

· 临床研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.09.009

异体血小板输注对人肺癌 A549 细胞迁移和侵袭的影响及其作用机制

韩丽娜^a, 赵学涛^a, 马鸣^b, 吴博^a, 赵亮^a, 张璁^c, 单保恩^c (河北医科大学 第四医院 a. 输血科; b. 检验科; c. 科研中心, 河北 石家庄 050011)

[摘要] **目的:** 观察输注的异体血小板对人肺癌细胞 A549 侵袭、转移的影响, 初步探讨其作用机制。 **方法:** 选取 2017 年 1 月至 2018 年 12 月于河北医科大学第四医院化疗科就诊输注血小板的 89 例晚期肺癌患者, 实验分为 Ctrl 组 (与培养液共孵育的 A549 细胞组)、Before 组和 After 组 (分别指与输注血小板前和后患者血浆共孵育的 A549 细胞组)。通过划痕实验和 Transwell 实验检测与输注血小板前后患者血浆共孵育的 A549 细胞的迁移和侵袭能力, 采用 Western blotting 法检测金属基质蛋白酶 (MMPs) 及其抑制剂 (TIMPs) 和上皮-间质转化 (EMT) 相关蛋白 E-cadherin、N-cadherin 及 Vimentin, 以及血管内皮生长因子 VEGF 及受体 2 (VEGFR2) 的表达水平。 **结果:** After 组的 A549 细胞的划痕愈合率明显高于 Before 组及 Ctrl 组 [(73.67±2.60)% vs (58.33±2.33)%、(35.33±2.03)%], $P<0.01$ 或 $P<0.05$], Before 组与 Ctrl 组比较也具有显著差异 ($P<0.05$)。细胞迁移实验结果显示, After 组的穿膜细胞数明显高于 Ctrl 组和 Before 组 [(69.67±7.84) vs (18±2.08)、(39.33±2.03) 个, 均 $P<0.01$]。细胞侵袭实验显示, After 组的穿膜细胞数明显高于 Ctrl 组和 Before 组 [(59.34±3.46) vs (18.34±1.56)、(37.58±2.79) 个, 均 $P<0.01$]。A549 细胞与输注血小板前、后的血浆共孵育 48 h 后, MMP9、MMP2 的表达均升高 ($P<0.05$) 而其抑制剂 TIMP1 和 TIMP2 的水平均下降 ($P<0.01$); EMT 相关蛋白 N-cadherin、Vimentin 表达升高 ($P<0.05$) 而 E-cadherin 表达降低 ($P<0.01$); 血管形成相关蛋白 VEGF、VEGFR2 的表达均升高 ($P<0.05$)。 **结论:** 输注异体血小板能促进肺癌 A549 细胞的侵袭和转移, 其作用机制可能与调节 EMT、金属基质蛋白酶及血管生长因子相关蛋白的表达有关。

[关键词] 血小板; 肺癌; A549 细胞; 侵袭; 转移; 上皮-间质转化; 血管内皮生长因子; 金属基质蛋白酶

[中图分类号] R730.5; R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)09-1018-06

Effect of allogeneic platelet transfusion on migration and invasion of human lung cancer A549 cells and its mechanism of action

HAN Lina^a, ZHAO Xuetao^a, MA Ming^b, WU Bo^a, ZHAO Liang^a, ZHANG Cong^c, SHAN Baoen^c (a. Department of Blood Transfusion; b. Department of Laboratory c. Scientific Research Center, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of allogeneic platelets transfusion on the invasion and metastasis of human lung cancer A549 cells, and to preliminarily explore its mechanism of action. **Methods:** Eighty-nine patients with advanced lung cancer, who had received platelet transfusion in the Chemotherapy Department of Fourth Hospital of Hebei Medical University between January 2017 and December 2018, were enrolled in this study. The study cells were randomized into Ctrl group (A549 cells co-incubated with culture medium), Before group, and After group (A549 cells co-incubated with plasma Before and After platelet transfusion, respectively). The migration and invasion of A549 cells co-cultured with plasma before and after platelet transfusion were detected by Scratch and Transwell experiments. The expression of MMPs, TIMPs and epithelial-mesenchymal transition (EMT) related proteins E-cadherin, N-cadherin and Vimentin, as well as vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor 2 (VEGFR2) were detected by Western blotting (WB) method. **Results:** The scratch healing ability of A549 cells in After group was significantly higher than that of Ctrl group and Before group [(73.67±2.60)% vs (58.33±2.33)%、(35.33±2.03)%], $P<0.01$, vs Ctrl group; $P<0.05$, vs Before group], and there was also a significant difference between Before group and Ctrl group ($P<0.05$). The results of cell migration experiment showed that the number of transmembrane cells in After group was significantly higher than that in Ctrl group and Before group [(69.67±7.84) vs (18±

[基金项目] 河北省医学科学研究重点课题资助项目 (No.20170703)。Project supported by the Key Research Projects of Medical Science of Hebei Province (No. 20170703)

[作者简介] 韩丽娜 (1983-) 女, 硕士, 主管技师, 主要从事输血治疗及中药抗肿瘤方面的研究, E-mail: 18531115950@163.com

[通信作者] 单保恩 (SHAN Baoen, corresponding author), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事肿瘤免疫学、基因诊断、抗肿瘤中药及肿瘤生物学治疗的基础与临床研究, E-mail: shanbaoen@163.com

2.08) and (39.33±2.03), all $P<0.01$]. The cell invasion experiment showed that the number of transmembrane cells in After group was significantly higher than that in Ctrl group and Before group [(59.34±3.46) vs (18.34±1.56) and (37.58±2.79), all $P<0.01$]. When A549 cells were co-incubated with plasma before and after platelet transfusion for 48 h, it was found that the expressions of MMP9 and MMP2 were increased ($P<0.05$), while their inhibitors TIMP1 and TIMP2 were decreased ($P<0.01$); the expressions of EMT-related proteins N-cadherin and Vimentin were increased ($P<0.05$), but E-cadherin was decreased ($P<0.01$); the expressions of angiogenesis related proteins VEGF and VEGFR2 were increased ($P<0.05$). **Conclusion:** Alloplatelets transfusion can promote the invasion and metastasis of lung cancer A549 cells, which may be realized by regulation of the expressions of EMT, extracellular matrix metalloproteinase and vascular growth factor-related proteins.

[Key words] blood platelet; lung cancer; A549 cell; migrations; invasion; epithelial-mesenchymal transition (EMT); vascular endothelial growth factor (VEGF); Matrix metalloproteinase(MMPs)

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(9): 1018-1023. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.09.009]

肺癌是我国目前发病率和病死率最高的肿瘤^[1]。癌细胞的无限增殖和侵袭转移是肺癌相关死亡的重要原因。肺癌晚期患者常由于放化疗导致的骨髓抑制或肿瘤晚期侵犯骨髓导致血小板降低,而血小板输注是目前用于预防血小板计数明显减少引起出血的重要治疗手段。有研究^[2]发现,血小板数量和活化程度与肿瘤的转移相关,降低血小板数量或抑制其功能均可抑制肿瘤的转移。

血小板的输注尚无具体的适用标准,在临床应用中70%是用于预防性输注。输注的异体血小板在帮助肿瘤患者增加血小板数量和预防出血的同时,是否增加了恶性肿瘤患者肿瘤细胞侵袭转移的概率是目前临床医师关注的重大问题。本课题组在前期的研究中发现,输注血小板后,晚期肺癌患者外周血清中MMP-9、MMP-2及VEGF的水平明显升高,提示输注的血小板可能对肺癌的侵袭和转移有一定影响。基于此,本研究通过使用输注血小板前后的血浆与肺癌细胞A549进行共培养,观察血小板对其迁移和侵袭能力的影响并探讨其作用机制,为肺癌患者临床输血治疗提供适应证依据。

1 资料与方法

1.1 主要试剂和仪器

RPMI 1640和胰蛋白酶购自美国Gibco公司, TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司,总蛋白提取试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司,二喹林甲酸(bicinchoninic acid,BCA)总蛋白定量试剂盒购自上海炎彬化工科技有限公司,MMP-2、MMP-9、TIMP-1和TIMP-2抗体均购自Santa Cruz公司,VEGF和VEGFR2抗体购自Abcam公司,E-cadherin、N-cadherin、Vimentin和GAPDH抗体均购自Cell Signaling Technology公司,Tween-20购自美国Amresco公司,Transwell侵袭小室购自美国Coster公司。

1.2 临床资料

选取2017年1月至2018年12月在本院化疗科

就诊,且资料完整、血小板输注有效的肺癌患者89例,所有患者均无免疫系统疾病,无细菌和病毒感染,未用过皮质激素等影响免疫功能的药物,且无出血的患者,其中男性40例、女性49例,年龄33~81岁,中位年龄61.0[52.0,68.5]岁,均为本次住院第一次输血,之前未输注任何血液成分。所有患者均在输注血小板的当日清晨空腹采静脉血3~5 ml,输注一个或者两个治疗量的血小板;次日清晨再次空腹采集EDTA抗凝血3~5 ml备检测用,所有患者血小板输注前血小板计数为(10~20)×10⁹/L,血小板输注后计数为(40~50)×10⁹/L。

1.3 细胞培养

A549细胞来源于本院科研中心,用含50 ml/L胎牛血清的RPMI1640培养液(含青霉素100 U/ml和链霉素100 mg/ml)于37℃、5%的CO₂培养箱中常规培养,以0.25%胰蛋白酶消化细胞并传代,取处于对数生长期的细胞用于后续实验。

1.4 血小板-A549细胞共孵育

取对数生长期A549细胞接种于培养板中,分别加入输注血小板前后的富含血小板的RPMI 1640培养液作为Before组和After组,RPMI 1640培养液作为对照组,培养48 h后收集A549细胞用于后续实验。

1.5 划痕实验检测A549细胞的愈合能力

取对数生长期的A549细胞,调整细胞密度为2×10⁵个/ml,接种于6孔板内,每孔1.8 ml。待细胞贴壁完全后,用移液器枪头在每个孔内划一道痕,然后PBS轻轻洗涤,除掉脱落细胞。实验组各孔加入输注血小板前后的富含血小板的RPMI 1640培养液,对照组加入同体积的培养液。每组均设2个复孔,置于饱和湿度、37℃、5%的CO₂培养箱中培养,分别在培养48 h后观察细胞划痕情况,并照相。

1.6 Transwell实验检测A549细胞的迁移和侵袭能力

迁移实验:取对数生长期A549细胞,调整细胞密度为2×10⁵个/ml,于Transwell小室的上室中加入200 μl的细胞悬液;实验组各孔加入输注血小板前后的富

含血小板的RPMI 1640培养液,分别作为Before组和After组;Ctrl组加入同体积的培养液体,每组设2个复孔。下室加入600 μl无胎牛血清的RPMI 1640培养液,于37 °C、5%的CO₂培养箱中孵育24 h。取出Transwell小室,用PBS洗2次,棉拭子擦去膜上面未迁移的细胞,再用4%多聚甲醛溶液和PBS固定10 min,HE染色。取下带有细胞的聚碳酸酯膜,反面朝上,以Olympus相差显微镜观察迁移细胞数量并拍照,每个样孔随机取4个视野计数,计算平均值。侵袭实验:将置于4 °C溶解过夜的Matrigel用无血清RPMI 1640培养液按1:7的体积比例进行稀释。Transwell小室置于无菌24孔板中,向小室中加入20 μl Matrigel,快速晃动,使其均匀铺满小室底面。待Matrigel凝固后,其他操作按细胞迁移实验进行。检测继续培养48 h后的细胞的侵袭能力。每组实验重复3次。按下列公式计算细胞迁移或侵袭抑制率:迁移或侵袭抑制率=(1-实验组迁移或侵袭细胞数)/对照组迁移或侵袭细胞数×100%。

1.7 Western blotting(WB)法检测细胞侵袭和迁移相关蛋白的表达水平

收集处理后的各组细胞,应用RIPA裂解液提取各组细胞的总蛋白。BCA法进行蛋白质定量。取60 μl/孔进行10% SDS-PAGE以分离蛋白,分离后的蛋白经电转移至聚偏氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜,用脱脂牛奶室温封闭1 h,加入兔抗人E-

cadherin(1:1 000)、N-cadherin(1:1 000)、Vimentin(1:1 000)、TIMP1(1:500)、TIMP2(1:500)、MMP9(1:500)、MMP2(1:500)、VEGD(1:200)及VEGFR2(1:200)的抗体,以GAPDH(1:5000)为内参,于4 °C孵育过夜,TBS-T洗膜20 min×3次,加入红外线标记的相应二抗(稀释比例为1:20 000),37 °C反应2 h,TBS-T洗膜20 min×3次,用双色红外荧光扫描系统(IRDye800-LI-COR, Odyssey)检测各目的蛋白的表达情况。实验重复3次。

1.8 统计学处理

采用SPSS 13.0统计学软件进行分析,GraphPad Prism 7.0软件处理数据分析和绘图,正态分布的计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,非正态分布的计量资料以M[Q1, Q3]表示。两组间均数比较采用t检验,多组间均数比较先行方差齐性检验后再行单因素方差分析。以P<0.05或P<0.01表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 输注异体血小板可显著提高A549细胞的划痕愈合的能力

细胞划痕实验结果(图1)显示,After组A549细胞的划痕愈合率明显高于Ctrl组及Before组[(73.67±2.60)% vs (35.33±2.03)%、(58.33±2.33)% ,P<0.01 vs Ctrl组, P<0.05 vs Before组], Before组与Ctrl组比较也具有显著差异(P<0.01)。

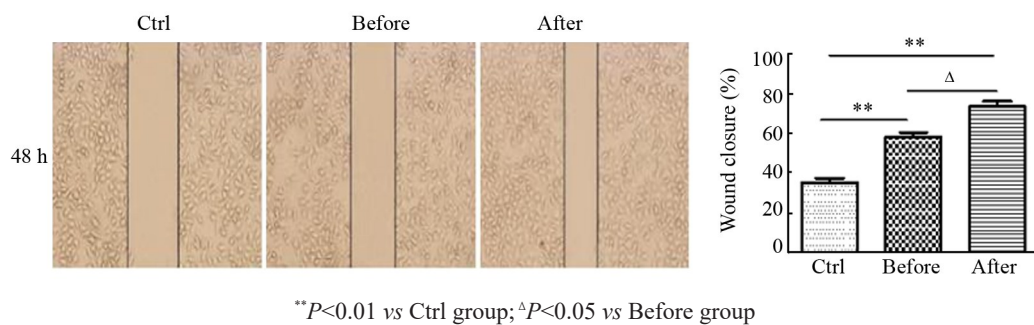


图1 输注异体血小板对A549细胞划痕愈合能力的影响

Fig.1 Effect of allogeneic platelet transfusion on Wound-healing ability of A549 cells

2.2 输注异体血小板能增强A549细胞的迁移和侵袭能力

Transwell细胞迁移实验结果(图2)显示,After组穿过Transwell小室基底膜的细胞数明显高于Ctrl组和Before组[(69.67±7.84) vs (18±2.08)、(39.33±2.03)个,均P<0.01],Ctrl组和Before组比较也有明显差异(P<0.01)。Transwell细胞侵袭实验结果(图2)显示,After组的侵袭能力明显高于Ctrl组和Before组[(59.34±3.46) vs (18.34±1.56)、(37.58±2.79)个,

均P<0.01], Before组与Ctrl组比较也具有显著差异(P<0.05)。

2.3 输注的异体血小板能够改变与侵袭转移相关蛋白的表达水平

A549细胞与输注血小板前后的血浆共孵育48 h后, WB法检测相关蛋白表达情况(图3)显示, EMT相关蛋白N-cadherin、Vimentin表达升高、E-cadherin表达降低(图3A);金属基质蛋白酶MMP9、MMP2的表达升高、其抑制剂TIMP1和TIMP2的水平下降(图

3B); 血管形成相关蛋白 VEGF、VEGFR2 表达升高 促进了肺癌细胞 A549 的侵袭和转移。
(图 3C)。上述结果提示, 异体血小板通过多种途径

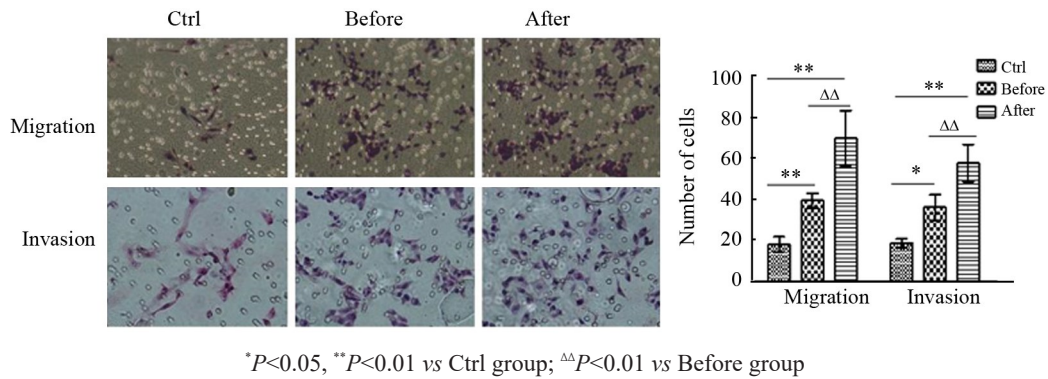
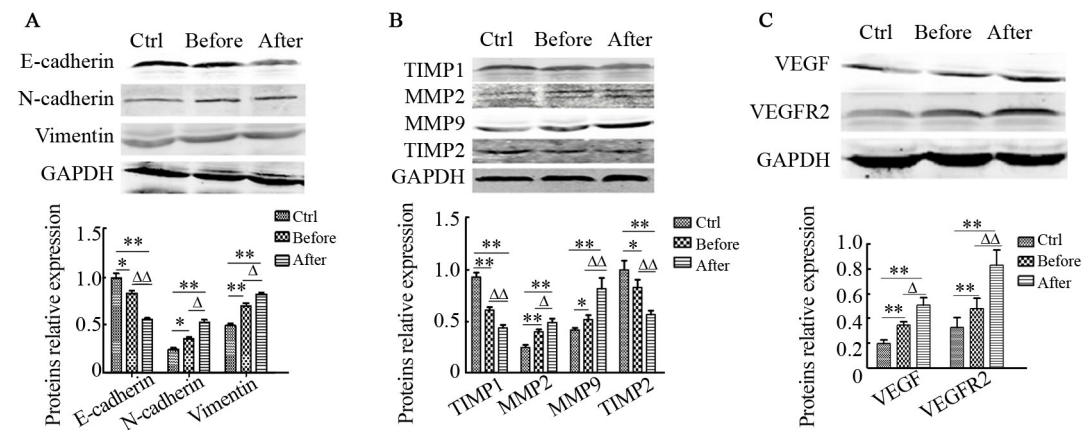


图2 输注异体血小板对 A549 细胞迁移和侵袭能力的影响($\times 200$)

Fig.2 Effect of allogeneic platelet transfusion on migration and invasion of A549 cells($\times 200$)



A: Expressions of E-cadherin, N-cadherin and Vimentin were detected by WB assay; B: Expressions of MMPs family proteins, TIMP1, MMP2, MMP9 and TIMP2 were detected by WB assay; C: Expressions of angiogenesis related proteins, VEGF and VEGFR2 were detected by WB assay

图3 输注异体血小板对 A549 细胞相关蛋白表达水平的影响

Fig.3 Effect of allogeneic platelet transfusion on the protein expressions in A549 cells

3 讨论

输血作为临床上治疗的重要手段,是一把双刃剑,安全有效的输血能挽救生命,不恰当的输血则会给患者带来巨大的危害。多种研究^[3-4]表明,输血与肿瘤的复发及转移有明显的相关性。血小板由骨髓中成熟的巨核细胞裂解、胞质脱落而成,除了血栓和止血外,还参与肿瘤转移等许多病理生理过程。血小板输注是目前用于预防血小板计数明显减少引起出血的重要治疗手段之一,而在多种肿瘤中,血小板数量增多与肿瘤转移存在明显正相关^[5-6]。

肺癌是临床最常见的恶性肿瘤,其晚期由于放疗的骨髓抑制作用或者是晚期肿瘤侵犯骨髓时常需要通过输注血小板的方式预防或者治疗出血。

输注血小板是否促进肺癌的侵袭和转移? 相关报道尚不多见。有文献^[7-8]报道,分离正常人血小板后,能增强 MMP2 和 MMP9 的表达,血小板源外泌体与 A549 细胞共孵育,能促进其转移。本课题以肺癌 A549 细胞为研究对象,通过 Transwell 小室及细胞划痕愈合实验等技术手段,检测其与输注血小板前后的血浆及单纯培养液共孵育后对细胞侵袭和迁移能力的影响。结果发现,与输注血小板后患者血浆共孵育的 A549 细胞的划痕愈合能力和侵袭能力明显升高,而与输注血小板前患者血浆共孵育的 A549 细胞也较对照组的划痕愈合能力和侵袭能力增高,这说明输注的血小板可能促进了 A549 细胞的迁移和侵袭。

转移是癌症患者死亡的主要驱动因素,VEGF 和

MMPs 则是与肺癌转移密切相关的物质。VEGF 可作用于血管内皮细胞, 增加血管通透性, 使血浆蛋白和纤维蛋白渗出, 为肿瘤细胞移动侵入提供暂时的基质成分, 还可以通过上调血浆活化因子的活性促进生成新的毛细血管, 在肺癌的发生发展和转移过程中起着非常重要的作用^[9-10]。血小板中储存着大量血管生成调节因子, 包括 VEGF、TGF- β 、P-selectin、MMPs 等, 这些调节因子的释放稳定了肿瘤血管并维持肿瘤生长^[11]。本研究显示, 与输注血小板后的血浆共孵育的 A549 细胞表达 VEGF 及 VEGFR2 的水平明显较与输注血小板前的血浆共孵育组升高, 同时该两组表达水平也均明显高于对照组, 表明输注血小板可能通过增强 VEGF 及 VEGFR2 的表达而促进肿瘤的迁移和侵袭。

MMPs 参与多种病理生理过程, 促使肿瘤侵袭和转移^[12]。MMP-2 能特异性的降解基膜中的 IV 型胶原, 促进肿瘤的远处转移; TIMP2 是 MMP2 的抑制剂, 能与之结合后抑制其活性。TIMP-1 是 MMP-9 的特异性抑制剂^[13]。A549 细胞系血小板通过分泌的外泌体促进了 MMP2 和 MMP9 mRNA 的表达^[14]。本研究发现, 输注血小板使 A549 细胞的 MMPs 增高、TIMPs 降低, 说明输注的血小板可能通过增强 MMPs 表达和降低 TIMPs 的表达促进了肺癌细胞 A549 迁移和侵袭。

细胞的迁移和侵袭与 EMT 密切相关。EMT 促使上皮来源的肿瘤细胞转化为恶性肿瘤, 并且诱导肿瘤细胞从肿瘤的原发灶向远处转移^[15]。EMT 具有复杂的信号调控网络, 包括各种标识蛋白如 E-cadherin, Vimentin, N-cadherin 等^[16-18]。Vimentin 在肺癌、胃癌、肝癌、乳腺癌等上皮来源的肿瘤中有很高的表达, 可能与这些肿瘤的侵袭转移有关^[19-20]。在乳腺癌组织中 Vimentin 高表达和 E-cadherin 低表达与乳腺癌侵袭转移及患者预后有关^[21]。PADMANABAN 等^[22]发现 E-cadherin 促进了大鼠浸润性导管癌模型的转移。ZHENG 等^[23]发现, 在骨肉瘤细胞中下调 N-cadherin、MMP9、MMP2、Vimentin 及上调 E-cadherin 的表达可以明显抑制癌细胞的转移。循环肿瘤细胞活化刺激血小板分泌 TGF- β , 使血小板促进或维持 CTC 上皮-间质转化 (EMT), 促进肿瘤细胞从原发位脱落、迁移和侵袭^[24]。本研究发现, 输注了血小板后血浆共孵育的肺癌 A549 细胞较与输注前血浆共孵育细胞及对照组细胞 E-cadherin 表达明显下调, N-cadherin 及 Vimentin 的水平明显升高, 说明异体输注的血小板可能通过 EMT 的途径促进了肺癌 A549 细胞的迁移, 但是否通过刺激血小板分泌 TGF- β 促进了肿瘤的转移, 有待进一步研究验证。

综上, 本研究发现输注的血小板能促进肺癌细胞 A549 的迁移和侵袭, 其机制可能与 EMT 相关蛋白和 VEGF、MMPs 水平变化有关, 但对其确切作用机制本课题组将继续进行探研。建议在临床上应该尽量避免给肺癌患者输注血小板, 必须输注血小板时, 需联合应用促血小板生长因子, 或者在肺癌患者化疗时预防性使用重组人血小板生成素^[25]等措施, 尽量减少化疗后异体血小板的输注。

[参考文献]

- [1] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1): 19-28. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2019.01.005.
- [2] DILLY A K, EKAMBARAM P, GUO Y D, et al. Platelet-type 12-lipoxygenase induces MMP9 expression and cellular invasion via activation of PI3K/Akt/NF- κ B[J/OL]. Int J Cancer, 2013, 133(8): 1784-1791[2020-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4269488/>. DOI: 10.1002/ijc.28165.
- [3] WELSH L, PANEK R, RIDDELL A, et al. Blood transfusion during radical chemo-radiotherapy does not reduce tumour hypoxia in squamous cell cancer of the head and neck[J]. Br J Cancer, 2017, 116(1): 28-35. DOI: 10.1038/bjc.2016.386.
- [4] SAKIN A, SAHIN S, YASAR N, et al. Prognostic impact of blood transfusion in patients with metastatic non-small cell lung cancer receiving chemotherapy[J]. Lung Cancer, 2019, 133: 38-44. DOI: 10.1016/j.lungcan.2019.05.007.
- [5] PAVLOVIC N, RANI B, GERWINS P, et al. Platelets as key factors in hepatocellular carcinoma[J/OL]. Cancers (Basel), 2019, 11(7): E1022[2020-05-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6678690/>. DOI: 10.3390/cancers11071022.
- [6] OHUCHI M, INOUE S, OZAKI Y, et al. Platelet count and mean platelet volume are associated with not only bone, soft tissue, and lymph node metastases but also with malignant pleural effusion in lung cancer patients[J]. Neoplasma, 2017, 64(1): 140-147. DOI: 10.4149/neo_2017_118.
- [7] 李娟, 罗以勤, 方慢, 等. 血小板对人肺癌细胞株 A549 凋亡的影响及机制初探[J]. 临床输血与检验, 2019, 21(1): 20-23. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2587.2019.01.007.
- [8] JANOWSKA-WIECZOREK A, WYSOCZYNSKI M, KIJOWSKI J, et al. Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer[J]. Int J Cancer, 2005, 113(5): 752-760. DOI: 10.1002/ijc.20657.
- [9] LIN C Y, CHO C F, BAI S T, et al. ADAM9 promotes lung cancer progression through vascular remodeling by VEGFA, ANGPT2, and PLAT[J/OL]. Sci Rep, 2017, 7(1): 15108[2020-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5678093/>. DOI: 10.1038/s41598-017-15159-1.
- [10] ZHANG D Y, ZHANG Y X, CAI Z Y, et al. Dexamethasone and lenvatinib inhibit migration and invasion of non-small cell lung cancer by regulating EKR/AKT and VEGF signal pathways[J/OL]. Exp Ther Med, 2020, 19(1): 762-770[2020-05-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6909740/>. DOI: 10.3892/etm.2019.8225.
- [11] BATTINELLI E M, MARKENS B A, ITALIANO J E Jr. Release of

- angiogenesis regulatory proteins from platelet alpha granules: modulation of physiologic and pathologic angiogenesis[J/OL]. *Blood*, 2011, 118(5): 1359-1369[2020-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3152500/>. DOI:10.1182/blood-2011-02-334524.
- [12] MERCHANT N, NAGARAJU G P, RAJITHA B, et al. Matrix metalloproteinases: their functional role in lung cancer[J]. *Carcinogenesis*, 2017, 38(8): 766-780. DOI:10.1093/carcin/bgx063.
- [13] 韩丽娜, 赵连梅, 胡彩霞, 等. 木鳖子醇提取物抑制小鼠黑色素瘤B16细胞体内外侵袭转移的实验研究[J]. *肿瘤*, 2010, 30(12): 1015-1021. DOI:1000-7431(2010)12-1015-07.
- [14] JANOWSKA-WIECZOREK A, WYSOCZYNSKI M, KIJOWSKI J, et al. Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer[J]. *Int J Cancer*, 2005, 113(5): 752-760. DOI:10.1002/ijc.20657.
- [15] NIETO M A, HUANG RUBY J, JACKSON R A, et al. EMT: 2016[J]. *Cell*, 2016, 166(1): 21-45. DOI:10.1016/j.cell.2016.06.028.
- [16] LAMOUILLE S, XU J, DERYNCK R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition[J/OL]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(3): 178-196[2020-05-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4240281/>. DOI:10.1038/nrm3758.
- [17] WANG Y, 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.
- [18] 戴素丽, 白函瑜, 王耀杰, 等. 非小细胞肺癌组织中高表达的miR-1269对肺癌细胞A549生物学行为的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(12): 1282-1289. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2018.12.012.
- [19] CHEN M H, YIP G W, TSE G M, et al. Expression of basal keratins and vimentin in breast cancers of young women correlates with adverse pathologic parameters[J]. *Mod Pathol*, 2008, 21(10): 1183-1891. DOI:10.1038/modpathol.2008.90.
- [20] 张晖. FOXK1和Vimentin共同诱导EMT,促进胃癌细胞侵袭和转移[D]. 广州:南方医科大学,2019.
- [21] 胡丽霞, 汪超, 盛晓安, 等. Vimentin和E-cadherin蛋白在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(11): 1222-1228. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2019.11.007.
- [22] PADMANABAN V, KROL I, SUHAIL Y, et al. E-cadherin is required for metastasis in multiple models of breast cancer[J/OL]. *Nature*, 2019, 573(7774): 439-444[2020-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7365572/>. DOI:10.1038/s41586-019-1526-3.
- [23] ZHENG B X, REN T T, HUANG Y, et al. Apatinib inhibits migration and invasion as well as PD-L1 expression in osteosarcoma by targeting STAT3[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(2): 1695-1701. DOI:10.1016/j.bbrc.2017.12.032.
- [24] LEBLANC R, PEYRUCHAUD O. Metastasis: new functional implications of platelets and megakaryocytes[J]. *Blood*, 2016, 128(1): 24-31. DOI:10.1182/blood-2016-01-636399.
- [25] 关晓珍, 孙晓琳, 杨璐, 等. 重组人血小板生成素对肺癌化疗患者血小板输注效果的影响[J]. *中国输血杂志*, 2018, 31(11): 1253-1255. DOI:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2018.11.012.

[收稿日期] 2020-06-20

[修回日期] 2020-08-12

[本文编辑] 阮芳铭