	NDRG1 蛋白	PCNA 蛋白	E-Cadherin 蛋白	N-Cadherin 蛋白	Vimentin 蛋白
空白对照组	0.35 ± 0.06	1.30 ± 0.20	0.45 ± 0.07	1.22 ± 0.19	1.26 ± 0.63
pcDNA-NC 组	0.37 ± 0.06	1.32 ± 0.22	0.47 ± 0.08	1.25 ± 0.20	1.28 ± 0.65
pcDNA-NDRG1 组	1.19 ± 0.18 ^①	0.56 ± 0.09 ^①	1.27 ± 0.19 ^①	0.58 ± 0.09 ^①	0.43 ± 0.07 ^①
通路激活剂组	0.71 ± 0.11 ^{①②}	0.85 ± 0.13 ^{①②}	0.72 ± 0.11 ^{①②}	0.79 ± 0.12 ^{①②}	0.86 ± 0.13 ^{①②}
F 值	71.067	46.364	63.504	43.600	6.659
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: ①与空白对照组、pcDNA-NC 组比较, $P < 0.05$; ②与 pcDNA-NDRG1 组比较, $P < 0.05$ 。



A: 空白对照组; B: pcDNA-NC 组; C: pcDNA-NDRG1 组; D: 通路激活剂组。

图 3 各组 MZ-3672 细胞 NDRG1 蛋白和增殖、侵袭迁移相关蛋白的表达



A: 空白对照组; B: pcDNA-NC 组; C: pcDNA-NDRG1 组; D: 通路激活剂组。

图 4 各组 MZ-3672 细胞 PI3K/Akt/STAT3 通路蛋白的表达

STAT3/STAT3 相对表达量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较结果: 与空白对照组、pcDNA-NC 组比较, pcDNA-NDRG1 组、通路激活剂组 MZ-3672 细胞 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-STAT3/STAT3 相对表达量降低 ($P < 0.05$), 但通路激活剂组 MZ-3672 细胞 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-STAT3/STAT3 相对表达量高于 pcDNA-NDRG1 组 ($P < 0.05$)。见表 3 和图 4。

表 3 各组 MZ-3672 细胞 PI3K/Akt/STAT3 通路蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	p-STAT3/STAT3
空白对照组	1.18 ± 0.18	1.31 ± 0.19	1.40 ± 0.21
pcDNA-NC 组	1.20 ± 0.19	1.32 ± 0.20	1.41 ± 0.22
pcDNA-NDRG1 组	0.40 ± 0.06 ^①	0.55 ± 0.08 ^①	0.67 ± 0.11 ^①
通路激活剂组	0.81 ± 0.12 ^{①②}	0.90 ± 0.14 ^{①②}	1.06 ± 0.16 ^{①②}
F 值	53.334	52.300	46.173
P 值	0.000	0.000	0.000

注: ①与空白对照组、pcDNA-NC 组比较, $P < 0.05$; ②与 pcDNA-NDRG1 组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

胰腺癌是消化系统恶性肿瘤, 具有发病隐匿、侵袭转移性强的特点, 大多数患者确诊时已是中晚期^[7]。目前临床治疗胰腺癌主要采用手术及放疗, 但手术对于浸润程度深的患者有较大风险, 而肿瘤细胞的耐药性使化疗药物的广泛应用及疗效受到一定限制^[8]。因此探寻新型分子生物学靶标提高疗效对改善患者预后具有较大意义。

NDRG1 位于人体染色体 8q24.2, 其编码的蛋白质相对分子质量为 43 000。研究显示, NDRG1 与肿瘤发生、发展有关^[9]。岑刚等^[10]研究显示, NDRG1 蛋白在胰腺癌组织中异常低表达与胰腺癌进展有关。本研究成功转染 MZ-3672 细胞。细胞间黏附能力改变、运动能力失调是癌细胞侵袭、转移的关键^[11]。PCNA 蛋白是细胞增殖相关基因蛋白。E-Cadherin 表达缺失易使细胞发生转移, N-Cadherin、Vimentin 高表达能促使癌细胞发生侵袭、转移^[12-13]。本研究结果显示, 与空白对照组、pcDNA-NC 组比较, pcDNA-NDRG1 组 MZ-3672 细胞存活率, 侵袭细胞数, 划痕愈合率, PCNA、N-Cadherin、Vimentin 蛋白相

对表达量下调, NDRG1、E-Cadherin 蛋白相对表达量上调, 说明过表达 NDRG1 可能抑制胰腺癌 MZ-3262 细胞增殖、侵袭及转移。

STAT3 是 PI3K/Akt 通路的下游基因, PI3K 活化产生第二信使 PIP3, 进一步磷酸化 Akt 蛋白的 Thr308 位点, 促使 Akt 活化并发生磷酸化反应, 促使下游基因 STAT3 磷酸化, 参与肿瘤细胞生长、分化等。孟松等^[14]研究显示, 抑制 STAT3 基因表达可抑制胰腺癌细胞增殖, 并诱导细胞凋亡。李海洋等^[5]研究显示, 抑制 Akt/STAT3 通路活化可对胰腺癌细胞增殖、侵袭迁移等发挥抑制作用。本研究结果显示, 加入通路激活剂后, 与 pcDNA-NDRG1 组比较, 通路激活剂组胰腺癌 MZ-3262 细胞存活率, 侵袭细胞数, 划痕愈合率, PCNA、N-Cadherin、Vimentin 蛋白相对表达量上调, NDRG1、E-Cadherin 蛋白相对表达量下调; 且与空白对照组、pcDNA-NC 组比较, pcDNA-NDRG1 组、通路激活剂组 MZ-3262 细胞 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-STAT3/STAT3 蛋白下调, 但通路激活剂组 MZ-3262 细胞 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-STAT3/STAT3 蛋白较 pcDNA-NDRG1 组上调, 说明过表达 NDRG1 可能通过抑制 PI3K/Akt/STAT3 通路活化, 抑制胰腺癌 MZ-3262 细胞增殖、侵袭及转移。

综上所述, 上调 NDRG1 表达可能通过抑制 PI3K/Akt/STAT3 通路活化, 抑制 MZ-3262 细胞增殖、侵袭及转移。本研究下一步将探讨 NDRG1 对 PI3K/Akt/STAT3 通路的具体调控作用。

参 考 文 献 :

- [1] HO W J, JAFFEE E M, ZHENG L. The tumour microenvironment in pancreatic cancer — clinical challenges and opportunities[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(9): 527-540.
- [2] LUO G P, JIN K Z, DENG S M, et al. Roles of CA19-9 in pancreatic cancer: biomarker, predictor and promoter[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, 1875(2): 188409.
- [3] AIKEMU B, SHAO Y F, YANG G, et al. NDRG1 regulates filopodia-induced colorectal cancer invasiveness via modulating CDC42 activity[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(7): 1716-1730.

- [4] 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]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2013, 7(14): 6452-6456.
- [5] 李海洋. 趋化因子 Fractalkine 调控 IL-6/AKT/Stat3 信号通路对人胰腺癌细胞增殖侵袭影响及机制研究[D]. 银川: 宁夏医科大学, 2017.
- [6] 曹红丽. PI3K/Akt/GSK-3 β 通路在脂肪乳逆转布比卡因致大鼠海马神经元细胞毒性中的作用[D]. 银川: 宁夏医科大学, 2020.
- [7] WANG M, LIU J, ZHAO Y, et al. Upregulation of METTL14 mediates the elevation of PERP mRNA N⁶ adenosine methylation promoting the growth and metastasis of pancreatic cancer[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 130.
- [8] PERRI G, PRAKASH L, MALLEO G, et al. The sequential radiographic effects of preoperative chemotherapy and (chemo) radiation on tumor anatomy in patients with localized pancreatic cancer[J]. *Ann Surg Oncol*, 2020, 27(10): 3939-3947.
- [9] SKEDSMO F S, ESPENES A, TRANULIS M A, et al. Impaired NDRG1 functions in Schwann cells cause demyelinating neuropathy in a dog model of Charcot-Marie-Tooth type 4D[J]. *Neuromuscul Disord*, 2021, 31(1): 56-68.
- [10] 岑刚. NDRG1 对胰腺癌生物学特性的影响及机制研究[D]. 南京: 南京医科大学, 2016.
- [11] HAN Y H, SUN G L. Overexpression of lncRNA TINCR is associated with high-grade, invasive, and recurring tumors, and facilitates proliferation *in vitro* and *in vivo* of urothelial carcinoma of the bladder[J]. *Urol Oncol*, 2020, 38(9): 738.e1-738.e8.
- [12] QIU J J, GUO J J, LV T J, et al. Prognostic value of centromere protein-A expression in patients with epithelial ovarian cancer[J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(5): 2971-2975.
- [13] 刘梦瑶, 苟理尧, 夏菁, 等. 整合素 $\beta 2$ 促进人乳腺癌细胞 MCF-7 的迁移、侵袭与黏附[J]. *基因组学与应用生物学*, 2019, 38(1): 313-319.
- [14] 孟松, 周耀柱, 马永超, 等. 龙胆苦苷对人胰腺癌细胞 PANC-1 凋亡及 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路的影响[J]. *中国药房*, 2020, 31(15): 1836-1841.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 白阳, 周洪兴, 姜玉, 等. N-myc 下游调节基因对胰腺癌细胞增殖、侵袭及迁移的影响及其机制研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(12): 39-44.

Cite this article as: BAI Y, ZHOU H X, JIANG Y, et al. The role of NDRG1 in the proliferation, invasion and migration of pancreatic cancer cells and its mechanisms[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(12): 39-44.