

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.14.006

TGF- β 1 对卵巢癌细胞 A2780 增殖及迁移侵袭的影响 *陈雨龙¹ 宋克娟² 曹佃霞¹ 吕 腾² 于晓敏³ 姚 勤^{2Δ}

(1 青岛大学 山东 青岛 266071; 2 青岛大学附属医院妇科 山东 青岛 266003;

3 青岛市第八人民医院妇科 山东 青岛 266041)

摘要 目的:探讨 TGF- β 1 对卵巢癌细胞 A2780 增殖、迁移及侵袭能力的影响。**方法:**以体外培养的卵巢癌细胞 A2780 为研究对象,给予不同浓度(0、2、4、20 ng/mL)TGF- β 1 处理不同时间(12、24、72 h)。采用 CCK-8 法检测不同的浓度 TGF- β 1 处理不同时间对卵巢癌细胞 A2780 增殖的影响。根据增殖实验结果选择合适的 TGF- β 1 作用浓度及处理时间,采用细胞划痕实验测定细胞的迁移能力,Transwell 实验检测细胞的侵袭及迁移能力。**结果:**相较于空白对照组,TGF- β 1 可以剂量和时间依赖性显著促进卵巢癌细胞 A2780 的增殖($P < 0.05$)。细胞划痕实验结果显示 TGF- β 1 处理组 $\Delta S\%/h$ 明显高于空白对照组($P < 0.05$);Transwell 迁移实验结果显示:TGF- β 1 处理组 OD570 明显高于空白对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。Transwell 细胞侵袭实验结果显示:与空白对照组相比,TGF- β 1 处理组 OD570 明显升高($P < 0.05$)。**结论:**TGF- β 1 可以明显促进卵巢癌细胞系 A2780 的增殖、迁移及侵袭能力,其促增殖效应呈剂量/时间依赖效应。

关键词:TGF- β 1; 卵巢癌; 增殖; 迁移; 侵袭

中图分类号:R737.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)14-2627-04

Effect of TGF- β 1 on the Proliferation, Migration and Invasion of Ovarian Cancer Cell Line A2780*CHEN Yu-long¹, SONG Ke-juan², CAO Dian-xia¹, LV Teng², YU Xiao-min³, YAO Qin^{2Δ}

(1 Qingdao University, Qingdao, Shandong, 266071, China; 2 Dept. of Gynecology, Qingdao University Affiliated Hospital, Qingdao, Shandong, 266003, China; 3 Dept. of Gynecology, Qingdao Eighth People's Hospital, Qingdao, Shandong, 266041, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of TGF- β 1 on the proliferation, migration and invasion of ovarian cancer cell line A2780. **Methods:** Ovarian cancer cell line A2780 were treated with different concentration (0, 2, 4, 20 ng/mL) of TGF- β 1 for different time (12, 24, 72 h) in vitro. CCK-8 cell counting assay was used to detect the proliferation ability. A proper treatment concentration and time was chosen depending on the proliferation assay results, then wound healing assay was used to examine the cell migration ability and transwell assay was employed to determine the migration and invasion ability of ovarian cancer cell line A2780. **Results:** Compared with the blank control group, TGF- β 1 could significantly promote the proliferation of ovarian cancer cell line A2780 in a dose-/time-dependent manner($P < 0.05$). The wound healing assay showed that the $\Delta S\%/h$ of TGF- β 1 treated group was obviously higher than that of the blank control group ($P < 0.05$). The Transwell migration assay showed that the OD570 of TGF- β 1 treated group was higher than that of the blank control group($P < 0.05$). Compared with the blank control group, transwell invasion assay showed that the OD570 of TGF- β 1 treated group was much higher ($P < 0.05$). **Conclusions:** TGF- β 1 could significantly promote the proliferation of ovarian cancer cell line A2780 in a dose-/time-dependent manner. It could also enhance the migration and invasion ability of ovarian cancer cell line A2780.

Key words: TGF- β 1; Ovarian cancer; Proliferation; Migration; Invasion

Chinese Library Classification(CLC): R737.31 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)14-2627-04

前言

卵巢癌是常见的女性生殖系统恶性肿瘤,由于缺乏特异性症状和有效的早期筛查手段,70%患者确诊时已近晚期^[1,2]。最新的流行病学调查显示^[3]卵巢癌5年生存率 $< 45\%$,且在发展中国家卵巢癌的发病率仍呈上升趋势。转化生长因子

β (Transforming growth factor- β , TGF- β)属于 TGF- β 因子超家族,在哺乳动物中主要包括4种高度同源的亚型,即 TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3 及 TGF- β 1 β 2^[4,6]。作为调节细胞生长及分化的重要细胞因子,TGF- β 参与体内多种生理病理过程^[7,8]。我们的前期研究发现^[9,10],TGF- β 1 可通过调控 miR-21 及 CLIC4、PD-CD4 等多个靶基因进而诱导成纤维细胞向肿瘤相关成纤维细

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81100697/H1208);山东省博士基金项目(BS2011SW003)

作者简介:陈雨龙(1989-),硕士研究生,主要研究方向:妇科肿瘤,E-mail: chenylong1989@yeah.net

Δ 通讯作者:姚勤(1970-),教授,主要研究方向:妇科肿瘤,E-mail: dr_yaoqin@126.com,电话:0532-82919606

(收稿日期:2016-12-13 接受日期:2017-01-03)

胞(肿瘤间质)分化,并参与调控细胞的凋亡过程。本实验在前期基础上,拟探讨 TGF- β 1 对卵巢癌细胞 A2780(肿瘤实质)恶性生物学行为的影响,以进一步阐述 TGF- β 1 在卵巢癌实质与间质微环境间相互影响中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

重组人 TGF- β 1 蛋白购自美国 PeproTech 公司;人卵巢癌细胞株 A2780 购自中科院肿瘤研究所;胎牛血清(FBS),DMEM 培养液,PBS 缓冲液,0.25 %胰酶-EDTA,DMSO,Trizol 及单、多道移液器购自美国 ThermoFisher 公司;6 孔板,24 孔板,96 孔板,25 cm² 培养瓶,Transwell 细胞培养插件,低生长因子 Matrigel 基质胶(Matrigel GFR)购自美国 Corning 公司;CCK-8 试剂盒购自日本同仁化学研究所;细胞划痕实验 6 孔板插件购自德国 ibidi 公司;倒置显微镜购自日本 Nikon 公司;微孔板检测系统 VersaMax(酶标仪)购自美国 MolecularDevices 公司。

1.2 方法

1.2.1 TGF- β 1 溶解稀释 以 10 mM、pH=3.0 的柠檬酸溶液溶解 TGF- β 1 并调整浓度至 1.0 mg/mL,然后以含 10 %FBS 的 DMEM 培养基稀释 TGF- β 1 至终浓度 100 ng/mL,分装于 1.5 mL EP 管置 -20~-80 °C 冻存备用。解冻后的 TGF- β 1 置 4 °C 保存并于 1 周内用完,逾期丢弃且不可反复冻融,以免 TGF- β 1 降解影响实验结果准确性。

1.2.2 细胞培养 配制含 10 %FBS 的 DMEM 培养液(完全培养基)。从液氮罐取出 A2780 冻存管后迅速置 37 °C 水浴箱,适度震荡使冻存管于 1 min 内融化。将含有细胞的冻存液转移至 15 mL 离心管,补充 10 mL 完全培养基,1000 r/min 离心 5 min,弃上清液并用 5 mL 完全培养基重悬细胞,转移至 25 cm² 培养瓶,置 37 °C、5 %CO₂ 培养箱培养。细胞生长密度 80~90 %时,PBS 冲洗 3 次后胰酶-EDTA 消化传代。每次传代时 1000 r/min 离心 5 min 以去除死细胞、细胞碎片及培养液中的杂质。冻存细胞时配制细胞冻存液(10 %DMSO+90 %FBS),消化离心细胞后以冻存液重悬并转移至冻存管,冻存管放入程序冻存盒置 -80 °C 过夜后转移至液氮罐冻存。

1.2.3 实验分组 细胞增殖实验按照 TGF- β 1 浓度梯度(0.2、4、6...20 ng/mL)及时间梯度(12、24、36...72 h)设置分组;细胞迁移实验、侵袭实验分为 2 组,即空白对照组和 TGF- β 1 处理组(TGF- β 1 处理浓度及处理时间根据细胞增殖实验选择)。每组设置 3 个复孔,所有实验重复 3 次。

1.2.4 CCK-8 增殖实验 胰酶-EDTA 消化 A2780 细胞,1000 r/min 离心 5 min 后以完全培养基重悬备用。TGF- β 1 以浓度梯度铺 96 孔板,A2780 细胞以 3×10^5 cells/mL 密度接种 96 孔板,96 孔板每孔最终体系为 100 μ L,置 37 °C、5 %CO₂ 培养箱常规培养。自培养 12 h 起每 12 h(即时间梯度)以含 10 %CCK-8 溶液的完全培养基换液,于培养箱孵育 1 h 后用酶标仪检测各孔在 450 nm 处波长吸光度值(OD₄₅₀),直至测定 72 h 后 OD₄₅₀。每 24 h 换液一次并按照浓度梯度补充 TGF- β 1。将 OD₄₅₀ 进行 Min-Max 标准化后绘制 TGF- β 1 剂量/时间效应热图,根据 OD₄₅₀ 绘制生长曲线。OD₄₅₀ 标准化(OD₄₅₀-Standardized,

OD_{450-S})处理公式为:OD_{450-S}=(OD₄₅₀^{min}为 OD₄₅₀ 最小值,OD₄₅₀^{max}为 OD₄₅₀ 最大值)。

1.2.5 细胞划痕实验 胰酶-EDTA 消化 A2780 细胞,1000 r/min 离心 5 min 后以完全培养基重悬备用。6 孔板每孔放置 1 个 ibidi 细胞划痕实验培养插件,每个 ibidi 插件共有 2 个培养小室,每个小室接种 70 μ L A2780 细胞悬液(密度为 3×10^5 cells/mL),插件外每孔(6 孔板)补充 2.3 mL 完全培养基。置 37 °C、5 %CO₂ 培养箱培养至细胞形成连续单层,移除 ibidi 划痕插件,由于插件 2 培养小室间存在纵隔并能够紧贴于 6 孔板底面,故纵隔处无细胞生长,形成宽度为 500 μ m 的非机械损伤划痕。6 孔板以 PBS 冲洗 3 次以去除未贴壁细胞,TGF- β 1 组予 10 ng/mL 处理,空白对照组以完全培养基换液,6 孔板每孔最终体系为 2.5 mL。置 37 °C、5 %CO₂ 培养箱培养,每 12 h 于倒置显微镜下(4 $\times$ 物镜)观察并拍照,直至无细胞区域被细胞基本覆盖。所采集图像使用 CellProfiler 2.2.0 软件进行分析,并以单位时间内细胞覆盖面积百分率的变化量反映细胞迁移能力,计算公式为 $\Delta S\%/h = (S_t - S_0)/t$ (t 为时间点,S_t%为时间 t 时细胞覆盖面积所占拍摄图片面积的百分率)。

1.2.6 Transwell 细胞迁移实验 胰酶-EDTA 消化 A2780 细胞,1000 r/min 离心 5 min 后以无血清培养基重悬备用。A2780 以 5×10^3 cells/孔接种 Transwell 小室的上室,TGF- β 1 组予 10 ng/mL 处理,置 24 孔板中,每孔加入含 20 %FBS 的培养基。置 37 °C、5 %CO₂ 培养箱常规培养 24 h,取出 Transwell 小室,PBS 冲洗 3 次,棉棒轻柔擦去上室细胞,4 %多聚甲醛固定细胞 15 min,PBS 冲洗 3 次,干燥后用结晶紫染色 30 min,PBS 冲洗 3 次,用 33 %醋酸脱色,酶标仪检测洗脱液在 570 nm 波长处吸光度(OD₅₇₀)以反应细胞数。

1.2.7 Transwell 细胞侵袭实验 Transwell 上室以 1 mg/mL Matrigel GFR 基质胶包被,置 37 °C、5 %CO₂ 培养箱过夜备用。其余操作步骤同 1.2.6。

1.3 统计学分析

使用 IBM SPSS 23.0 统计软件对所有实验数据进行分析,数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。细胞增殖实验组间差异比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),各组间两两比较采用 Bonferroni 法;细胞迁移、侵袭实验中 TGF- β 1 组与空白对照组的比较采用独立样本 t 检验;P<0.05 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 TGF- β 1 对卵巢癌细胞 A2780 增殖能力的影响

TGF- β 1 处理后,卵巢癌细胞 A2780 的增殖能力明显增强,呈时间/剂量依赖效应,见图 1A。TGF- β 1 处理时间相同时,OD₄₅₀ 随处理浓度增大而升高,各浓度梯度组与空白对照组间差异具有统计学意义(P<0.05),见图 1B;TGF- β 1 处理浓度相同时,OD₄₅₀ 随处理时间延长而升高,各时间梯度组与空白对照组间差异具有统计学意义(P<0.05),见图 1C。

2.2 TGF- β 1 对卵巢癌细胞 A2780 迁移能力的影响

TGF- β 1 处理后,卵巢癌细胞 A2780 迁移能力明显增强:细胞划痕实验显示:TGF- β 1 处理组 $\Delta S\%/h$ 明显高于空白对照组,差异具有统计学意义(P<0.05),见图 2A-B;Transwell 迁

移实验结果显示 TGF- β 1 处理组 OD₅₇₀ 明显高于空白对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)见图 2C。

2.3 TGF- β 1 对卵巢癌细胞 A2780 侵袭能力的影响

TGF- β 1 处理后卵巢癌细胞 A2780 侵袭能力明显增强, 与空白对照组相比, TGF- β 1 处理组 OD₅₇₀ 明显升高, 差异具有统计学意义(P<0.05), 见图 3。

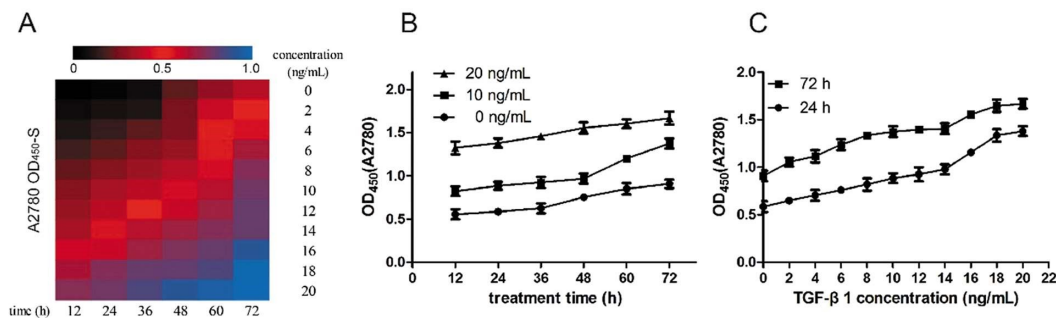


图 1 TGF- β 1 对卵巢癌细胞 A2780 增殖能力的影响

Fig.1 The effect of TGF- β 1 on the proliferation of ovarian cancer cell A2780

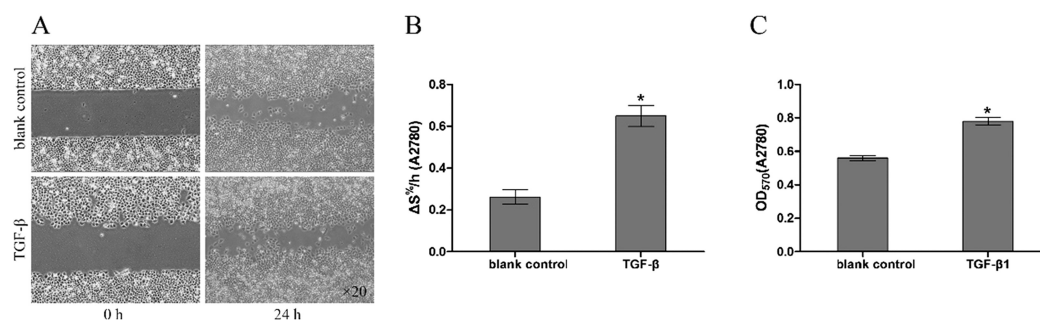


图 2 TGF- β 1 对卵巢癌细胞 A2780 迁移能力的影响; *P<0.05

Fig.2 The effect of TGF- β 1 on the migration of ovarian cancer cell A2780; *P<0.05

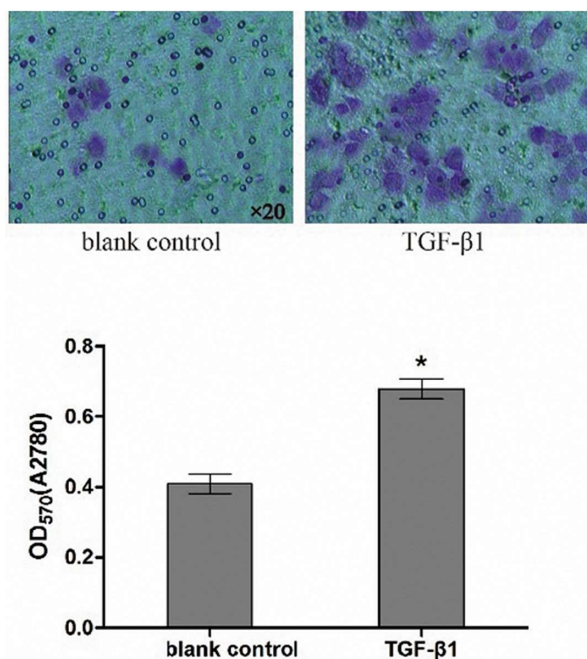


图 3 TGF- β 1 对卵巢癌细胞 A2780 侵袭能力的影响; *P<0.05

Fig.3 The effect of TGF- β 1 on the invasion of ovarian cancer cell A2780;

*P<0.05

3 讨论

卵巢癌是女性生殖系统三大恶性肿瘤之一,其组织学分型

(WHO2014)极为复杂,且不同组织学分型间的分子学异质性极强^[1],提示我们卵巢肿瘤并非"一种"疾病,而是解剖部位相同,但组织学、分子学特征迥异的"一组"疾病^[2]。近 30 年来,以铂类药物为基础的化疗药物的应用并未使卵巢癌患者的远期生存率提高^[3-15]。由于卵巢解剖位置深且无早期特异性症状,大部分患者发现时以近晚期,并伴有腹腔或远处转移^[2,16]。晚期卵巢癌患者预后差主要与两个因素有关:疾病的分期,即能否行细胞减灭术及可行的程度;病灶限于盆腔或是已广泛播散。国外众多学者提出^[2]卵巢癌的早期筛查应着眼于如何分辨高级别浆液性卵巢癌的癌前细胞,而不是通常伴有 Ras 信号通路激活的低级别肿瘤(I/II 期),因为低级别卵巢癌很少进一步发展为高级别卵巢癌。因此,如何评价卵巢癌患者的转移复发风险是亟待解决的临床问题。

TGF- β 超家族是一个庞大的调控网络,参与了细胞增殖、凋亡、分化、上皮间质转化及转移等多种生理病理进程^[17]。对正常卵巢组织而言, TGF- β 主要起到抑制卵巢上皮组织过度增生的作用^[18]。而在肿瘤中, TGF- β 在病变的不同时期对肿瘤的作用却截然相反:在肿瘤早期起到抑制肿瘤生长的作用,而在肿瘤晚期却可通过调节免疫系统及肿瘤微环境促进肿瘤的侵袭及转移^[17,19]。Principe 等^[20]及 Neuzillet 等^[21]的研究发现,抑制 TGF- β 可以减小肿瘤体积并增加生存获益,且进一步的研究发现^[21]抑制 TGF- β 通路可增强细胞毒性药物的治疗效果。国内也有学者发现^[22]抑制 TGF- β 激酶 1 可以提高紫杉醇在卵巢癌细胞中的治疗效率。Kulkarni 等^[23]在较早时对 TGF- β 基因缺失的

研究时发现在成年小鼠模型中给予大剂量 TGF- β 拮抗剂治疗并未对其健康产生不利影响。因此,以抗 TGF- β 为基础的治疗方案是安全可行的。此外,TGF- β 1 及其所属的 TGF- β 信号通路还参与了胰腺癌^[24]、肝癌^[25]等多种恶性肿瘤发生发展过程,且国内外多项研究提示 TGF- β 1/2 可作为恶性肿瘤的预后判断指标^[26-28]。

本实验在前期探讨了 TGF- β 1 对卵巢癌肿瘤相关成纤维细胞(肿瘤间质细胞)影响的基础上进一步研究了 TGF- β 1 对卵巢癌细胞 A2780(肿瘤实质细胞)恶性生物学行为的影响。增殖实验结果显示 TGF- β 1 能够增强卵巢癌细胞 A2780 增殖能力,且促增殖能力随 TGF- β 1 作用浓度提高及作用时间延长而不断增强。在细胞划痕实验中,以 ibidi 划痕实验插件代替机械划痕,一方面避免了划痕机械损伤后细胞释放的各种细胞因子对贴壁细胞的影响,另一方面 ibidi 插件形成的无细胞生长区域宽度稳定在 $500 \pm 50 \mu\text{m}$,实验可重复性相对更高。划痕实验结果显示 TGF- β 1 可明显促进卵巢癌细胞 A2780 的迁移能力,这一实验结果与 Transwell 迁移实验相符。在 Transwell 细胞侵袭实验中选择 Matrigel GFR 基质胶以减少 Matrigel 基质胶中的 TGF- β 对实验结果的影响,细胞侵袭实验结果显示 TGF- β 1 可明显增强卵巢癌细胞 A2780 的侵袭能力。简言之,TGF- β 1 可有效增强卵巢癌实质细胞 A2780 的增殖、迁移及侵袭作用,也可通过促进间质细胞的分化^[9,10]进而为卵巢癌实质细胞提供适宜的肿瘤生存微环境。相关研究^[19]提示负性调控 TGF- β 1 及 TGF- β 信号通路一方面可以抑制成纤维细胞向肿瘤相关成纤维细胞分化,进而抑制有利于肿瘤生长微环境的形成,另一方面可以直接抑制肿瘤实质细胞的增殖、迁移侵袭等恶性生物学行为,故其可能成为新的卵巢癌靶向治疗策略。

综上,本研究及前期实验将 TGF- β 1 对肿瘤间质、实质的影响进行了探讨,但均为单层细胞培养模型(2D 细胞培养),有研究表明^[29]在细胞迁移、侵袭能力的测定中,2D 细胞模型与 3D 细胞模型的实验结果存在一定差异,结合肿瘤在体内的实际生长情况,故尚需在 3D 细胞培养模型中对实验结果进一步验证。此外,从 TGF- β 超家族本身到 TGF- β 家族受体,再到 TGF- β 下游众多非编码 RNA 及靶蛋白等,TGF- β 通路的调控是极其复杂的,且 TGF- β 通路又与其它通路间存在相互作用^[17],因此,寻找各通路间的交叉点进行深入的机制研究将为 TGF- β 1 的靶向治疗提供更多的理论依据。

参考文献(References)

- [1] 华克勤, 丰有吉. 实用妇产科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 557-590
Hua Ke-qin, Feng You-ji. Practice of Obstetrics and Gynecology[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2013: 557-590
- [2] Vaughan S, Coward JJ, Bast RC Jr, et al. Rethinking ovarian cancer: Recommendations for improving outcomes [J]. Nature Reviews Cancer, 2011, 11(10): 719-725
- [3] Webb PM, Jordan SJ. Epidemiology of epithelial ovarian cancer [J]. Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology, 2016
- [4] Massague J. Receptors for the TGF- β family [J]. Cell, 1992, 69(7): 1067-1070
- [5] Bassing CH, Yingling JM, Wang XF. Receptors for the TGF- β ligand family [J]. Vitamins and Hormones, 1994, 48: 111-156
- [6] Massague J, Attisano L, Wrana JL. The TGF- β family and its composite receptors [J]. Trends in Cell Biology, 1994, 4(5): 172-178
- [7] Zhang L, Chen J, Chai W, et al. Glycitin regulates osteoblasts through TGF- β or AKT signaling pathways in bone marrow stem cells [J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2016, 12(5): 3063-3067
- [8] Du X, Zhang L, Li X, et al. TGF- β signaling controls FSHR signaling-reduced ovarian granulosa cell apoptosis through the Smad4/miR-143 axis [J]. Cell Death & Disease, 2016, 7(11): e2476
- [9] Yao Q, Qu X, Yang Q, et al. CLIC4 mediates TGF- β 1-induced fibroblast-to-myofibroblast transdifferentiation in ovarian cancer [J]. Oncology Reports, 2009, 22(3): 541-548
- [10] Yao Q, Cao S, Li C, et al. Micro-RNA-21 regulates TGF- β -induced myofibroblast differentiation by targeting PDCD4 in tumor-stroma interaction [J]. International Journal of Cancer, 2011, 128 (8): 1783-1792
- [11] Kurman RJ, Shih Ie M. The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: A proposed unifying theory [J]. The American Journal of Surgical Pathology, 2010, 34(3): 433-443
- [12] Bowtell DD, Bohm S, Ahmed AA, et al. Rethinking ovarian cancer II: Reducing mortality from high-grade serous ovarian cancer [J]. Nature Reviews Cancer, 2015, 15(11): 668-679
- [13] Omura G, Blessing JA, Ehrlich CE, et al. A randomized trial of cyclophosphamide and doxorubicin with or without cisplatin in advanced ovarian carcinoma. A gynecologic oncology group study [J]. Cancer, 1986, 57(9): 1725-1730
- [14] McGuire WP. Maintenance therapy for ovarian cancer: of helsinki and hippocrates [J]. Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology, 2009, 27(28): 4633-4634
- [15] Coleman MP, Forman D, Bryant H, et al. Cancer survival in Australia, Canada, Denmark, Norway, Sweden, and the UK, 1995-2007 (the international cancer benchmarking partnership: An analysis of population-based cancer registry data [J]. Lancet (London, England), 2011, 377(9760): 127-138
- [16] Matz M, Coleman MP, Carreira H, et al. Worldwide comparison of ovarian cancer survival: Histological group and stage at diagnosis (concord-2) [J]. Gynecologic Oncology, 2016
- [17] Syed V. TGF- β signaling in cancer [J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2016, 117(6): 1279-1287
- [18] Cardenas C, Alvero AB, Yun BS, et al. Redefining the origin and evolution of ovarian cancer: A hormonal connection [J]. Endocrine-related Cancer, 2016, 23(9): R411-422
- [19] Chou JL, Chen LY, Lai HC, et al. TGF- β : Friend or foe? The role of TGF- β /Smad signaling in epigenetic silencing of ovarian cancer and its implication in epigenetic therapy [J]. Expert Opinion on Therapeutic Targets, 2010, 14(11): 1213-1223
- [20] Principe DR, Doll JA, Bauer J, et al. TGF- β : Duality of function between tumor prevention and carcinogenesis [J]. Journal of the National Cancer Institute, 2014, 106(2): djt369
- [21] Neuzillet C, Tijeras-Raballand A, Cohen R, et al. Targeting the TGF- β pathway for cancer therapy [J]. Pharmacology & Therapeutics, 2014, 147: 22-31

- signaling pathways[J]. J Neurosci, 2009, 29(2): 393-401
- [11] Di S, Malcher-Lopes R, Halmos KC, et al. Nongenomic glucocorticoid inhibition via endocannabinoid release in the hypothalamus: a fast feedback mechanism [J]. J Neurosci, 2003, 23(12): 4850-4857
- [12] Gong H, Liu L, Ni CX, et al. Dexamethasone rapidly inhibits glucose uptake via non-genomic mechanisms in contracting myotubes [J]. Arch Biochem Biophys, 2016, 603: 102-109
- [13] Zhou J, Kang ZM, Xie QM, et al. Rapid nongenomic effects of glucocorticoids on allergic asthma reaction in the guinea pig [J]. J Endocrinol, 2003, 177(1): R1-4
- [14] Liu C, Zhou J, Zhang LD, et al. Rapid inhibitory effect of corticosterone on histamine release from rat peritoneal mast cells[J]. Horm Metab Res, 2007, 39(4): 273-277
- [15] Zhou J, Liu DF, Liu C, et al. Glucocorticoids inhibit degranulation of mast cells in allergic asthma via nongenomic mechanism [J]. Allergy, 2008, 63(9): 1177-1185
- [16] Nizamutdinova IT, Dusio GF, Gasheva OY, et al. Mast cells and histamine are triggering the NF-kappaB-mediated reactions of adult and aged perilymphatic mesenteric tissues to acute inflammation[J]. Aging (Albany NY), 2016, 8(11): 3065-3090
- [17] Amin K. The role of mast cells in allergic inflammation [J]. Respir Med, 2012, 106(1): 9-14
- [18] He SH, Zhang HY, Zeng XN, et al. Mast cells and basophils are essential for allergies: mechanisms of allergic inflammation and a proposed procedure for diagnosis [J]. Acta Pharmacol Sin, 2013, 34(10): 1270-1283
- [19] Fu YS, Kuo SY, Lin HY, et al. Pretreatment with Evans blue, a stimulator of BK (Ca) channels, inhibits compound 48/80-induced shock, systemic inflammation, and mast cell degranulation in the rat [J]. Histochem Cell Biol, 2015, 144(3): 237-247
- [20] Matsui N, Ito D, Takabatake Y, et al. Compound 48/80, a Mast Cell Stimulator, Enhances Synthesis of IgE and IgG Induced by Intranasal Application of Ovalbumin in Mice[J]. Biol Pharm Bull, 2015, 38(12): 1954-1959
- [21] Lowenberg M, Verhaar AP, van den Brink GR, et al. Glucocorticoid signaling: a nongenomic mechanism for T-cell immunosuppression [J]. Trends Mol Med, 2007, 13(4): 158-163
- [22] Barnes PJ. Glucocorticosteroids: current and future directions[J]. Br J Pharmacol, 2011, 163(1): 29-43
- [23] Kashiwakura J. The role of histamine-releasing factor in allergic inflammation[J]. Seikagaku, 2015, 87(6): 766-769
- [24] Dvorak AM. Mast cell-derived mediators of enhanced microvascular permeability, vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, histamine, and serotonin, cause leakage of macromolecules through a new endothelial cell permeability organelle, the vesiculo-vacuolar organelle[J]. Chem Immunol Allergy, 2005, 85: 185-204

(上接第 2630 页)

- [22] Bo L, Cui H, Fang Z, et al. Inactivation of transforming growth factor- β -activated kinase 1 promotes taxol efficacy in ovarian cancer cells[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2016, 84: 917-924
- [23] Kulkarni AB, Huh CG, Becker D, et al. Transforming growth factor beta 1 null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1993, 90(2): 770-774
- [24] Witte D, Zeeh F, Gadeken T, et al. Proteinase-activated receptor 2 is a novel regulator of TGF- β signaling in pancreatic cancer[J]. Journal of Clinical Medicine, 2016, 5(12)
- [25] Rojas A, Zhang P, Wang Y, et al. A positive TGF- β /c-KIT feedback loop drives tumor progression in advanced primary liver cancer[J]. Neoplasia, 2016, 18(6): 371-386
- [26] Sun N, Taguchi A, Hanash S. Switching roles of TGF- β in cancer development: Implications for therapeutic target and biomarker studies[J]. Journal of Clinical Medicine, 2016, 5(12)
- [27] 杨秀华, 郭峰, 任丽娜, 等. TGF- β 2 和 TGF- β II 在外阴鳞癌中的表达及意义[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(19): 3751-3754
- Yang Xiu-hua, Guo Feng, Ren Li-na, et al. Expression and Clinical Significance of TGF- β 2 and TGF β R II in the Vulvar Squamous Cell Carcinoma [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2016, 16(19): 3751-3754
- [28] 王涛, 张泽峰, 高峰, 等. 肺癌患者血清 TGF- β 1 水平变化及其与临床特征的关系 [J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(30): 5911-5913+5936
- Wang Tao, Zhang Ze-feng, Gao Feng, et al. Changes of Serum TGF- β 1 Levels in Patients with Lung Cancer and its Relationship with Clinical Characteristics [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2016, 16(30): 5911-5913+5936
- [29] Li Y, Kilian KA. Bridging the gap: From 2D cell culture to 3D microengineered extracellular matrices [J]. Advanced Healthcare Materials, 2015, 4(18): 2780-2796