

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.01.007

· 基础研究 ·

## Tspan29 在乳腺癌组织中的表达及其对 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞恶性生物学行为的影响

李纲<sup>1</sup>, 王妹兴<sup>1</sup>, 杨梅<sup>2</sup>, 党雪菲<sup>2</sup>, 李学庆<sup>2</sup>, 李小静<sup>2</sup>, 王红霞<sup>1</sup>(1. 复旦大学附属肿瘤医院闵行分院 肿瘤内科, 上海 200240; 2. 上海交通大学附属第一人民医院松江分院 肿瘤内科, 上海 201620)

**[摘要]** **目的:** 检测4次穿膜蛋白29(tetraspanins-29, Tspan29)在乳腺癌组织和细胞系中的表达水平, 探讨敲低Tspan29对乳腺癌MCF-7和MDA-MB-231细胞增殖、迁移、侵袭及上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的影响。**方法:** 收集2017年6月至2018年2月复旦大学附属肿瘤医院闵行分院手术切除的20例乳腺癌患者的癌组织和相应的癌旁组织标本, 以及乳腺癌细胞系MCF-7、MDA-MB-231和人乳腺上皮细胞MDA-kb2, 用qPCR和Western blotting检测乳腺癌组织和细胞系中Tspan29的表达水平。通过siTspan29对MCF-7、MDA-MB-231细胞中Tspan29进行干扰, 用qPCR法检测转染细胞中Tspan29 mRNA和蛋白的表达水平, PCR芯片法检测MCF-7细胞中EMT相关基因的表达, 用CCK-8法、Transwell实验检测MCF-7和MDA-MB-231细胞的增殖、迁移和侵袭能力。**结果:** 乳腺癌组织中Tspan29 mRNA和蛋白的表达水平显著高于癌旁组织(均 $P<0.01$ ), MCF-7和MDA-MB-231细胞中Tspan29 mRNA和蛋白的表达水平显著高于MDA-kb2细胞(均 $P<0.01$ )。siTspan29干扰后, MCF-7细胞中Tspan29 mRNA和蛋白的表达水平显著下降(均 $P<0.05$ ); MCF-7细胞中EMT相关基因中有2个基因显著上调, 有7个基因显著下调; MCF-7和MDA-MB-231细胞的增殖、迁移及侵袭能力显著下降(均 $P<0.05$ )。**结论:** Tspan29在乳腺癌组织及细胞系中表达水平显著上调, 敲低Tspan29对乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭有显著的抑制作用。

**[关键词]** 乳腺癌; MCF-7细胞; MDA-MB-231细胞; 4次穿膜蛋白29; siRNA干扰; 增殖; 迁移; 侵袭; 上皮间质转化

**[中图分类号]** R737.9; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)01-0042-08

## Expression of Tspan29 in breast cancer tissues and its effect on malignant biological behaviors of MCF-7 and MDA-MB-231 cells

LI Gang<sup>1</sup>, WANG Meixing<sup>1</sup>, YANG Mei<sup>2</sup>, DANG Xuefei<sup>2</sup>, LI Xueqing<sup>2</sup>, LI Xiaojing<sup>2</sup>, WANG Hongxia<sup>1</sup>(1. Department of Oncology, Minhang Branch of Cancer Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200240, China; 2. Department of Oncology, Songjiang Branch of the First People's Hospital Affiliated to Shanghai JiaoTong University, Shanghai 201620, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression of tetraspanins-29 (Tspan29) in breast cancer tissues and cell lines and to explore the effect of Tspan29 knockdown on proliferation, invasion, migration and epithelial-mesenchymal transition (EMT) of breast cancer MCF-7 and MDA-MB-231 cells. **Methods:** A total of 20 pairs of breast cancer tissues and corresponding para-cancerous tissues resected in Minhang Branch of Cancer Hospital Affiliated to Fudan University from June 2017 to February 2018 were collected for this study; in addition, breast cancer cell lines MCF-7, MDA-MB-231 and human breast epithelial MDA-kb2 cells were also collected. The mRNA and protein expressions of Tspan29 in above mentioned tissues and cell lines were detected by Real-time quantitative (qPCR) and Western blotting. The expression of Tspan29 in MCF-7 and MDA-MB-231 cells was interfered by siRNA. qPCR was used to detect the mRNA and protein expressions of Tspan29. PCR microarray was used to examine the expressions of EMT-related genes in MCF-7 cells. CCK-8 assay and Transwell were used to detect cell proliferation, migration and invasion of MCF-7 and MDA-MB-231 cells. **Results:** The mRNA and protein expressions of Tspan29 in breast cancer tissues were significantly higher than that in para-cancerous tissues (all  $P<0.01$ ); and the mRNA and protein expressions of Tspan29 in MCF-7 and MDA-MB-231 cells were significantly higher than that in MDA-kb2 cells ( $P<0.01$ ). After being interfered with siTspan29, the mRNA and protein expressions of Tspan29 were significantly down-regulated in MCF-7 cells (all  $P<0.05$ ); the proliferation, invasion and migration of MCF-7 and MDA-MB-231 cells were signifi-

**[基金项目]** 上海市闵行区自然科学基金资助项目(No.2016MHZ69)。Project supported by the Natural Science Research Foundation of Minhang District, Shanghai (No.2016MHZ69)

**[作者简介]** 李纲(1972-), 女, 学士, 主任医师, 主要从事乳腺肿瘤的基础和临床研究, E-mail: ligang\_0113@163.com

**[通信作者]** 王红霞(WANG Hongxia, corresponding author), 博士, 副主任医师, 主要从事乳腺肿瘤的基础和临床研究, E-mail: wang\_hx123@yeah.com

cantly inhibited (all  $P < 0.05$ ); and among the EMT-related genes, two were significantly up-regulated while 7 were down-regulated. **Conclusion:** Tspan29 is significantly up-regulated in breast cancer tissues and cell lines, and knockdown of Tspan29 significantly inhibits the proliferation, invasion and migration of breast cancer cells.

**[Key words]** breast cancer; MCF-7 cell; MDA-MB-231 cell; tetraspanins-29 (Tspan29); siRNA interference; proliferation; migration; invasion; epithelial-mesenchymal transition (EMT)

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(1): 42-49. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.01.007]

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,是危害女性健康的头号杀手<sup>[1-3]</sup>。乳腺癌的发病率与年龄、遗传等多种因素有关,其中以40~60岁、绝经期前后妇女的发病率最高<sup>[4-5]</sup>。乳腺癌发病隐匿,多数患者在确诊时已经发生局部转移,因而危及生命<sup>[6]</sup>。随着人口老龄化进程的加快,乳腺癌的发病率呈逐年上升趋势,已成为当前社会的重大公共卫生问题。因此,乳腺癌早期筛查靶点和防治措施的研究具有重要的临床和社会意义。4次穿膜蛋白29(tetraspanins-29, Tspan29)又称MRP-1/CD9,是以4个高度保守的穿膜结构为特征的4次穿膜蛋白超家族(transmembrane 4 super family, TM4SF)成员之一,参与调控细胞增殖、黏附与迁移等<sup>[7-8]</sup>。Tspan29的表达可以预测头颈部鳞状细胞癌患者的无病生存期<sup>[9]</sup>,其在尿路上皮膀胱癌中的表达与肿瘤复发和进展相关<sup>[10]</sup>,在结肠癌和肺癌中也具有重要的临床意义<sup>[11-12]</sup>。然而,目前Tspan29在乳腺癌中的表达及其作用尚不明确。本研究通过检测乳腺癌组织及细胞系中Tspan29 mRNA和蛋白表达水平,并采用干扰RNA(siRNA)技术下调Tspan29的表达,探讨Tspan29对乳腺癌MCF-7和MDA-MB-231细胞增殖、侵袭、迁移及上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的影响及其作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 组织标本、细胞系及主要试剂

收集2017年6月至2018年2月复旦大学附属肿瘤医院闵行分院手术切除的20例乳腺癌组织及相应的癌旁组织(距肿瘤组织边缘2 cm以上)标本,年龄46~62岁,中位年龄54岁。术前所有患者均未进行放化疗及内分泌治疗,排除临床资料不完整、合并糖尿病、高血压或其他恶性肿瘤患者。术后乳腺癌组织标本经病理组织学确诊,由2名病理医师审核。肿瘤TNM分期:I期5例,II期9例,III期6例;组织病理学分期:1~2级15例,3级5例;浸润性导管癌14例,浸润性小叶癌6例。

人乳腺癌细胞系MCF-7、MDA-MB-231及人乳腺上皮细胞株MDA-kb2购自中国科学院上海细胞库。

DMEM培养基、无血清培养基OPTI-MEM、胎牛

血清、胰蛋白酶、青霉素、链霉素等均购于美国Gibco公司, RNA提取及逆转录试剂盒、PCR试剂盒及转染试剂Lipofectamine™ 2000购自美国Invitrogen公司, PCR引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,鼠源Tspan29抗体、鼠源GAPDH抗体、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗鼠IgG二抗均购于美国BD公司, BCA试剂盒购于美国Thermo Fisher公司, Tspan29干扰序列(siTspan29)及对照序列(scramble)由上海吉玛制药技术有限公司合成, PCR芯片购自美国Qiagen公司, 结晶紫染色液、CCK-8试剂盒购自碧云天生物技术有限公司。

### 1.2 细胞培养、转染及分组

MCF-7、MDA-MB-231及MDA-kb2细胞采用含10%胎牛血清、100 U/ml青霉素和100 μg/ml链霉素的DMEM培养基培养并置于37 °C、5% CO<sub>2</sub>的培养箱中进行培养。用0.25%胰蛋白酶消化细胞,每2~3 d传代1次。

将对数生长期的MCF-7细胞按照 $3 \times 10^5$ 个/孔接种于含10%胎牛血清、不含抗生素的DMEM培养液的6孔板,在37 °C、5% CO<sub>2</sub>的细胞培养箱中培养。24 h后,当细胞汇合度达70%~80%时,按照Lipofectamine™ 2000试剂说明书的方法进行转染。用OPTI-MEM稀释转染试剂和siRNA,常温孵育5 min。将50 μl稀释好的转染试剂和50 μl稀释好的siRNA混匀,常温孵育20 min。然后将混合物添加到细胞样品中,继续培养24 h后进行后续实验。转染分为3组:空白对照组、si-NC组、siTspan29组。转染所用siRNA的序列: si-NC为5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTTACGUGACACGUUCGGAGAATT-3', siTspan29为5'-GGGAAACGCUGAAAGCCAUTTAUGGCUUUCAGCG-UUUCCTT-3'。

### 1.3 qPCR检测乳腺癌组织和细胞系中Tspan29 mRNA表达水平

采用TRIzol提取组织或各组细胞中总RNA,并通过紫外分光光度计检测其纯度,逆转录反应参照说明书的方法,以逆转录所得cDNA为模板进行qPCR检测。引物序列:Tspan29 F为5'-ATGCTGGGACT-GTTCTTCGG-3', R为5'-TAATCACCTCATCCTTGT-GGGA-3'; GAPDH F为5'-AGAAGGCTGGGGCT-CATT-3', R为5'-TGCTAAGCAGTTGGTGGTG-3'。

PCR反应条件: 95 °C 10 min, 95 °C 15 s, 60 °C 60 s, 共45个循环。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因mRNA的相对表达量。

#### 1.4 Western blotting(WB)检测 siRNA 干扰 Tspan29 后 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞中 Tspan29 蛋白的表达

收集转染后各组MCF-7和MDA-MB-231细胞, PBS清洗2遍, 在细胞中加入1%蛋白磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液, 裂解30 min, 离心后收取上清液。用BCA蛋白试剂盒测定蛋白浓度。蛋白样品用4×加样缓冲液稀释, 然后95 °C加热10 min。取30 μg蛋白进行SDS-PAGE、转PVDF膜, 5%脱脂奶粉封闭1 h, 洗涤后加入Tspan29一抗(1:1 000)4 °C过夜。次日, 用TBST漂洗3次后, 加入HRP标记的山羊抗鼠二抗(1:500), 室温下孵育1 h, TBST漂洗后, 用ECL化学发光显色, 用C-DiGit印记扫描仪(LI-COR)分析蛋白条带的灰度值, 以GAPDH为内参进行比较。

#### 1.5 PCR 芯片法检测 siRNA 干扰 Tspan29 后 MCF-7 细胞中 EMT 相关基因的表达

采用TRIzol提取细胞中总RNA, 并检测其纯度。依据RT2 First Strand Kit说明书的方法逆转录合成cDNA(10 μl)。用RNase-free水稀释后, 取102 μl的cDNA加入PCR反应体系(RT2 SYBR Green Master mix)至终体积1 300 μl, 混匀后, 在RT2 Profiler PCR Array EMT System的96孔板孔中, 加入10 μl等量PCR反应体系进行PCR。反应条件: 95 °C 10 min、95 °C 15 s、60 °C 1 min, 共40个循环。利用仪器配套软件计算各张PCR芯片中的89个EMT相关基因的Ct值, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法表示相应基因的相对表达量。

#### 1.6 CCK-8 法检测 Tspan29 干扰后对 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞增殖的影响

将转染后各组对数生长期的MCF-7和MDA-MB-231细胞, 按照 $2 \times 10^4$ 个/孔接种于6孔板, 分别在0、24、48、72及96 h后加入10 μl CCK-8液, 4 h后, 在酶联免疫检测仪上测定波长450 nm处各孔的光密度(D)值。D值与活细胞的数量成正比, 由此可以检测细胞的增殖能力。

#### 1.7 Transwell 实验检测 Tspan29 干扰后对 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞迁移、侵袭的影响

吸除对数生长期MCF-7、MDA-MB-231细胞培养基, 用适量PBS清洗后, 加入0.25%胰酶细胞消化液(Trypsin-EDTA), 轻微摇晃培养容器使其覆盖所有细胞, 放回培养箱中消化3 min, 待细胞回缩变圆后, 加入等量完全培养基终止消化。200×g离心3 min, 去除上清, 用无血清DMEM-F12培养基重悬细胞, 计数, 调整细胞密度为 $2 \times 10^5$ /ml。在下室加入

700 μl含10%血清的培养基, 上室加入500 μl细胞悬液, 继续在二氧化碳培养箱培养24 h后, 用4%多聚甲醛固定穿膜的细胞, 并用0.1%结晶紫染色。在倒置显微镜(×200)下采集图像, 随机取3个视野的穿膜细胞计数, 求平均值。细胞侵袭实验中, 上小室基底膜上需预铺有一层基质胶; 细胞迁移实验中, 上小室基底膜不需预铺基质胶。

#### 1.8 统计学处理

本研究中1.3~1.7实验均重复3次。应用SPSS 19.0软件对实验数据进行统计分析。正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用t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 乳腺癌组织及细胞系中 Tspan29 mRNA 和蛋白高表达

用qPCR与WB检测结果(图1)显示, 乳腺癌组织中Tspan29 mRNA和蛋白表达水平显著高于癌旁组织(均 $P < 0.01$ ); 乳腺癌MCF-7、MDA-MB-231细胞中Tspan29 mRNA和蛋白的表达水平也显著高于MDA-kb2细胞(均 $P < 0.01$ )。结果表明, Tspan29在乳腺癌组织与细胞系中均呈高表达。

### 2.2 siTspan29 干扰显著降低 MCF-7 细胞中 Tspan29 mRNA 和蛋白的表达水平

qPCR检测结果(图2A)显示, 转染siTspan29后, siTspan29干扰组MCF-7细胞中Tspan29 mRNA的表达水平显著低于空白对照组和si-NC组细胞(均 $P < 0.05$ ), 干扰效率约为60%。WB实验结果(图2B)显示, 转染siTspan29后, MCF-7细胞中Tspan29蛋白的表达水平显著低于空白对照组和si-NC组细胞(均 $P < 0.05$ )。

### 2.3 siTspan29 干扰对 MCF-7 细胞 EMT 相关基因表达的影响

PCR芯片检测结果(图3)显示, 与空白对照组和si-NC组比较, siTspan29转染组MCF-7细胞有9个靶基因的表达发生显著改变( $|\log_2 FC| > 2$ ,  $P < 0.05$ )。其中, 有2个基因表达上调, 分别为BMP2和CDH2; 有7个基因表达下调, 包括FOXC2、KRT14、MSN、PDGFRB、VCAN、SNAI2和SPARC。

### 2.4 siTspan29 干扰抑制 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞的增殖

CCK-8实验结果(图4)显示, 转染siTspan29后, 与空白对照组和si-NC组比较, MCF-7和MDA-MB-231细胞的增殖能力均呈显著下降趋势(均 $P < 0.05$ )。结果表明, siTspan29干扰降低了MCF-7及MDA-MB-231细胞的增殖能力。

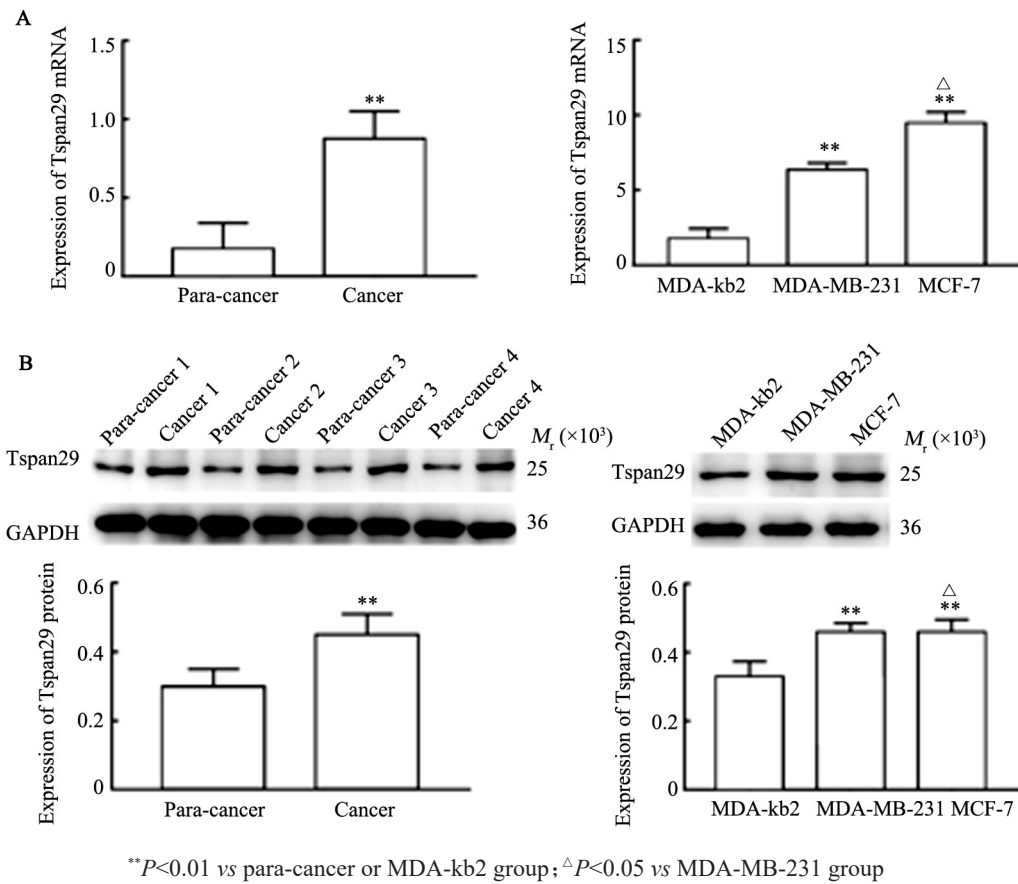


图1 乳腺癌组织和细胞系中 Tspan29 mRNA(A)和蛋白(B)的表达

Fig.1 mRNA (A) and protein (B) expressions of Tspan29 in breast cancer tissues and cell lines

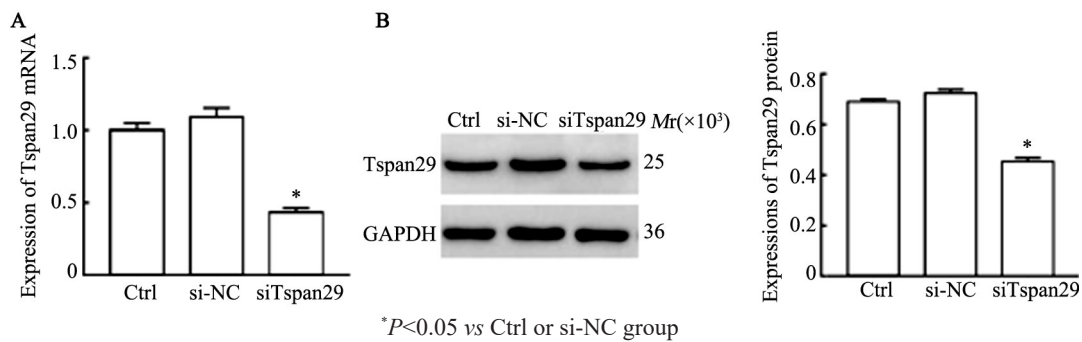


图2 siTspan29 干扰对 MCF-7 细胞中 Tspan29 mRNA(A)和蛋白(B)表达的影响

Fig.2 Effects of siTspan29 interference on mRNA (A) and protein (B) expressions of Tspan29 in MCF-7 cells

### 2.5 siTspan29 干扰降低 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞的迁移及侵袭能力

Transwell 实验结果(图 5)显示,与空白对照组和 si-NC 组比较,siTspan29 转染组 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞的迁移及侵袭能力均显著下降(均  $P < 0.05$ )。结果表明,siTspan29 干扰可降低 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞的迁移及侵袭能力。

### 3 讨论

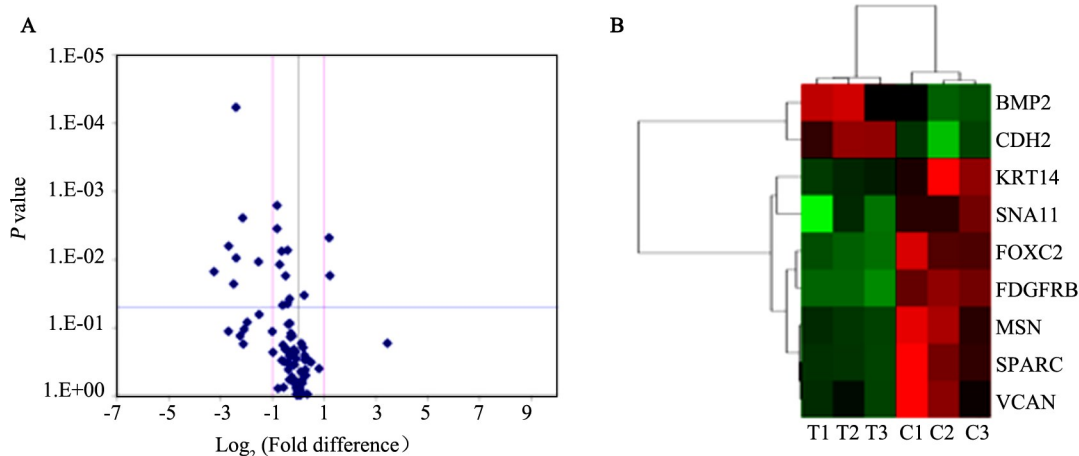
乳腺癌发病率高居全球女性恶性肿瘤第一位,严重影响女性生活质量<sup>[13-14]</sup>。由于乳腺并非维持人

体生命活动的重要器官,原位乳腺癌并不会致命,但是乳腺癌细胞间连接松散,容易脱落。癌细胞一旦脱落,游离的癌细胞可随血液或淋巴转移到全身而危及生命<sup>[5]</sup>。因此,乳腺癌已成为当前社会的重大公共卫生问题。目前,Tspan29 在乳腺癌组织中的表达及其做尚不明确。

TM4SF 是一类在进化上高度保守的特殊的 4 次穿膜蛋白,能结合膜内、膜及膜外蛋白,起到连接膜内外信号通道的作用<sup>[15]</sup>。TM4SF 广泛参与细胞增殖、迁移、黏附及信号转导等多种生命活动,对许多疾病的发生发展起重要作用<sup>[16]</sup>。目前研究的比较多

的TM4SF 家族成员为 Tspan8。研究<sup>[17-19]</sup>表明, Tspan8 在多种肿瘤中呈显著高表达状态, 如肝癌、结肠

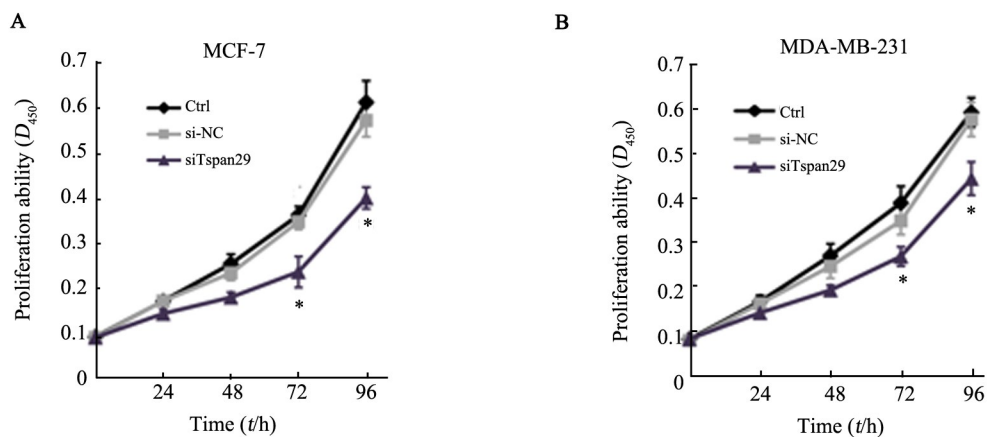
癌、肺癌、食道癌, 前列腺癌、卵巢癌及宫颈癌等。



A: The volcano figure for expression of EMT targeting genes; B: Heat map of 9 differentially expressed genes

图3 siTspan29干扰对MCF-7细胞EMT相关基因表达的影响

Fig.3 Effects of siTspan29 interference on the expressions of EMT-related genes in MCF-7 cells



\*P<0.05 vs Ctrl or si-NC group

图4 Tspan29干扰对MCF-7(A)和MDA-MB-231(B)细胞增殖的影响

Fig.4 Effects of Tspan29 interference on proliferation of MCF-7 (A) and MDA-MB-231 (B) cells

本研究用qPCR法检测了20例乳腺癌组织和癌旁组织以及乳腺癌MCF-7、MDA-MB-231细胞与MDA-Kb2细胞中Tspan29的表达情况, 结果显示, Tspan29在乳腺癌组织及细胞系中的表达水平均显著高于癌旁组织及MDA-Kb2细胞, 提示Tspan29高表达可能与乳腺癌发生发展相关。在一些实体瘤(如结肠直肠癌和胃癌)中, Tspan29高表达预示着良好的预后, 而在乳腺癌中Tspan29的表达则促进肿瘤的侵袭与转移<sup>[20]</sup>。JEIBMANN等<sup>[21]</sup>发现, Tspan29在胶质瘤中高表达; BOTELHO等<sup>[22]</sup>则发现, Tspan29在食管癌中低表达。上述结果提示, Tspan29在不同类型的肿瘤中可能发挥不同的作用。早期的研究<sup>[23]</sup>表明, 在原发性肿瘤及其各自转移淋巴结中, Tspan29的表

达可能与肿瘤的转移负相关。KISCHEL等<sup>[24]</sup>研究表明, 人乳腺癌MDA-MB-231细胞中Tspan29的过表达促进骨转移的发生。此外, Tspan29对高转移人乳腺癌MDA-MB-231细胞恶性侵袭有抑制作用<sup>[25]</sup>。MCF-7细胞保留了多个分化的乳腺上皮细胞的特性, 其恶性增殖能力较弱, Tspan29的表达能否改变其恶性增殖和EMT进程, 目前还不清楚。

为了研究Tspan29在乳腺癌MCF-7细胞中的作用, 本研究用siRNA技术对MCF-7细胞中Tspan29进行干扰, qPCR及WB实验检测结果显示, 成功干扰细胞中Tspan29的表达, 且干扰效率满意。CCK-8实验结果显示, Tspan29干扰减弱了MCF-7细胞的增殖能力, 并在MDA-MB-231细胞中得到验证。Transwell

实验结果显示, Tspan29干扰后MCF-7和MDA-MB-231细胞的迁移及侵袭能力均显著下降。研究结果表明, Tspan29可能参与乳腺癌细胞迁移及侵袭;

高表达的Tspan29会增强乳腺癌细胞的迁移能力。

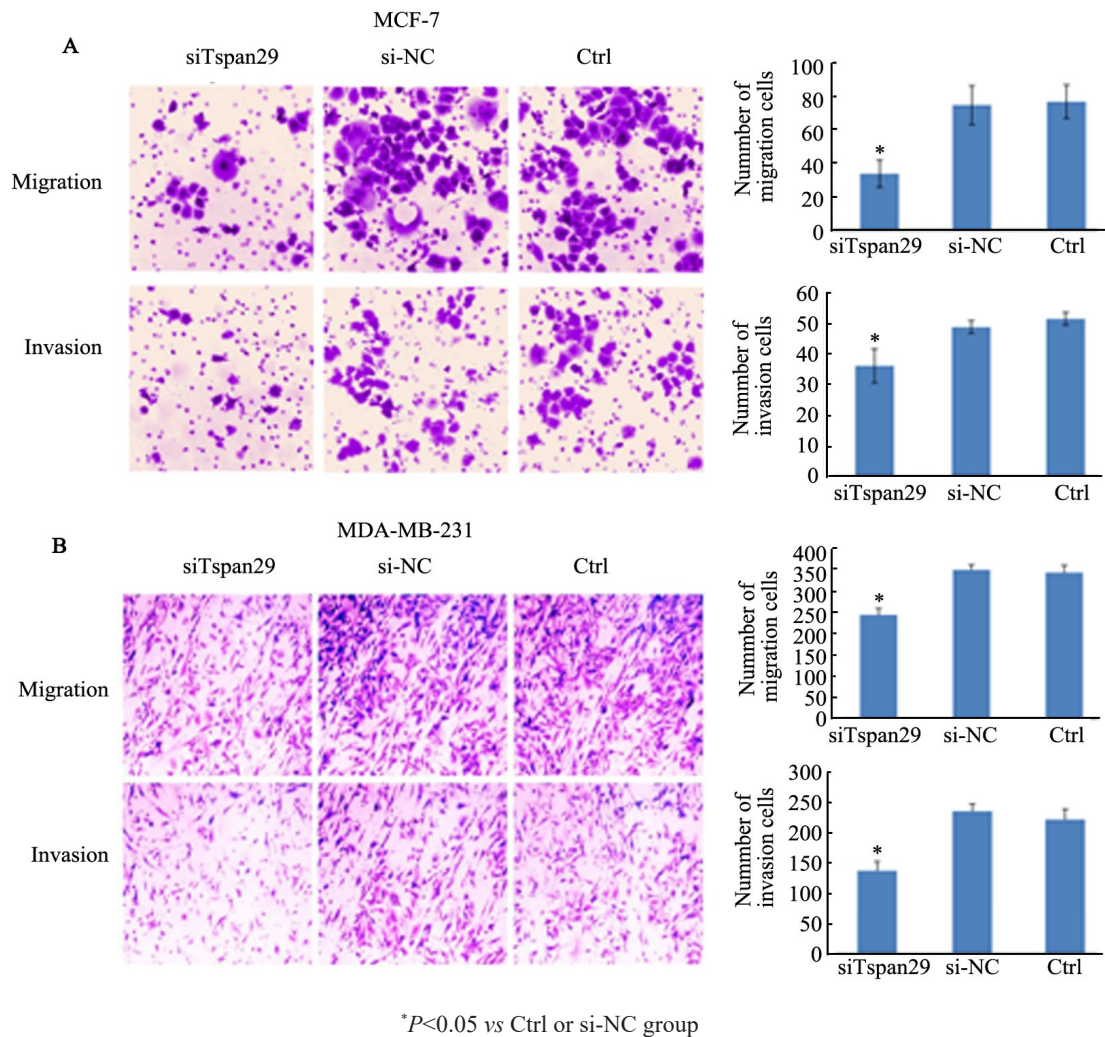


图5 siTspan29干扰对MCF-7(A)和MDA-MB-231(B)细胞迁移和侵袭的影响(结晶紫染色,  $\times 200$ )  
Fig.5 Effects of siTspan29 interference on migration and invasion of MCF-7 (A) and MDA-MB-231 (B) cells (crystal violet staining,  $\times 200$ )

EMT在肿瘤的转移中发挥重要作用<sup>[26]</sup>。本研究通过PCR芯片发现, 转染siTspan29后, EMT相关基因中有2个显著上调、7个显著下调。FOXC2是与间质组织发育相关的转录因子, 其过表达能诱导EMT, 促进肿瘤转移<sup>[27]</sup>。应激蛋白mortalin的抑制能减弱肿瘤细胞的EMT进程, 相反, 过表达mortalin的肿瘤细胞中EMT增加, 并且检测到KRT14的上调, 证明KRT14和EMT存在一定的联系<sup>[28]</sup>。MSN属于ERM(ezrin, radixin and moesin)家族, 在乳腺癌组织中MSN mRNA水平与EMT相关基因正相关<sup>[29]</sup>。血小板衍生的生长因子受体B(platelet-derived growth factor receptor B, PDGFRB)主要由间充质来源的基质细胞表达, 肿瘤细胞在发生EMT后获得PDGFRB表达<sup>[30]</sup>。增强的PAPSS2/VCAN轴对于Snail介导的

乳腺癌细胞迁移和转移至关重要<sup>[31]</sup>。SNAI2是EMT的一种关键转录调节因子, 其过表达能明显抑制E-cadherin基因转录导致EMT, 从而促进肿瘤侵袭与转移<sup>[32]</sup>。SPARC在前列腺癌组织中高表达, 内源性SPARC诱导EMT, 促进肿瘤进展<sup>[33]</sup>。在Tspan29干扰肿瘤细胞后, 这些EMT相关基因表达下调, 且细胞增殖、迁移及侵袭能力减弱, 提示EMT进程可能发生了改变。

总之, 本研究结果表明Tspan29在乳腺癌发生发展中具有一定的作用。Tspan29可通过调控EMT促进乳腺癌细胞细胞增殖、迁移及侵袭, Tspan29干扰后乳腺癌细胞的增殖、迁移及侵袭能力显著下降。今后将进一步深入研究Tspan29在乳腺癌发生发展中的作用机制, 以期获得新

的乳腺癌治疗靶点。

## [参考文献]

- [1] 谭林彦, 刘敏, 葛菲, 等. 环加氧酶-2 通过调控 EMT 促进乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2019, 26(5): 557-562. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2019.05.012.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2018[J]. CA: Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30. DOI:10.3322/caac.21442.
- [3] REINER A S, SISTI J, JOHN E M, et al. Breast cancer family history and contralateral breast cancer risk in young women: an update from the women's environmental cancer and radiation epidemiology study [J/OL]. J Clin Oncol, 2018, 36(15): 1513-1520[2019-09-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5959199/>. DOI: 10.1200/JCO.2017.77.3424.
- [4] TREVISIOL C, GION M, DITTADI R, et al. Epidemiology-based assessment of tumor marker overordering in breast cancer: an algorithm to examine different disease conditions[J/OL]. Int J Biol Markers, 2017, 32(4): e471-e473[2019-09-18]. <https://doi.org/10.5301/ijbm.5000274>. DOI:10.5301/ijbm.5000274.
- [5] HONCHEH M, POURNAMDAR Z, SALEHINIYA H. Incidence and mortality and epidemiology of breast cancer in the world[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2016, 17(S3): 43-46. DOI:10.7314/apjcp.2016.17.s3.43.
- [6] 靳雪芹, 刘水逸, 李晓怡, 等. miR-494 在乳腺癌中的表达及其临床意义[J]. 临床检验杂志, 2017, 35(11): 828-831. DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2017.11.07.
- [7] 何磊, 柯爱武, 郭传勇. 四跨膜蛋白在肝癌中的作用[J]. 中国肿瘤临床, 2011, 38(18): 1175-1178. DOI:10.3969/j.issn.1000-8179.2011.18.031.
- [8] TACHIBANA I, HEMLER M E. Role of transmembrane 4 superfamily (TM4SF) proteins CD9 and CD81 in muscle cell fusion and myotube maintenance[J/OL]. J Cell Biol, 1999, 146(4): 893-904[2019-09-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2156130/>. DOI: 10.1083/jcb.146.4.893.
- [9] MHAWECH P, DULGUEROV P, TSCHANZ E, et al. Motility-related protein-1 (MRP-1/CD9) expression can predict disease-free survival in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. Br J Cancer, 2004, 90(2): 471-475. DOI:10.1038/sj.bjc.6601542.
- [10] MHAWECH P, HERRMANN F, COASSIN M, et al. Motility-related protein 1 (MRP-1/CD9) expression in urothelial bladder carcinoma and its relation to tumor recurrence and progression[J]. Cancer, 2003, 98(8): 1649-1657. DOI:10.1002/cncr.11698.
- [11] HASHIDA H, TAKABAYASHI A, TOKUHARAA T, et al. Clinical significance of transmembrane 4 superfamily in colon cancer[J]. Br J Cancer, 2003, 89(1): 158-167. DOI: 10.1038/sj.bjc.6601015
- [12] ADACHI M, TAKI T, KONISHI T, et al. Novel staging protocol for non-small-cell lung cancers according to MRP-1/CD9 and KAI1/CD82 gene expression[J]. J Clin Oncol, 1998, 16(4): 1397-1406. DOI:10.1200/JCO.1998.16.4.1397.
- [13] 曾蕾伦, 吕铮, 崔久嵬. 乳腺癌免疫治疗研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2019, 26(1): 102-108. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2019.01.016.
- [14] 邱鹏, 马立志, 汤肖肖, 等. Galectin-3 在人乳腺癌组织中的表达及对 MCF-7 细胞恶性生物学行为的影响[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2018, 25(10): 90-96. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2018.10.012.
- [15] TODD S C, DOCTOR V S, LEVY S. Sequences and expression of six new members of the tetraspanin/TM4SF family[J]. Biochim Biophys Acta, 1998, 1399(1): 101-104. DOI: 10.1016/s0167-4781(98)00087-6.
- [16] YUE S J, MU W, ERB U, et al. The tetraspanins CD151 and Tspan8 are essential exosome components for the crosstalk between cancer initiating cells and their surrounding[J/OL]. Oncotarget, 2015, 6(4): 2366-2384[2019-09-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4385857/>. DOI:10.18632/oncotarget.2958.
- [17] ANAMI K, OUE N, NOGUCHI T, et al. TSPAN8, identified by *Escherichia coli* ampicillin secretion trap, is associated with cell growth and invasion in gastric cancer[J]. Gastric Cancer, 2016, 19(2): 370-380. DOI:10.1007/s10120-015-0478-z.
- [18] DONG Z, ZHAO L J, LU S J, et al. Overexpression of TSPAN8 promotes tumor cell viability and proliferation in nonsmall cell lung cancer[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2016, 31(10): 353-359. DOI:10.1089/cbr.2016.2108.
- [19] WEI L S, LI Y, SUO Z M. TSPAN8 promotes gastric cancer growth and metastasis via ERK MAPK pathway[J/OL]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(6): 8599-8607[2019-09-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4537951/>.
- [20] RAPPÀ G, GREEN T M, KARBANOVÁ J, et al. Tetraspanin CD9 determines invasiveness and tumorigenicity of human breast cancer cells[J/OL]. Oncotarget, 2015, 6(10): 7970-7991[2019-09-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4480729/>. DOI:10.18632/oncotarget.3419.
- [21] JEIBMANN A, HALAMA K, WITTE H T, et al. Involvement of CD9 and PDGFR in migration is evolutionarily conserved from *Drosophila Glia* to human glioma[J]. J Neurooncol, 2015, 124(3): 373-383. DOI:10.1007/s11060-015-1864-4.
- [22] BOTELHO N K, SCHNEIDERS F I, LORD S J, et al. Gene expression alterations in formalin-fixed, paraffin-embedded Barrett esophagus and esophageal adenocarcinoma tissues[J]. Cancer Biol Ther, 2010, 10(2): 172-179. DOI:10.4161/cbt.10.2.12166.
- [23] MIYAKE M, NAKANO K, IEKI Y, et al. Motility related protein 1 (MRP-1/CD9) expression: inverse correlation with metastases in breast cancer[J]. Cancer Res, 1995, 55(18): 4127-4131.
- [24] KISCHEL P, BELLAHCENE A, DEUX B, et al. Overexpression of CD9 in human breast cancer cells promotes the development of bone metastases[J]. Anticancer Res, 2012, 32(12): 5211-5220.
- [25] 陈颖, 吴明富, 李琼, 等. MRP-1/CD9 与高转移人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞恶性行为相关性的体外研究[J]. 肿瘤, 2006, 26(9): 793-797. DOI:10.3781/j.issn.1000-7431.2006.09.001.
- [26] WANG Y F, ZHOU B P. Epithelial-mesenchymal transition in breast cancer progression and metastasis[J]. Chin J Cancer, 2011, 30(9): 603-611. DOI:10.5732/cjc.011.10226.
- [27] LI Q G, WU J T, WEI P, et al. Overexpression of forkhead Box C2 promotes tumor metastasis and indicates poor prognosis in colon cancer via regulating epithelial-mesenchymal transition[J/OL]. Am J Cancer Res, 2015, 5(6): 2022-2034[2019-09-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4529621/>.
- [28] NA Y J, KAUL S C, RYU J, et al. Stress chaperone mortalin contributes to epithelial-mesenchymal transition and cancer metastasis[J]. Cancer Res, 2016, 76(9): 2754-2765. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-2704.

- [29] WANG C C, LIAU J Y, LU Y S, et al. Differential expression of moesin in breast cancers and its implication in epithelial-mesenchymal transition[J]. *Histopathology*, 2012, 61(1): 78-87. DOI:10.1111/j.1365-2559.2012.04204.x.
- [30] STELLER E J, RAATS D A, KOSTER J, et al. PDGFRB promotes liver metastasis formation of mesenchymal-like colorectal tumor cells[J/OL]. *Neoplasia*, 2013, 15(2): 204-217[2019-09-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3579322/>. DOI: 10.1593/neo.121726.
- [31] ZHANG Y H, ZOU X Q, QIAN W L, et al. Enhanced PAPSS2/VCAN sulfation axis is essential for Snail-mediated breast cancer cell migration and metastasis[J/OL]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(3): 565-579[2019-09-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6370781/>. DOI:10.1038/s41418-018-0147-y.
- [32] WANG W, HIND T, LAM B W S, et al. Sphingosine 1-phosphate signaling induces SNAI2 expression to promote cell invasion in breast cancer cells[J]. *FASEB J*, 2019, 33(6): 7180-7191. DOI: 10.1096/fj.201801635R.
- [33] LÓPEZ-MONCADA F, TORRES M J, CASTELLÓN E A, et al. Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) induces epithelial-mesenchymal transition, enhancing migration and invasion, and is associated with high Gleason score in prostate cancer[J/OL]. *Asian J Androl*, 2019, 21(6): 557-564. [2019-09-18]. <http://www.ajandrology.com/preprintarticle.asp?id=256885>. DOI: 10.4103/aja.aja\_23\_19.

[收稿日期] 2019-06-30

[修回日期] 2019-12-30

[本文编辑] 党瑞山