

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.06.009

· 临床研究 ·

## 膀胱癌组织中高表达的MTA2促进膀胱癌细胞T24的恶性生物学行为

彭克楠<sup>1,2</sup>, 李晓亚<sup>2</sup>, 白函瑜<sup>2</sup>, 王刚<sup>1</sup>, 戴素丽<sup>2</sup>, 杨涛<sup>1</sup>, 刘玉静<sup>1</sup>, 谭鹤<sup>1</sup>, 赵明<sup>1</sup>, 赵连梅<sup>2</sup>, 单保恩<sup>2</sup> (1. 河北省人民医院 检验科, 河北 石家庄 050051; 2. 河北医科大学第四医院 科研中心, 河北 石家庄 050011)

**[摘要]** **目的:** 分析肿瘤转移相关蛋白(MTA2)在人膀胱癌组织中的表达及其对膀胱癌细胞系T24恶性生物学行为的影响, 探讨MTA2对膀胱癌进展中的作用。**方法:** 收集河北省人民医院2012年12月至2014年12月收治的62例膀胱癌患者癌组织和28例正常膀胱组织(取自膀胱炎患者, 病理学诊断为正常组织)标本, 通过免疫组织化学染色检测膀胱癌和正常膀胱组织中MTA2的表达水平; 分析MTA2表达水平与患者临床病理特征的相关性。构建稳定高表达MTA2的膀胱癌T24细胞系, 通过MTS、克隆形成、划痕愈合和Transwell实验检测MTA2对膀胱癌T24细胞增殖、克隆形成、迁移和侵袭能力的影响。**结果:** 与正常膀胱组织相比, 膀胱癌组织中MTA2呈明显高表达( $P<0.01$ ); MTA2的高表达状态与膀胱癌患者的性别、年龄、肿瘤体积无关( $P>0.05$ ), 而与患者更高的TNM分期、肿瘤的组织学分级、淋巴浸润和转移有关(均 $P<0.05$ )。在膀胱癌T24细胞系中过表达MTA2后, 细胞的增殖活性明显升高( $P<0.05$ ), 克隆形成、划痕愈合、迁移和侵袭能力均明显增强(均 $P<0.01$ )。**结论:** MTA2在人膀胱癌组织中表达上调, 能够促进T24细胞增殖、克隆形成、迁移及侵袭等恶性生物学行为。

**[关键词]** 肿瘤转移相关蛋白2; 膀胱癌; T24细胞系; 癌基因; 生物标志物

**[中图分类号]** R735.3+5; R730.52 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)06-0669-07

## MTA2 highly expressed in bladder cancer tissues promotes the malignant biological behaviors of bladder cancer T24 cells

PENG Kenan<sup>1,2</sup>, LI Xiaoya<sup>2</sup>, BAI Hanyu<sup>2</sup>, WANG Gang<sup>1</sup>, DAI Suli<sup>2</sup>, YANG Tao<sup>1</sup>, LIU Yujing<sup>1</sup>, TAN He<sup>1</sup>, ZHAO Ming<sup>1</sup>, ZHAO Lianmei<sup>2</sup>, Shan Baoen<sup>2</sup> (1. Laboratory Department, People's Hospital of Hebei Province, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 2. Research Center, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression of metastasis-associated protein 2 (MTA2) in human bladder cancer tissues and its effect on the malignant biological behaviors of bladder cancer T24 cells, as well as to explore the effect of MTA2 on the progression of bladder cancer. **Methods:** Sixty-two cases of human bladder cancer tissues and 28 cases of normal bladder tissues (from patients with cystitis, and pathologically confirmed as normal tissue) were collected at People's Hospital of Hebei Province during December 2012 and December 2014. The expression of MTA2 in bladder cancer tissues and normal bladder tissues was detected by immunohistochemical staining, and the correlation between MTA2 expression and clinicopathological characteristics of patients was also analyzed. The bladder cancer T24 cell line stably expressing MTA2 was constructed. The effects of MTA2 on the proliferation, colony formation, migration and invasion of bladder cancer T24 cells were detected by MTS, clone formation, scratch healing and Transwell assay, respectively. **Results:** Immunohistochemical staining showed that MTA2 expression was significantly up-regulated in bladder cancer tissues as compared with normal bladder tissues ( $P<0.01$ ). The high expression of MTA2 in bladder cancer tissues was not related to gender, age and tumor volume ( $P>0.05$ ), but was associated with higher TNM stage, histological grade, and lymphatic infiltration and metastasis (all  $P<0.05$ ). After over-expression of MTA2 in bladder cancer T24 cell line, the proliferation activity of the cells was significantly increased ( $P<0.05$ ), and the colony formation, scratch healing, migration and invasion ability were significantly increased (all  $P<0.01$ ). **Conclusions:** MTA2 is up-regulated in human bladder cancer tissues and can promote the proliferation, tumor formation, migration and invasion of T24 cells.

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上资助项目(No.81772550); 河北省医学科学研究重点课题计划资助项目(No.20180126)。Project supported by National Natural Science Foundation of China (No.81772550), and the Medical Scientific Research Key Project of Hebei Province(No.20180126)

**[作者简介]** 彭克楠(1986-), 男, 硕士, 主管技师, 主要从肿瘤免疫与诊断方面研究, E-mail: p200808kn@126.com

**[通信作者]** 单保恩(SHAN Baoen, corresponding author), 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事肿瘤免疫学及分子生物学的研究, E-mail: baoenshan1962@126.com

[Key words] metastasis-associated protein 2 (MTA2); bladder cancer; T24 cell line; oncogene; bio-marker

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(6): 669-675. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.06.009]

膀胱癌是世界上常见的恶性肿瘤之一,在中国已经成为泌尿系统最常见的恶性肿瘤,且在近十年内伴随工业化水平、烟草消费水平及人口老龄化水平的提高,膀胱癌发病率呈逐年增长趋势<sup>[1-2]</sup>。肿瘤转移相关蛋白2 (metastasis-associated protein 2, MTA2)是MTA肿瘤转移相关基因家族的成员之一,主要参与组蛋白去乙酰基酶的组成。组蛋白去乙酰基酶具有核小体重塑活性,对基因转录有抑制作用<sup>[3]</sup>。有研究<sup>[4-13]</sup>报道,MTA2在多种肿瘤组织和细胞中表达增加,与肿瘤的增殖、迁移、侵袭等生物学行为密切相关。然而,目前国内外有关MTA2与膀胱癌相关性的研究报道甚少。本研究通过免疫组织化学染色揭示了MTA2在人膀胱癌和正常膀胱组织中的差异性表达,并深入分析了MTA2表达水平与膀胱癌患者临床病理特征的相关性,以及MTA2对膀胱癌细胞系生物学行为的影响,以期探讨MTA2对膀胱癌进展的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 人膀胱组织、细胞系及主要试剂

收集河北省人民医院于2012年12月至2014年12月收治的62例膀胱癌患者癌组织和28例正常膀胱组织(取自膀胱炎患者,病理学诊断为正常组织)标本。62例膀胱癌患者年龄31~83岁,平均(62.9±11.2)岁;男性51例、女性11例;临床TNM分期: I期33例、II期13例、III期10例、IV期6例;发生淋巴转移的为6例,未发生转移的为56例。组织标本获取前告知患者并签署知情同意书,研究方案获得所在医院伦理委员会批准。

人膀胱癌细胞系T24购自中科院上海细胞库,由河北医科大学第四医院科研中心保存。pCDH-CMV-MCS-EF1-GFP-CD511B-MTA2质粒由中国医学科学院郑德先实验室惠赠,MTA2过表达慢病毒购自上海吉凯基因科技有限公司,RPMI 1640培养粉购自美国GIBCO/BRL公司,胎牛血清购自杭州四季青生物有限公司,胰蛋白酶购自美国GIBCO公司,RT-PCR试剂盒、MTS购自Promega公司,兔抗人MTA2抗体、兔抗鼠GAPDH抗体购自美国Proteintech公司,羊抗兔荧光二抗购自美国ROCKLAND公司,Transwell小室购自美国Corning公司,Matrigel胶购自美国BD公司,GAPDH cDNA引物购自上海生工技术有限公司。

1.2 免疫组织化学染色(SP法)检测膀胱癌和正常膀胱组织中MTA2的表达

取石蜡包埋膀胱癌或正常膀胱组织块,切成4

μm薄片,平铺于涂有APES的载玻片上,置67℃烤箱中烘烤过夜。隔天取出切片用二甲苯脱蜡,梯度乙醇溶液水化,3%甲醇和过氧化氢封闭内源性过氧化物酶,采用柠檬酸盐缓冲液高压热修复抗原,羊血清封闭非特异结合位点,依次加入稀释的抗MTA2抗体(1:100)、生物素标记的羊抗兔IgG抗体(1:100)、辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素孵育,然后用DAB工作液显色,经苏木精复染、逆梯度乙醇溶液脱水后,晾干、中性树脂胶封片,于显微镜下进行观察,每张切片随机选取10个高倍镜视野计数染色阳性细胞百分率。结果判定标准以出现棕黄色颗粒为染色阳性细胞;以阳性细胞百分率<25%为阴性染色切片,阳性细胞百分率≥25%为阳性染色切片;以阳性细胞百分率<50%为MTA2低表达,以阳性细胞的百分率≥50%为MTA2高表达。

### 1.3 细胞培养

人膀胱癌T24细胞系用含10%胎牛血清、100 U/ml青霉素和100 μg/ml链霉素的RPMI 1640培养基,于37℃、CO<sub>2</sub>体积分数为5%培养箱中培养。每1~2 d换液1次,用0.25%胰蛋白酶消化细胞并传代,取对数生长期的细胞用于实验。

### 1.4 重组慢病毒(带荧光标记)稳定感染T24细胞

转染前1 d,取对数生长期、状态良好的T24细胞均匀铺至六孔板中,接种密度以转染时细胞汇合度达50%左右为宜。转染之前,弃去六孔板中培养基,PBS清洗细胞。将包装了pCDH-CMV-MCS-EF1-GFP-CD511B-MTA2或CD511B空载体质粒的病毒液分别与无牛血清培养基按1:1的比例混合,均匀滴加至相应孔,24 h后更换为完全培养基。待各孔细胞汇合度达70%~80%时,分别转移至不同培养瓶中,依上所述进行第2次感染。传代培养感染细胞并用流式细胞仪筛选带荧光细胞,筛选过后T24细胞的转染效率达到82.6%。

### 1.5 RT-PCR后琼脂糖凝胶电泳和WB实验检测MTA2过表达效率

取上述转染MTA2质粒、转染CD511B质粒及未处理膀胱癌T24细胞用TRIzol试剂分别提取细胞总RNA并反转录为cDNA,应用PCR技术特异扩增MTA2或GAPDH cDNA(引物序列参见表1);PCR反应条件为退火温度60℃,40个循环。各取6 μl扩增产物进行2%琼脂糖凝胶电泳,以120 V恒压电泳30 min,凝胶成像,用Image J软件测量目的条带的灰度值,以GAPDH基因为内参,比较接受不同处理的T24细胞MTA2转录水平。

取转染MTA2质粒、转染CD511B质粒及未处理膀胱癌T24细胞用RIPA裂解液分别提取细胞总蛋白,BCA试剂盒测量蛋白浓度,接着加入DTT缓冲液,100℃金属浴变性5 min。均取60 μg蛋白进行SDS-PAGE(5%浓缩胶、10%分离胶),将蛋白条带以0.3 A恒流湿转至PVDF膜上,用5%脱脂奶粉室温封

闭1 h,一抗4℃孵育过夜(MTA2、GADPH抗体稀释比例为1:1 000、1:5 000),隔天用荧光二抗室温孵育1 h。用Odyssey双色红外荧光扫描系统进行成像分析,以GADPH蛋白为内参,比较接受不同处理的T24细胞MTA2翻译水平。

表1 PCR引物序列

Tab.1 PCR primer sequence

Gene	Primer sequence	Product length (bp)
GAPDH	F:5'-CGGATTTGGTCGTATTGGG-3'	210
	R:5'-TGCTGGAAGATGGTGATGGGATT-3'	
MTA2	F:5'-GGCATTATGGTGAAACGGGC-3'	388
	R:5'-TCCACCCTCTACCTCTCAGC-3'	

#### 1.6 MTS实验检测过表达MTA2对T24细胞增殖活性的影响

取转染MTA2或CD511B质粒的T24细胞制成细胞悬液,按每孔 $2 \times 10^3$ 个细胞等量接种于96孔板,培养基调终体积为100 μl。分别于细胞贴壁后0、24、48、72 h每孔加入500 μg/ml MTS试剂20 μl,37℃孵育2.5 h,用全自动定量酶标仪在波长492 nm处测定光密度(D)值。每个时间点设3个复孔,重复实验3次。

#### 1.7 克隆形成实验检测过表达MTA2对T24细胞克隆形成能力的影响

取转染MTA2或CD511B质粒的T24细胞制成细胞悬液,均匀铺至6孔板中,每孔 $2 \times 10^3$ 个细胞。将6孔板置37℃、CO<sub>2</sub>体积分数为5%的培养箱中,每隔2~3 d换液。当出现肉眼可见的克隆时(7 d左右),终止培养,用4%多聚甲醛固定15 min,干燥后2%结晶紫染色20 min。用肉眼直接计数克隆数或在低倍镜下计数大于10个细胞的克隆数,计算克隆形成率。每组设3个复孔。克隆形成率=克隆数/接种细胞数×100%。

#### 1.8 划痕愈合实验检测过表达MTA2对T24细胞迁移能力的影响

取转染MTA2或CD511B质粒的T24细胞用无血清RPMI 1640培养基制成细胞悬液,等量接种于6孔板,接种密度以过夜后细胞汇合度达100%为宜。用无菌Tip头(规格200 μl)在单层细胞上做“1”字形划痕,并将刮掉的细胞冲洗干净,加入无血清和抗生素培养基继续培养,于24、48 h显微镜下测量划痕宽度并拍照。每组设3个复孔,重复实验3次。

#### 1.9 Transwell实验检测过表达MTA2对T24细胞迁移和侵袭能力的影响

用无血清培养基在低温条件下配制1 mg/ml Matrigel胶溶液(Matrigel胶稀释比例为1:3),将其均匀铺至上室,每室20 μl,放温箱中凝固。向下室中加入600 μl含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基。取转染MTA2或CD511B质粒的T24细胞用无血清培养基制成 $5 \times 10^5$ /ml细胞悬液,均匀覆盖胶上,每室200 μl,将小室置37℃、CO<sub>2</sub>体积分数为5%的培养箱中。24 h后倾去室内液体,置4%多聚甲醛溶液中室温固定30 min,风干后用2%结晶紫染色20 min,擦去聚碳脂膜内侧面细胞,显微镜下观察外侧面细胞,随机选择5个高倍镜视野拍照并计数穿膜细胞数。每组设3个复孔。Transwell迁移实验步骤同上,只是无需铺Matrigel胶,细胞接种20 h后即可固定、染色小室。每组设3个复孔。

#### 1.10 统计学处理

使用SPSS18.0软件对所有数据进行统计学分析。计量资料则以 $\bar{x} \pm s$ 或 $M \pm QR$ 表示,2组间比较采用独立样本t检验,多组间指标比较采用单因素方差分析;组内两两比较采用SNK-q检验;计数资料采用 $\chi^2$ 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 膀胱癌组织中MTA2蛋白表达水平增加

免疫组织化学染色结果(图1、表1)显示,膀胱癌组织中MTA2的表达水平明显高于正常膀胱组织( $\chi^2=29.730, P=0.001$ )。

### 2.2 MTA2高表达与膀胱癌组织组织学分级、TNM分期、淋巴浸润和远端转移率相关

患者临床资料分析结果(表2)显示,膀胱癌组织中MTA2的表达水平与膀胱癌患者的性别、年龄、肿瘤大小无相关性( $P > 0.05$ ),但MTA2高表达与膀胱癌



组织组织学分级、TNM分期、淋巴浸润和远端转移率相关(均 $P<0.05$ )。

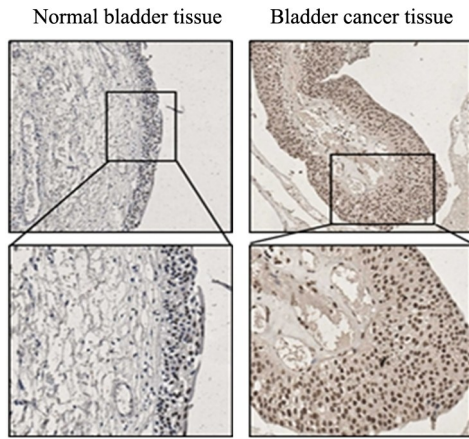


图1 MTA2在膀胱癌和正常膀胱组织中的表达( $\times 100$ 或 $\times 200$ )

Fig.1 Expression of MTA2 in bladder cancer tissue and normal bladder tissue (Immunohistochemical staining,  $\times 100$  or  $\times 200$ )

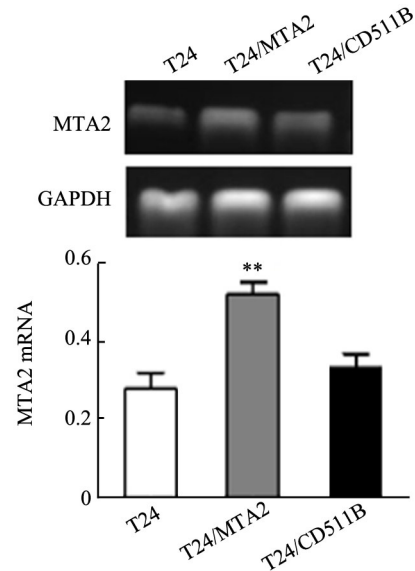
表2 膀胱癌组织中MTA2的表达水平与患者临床病理学特征的关系(N=62)

Tab.2 The relationship between MTA2 expression in bladder cancer tissues and the clinicopathological characteristics of patients (N=62)

Clinicopathological feature	n	MTA2		$\chi^2$	P
		Low	High		
Sex				0.394	0.530
Male	51	32	19		
Female	11	8	3		
Age (t/a)				1.340	0.247
<63	23	3	10		
$\geq 63$	38	27	11		
Histological grade				6.581	0.010
I	18	16	2		
II-III	44	24	20		
Clinical stage				9.226	0.002
0/ I	33	27	6		
II/III/IV	29	13	16		
Tumor size (d/cm)				1.006	0.316
<3	19	14	5		
$\geq 3$	43	26	17		
Invasion into lymph				6.644	0.010
Yes	6	1	5		
No	56	39	17		
Distant metastasis				5.732	0.017
Yes	3	0	3		
No	59	40	19		

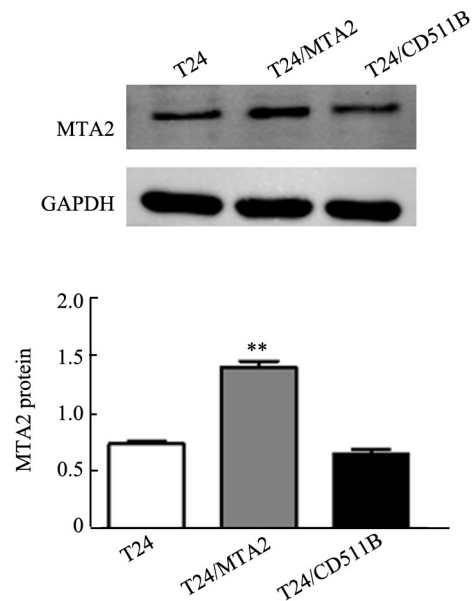
### 2.3 转染MTA2质粒增加了MTA2 mRNA水平

RT-PCR后琼脂糖凝胶电泳和WB实验检测结果(图2、3)显示,与CD511B稳转T24细胞及未转染T24细胞相比,MTA2稳转T24细胞中MTA2 mRNA ( $0.52\pm 0.02$  vs  $0.33\pm 0.02$ 、 $0.28\pm 0.02$ , 均 $P<0.01$ )和蛋白 ( $1.40\pm 0.03$  vs  $0.65\pm 0.02$ 、 $0.74\pm 0.01$ , 均 $P<0.01$ )水平均显著增加。但CD511B稳转T24细胞与未转染T24细胞的MTA2表达水平无明显差异( $P>0.05$ )。



\*\* $P<0.01$  vs T24/CD511B or T24 group

图2 转染MTA2质粒对MTA2 mRNA表达的影响  
Fig.2 Effect of MTA2 plasmid transfection on MTA2 mRNA expression



\*\* $P<0.01$  vs T24/CD511B or T24 group

图3 转染MTA2质粒对MTA2蛋白表达的影响  
Fig.3 Effect of MTA2 plasmid transfection on expression of MTA2 protein

2.4 过表达MTA2增强T24细胞的增殖活性

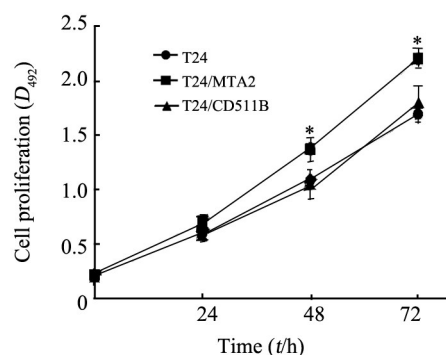
MTS检测结果(图4)显示,与CD511B稳转T24细胞相比,MTA2稳转T24细胞的增殖活性显著增强( $P<0.05$ )。

2.5 过表达MTA2增强T24细胞的克隆形成能力

克隆形成实验结果(图5)显示,与CD511B稳转T24细胞相比,MTA2稳转T24细胞的克隆形成能力显著增强 $[(8.88\pm 0.17)\% \text{ vs } (2.48\pm 0.10)\%, P<0.01]$ 。

2.6 过表达MTA2增强T24细胞划痕愈合能力

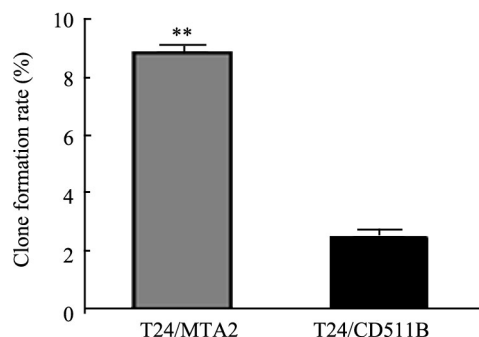
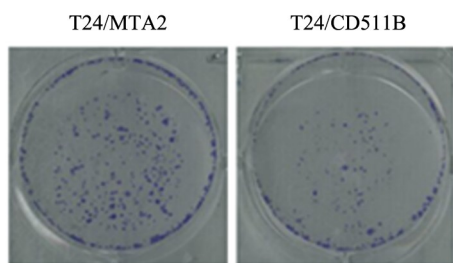
划痕愈合实验结果(图6)显示,与CD511B稳转T24细胞相比,MTA2稳转T24细胞的划痕愈合能力显著增强(24 h:  $6.33\pm 0.21 \text{ vs } 11.37\pm 0.40$ ; 48 h:  $1.83\pm 0.15 \text{ vs } 5.57\pm 0.16$ , 均 $P<0.01$ )。



\* $P<0.05$  vs T24/CD511B group

图4 过表达MTA2增强T24细胞的增殖活性

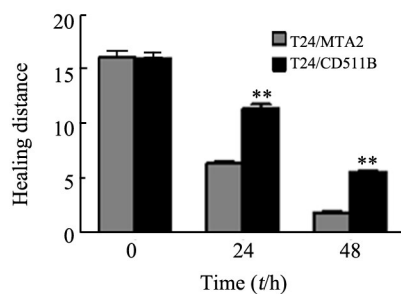
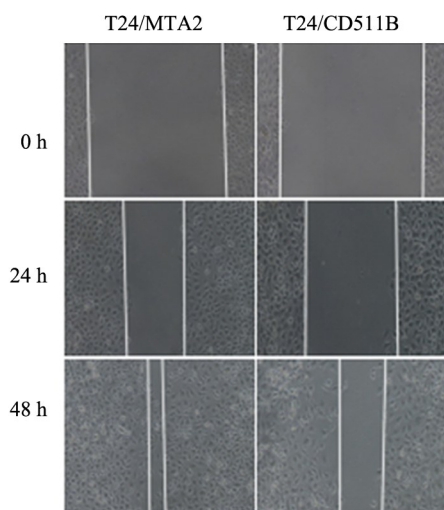
Fig.4 MTA2 over-expression enhanced the proliferation of T24 cells



\*\* $P<0.01$  vs T24/CD511B group

图5 过表达MTA2增强T24细胞的克隆形成能力

Fig.5 MTA2 over-expression enhanced the colony formation ability of T24 cells



\*\* $P<0.01$  vs T24/CD511B group

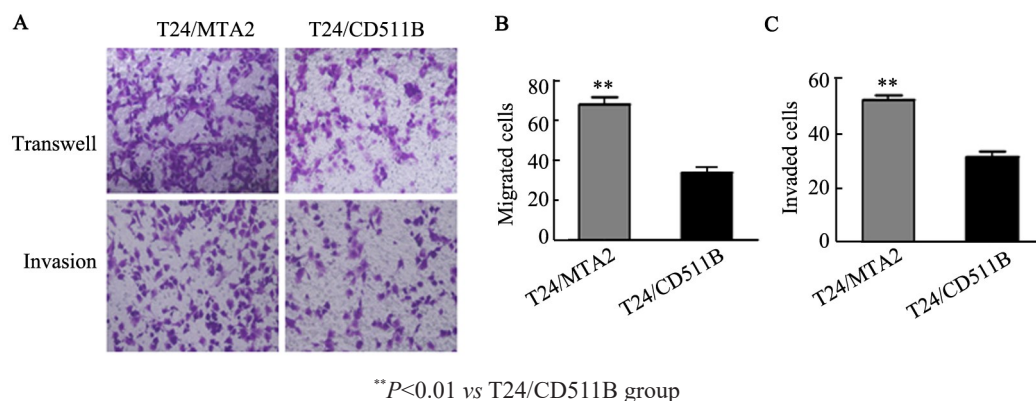
图6 过表达MTA2增强T24细胞的划痕愈合能力的影响( $\times 40$ )

Fig.6 Overexpression of MTA2 enhanced the ability of scratch healing of T24 cells( $\times 40$ )

2.7 过表达MTA2增强T24细胞的迁移和侵袭能力

Transwell结果(图7)显示,与CD511B稳转T24细胞相比,MTA2稳转T24细胞的侵袭 $[(52.50\pm 3.69)$

$\text{vs } (31.75\pm 3.86)$ 个,  $P<0.01$ ]、迁移 $[(68.00\pm 7.48) \text{ vs } (34.00\pm 1.41)$ 个,  $P<0.01$ ]能力显著增强。



A: Images of T24 migration (upper) and invasion (lower) (Crystal violet staining,  $\times 100$ );  
 B: Statistical histograms of migrated cell number; C: Statistical histograms of invading cell number

图7 过表达MTA2对T24细胞迁移和侵袭能力影响

Fig. 7 Effects of MTA2 over-expression on migration and invasion of T24 cells

### 3 讨论

近年来,恶性肿瘤的发病率和病死率在全世界范围内呈持续上升趋势,极大地威胁了人类生命健康。由于绝大多数癌症患者的主要死亡原因为侵袭和转移的发生,因此对肿瘤细胞侵袭和转移机制的研究是非常重要的。膀胱癌是发生在膀胱黏膜上皮的恶性肿瘤,是泌尿系统最为常见的恶性肿瘤之一,具有较强的侵袭能力,但其具体机制尚不明确。在首次诊断时,大多数患者表现为浅表性肿瘤(仅限于上皮或上皮结缔组织),而50%~70%的患者发生复发,10%~40%的患者5年内最终进展为肌肉浸润的晚期或转移性疾病阶段,病死率约为50%。因此,发现新的早期诊断或预后生物标志物意义重大。

随着膀胱癌标志物研究的进展,许多分子被证实具有诊断或提示预后的潜力。研究<sup>[16]</sup>显示,N-Myc下游调节基因2(N-Myc downstream regulatory gene 2, NDRG2)与各种癌症中的细胞分化和增殖密切相关,如膀胱癌组织及尿液中NDRG2表达显著下调,其低表达与肿瘤高分级、分期呈显著相关;ROC曲线显示,NDRG2可作为良好的诊断标志物。转录因子叉头家族成员FoxO<sub>3</sub>和FoxO<sub>4</sub>受PI3K-PKB/c-AKT信号通路调控在膀胱癌组织中表达降低,彼此存在正相关。FoxO<sub>3</sub>和FoxO<sub>4</sub>作为肿瘤抑制因子参与多种细胞过程,如细胞周期调节,细胞凋亡和对活性氧的抗性,其低表达状态与淋巴结高转移率和浸润性膀胱癌高发生率相关,是有潜力的预后指标<sup>[17]</sup>;UHRF1在膀胱移行细胞癌中表达上调,与肿瘤的恶性程度相关,UHRF1基因表达的测定有可能被用作膀胱癌患者的敏感分子标记物等<sup>[18]</sup>。然而这些研究结果尚缺乏临床大数据支持。

本研究首次提出MTA2是有潜力的膀胱癌诊断及预后标志物。本研究在对62例膀胱癌和28例正常膀胱组织标本进行MTA2表达水平检测时发现,MTA2在膀胱癌组织中转录和翻译水平均增高。进一步临床资料分析显示MTA2的高表达状态与膀胱癌更高的组织学分级、临床分期、淋巴浸润和转移相关。

目前研究<sup>[4-13]</sup>发现,MTA2在一些恶性肿瘤(如胃癌、食管癌、结肠癌、胰腺导管癌、肺癌、喉癌、卵巢癌等)组织中表达上调且与肿瘤的分化程度、TNM分期以及淋巴结转移等密切相关。有研究<sup>[14-15]</sup>报道,敲低MTA2在体外实验中能够有效抑制乳腺癌、胃癌和喉癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。

研究<sup>[9]</sup>报道,MTA2作为缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )的脱乙酰化剂和E-钙黏蛋白表达的共转录因子介导胰腺癌侵袭能力增强及上皮-间质转化(EMT)。由于血液供应异常和肿瘤细胞无限生长,缺氧是实体瘤微环境的一个重要特征。HIF-1 $\alpha$ 响应缺氧信号表达上调,通过直接结合TWIST1近端启动子中的缺氧反应元件(hypoxia response element, HRE)诱导EMT中的主要转录因子TWIST的表达。TWIST募集MTA2、组蛋白脱乙酰酶1(histone deacetylase 1, HDAC1)复合物至E-钙黏蛋白启动子的HRE区域,由此抑制E-钙黏蛋白转录。E-钙黏蛋白是单次穿膜糖蛋白,负责维持上皮组织中的细胞间接触和细胞极性。E-钙黏蛋白的缺失被认为可诱导EMT,这与多种实体瘤的侵袭、转移性扩散及预后不良有关。反之,MTA2可通过与HDAC1相互作用而使HIF-1 $\alpha$ 去乙酰化并增强其稳定性,由此形成正反馈环。总之,上述研究证实,MTA2是抑制胰腺癌进展和转移的关键中枢和潜在



治疗靶点。

非小细胞肺癌(NSCLC)是世界上癌症相关死亡的最常见原因,约占人类肺癌的85%。研究<sup>[20]</sup>证实,转移相关蛋白2(MTA2)是组蛋白脱乙酰酶复合物组分,在NSCLC细胞中过表达,并通过调控ERK / AKT和VEGF信号通路来增强NSCLC细胞的生长、迁移和侵袭能力;AbMTA2通过靶向ERK / AKT和VEGF信号通路抑制NSCLC发展和转移;同时也观察到AbMTA2还可通过下调NSCLC细胞中caspase-3和Bad的表达来降低细胞凋亡抗性。

本研究应用慢病毒稳转技术构建稳定高表达MTA2的膀胱癌T24细胞系,通过MTS、克隆形成、划痕愈合、Transwell等一系列实验证实过表达MTA2可增强T24细胞的增殖、克隆形成、迁移和侵袭能力。综上所述,本研究推测MTA2作为癌基因促进膀胱癌进展,是膀胱癌潜在生物标志物及治疗靶标。

#### [参考文献]

- [1] LERNER S P, BAJORIN D F, DINNEY C P, et al. Summary and recommendations from the national cancer institute's clinical trials planning meeting on novel therapeutics for non-muscle invasive bladder cancer[J/OL]. *Bladder Cancer*, 2016, 2(2): 165-202[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4927845/>. DOI:10.3233/BLC-160053.
- [2] 陈晓芳, 陈万青, 周薇薇, 等. 2013年中国膀胱癌发病和死亡流行状况分析[J]. *中国肿瘤*, 2018, 27(2): 81-85. DOI:10.11735/j.issn.1004-0242.2018.02.A001.
- [3] BOWEN N J, FUJITA N, KAJITA M, et al. Mi-2/NuRD: multiple complexes for many purposes[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1677(1/2/3): 52-57. DOI:10.1016/j.bbaexp.2003.10.010.
- [4] ZHOU C F, JI J, CAI Q, et al. MTA2 promotes gastric cancer cells invasion and is transcriptionally regulated by Sp1[J/OL]. *Mol Cancer*, 2013, 12(1): 102[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3851872/>. DOI:10.1186/1476-4598-12-102.
- [5] LIU Y P, SHAN B E, WANG X L, et al. Correlation between MTA2 overexpression and tumour progression in esophageal squamous cell carcinoma[J/OL]. *Exp Ther Med*, 2012, 3(4): 745-749[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3438547/>. DOI:10.3892/etm.2012.475.
- [6] 李秀娟, 李明霞, 赵轶峰, 等. 食管鳞癌组织MTA2表达与淋巴管生成关系探讨[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2014, 21(9): 674-677. DOI:10.3969/j.issn.1673-5269.2014.09.007.
- [7] DING W J, HU W, YANG H H, et al. Prognostic correlation between MTA2 expression level and colorectal cancer[J/OL]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6): 7173-7180[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4525945/>. issn.1671-4695.2015.08.004.
- [9] CHEN D W, FAN Y F, LI J, et al. MTA2 expression is a novel prognostic marker for pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(3): 1553-1557. DOI:10.1007/s13277-013-0685-3.
- [10] 王术华, 齐艳丽, 张俊毅, 等. MTA2在非小细胞肺癌中的表达及意义[J]. *中国肺癌杂志*, 2010, 13(8): 777-780. DOI:10.3779/j.issn.1009-3419.2010.08.05.
- [11] ZHANG B, ZHANG H, SHEN G. Metastasis-associated protein 2 (MTA2) promotes the metastasis of non-small-cell lung cancer through the inhibition of the cell adhesion molecule Ep-CAM and E-cadherin[J/OL]. *Jpn J Clin Oncol*, 2016, 46(4): 393[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4886142/>. DOI:10.1093/jjco/hyw010.
- [12] 霍海峰, 范宗宪, 牟嘉砾, 等. MTA-2蛋白在喉鳞癌中的表达及其临床意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2012, 20(9): 1809-1812. DOI:10.3969/j.issn.1672-4992.2012.09.15.
- [13] JI Y X, ZHANG P, LU Y P, et al. Expression of MTA2 gene in ovarian epithelial cancer and its clinical implication[J]. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*, 2006, 26(3): 359-362.
- [14] LU J, JIN M L. Short-hairpin RNA-mediated MTA2 silencing inhibits human breast cancer cell line MDA-MB231 proliferation and metastasis[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(14): 5577-5582.
- [15] 陈磊, 郑树艳, 黄永望. MTA2对喉癌细胞系Hep-2的增殖、迁移和侵袭的影响[J]. *中国实验诊断学*, 2015, 19(6): 883-885.
- [16] ZHANG M, REN B, LI Z, et al. Expression of N-myc downstream-regulated gene 2 in bladder cancer and its potential utility as a urinary diagnostic biomarker[J/OL]. *Med Sci Monit*, 2017, 23: 4644-4649[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5627538/>.
- [17] WANG Y, KANG X L, ZENG F C, et al. Correlations of Foxo3 and Foxo4 expressions with clinicopathological features and prognosis of bladder cancer[J]. *Pathol Res Pract*, 2017, 213(7): 766-772. DOI:10.1016/j.prp.2017.04.004.
- [18] SAIDI S, POPOV Z, JANEVSKA V, et al. Overexpression of UHRF1 gene correlates with the major clinicopathological parameters in urinary bladder cancer[J/OL]. *Int Braz J Urol*, 2017, 43(2): 224-229[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5433360/>. DOI:10.1590/S1677-5538.IBJU.2016.0126.
- [19] ZHU S, DENG S J, HE C, et al. Reciprocal loop of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) and metastasis-associated protein 2 (MTA2) contributes to the progression of pancreatic carcinoma by suppressing E-cadherin transcription[J]. *J Pathol*, 2018, 245(3): 349-360. DOI:10.1002/path.5089.
- [20] ZHANG B, TAO F, ZHANG H. Metastasis-associated protein 2 promotes the metastasis of non-small cell lung carcinoma by regulating the ERK/AKT and VEGF signaling pathways[J]. *Mol Med Report*, 2018, 17(4): 4899-4908. DOI:10.3892/mmr.2018.8535.

[收稿日期] 2019-02-03

[修回日期] 2019-05-11

[本文编辑] 王映红