

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.04.007

· 临床研究(专题) ·

TGF- β 2 通过基质金属蛋白酶通路影响胶质瘤干细胞的侵袭能力

张东勇¹, 王一维², 张路阳¹, 王维¹, 刘强¹, 李振航¹, 王运杰¹, 仇波¹(1. 中国医科大学附属第一医院 神经外科, 辽宁 沈阳 110001; 2. 沈阳医学院 解剖教研室, 辽宁 沈阳 110034)

[摘要] **目的:** 研究 TGF- β 2 对胶质瘤干细胞侵袭能力的影响及其可能机制。 **方法:** 收集 2016 年 4 月至 2017 年 4 月中国医科大学附属第一医院神经外科手术切除的 8 例人多形性成胶质细胞瘤组织标本, 通过胰蛋白酶消化法进行胶质瘤细胞原代培养, 部分胶质瘤细胞加入含有 EGF、bFGF、B27 的 DEME/F12 培养基中进行无血清培养获得悬浮生长的肿瘤细胞球, 免疫荧光染色及分化实验验证肿瘤球是否为胶质瘤干细胞。 ELISA 方法检测胶质瘤干细胞分泌 TGF- β 2 的水平, 转染 TGF- β 2 siRNA 后应用 Transwell 方法检测 TGF- β 2 对胶质瘤侵袭能力影响, Western blotting 检测 TGF- β 2 对胶质瘤干细胞中基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)表达影响。 **结果:** 通过免疫荧光染色及分化实验证明原代培养的悬浮生长肿瘤细胞球为胶质瘤干细胞, 肿瘤细胞球表达 CD133, 在含血清培养基中可以分化为神经元和胶质细胞。胶质瘤干细胞比原代培养的胶质瘤 TGF- β 2 分泌水平明显升高 [(74.13 \pm 3.63) vs (46.13 \pm 2.61) pg/ml, P <0.05]。沉默 TGF- β 2 可以降低胶质瘤干细胞侵袭细胞数 [(105.71 \pm 8.69) vs (63.67 \pm 5.93) 个, P <0.05], 并抑制 MMP-2 和 MMP-9 表达(均 P <0.05)。 **结论:** TGF- β 2 通过 MMP-2 和 MMP-9 通路增强胶质瘤干细胞的侵袭能力。

[关键词] 胶质瘤干细胞; 转化生长因子- β 2; 基质金属蛋白酶; 侵袭

[中图分类号] R739.41; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)04-0357-06

TGF- β 2 enhances invasion ability of glioma stem cell through matrix metalloproteinase pathway

ZHANG Dongyong¹, WANG Yiwei², ZHANG Luyang¹, WANG Wei¹, LIU Qiang¹, LI Zhenhang¹, WANG Yunjie¹, QIU Bo¹(1. Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning, China; 2. Department of Anatomy, Shenyang Medical College, Shenyang 110034, Liaoning, China)

[Abstract] Objective: To study the effect and possible mechanism of TGF- β 2 on the invasion of glioma stem cells (GSCs). **Methods:** Tumor tissues of 8 patients with glioblastoma multiforme, who underwent resection at Department of Neurosurgery of the First Affiliated Hospital of China Medical University during April 2016 to April 2017, were collected. The primary culture of glioma cells were conducted with trypsin digestion. Partial primary glioma cells were seeded into serum-free DMEM/F12 culture medium containing EGF, bFGF and B27 to obtain suspension of tumor spheres. Immunofluorescent staining and differentiation assay were used to detect whether the tumor spheres were GSCs. TGF- β 2 secretion ability of GSCs was determined by ELISA assay. After transfection of TGF- β 2 siRNA, the invasion ability of glioma stem cells was determined by Transwell assay. Western blotting was used to examine the effect of TGF- β 2 on expression of matrix metalloproteinases (MMP) in glioma stem cells. **Results:** The suspended tumor spheres were proved to be GSCs by immunofluorescent staining and differentiation assay; the tumor spheres expressed the marker of GSCs (CD133) and had the ability to multi-differentiate (glia and neuronal cells). Compared with the primary glioma cells, Glioma stem cells exerted significantly improved TGF- β 2 secretion ability [(74.13 \pm 3.63) vs [46.13 \pm 2.61] pg/ml, P <0.05]; and TGF- β 2 silencing significantly reduced the invasion ability of glioma stem cells [(105.71 \pm 8.69) vs [63.67 \pm 5.93], P <0.05) and inhibited MMP-2 and MMP-9 expressions. **Conclusion:** TGF- β 2 can promote the invasiveness of glioma stem cells through MMP-2 and MMP-9 pathway.

[Key words] glioma stem cell; TGF- β 2; matrix metalloproteinase; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(4): 357-362. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.04.007]

[基金项目] 辽宁省博士启动基金资助项目(No. 201501004)。Project supported by the Doctoral Startup Foundation of Liaoning Province (No. 201501004)

[作者简介] 张东勇(1983-), 男, 博士, 副主任医师, 主要从事胶质瘤基础和临床的研究, E-mail: zhangdongyong@cmu.edu.cn

[通信作者] 仇波(QIU Bo, corresponding author), 博士, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事脑胶质瘤和颅底肿瘤的基础和临床研究, E-mail: fhx-ue2022@yahoo.com

胶质瘤是成年人颅内原发的恶性肿瘤,占颅内肿瘤发生率的第一位^[1]。WHO将胶质瘤依据病理级别分为低级别胶质瘤(I~II级)和高级别胶质瘤(III~IV级),高级别胶质瘤预后相对较差^[2]。尤其是成胶质细胞瘤(IV级)患者,经过手术肿瘤切除、替莫唑胺同步放化疗或替莫唑胺化疗后,中位生存时间约14个月^[3],5年生存率不到5%^[4]。因此,胶质瘤如何发生及胶质瘤侵袭能力的影响因素成为胶质瘤研究的热点。胶质瘤干细胞(glioma stem cell, GSC)具有自我更新和多向分化能力,同时具有高度放疗和化疗耐受性,被认为是胶质瘤的起源细胞。很多研究^[5-8]发

现,转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 2可以增加胶质瘤细胞的侵袭能力。因此,本实验拟研究TGF- β 2对GSC侵袭能力的影响及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 标本来源和主要试剂

8例人多形性成胶质细胞瘤组织来自于2016年4月至2017年4月间中国医科大学附属第一医院神经外科术后标本,切除肿瘤30 min内将标本送到实验室进行原代培养。患者基本情况见表1。

表1 8例多形性成胶质细胞瘤患者的主要信息

Tab.1 Clinicopathologic features of 8 patients with glioblastoma multiforme

No.	Gender	Age(t/a)	Location	Diameter(d/cm)	Pathologic grade
1	Female	51	Right cerebellum	≥ 3	IV
2	Female	62	Left temporal	≥ 3	IV
3	Female	46	Left frontal lobe	≥ 3	IV
4	Male	53	Left frontal lobe	< 3	IV
5	Male	57	Left temporal	< 3	IV
6	Male	58	Left parietal lobe	< 3	IV
7	Male	63	Left insula	≥ 3	IV
8	Male	75	Left occipital lobe	≥ 3	IV

重组人EGF、重组人bFGF、B-27添加剂均购自Invitrogen公司,鼠抗人CD133抗体、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase, MMP-2)抗体、MMP-9抗体、GAPDH抗体均购自Abcam公司,Cy3标记绵羊抗鼠抗体、FITC标记山羊抗兔抗体、Hoechst 33258均购自Sigma-Aldrich公司,TGF- β 2 ELISA试剂盒购自R&D公司,Transwell小室(Costar)购自Corning公司。

1.2 无血清培养法诱导培养原代胶质瘤细胞成胶质瘤细胞球

本实验通过中国医科大学附属第一医院伦理委员会批准。手术标本采集前,患者签署知情同意书。将手术切除标本置于含4℃磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)的离心管中,30 min内进行原代培养。在超净工作台内,PBS冲洗3次,置于平皿中,锐性剪成为1 mm³的组织块。加入适量的0.25%胰蛋白酶,在37℃条件下消化15 min,加入含有10% FBS的DMEM/F12培养基终止消化。然后将细胞悬液通过200目孔径的滤网,滤出液移至离心管内,以800×g离心5 min,去除消化液。加入含10% FBS DMEM/F12培养基制成细胞悬液,以2×10⁶个/ml接种到25 cm²培养瓶中培养。将部分生长对数期的胶质瘤细胞转移到含有20 ng/ml EGF、20 ng/ml bF-

GF和B-27(1:50)的DMEM/F12培养基中培养。每3 d对细胞进行换液。

1.3 Hoechst33258免疫荧光染色肿瘤细胞球

将悬浮生长的肿瘤细胞球1 400×g离心5 min,弃上清,加少许含有20 ng/ml EGF,20 ng/ml bFGF和B-27(1:50)的DMEM/F12培养基,吹打成细胞悬液;滴在防脱载玻片上,在培养箱内培养8 h。PBS漂洗5 min×3次,吸净液体;4%多聚甲醛固定30 min,PBS漂洗5 min×3次,吸净液体;湿盒内5% BSA封闭20 min;擦净载玻片周围BSA,加入鼠抗人CD133抗体(1:200),放于湿盒内4℃冰箱过夜;对照组标本使用非特异性IgG代替一抗;第2天取出载玻片,室温放置30 min;PBS漂洗5 min×3次,吸净液体;在避光条件下,加入Cy3标记绵羊抗鼠抗体(1:250),37℃湿盒内孵育2 h;PBS漂洗5 min×3次,吸净液体;避光条件下加入Hoechst 33258染核5 min,PBS漂洗5 min×3次,吸净液体,在荧光倒置显微镜下观察并拍照。

1.4 胶质瘤细胞球的诱导分化并进行免疫荧光染色

将悬浮生长的肿瘤细胞球1 400×g离心5 min,弃上清,加入含10% FBS DMEM/F12培养基,肿瘤细胞球悬液滴在载玻片上诱导分化7 d。PBS漂洗5 min×3次;4%多聚甲醛固定30 min,PBS漂洗5 min×3次;0.3% Triton X-100打孔孵育30 min,PBS漂洗5

min \times 3次;湿盒内5% BSA封闭20 min,擦净周围BSA,加入一抗兔抗人GFAP抗体(1:200)、鼠抗人 β -III-tubulin抗体(1:200),置于湿盒内4 $^{\circ}$ C冰箱过夜。对照组使用非特异性IgG代替一抗。第2天取出载玻片室温放置30 min,PBS漂洗5 min \times 3次,避光条件下加入Cy3标记绵羊抗鼠抗体(1:250),FITC标记山羊抗兔抗体(1:100),37 $^{\circ}$ C湿盒内孵育2 h;PBS漂洗5 min \times 3次,Hoechst 33258染核5 min,PBS漂洗5 min \times 3次,甘油封片,在荧光倒置显微镜下观察并拍照。

1.5 ELISA法测定细胞TGF- β 2分泌水平

原代培养的胶质瘤细胞(primary cultured glioma cell,PCGC)或GSC在无血清的DMEM/F12培养基中培养48 h,以PCGC作为对照组,离心收集细胞培养上清,800 \times g离心5 min。以 1×10^6 /ml细胞作为一个单位,检测出的结果单位以pg/ml来表示。按照产品说明书进行,计算出样品浓度。

1.6 GSC转染TGF- β 2 siRNA

设计TGF- β 2 siRNA序列:正义5'-GATCCCCTGCCAACTTCTGTGCTGGAttcaagagaTCCAGCACAG AAGTTGGCATT TTTTGGAAA-3';反义5'-TCGATTTCCAAAATGCCAACTTCTGTGCTGGAtctctttaaT -CCAGCACAGAAGTTGGCAGGG-3',该序列由GenePharma公司构建并合成^[9]。对照组转染无关序列(5'-GGGGTGTGAAGGTCTCAAA-3')。取对数生长期的GSC,用LipofectaminTM 2000试剂盒进行转染,具体过程依据说明书进行。转染48 h后用ELISA法检测TGF- β 2表达。

1.7 Transwell法检测GSC的侵袭能力

取对数生长期的GSC,以无血清DMEM/F12培养基制成单细胞悬液,调整细胞密度至 1×10^5 个/ml。Transwell下室中加入含20% FBS DMEM/F12培养基500 μ l,上室中加入GSC或转染TGF- β 2 siRNA的GSC,细胞培养箱内培养24 h,固定、Giemsa染色,显微镜随机选5个高倍视野计数穿越至膜下的GSC。

1.8 Western blotting实验检测GSC中MMP-2和MMP-9蛋白的表达

收集GSC,RIPA裂解液按比例加入蛋白酶抑制剂,裂解30 min,BCA法蛋白定量,SDS-PAGE后转膜过夜。5%脱脂奶粉室温下封闭1 h,加入特异性一抗(MMP-2抗体1:1 000稀释;MMP-9抗体1:1 000稀释;GAPDH抗体1:2 500稀释),4 $^{\circ}$ C过夜。次日加入1:5 000稀释的HRP标记的二抗,摇晃杂交2 h。ECL发光,采集图象。Image J软件分析蛋白相对表达。

1.9 统计学处理

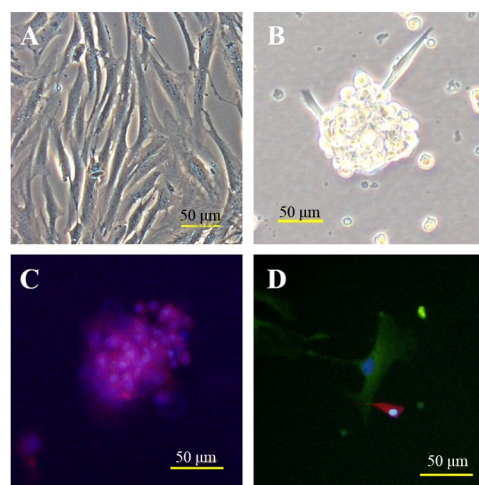
应用SPSS 17.0统计学软件(IBM)进行分析,计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PCGC成功诱导出GSC

PCGC培养3 d左右,可见肿瘤细胞以梭形为主,细胞核多呈椭圆形(图1A)。将部分处于对数生长期的PCGC转移到含有EGF、bFGF及B-27的DMEM/F12培养基中,培养7 d左右可以看到肿瘤细胞聚集成细胞球,悬浮生长(图1B)。

GSC的鉴定主要依据肿瘤细胞球表达CD133、SOX2、Nestin等标志物,同时肿瘤球能够分化为神经元及胶质细胞,并且能在裸鼠颅内成瘤。既往本课题组对培养的肿瘤细胞球进行了CD133及SOX2鉴定^[10],同时将肿瘤球注入裸鼠颅内形成胶质瘤细胞球^[11]。本次实验对悬浮生长的细胞球进行CD133染色,发现其表达呈阳性(图1C)。将悬浮生长的肿瘤球转移到含有10% FBS的DMEM/F12培养基中,7 d后发现原有细胞形态消失,肿瘤细胞球贴壁生长;对这些细胞进行免疫荧光检测,发现这些细胞表达胶质细胞标志物(GFAP)和神经元标记物(β -III-tubulin)(图1D)。以上结果可以证明,来自原代培养的肿瘤细胞成功诱导出GSC,这些悬浮生长的肿瘤球不但CD133表达阳性,同时具有多向分化的能力。



A: PCGC; B: GSC in serum free medium;
C: Immunofluorescent staining of CD133; D: GSCs cultured in FBS medium expressed GFAP⁺ glia (green) and β -III tubulin⁺ neuronal cells (red)

图1 PCGC诱导形成GSC

Fig.1 PCGCs induced the formation of GSC

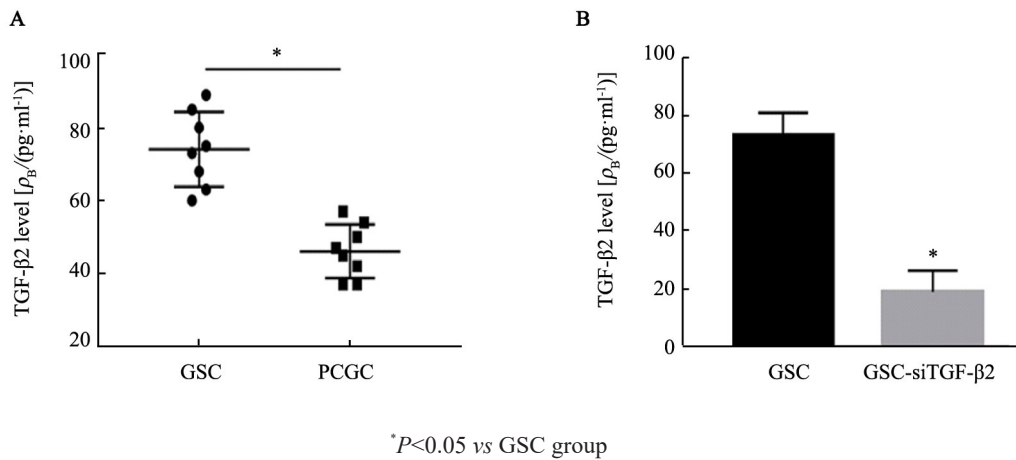
2.2 GSC高度表达TGF- β 2

ELISA检测结果(图2A)表明,GSC上清液中的

TGF-β2 表达量明显高于 PCGC 上清液中的表达量 [(74.13±3.63) vs (46.13±2.61), P<0.05]。应用 siRNA 沉默 TGF-β2 表达后, ELISA 检测结果 (图 2B) 显示 TGF-β2 siRNA 可以有效抑制 GSC TGF-β2 分泌。

2.3 沉默 TGF-β2 表达可降低 GSC 的侵袭能力

Transwell 侵袭实验结果 (图 3) 显示, GSC 组穿膜的细胞数目明显多于 TGF-β2 siRNA 转染组 [(105.71±8.69) vs (63.67±5.93) 个, P<0.05]。



A: Expression of TGF-β2 was higher in GSC than in PCGC by ELISA assay;
B: siRNA could down-regulate the TGF-β2 protein expression in GSC compared with control group

图2 TGF-β2 在 GSC、PCGC 及转染了 TGF-β2 siRNA 的 GSC 中的表达

Fig. 2 TGF-β2 expression in GSC, PCGC and GSC transfected with TGF-β2 siRNA

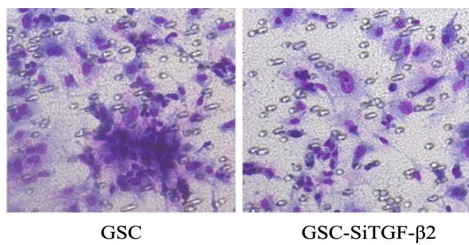


图3 沉默 TGF-β2 表达抑制 GSC 侵袭能力 (×20)

Fig. 3 Invasion ability of GSC were inhibited by silencing of TGF-β2 expression (×20)

2.4 沉默 TGF-β2 表达可以抑制 GSC 中 MMP 的表达

Western blotting 实验结果 (图 4) 发现, 抑制 TGF-β2 蛋白的表达可以抑制 GSC 中 MMP-2 [(1.24±0.06) vs (0.44±0.05), P<0.05] 和 MMP-9 [(0.75±0.05) vs (0.09±0.02), P<0.05] 蛋白的表达。

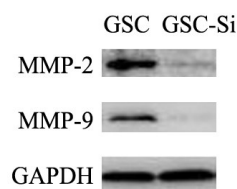


图4 沉默 TGF-β2 表达可抑制 GSC 中 MMP-2 和 MMP-9 的表达

Fig.4 MMP-2 and MMP-9 protein expression in GSC were impressed by TGF-β2 silencing

3 讨论

胶质瘤是脑肿瘤中发病率最高且预后较差的肿瘤, 它对人类的健康构成了极大的威胁。尽管神经外科在显微外科手术切除、放射治疗、化学治疗和生物治疗等方面取得了突飞猛进的发展, 但高级别胶质瘤患者的预后仍然很差。GSC 学说的提出, 为研究胶质瘤的发生发展及治疗开拓了新的思路。GSC 具有自我更新、不断增殖和多向分化的能力, 它是引发胶质瘤并维持胶质瘤生长和复发的细胞源泉, 在胶质瘤的发生过程中起着决定性作用。本研究首先培养原代胶质瘤细胞, 然后利用无血清培养基方法得到悬浮生长的肿瘤球。CD133 作为 GSC 特异标志物为脑肿瘤干细胞的研究提供了重要的线索, 是分离、纯化脑肿瘤干细胞最重要的标志物^[10,12]。本研究得到的肿瘤细胞球表达 CD133, 加入含血清培养基后肿瘤细胞球贴壁生长, 免疫荧光检测发现这些细胞表达 GFAP 和 β-III-tubulin。这些结果证明来自原代培养的悬浮生长肿瘤细胞球是 GSC。

高级别胶质瘤预后差的原因之一就是其高度侵袭性, 它可以通过白质纤维迁移到周围脑组织而引起肿瘤复发。很多研究^[5-8]发现, TGF-β2 可以促进胶质瘤的侵袭。TGF-β2 在高级别胶质瘤中表达, 并且其表达水平与患者疾病的阶段、免疫缺陷状态有关^[13]; 同时它还可以通过 Smad 通路和非 Smad 通路启

动胶质瘤细胞自噬过程,从而促进胶质瘤细胞侵袭^[14]。PENUÉLAS等^[15]发现,TGF- β 2可以诱导GSC的自我更新并能阻止分化。Furin蛋白可以调节GSC的TGF- β 2^[16]。TGF- β 2在胶质瘤组织中高度表达,miR-141可以通过TGF- β 2通路抑制U87细胞增殖、侵袭和迁移^[17]。二甲双胍可以通过TGF- β 2通路抑制成胶质细胞瘤增殖和侵袭^[18]。本研究发现,诱导生成的GSC分泌TGF- β 2水平高于PCGC,且沉默TGF- β 2可以抑制GSC侵袭能力。

胶质瘤侵袭过程中,MMP起到了极其重要的作用^[19-20]。NAKANO等^[21]研究发现,MMP-2与MMP-9与胶质瘤的级别密切相关。柚皮苷(naringin)可以通过下调MMP-2和MMP-9表达抑制胶质瘤细胞侵袭和迁移能力^[22]。TGF- β 2可以通过MMP^[23]、 α_v 和 β_3 整联蛋白^[5]的表达影响细胞侵袭功能。然而TGF- β 2对GSC侵袭机制影响的研究却很少。本研究发现,沉默TGF- β 2蛋白表达可以抑制GSC中MMP-2和MMP-9蛋白的表达。这些结果说明沉默TGF- β 2基因可以通过抑制MMP-2和MMP-9信号相关通路调控GSC的侵袭能力。

本研究证明了TGF- β 2通过MMP信号通路影响GSC侵袭能力。TGF- β 2不仅是GSC一个重要的免疫指标^[24],而且会影响GSC侵袭能给力。胶质瘤的治疗即将进入免疫治疗的新时代,TGF- β 2作为一个重要的免疫因子,必将会在胶质瘤的治疗上发挥重大作用。

[参 考 文 献]

- [1] OHGAKI H, KLEIHUES P. Epidemiology and etiology of gliomas [J]. Acta Neuropathol, 2005, 109(1): 93-108. DOI: 10.1007/s00401-005-0991-y.
- [2] LOUIS D N, PERRY A, REIFENBERGER G, et al. The 2016 world health organization classification of tumors of the central nervous system: a summary[J]. Acta Neuropathol, 2016, 131(6): 803-820. DOI: 10.1007/s00401-016-1545-1.
- [3] STUPP R, MASON W P, VAN DEN BENT M J, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma [J]. N Engl J Med, 2005, 352(10): 987-996. DOI: 10.1056 / NEJ-Moa043330.
- [4] STUPP R, HEGI M E, MASON W P, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial[J]. Lancet Oncol, 2009, 10(5): 459-466. DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70025-7.
- [5] PLATTEN M, WICK W, WILD-BODE C, et al. Transforming growth factors beta(1) (TGF-beta(1)) and TGF-beta(2) promote glioma cell migration via Up-regulation of alpha(V)beta(3) integrin expression[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 268(2): 607-611. DOI: 10.1006/bbrc.2000.2176.
- [6] WICK W, GRIMMEL C, WILD-BODE C, et al. Ezrin-dependent promotion of glioma cell clonogenicity, motility, and invasion mediated by BCL-2 and transforming growth factor-beta2[J]. J Neurosci, 2001, 21(10): 3360-3368.
- [7] BAUMANN F, LEUKEL P, DOERFELT A, et al. Lactate promotes glioma migration by TGF-beta2-dependent regulation of matrix metalloproteinase-2[J]. Neuro Oncol, 2009, 11(4): 368-380. DOI: 10.1215/15228517-2008-106.
- [8] WICK W, PLATTEN M, WELLER M. Glioma cell invasion: regulation of metalloproteinase activity by TGF-beta[J]. J Neurooncol, 2001, 53(2): 177-185.
- [9] FRIESE M A, WISCHHUSEN J, WICK W, et al. RNA interference targeting transforming growth factor-beta enhances NKG2D-mediated antiglioma immune response, inhibits glioma cell migration and invasiveness, and abrogates tumorigenicity in vivo[J]. Cancer Res, 2004, 64(20): 7596-7603. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-1627.
- [10] ZHANG D, QIU B, WANG Y, et al. Temozolomide increases MHC-I expression via NF-kappaB signaling in glioma stem cells[J]. Cell Biol Int, 2017, 41(6): 680-690. DOI: 10.1002/cbin.10773.
- [11] QIU B, ZHANG D, WANG Y, et al. Interleukin-6 is overexpressed and augments invasiveness of human glioma stem cells in vitro[J]. Clin Exp Metastasis, 2013, 30(8): 1009-1018. DOI:10.1007/s10585-013-9599-0.
- [12] JI J, BLACK K L, YU J S. Glioma stem cell research for the development of immunotherapy[J]. Neurosurg Clin N Am, 2010, 21(1): 159-166. DOI: 10.1016/j.nec.2009.08.006.
- [13] KJELLMAN C, OLOFSSON S P, HANSSON O, et al. Expression of TGF-beta isoforms, TGF-beta receptors, and SMAD molecules at different stages of human glioma[J]. Int J Cancer, 2000, 89(3): 251-258. DOI:10.1002/1097-0215(20000520)89:3<251::AID-IJC7>3.0.CO;2-5 [pii].
- [14] ZHANG C, ZHANG X, XU R, et al. TGF-beta2 initiates autophagy via Smad and non-Smad pathway to promote glioma cells' invasion[J/OL]. J Exp Clin Cancer Res, 2017, 36(1): 162[2017-12-05]. <https://jeccr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13046-017-0628-8>. DOI:10.1186/s13046-017-0628-8 [pii].
- [15] PENUÉLAS S, ANIDO J, PRIETO-SANCHEZ R M, et al. TGF-beta increases glioma-initiating cell self-renewal through the induction of LIF in human glioblastoma[J]. Cancer Cell, 2009, 15(4): 315-327. DOI: 10.1016/j.ccr.2009.02.011.
- [16] VENTURA E, WELLER M, BURGHARDT I. Cutting edge: ERK1 mediates the autocrine positive feedback loop of TGF-beta and furin in glioma-initiating cells[J]. J Immunol, 2017, 198(12): 4569-4574. DOI:10.4049/jimmunol.1601176.
- [17] PENG T, ZHANG S, LI W, et al. MicroRNA-141 inhibits glioma cells growth and metastasis by targeting TGF-beta2[J]. Am J Transl Res, 2016, 8(8): 3513-3521.
- [18] SELIGER C, MEYER A L, RENNER K, et al. Metformin inhibits proliferation and migration of glioblastoma cells independently of TGF-beta2[J]. Cell Cycle, 2016, 15(13): 1755-1766. DOI:10.1080/

- 15384101.2016.1186316.
- [19] PIROMKRAIPAK P, SANGPAIROJ K, TIRAKOTAI W, et al. Cysteinyll leukotriene receptor antagonists inhibit migration, invasion, and expression of MMP-2/9 in human glioblastoma[J/OL]. *Cell Mol Neurobiol*, 2017, Epub ahead of print[2017-12-05]. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10571-017-0507-z>. DOI:10.1007/s10571-017-0507-z
- [20] CHEN G, YUE Y, QIN J, et al. Plumbagin suppresses the migration and invasion of glioma cells via downregulation of MMP-2/9 expression and inaction of PI3K/Akt signaling pathway in vitro[J]. *J Pharmacol Sci*, 2017, 134(1): 59-67. DOI:S1347-8613(17)30060-9.
- [21] NAKANO A, TANI E, MIYAZAKI K, et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human gliomas [J]. *J Neurosurg*, 1995, 83(2): 298-307. DOI:10.3171/jns.1995.83.2.0298.
- [22] AROUI S, NAJLAOUI F, CHTOUROU Y, et al. Naringin inhibits the invasion and migration of human glioblastoma cell via downregulation of MMP-2 and MMP-9 expression and inactivation of p38 signaling pathway[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(3): 3831-3839. DOI:10.1007/s13277-015-4230-4.
- [23] TABATABAI G, FRANK B, MOHLE R, et al. Irradiation and hypoxia promote homing of haematopoietic progenitor cells towards gliomas by TGF-beta-dependent HIF-1alpha-mediated induction of CXCL12[J]. *Brain*, 2006, 129(Pt9): 2426-2435. DOI:10.1093/brain/awl173.
- [24] QIU B, ZHANG D, WANG C, et al. IL-10 and TGF-beta2 are overexpressed in tumor spheres cultured from human gliomas[J]. *Mol Biol Rep*, 2011, 38(5): 3585-3591. DOI:10.1007/s11033-010-0469-4.

[收稿日期] 2018-01-16

[修回日期] 2018-02-23

[本文编辑] 黄静怡