

*Ct-OATP1B3*基因对人卵巢癌细胞迁移、侵袭与增殖调控的研究

黄家凤¹ 黄羽棠¹ 代 谊¹ 师晶晶¹ 温纯洁¹ 吴兰香^{1*} 周宏灏^{1,2}

(¹重庆医科大学生命科学研究院, 重庆 400016; ²中南大学临床药理研究所, 长沙 410008)

摘要 肿瘤型有机阴离子转运多肽1B3(cancer-type organic anion transporting polypeptide 1B3, Ct-OATP1B3)是新近发现于多种恶性肿瘤组织及细胞中的分子,是表达于肝脏的溶质转运体(solute carrier, SLC)超家族成员OATP1B3的剪接异构体,但其在肿瘤细胞中的生物学功能尚不明确。该研究采用免疫组织化学染色方法观察Ct-OATP1B3在正常卵巢及卵巢癌组织中的表达,分析其表达阳性率与卵巢癌组织临床病理特征的关系; Real-time PCR和Western blot法观察Ct-OATP1B3在卵巢癌细胞SKOV3和OVCAR3中的表达水平; 细胞免疫荧光染色法观察Ct-OATP1B3在卵巢癌细胞SKOV3和OVCAR3中的表达定位; Transwell实验检测Ct-OATP1B3对卵巢癌细胞迁移和侵袭能力的影响; CCK-8法观察Ct-OATP1B3对卵巢癌细胞增殖能力的影响。结果显示,在正常卵巢组织中未检测到Ct-OATP1B3的表达,而在卵巢癌组织中表达明显上调,且卵巢癌临床分期越晚, Ct-OATP1B3表达阳性率越高; 卵巢癌细胞株SKOV3与OVCAR3同样存在Ct-OATP1B3的高表达,主要定位于细胞质中; 尽管Ct-OATP1B3对卵巢癌细胞的生长增殖有一定的促进作用,但其主要的生物学功能是促进卵巢癌细胞的迁移和侵袭能力。

关键词 *Ct-OATP1B3*; 卵巢癌; 迁移; 侵袭; 增殖

The Regulation of *Ct-OATP1B3* Gene on Migration, Invasion and Proliferation of Human Ovarian Cancer Cells

Huang Jiafeng¹, Huang Yutang¹, Dai Yi¹, Shi Jingjing¹, Wen Chunjie¹, Wu Lanxiang^{1*}, Zhou Honghao^{1,2}

(¹Institute of Life Sciences, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;

²Institute of Clinical Pharmacology, Central South University, Changsha 410008, China)

Abstract Ct-OATP1B3 (cancer-type organic anion transporting polypeptide 1B3) is a molecules discovered in a variety of malignant tumor cells recently. It is a splicing isomer of solute carrier (SLC) superfamily member OATP1B3 which expressed in the liver, but its biological function in tumor cells is unclear so far. This study used immunohistochemical staining method to observe the expression of Ct-OATP1B3 in the tissues of normal ovary and ovarian cancer, and analyze the relationship between the expression positive rate and the clinicopathological characteristics of ovarian cancer. The expression of Ct-OATP1B3 in ovarian cancer cell lines SKOV3 and OVCAR3 were observed by Real-time PCR and Western blot. The localization of Ct-OATP1B3 in ovarian cancer cell lines SKOV3 and OVCAR3 were observed by cellular immunofluorescence staining. The effect of Ct-OATP1B3 on migration and invasion of ovarian cancer cells tested by Transwell. CCK-8 was employed to observe the effect of Ct-OATP1B3 on proliferation of ovarian cancer cells. The results showed that Ct-OATP1B3 was

收稿日期: 2017-11-06 接受日期: 2018-02-06

*通讯作者。Tel: 15023250939, E-mail: 420036136@qq.com

Received: November 6, 2017 Accepted: February 6, 2018

*Corresponding author. Tel: +86-15023250939, E-mail: 420036136@qq.com

网络出版时间: 2018-04-16 17:34:05 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180416.1733.028.html>

not expressed in normal ovarian tissues and cell line, and the expression of Ct-OATP1B3 was significantly increased in the ovarian cancer tissue, and the later in the clinical stage of ovarian cancer, the higher the positive rate of Ct-OATP1B3 was expressed. There was also a high expression of Ct-OATP1B3 in ovarian cancer cell line SKOV3 and OVCAR3, mainly in the cytoplasm. Our results showed that, although Ct-OATP1B3 had a moderate effect on the proliferation of ovarian cancer cells, its major role was to promote the abilities of ovarian cancer cell migration and invasion.

Keywords Ct-OATP1B3; ovarian cancer; migration; invasion; proliferation

卵巢癌是女性生殖系统第二大常见肿瘤,病死率居妇科肿瘤首位^[1],由于卵巢癌生长部位隐蔽,早期无明显临床症状,大多数患者在确诊时已处于晚期^[2-3],严重威胁着女性的健康和生命。目前,手术治疗、化学药物治疗及放射治疗是卵巢癌常用的临床治疗手段^[4-6],但以上方案均难以治愈卵巢癌,即使暂时缓解亦常有术后复发和化疗耐药等情况的发生,患者五年生存率低于15%^[7]。因此,继续深入研究卵巢癌发生发展的确切分子机制、探索卵巢癌相关的新型标志物和治疗靶点是当务之急。

有机阴离子转运多肽1B3(organic anion transporting polypeptide 1B3, OATP1B3)属于溶质转运体(solute carrier, SLC)超家族,主要负责将内、外源物质转运至肝细胞进行代谢^[8]。以往认为, OATP1B3是肝脏特异性转运体,局限地分布于肝细胞窦状隙侧肝细胞膜^[9]。然而,新近研究发现,在前列腺癌、结肠癌、肺癌等恶性肿瘤组织与细胞中也存在高表达^[10-12]。进一步研究发现,表达于恶性肿瘤细胞上的OATP1B3与肝细胞中的OATP1B3属于剪接异构体的关系^[13]。因此,肿瘤中的OATP1B3被命名为肿瘤型OATP1B3(cancer-type OATP1B3, Ct-OATP1B3),肝脏中的OATP1B3被命名为肝脏型OATP1B3(liver-type OATP1B3, Lt-OATP1B3)。两者相比, Ct-OATP1B3缺少了N-端的28个氨基酸^[14]。但迄今为止, Ct-OATP1B3在卵巢癌中的表达尚未见报道,且其在不同肿瘤发生发展过程中的生物学功能亟待阐明。

本研究旨在观察Ct-OATP1B3在人卵巢癌组织与细胞中的表达及其对卵巢癌细胞增殖、迁移与侵袭能力的影响,期望进一步阐明卵巢癌发生发展的分子机制,寻找新的生物标志物与治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 卵巢组织标本、细胞株、质粒和siRNA

本研究纳入正常卵巢上皮组织石蜡标本及原

发性上皮性卵巢癌组织石蜡标本共87例,均由重庆医科大学病理学教研室提供。人上皮性卵巢癌细胞系SKOV3和OVCAR3购自中国国家实验细胞资源共享平台。人正常卵巢上皮细胞HOSE购自苏州北纳创联生物技术有限公司。Ct-OATP1B3真核表达质粒由重庆莱博斯生物技术有限公司合成并测序验证。Ct-OATP1B3特异性阳性和阴性siRNA由广州市锐博生物科技有限公司设计合成。

1.2 主要试剂

LipofectamineTM 2000转染试剂和Trizol购自Invitrogen公司。逆转录试剂盒购自TaKaRa公司。Ct-OATP1B3和 β -actin扩增引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计合成。Ct-OATP1B3兔源性多克隆抗体购自Abcam公司。 β -actin兔源性多克隆抗体购自博奥森生物技术有限公司。FITC标记山羊抗兔二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司。DAPI染料购自Thermo Scientific公司。总蛋白质提取试剂盒购自凯基生物技术股份有限公司。CCK-8试剂购于日本同仁化学研究所。Transwell小室及基质胶购自BD公司。PVDF膜和ECL化学发光液购自Millipore公司。

1.3 方法

1.3.1 卵巢组织免疫化学染色 取卵巢组织,以4%(质量浓度)多聚甲醛固定,乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋;切片、脱蜡;以1%(体积分数)甲氧双氧水、蒸馏水洗1次,0.1 mol/L PBS洗3次,每次5 min;切片上依次滴加抗原修复液、正常山羊血清封闭液、第一抗体、滴加生物素化第二抗体(IgG)和辣根酶标记链霉卵白素工作液(S-A/HR);DAB显色后苏木素复染细胞核,充分水洗、脱水,中性树脂封片。每组选取对应卵巢癌分期组织切片,采用多功能真彩色细胞图象分析管理系统,在光镜下仔细观察所有标本Ct-OATP1B3表达情况。

1.3.2 细胞培养 OVCAR3和HOSE细胞用含10%

胎牛血清的RPMI1640培养基, SKOV3细胞用含有10%胎牛血清的DMEM培养基, 于37 °C、5% CO₂培养箱中培养。待各细胞贴壁生长汇合度达约85%时, 用0.25%胰蛋白酶进行消化、传代。

1.3.3 质粒与siRNA转染 SKOV3和OVCAR3细胞分别以 8×10^4 个/孔和 1×10^5 个/孔接种于6孔板, 于37 °C、5% CO₂培养箱中培养24 h。将Lipofectamine™ 2000转染试剂与质粒按1.5 μL:1 μg(终浓度为0.5 μg/mL), 以及转染试剂与siRNA按1 μL:5 μL(终浓度为150 nmol/L)混合后进行细胞转染, 同时转染空质粒与Ct-OATP1B3阴性对照siRNA, 72 h后用于实验检测。

1.3.4 RNA提取、逆转录及实时荧光定量聚合酶链反应(Real-time RCR) 用Trizol试剂提取细胞总RNA, 逆转录合成cDNA, 以此为模板进行Ct-OATP1B3和内参β-actin的扩增。引物序列如下。Ct-OATP1B3: 5'-GCT AAC TTT TTG TTG GGA AT-3'; 5'-GCT TTC GCA GAT TAG AGG GA-3', 内参β-actin: 5'-GGA TGC AGG AGA TCA CTG-3'; 5'-CGA TCC ACA CGG AGT ACT T-3'。扩增条件为: 95 °C 30 s, 95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 共扩增40个循环。每个样本均设置3个复孔, 重复至少3次, 以β-actin为内参, 每个样本取平均值, 用2^{-ΔΔCt}法分析目的基因相对表达量。

1.3.5 总蛋白质提取及Western blot 细胞汇合度为85%~90%时弃培养基, 置冰上用RIPA裂解液裂解细胞, 提取细胞总蛋白质, 进行BCA蛋白质定量检测。每孔加入100 μg总蛋白质进行25 mA恒流电泳2.5 h, 250 mA恒流转膜2 h, 5% BAS室温封闭2 h, 一抗(1:300) 4 °C孵育过夜, 二抗(1:3 600)孵育室温2 h, 洗膜后, 取出ECL发光液按1:1的比例配制成反应液, 上下混合均匀。将PVDF膜放入干净平整的蜡板上并加入适量的显影液, 放入凝胶成像仪(Bio-Rad公司)成像, Quantity One软件(Bio-Rad)分析各条带灰度值。

1.3.6 细胞免疫荧光 将HOSE、SKOV3和OVCAR3分别接种于含爬片的24孔板中, 24 h后将爬好细胞的玻片用PBS清洗, 依次滴加, 4%的多聚甲醛固定爬片20 min, 0.5% Triton X-100破膜15 min, 5% BSA室温封闭1 h; 置盖玻片上, 加一抗(1:100)孵育, 4 °C过夜; 次日PBS清洗后, 依次滴加荧光二抗37 °C避光孵育1 h(1:100), DAPI染核3 min; PBS清洗后, 滴加抗荧光猝灭剂于载玻片上, 盖上贴有细胞的盖玻片后荧光显微镜下拍照、观察。

1.3.7 Transwell实验检测细胞侵袭能力 基质胶与无血清培养基按1:5混合成基质胶混合液, 以55 μL/孔加入Transwell上室, 37 °C培养箱过夜, 水化后用于后续实验。将转染了Ct-OATP1B3表达质粒或siRNA 48 h后的SKOV3和OVCAR3细胞悬液分别加入Transwell上室中, 200 μL/孔(细胞密度为 1×10^5 /mL); 下室加入500 μL/孔含20% FBS的细胞培养基。48 h后取出小室, 4%多聚甲醛固定细胞20 min, PBS洗3次, 结晶紫染色过夜后, 于显微镜下拍照观察并计数。实验重复3次, 每次实验每组设3个复孔。

1.3.8 划痕实验检测迁移能力 将SKOV3和OVCAR3细胞以 2×10^5 个/孔分别接种于6孔板中, 于37 °C、5% CO₂培养箱中培养24 h后转染Ct-OATP1B3表达质粒或siRNA, 细胞继续生长48 h(细胞汇合度约80%)后, 用1 mL枪头垂直于6孔板制造细胞划痕。而后用PBS洗涤细胞3次, 去除漂浮的细胞碎片。加入含3%的FBS培养基, 立即拍照作为0 h, 再将细胞放入培养箱继续培养, 48 h取出再次拍照。

1.3.9 CCK-8实验检测细胞增殖能力 将转染了Ct-OATP1B3表达质粒或siRNA 48 h后的SKOV3和OVCAR3细胞以每孔 7×10^3 个细胞接种于96孔板, 于37 °C、5% CO₂培养箱中培养72 h后, 每孔加入CCK-8溶液10 μL, 37 °C继续孵育2 h, 酶标仪在波长450 nm处检测各孔吸光度值, 计算细胞增殖能力。

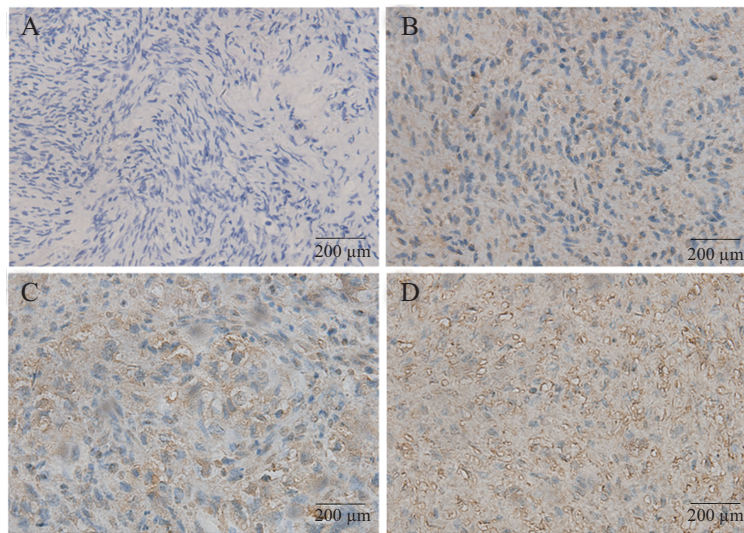
1.4 统计学分析

采用SPSS 20.0统计学软件对各实验结果数据进行统计分析。本研究所有实验均独立重复至少3次, 并采用SigmaPlot 12.5软件制图。计量资料两组间数据比较采用单因素配对t检验, 实验结果数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示; 计数资料采用构成比表示, 组间比较采用卡方检验。P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Ct-OATP1B3在人正常卵巢及卵巢癌组织中的表达

本研究纳入人卵巢组织石蜡标本共87例, 其中正常卵巢组织8例。根据美国癌症联合研究会TNM分期, I期卵巢癌组织12例, II期19例, III期48例。免疫组织化学染色结果显示, 在正常卵巢组织中未检测到Ct-OATP1B3的表达, 即表达阳性率为0%; 而在I、II、III期卵巢癌组织中, Ct-OATP1B3的表达水平显著上调(图1), 表达阳性率分别为25.0%、57.9%、



A: 正常卵巢组织; B: I期; C: II期; D: III期。

A: normal ovarian tissue; B: stage I; C: stage II; D: stage III.

图1 Ct-OATP1B3在人正常卵巢上皮组织及上皮性卵巢癌组织中的表达

Fig.1 Ct-OATP1B3 expression in normal epithelial ovarian tissue and epithelial ovarian cancer tissue

表1 Ct-OATP1B3表达与卵巢癌临床TNM分期关系

Table 1 Relationship between Ct-OATP1B3 expression and TNM staging of epithelial ovarian cancer

组别 Group	例数(n) Number (n)	阳性表达率(%) Positive expression rate (%)	χ^2	P值 P values
Normal	8	0 (0/8)		
Stage I	12	25.0 (3/12)	2.353	0.125
Stage II	19	57.9 (11/19)	7.816	0.005**
Stage III	48	83.3 (40/48)	23.333	0.0001***

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与正常卵巢组织比较。

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs normal group.

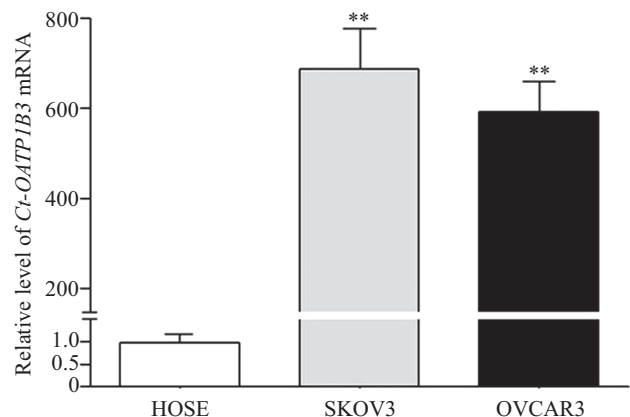
83.3%(均为 $P < 0.05$)(表1)。此结果提示, 卵巢癌临床分期越晚, Ct-OATP1B3的表达阳性率越高。

2.2 Ct-OATP1B3在人正常卵巢细胞及卵巢癌细胞中的表达及定位

Real-time PCR结果显示, 在人正常卵巢细胞HOSE中Ct-OATP1B3 mRNA水平非常低。将对照组HOSE细胞中Ct-OATP1B3 mRNA的水平定为1, SKOV3及OVCAR3细胞中Ct-OATP1B3 mRNA的水平与其相比, 分别为对照组的687.9倍和591.7倍(均为 $P < 0.01$)(图2); 细胞免疫荧光染色结果显示, 在HOSE细胞中未检测到Ct-OATP1B3蛋白质表达, 而在SKOV3和OVCAR3中Ct-OATP1B3蛋白质呈高表达, 且主要定位于两种细胞的胞质内(图3)。

2.3 人卵巢癌细胞Ct-OATP1B3过表达及敲低模型的建立

将正常对照组SKOV3与OVCAR3中Ct-OATP1B3

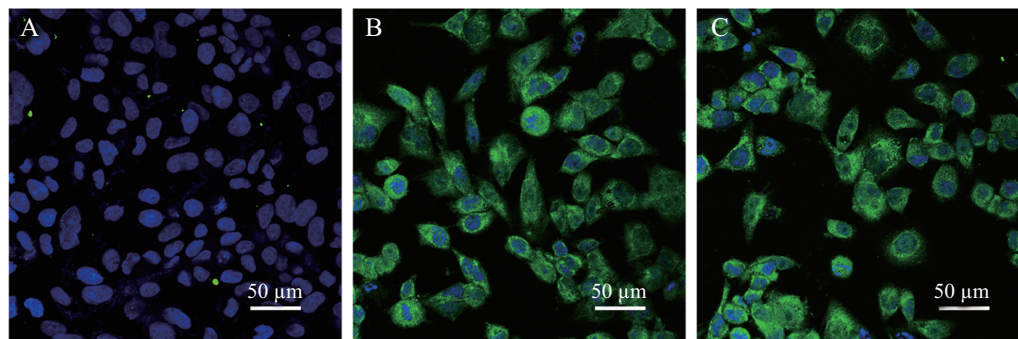


** $P < 0.01$, 与HOSE组相比较。

** $P < 0.01$ vs HOSE group.

图2 在人正常卵巢上皮细胞及上皮性卵巢癌细胞中Ct-OATP1B3 mRNA水平

Fig.2 The mRNA levels of Ct-OATP1B3 in normal epithelial ovarian cells and epithelial ovarian cancer cells



A: HOSE细胞; B: SKOV3细胞; C: OVCAR3细胞。

A: HOSE cells; B: SKOV3 cells; C: OVCAR3 cells.

图3 在人正常卵巢上皮细胞及上皮性卵巢癌细胞中Ct-OATP1B3的表达定位

Fig.3 The Ct-OATP1B3 protein and its location in normal epithelial ovarian cells and epithelial ovarian cancer cells

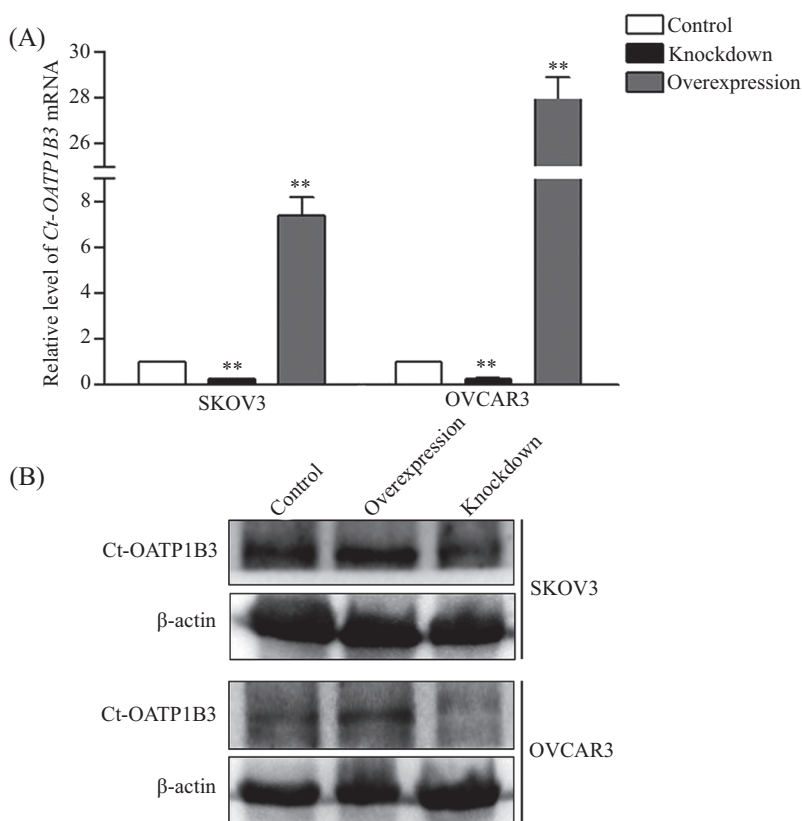
A: SKOV3和OVCAR3细胞中*Ct-OATP1B3* mRNA表达水平; ** $P < 0.01$, 与对照组比较; B: SKOV3和OVCAR3细胞中*ct-OATP1B3*蛋白表达水平。A: the mRNA level of *Ct-OATP1B3* in SKOV3 and OVCAR3 cells; ** $P < 0.01$ vs control group; B: the protein level of *ct-OATP1B3* in SKOV3 and OVCAR3 cells.

图4 SKOV3和OVCAR3细胞中Ct-OATP1B3过表达和敲低模型的建立

Fig.4 Establishment of SKOV3 and OVCAR3 cell lines with Ct-OATP1B3 overexpression or knockdown

的表达量定为1, SKOV3与OVCAR3细胞过表达*Ct-OATP1B3*后, 与对照组细胞相比, *Ct-OATP1B3* mRNA的水平分别为对照组的7.4倍和28.0倍(均为 $P < 0.01$), *Ct-OATP1B3*蛋白质的水平分别为对照组的1.6倍与2.0倍。SKOV3与OVCAR3细胞敲低*Ct-OATP1B3*后, 与对照组细胞相比, *Ct-OATP1B3*在mRNA水平分别下调了75.7%与74.8%(均为 $P < 0.01$), 在蛋白质水平

分别下调了46.3%与59.7%(图4)。此结果表明, 在两种细胞中*Ct-OATP1B3*过表达及敲低模型均构建成功。

2.4 Ct-OATP1B3对卵巢癌细胞迁移能力的影响

划痕实验显示, 与对照组细胞相比, 过表达*Ct-OATP1B3*的SKOV3与OVCAR3细胞在48 h内的迁移率分别增加了2.0倍和1.7倍(均为 $P < 0.01$); 而敲低*Ct-*

OATP1B3的SKOV3与OVCAR3细胞的迁移率则分别下调了51.3%和58.0%(均为 $P<0.01$)(图5)。此结果提示, *Ct-OATP1B3*基因对卵巢癌细胞的迁移能力具有显著促进作用。

2.5 Ct-OATP1B3对卵巢癌细胞侵袭能力的影响

Transwell实验显示, 与对照组细胞相比, SKOV3与OVCAR3细胞过表达*Ct-OATP1B3*后, 细胞侵袭率分别增加了1.8倍和2.3倍(均为 $P<0.01$); 而SKOV3与OVCAR3细胞敲低*Ct-OATP1B3*后, 细胞侵袭率分别下调了38.4%和41.7%(均为 $P<0.01$)(图6)。以上结果提示, *Ct-OATP1B3*基因对卵巢癌细胞的侵袭能力也具有显著促进作用。

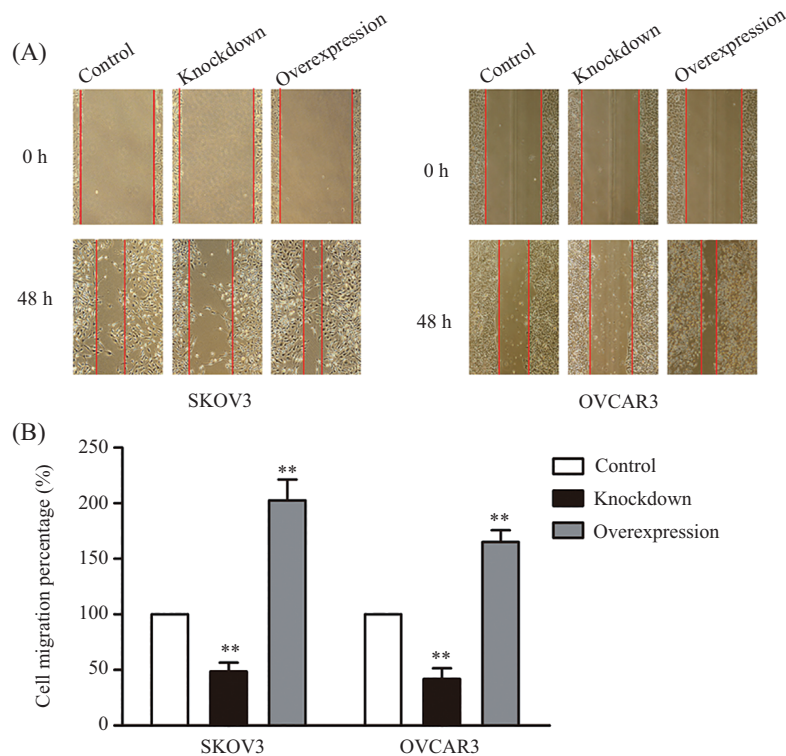
2.6 Ct-OATP1B3对卵巢癌细胞增殖的影响

CCK-8结果显示, 与对照组细胞相比, SKOV3与OVCAR3细胞过表达*Ct-OATP1B3*后, 细胞的增殖能力均上调了1.1倍(均为 $P<0.05$); 而SKOV3与OVCAR3细胞敲低*Ct-OATP1B3*后, 细胞增殖能力分别下调了9.0%和9.3%(均为 $P<0.05$)(图7)。此结果提示, *Ct-OATP1B3*基因对卵巢癌细胞的生长增殖能力具有一定促进作用。

3 讨论

作为*Lt-OATP1B3*的剪接异构体, *Ct-OATP1B3*于2012年首次被Nagai等^[13]发现在结肠癌及肺癌组织中有表达, 而在正常组织中无表达。随后, 研究者们又在包括胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌等其他不同类型恶性肿瘤细胞及组织中检测出*Ct-OATP1B3*的高表达^[14]。最新研究表明, *Ct-OATP1B3*在结肠癌组织中的表达水平与结肠癌患者的总体生存率有明显的相关性, 有望成为结肠癌患者诊断和预后的生物标志物^[12]。本研究首次在卵巢癌组织及细胞株中发现了*Ct-OATP1B3*的高表达, 而在正常卵巢组织及细胞株中未见表达; 并且与之前的研究结果相一致, *Ct-OATP1B3*也定位于卵巢癌细胞的胞质内。通过分析*Ct-OATP1B3*在不同病理分期卵巢癌组织中的表达情况, 本研究发现, 卵巢癌临床分期越晚, *Ct-OATP1B3*表达阳性率越高。以上结果表明, *Ct-OATP1B3*极有可能在卵巢癌的发生发展中扮演了重要角色。

近年来, 研究者们对特异性表达于肿瘤细胞的*Ct-OATP1B3*的功能也进行了初步探讨, 但仅限于转

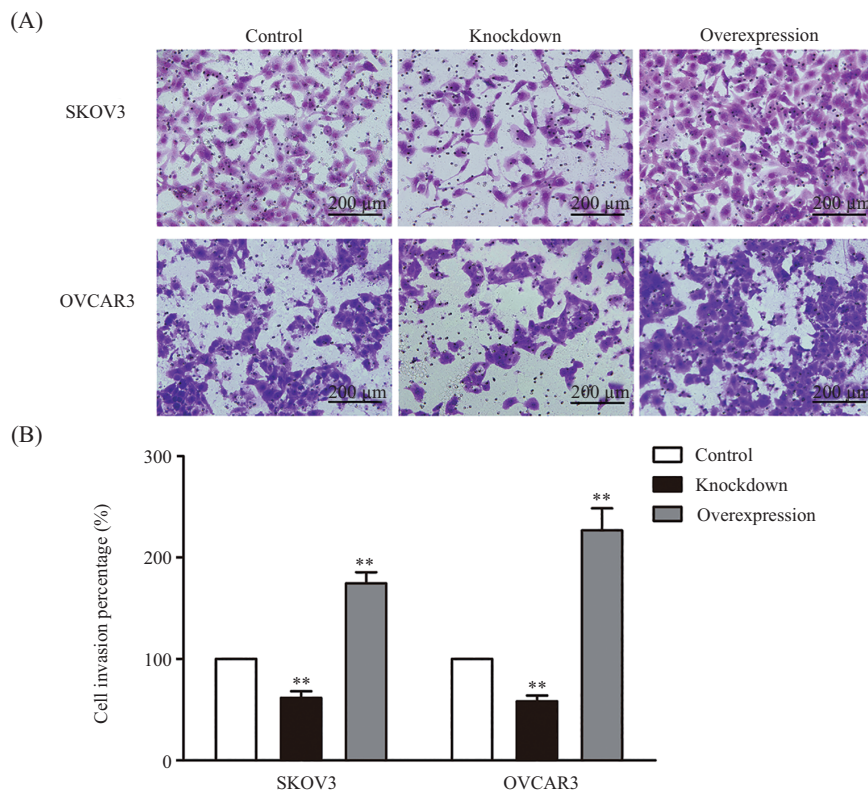


** $P<0.01$, 与对照组比较。

** $P<0.01$ vs control group.

图5 Ct-OATP1B3对上皮性卵巢癌细胞迁移能力的影响

Fig.5 Effect of *Ct-OATP1B3* on the migration of epithelial ovarian cancer cells

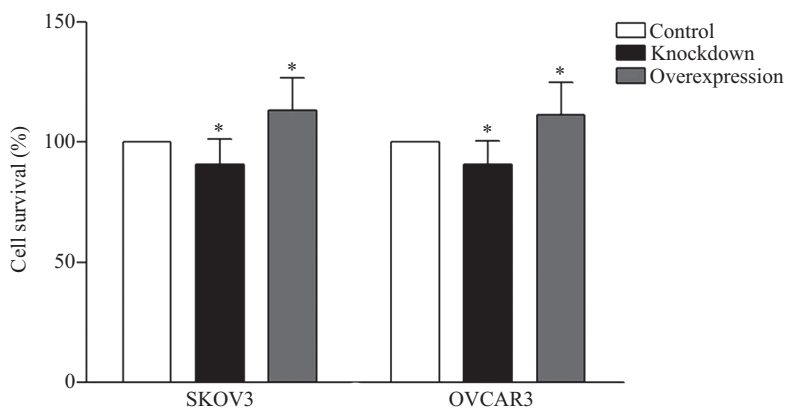


** $P < 0.01$, 与对照组比较。

** $P < 0.01$ vs control group.

图6 Ct-OATP1B3对上皮性卵巢癌细胞侵袭能力的影响

Fig.6 Effect of Ct-OATP1B3 on the invasion of epithelial ovarian cancer cells



* $P < 0.05$, 与对照组相比较。

* $P < 0.05$ vs control group.

图7 Ct-OATP1B3对上皮性卵巢癌细胞增殖能力的影响

Fig.7 Effect of Ct-OATP1B3 on the proliferation of epithelial ovarian cancer cells

运功能的研究。结果发现, Ct-OATP1B3虽然对Lt-OATP1B3的经典底物雌二醇、氟伐他汀和利福平也具有一定的摄取能力, 但转运功能相对较弱^[14]。本研究组前期也观察了Ct-OATP1B3对另一种Lt-OATP1B3转运底物——紫杉醇是否具有转运功能, 结果表明, Ct-OATP1B3无法摄取紫杉醇。由于Lt-

OATP1B3蛋白质的N-端对其膜定位及转运功能具有重要影响, 而Ct-OATP1B3缺失了N-端的28个氨基酸, 可能是造成Ct-OATP1B3主要定位于胞质内并且转运功能较弱的主要原因^[15]。因此, 表达在肿瘤细胞上的Ct-OATP1B3极可能发挥了转运体之外的其他生物功能。但目前尚无此方面相关的研究报道。

本研究观察了Ct-OATP1B3对卵巢癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力的影响。结果发现, Ct-OATP1B3对卵巢癌细胞的增殖仅有微弱的促进作用, 但其能够明显增强卵巢癌细胞的迁移和侵袭能力。以上结果表明, 虽然Ct-OATP1B3对卵巢癌细胞的生长增殖具有一定的促进作用, 但其主要的生物学功能是促进卵巢癌细胞的迁移和侵袭能力。

卵巢癌细胞的迁移能力和侵袭能力是决定卵巢癌转移能力的重要因素, 其发生发展的分子机制也是近年来的研究热点之一。研究发现, 卵巢癌细胞的迁移和侵袭能力受到多种分子机制的共同调控。多个信号分子及通路如血管内皮生长因子(vascular endothelium growth factors, VEGFs)、磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、整合蛋白连接激酶(integrin linked kinase, ILK)等, 多种酶的活性如基质金属蛋白酶MMP2(matix metallo-proteinase 2)和MMP9等, 以及多种激素如绒毛膜促性腺激素 β 、 β -雌二醇均能调节卵巢癌细胞的侵袭迁移能力^[16-18]。以上调控机制中, 绝大多数最终都与上皮-间质转换(epithelial-mesenchymal transition, EMT)过程密切相关。近年来, EMT被认为是决定肿瘤细胞侵袭和迁移的重要步骤, 转换过程中肿瘤细胞丧失本身上皮样特点而获得某种间充质细胞的特性, 从而促进对细胞外基质的侵袭以及远处转移, 其过程包括细胞上皮标志物E-钙黏蛋白(E-cadherin)的减少、细胞间质标志物N-钙黏蛋白(N-cadherin)和波形蛋白(vimentin)的增多等, 其分子机制非常复杂, 包括细胞骨架和形态的改变、细胞的黏附和运动等相关分子^[19]。因此, 本课题组准备从EMT方向初步探讨Ct-OATP1B3影响卵巢癌细胞迁移和侵袭的分子机制。

综上所述, 本研究发现, Ct-OATP1B3在上皮性卵巢癌组织细胞中呈高表达, 且其对卵巢癌细胞的迁移侵袭具有明显的促进作用, 但其作用机制有待进一步研究, 以期对卵巢癌的临床治疗提供新的思路。

参考文献 (References)

- Kandalaf LE, Powell DJ Jr, Singh N, Coukos G. Immunotherapy for ovarian cancer: what's next? *J Clin Oncol* 2011; 29(7): 925-33.
- Cascales-Campos PA, Gil J, Feliciangeli E, Gil E, González-Gil A, López V, *et al.* The role of hyperthermic intraperitoneal chemotherapy using paclitaxel in platinum-sensitive recurrent epithelial ovarian cancer patients with microscopic residual disease after cytoreduction. *Ann Surg Oncol* 2015; 22(3): 987-93.
- Natanzon Y, Goode EL, Cunningham JM. Epigenetics in ovarian cancer. *Semin Cancer Biol* 2017; doi: 10.1016/j.semcancer.2017.08.003.
- McGuire WP 3rd. Current status of taxane and platinum-based chemotherapy in ovarian cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21(10 Suppl): 133s-5s.
- Long J, Yang Y, Kang T, Zhao W, Cheng H, Wu Y, *et al.* Ovarian cancer therapy by VSVMP gene mediated by a paclitaxel-enhanced nanoparticle. *ACS Appl Mater Interfaces* 2017; 9(45): 39152-64.
- Eisen A, Rebbeck TR, Wood WC, Weber BL. Prophylactic surgery in women with a hereditary predisposition to breast and ovarian cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18(9): 1980-95.
- Liu Z, Liu J, Segura MF, Shao C, Lee P, Hernando E, *et al.* MiR-182 overexpression in tumour genes is of high-grade serous ovarian carcinoma. *J Pathol* 2012; 228(2): 204-15.
- Li X, Li Y. Advances in the study of organic anion transporting polypeptide 1B3. *Yao Xue Xue Bao* 2011; 46(11): 1279-85.
- Sissung TM, Reece KM, Spencer S, Figg WD. Contribution of the OATP1B subfamily to cancer biology and treatment. *Clin Pharmacol Ther* 2012; 92(5): 658-60.
- Sun Y, Furihata T, Ishii S, Naqai M, Harada M, Shimozato O, *et al.* Unique expression features of cancer-type organic anion transporting polypeptide 1B3 mRNA expression in human colon and lung cancers. *Clin Transl Med* 2014; 3: 37.
- Thakkar N, Kim K, Jang ER, Han S, Kim K, Kin D, *et al.* A cancer-specific variant of the SLC01B3 gene encodes a novel human organic anion transporting polypeptide 1B3 (OATP1B3) localized mainly in the cytoplasm of colon and pancreatic cancer cells. *Mol Pharm* 2013; 10(1): 406-16.
- Sun Y, Harada M, Shimozato O, Souda H, Takiquchi N, Naeya Y, *et al.* Cancer-type OATP1B3 mRNA has the potential to become a detection and prognostic biomarker for human colorectal cancer. *Biomark Med* 2017; doi: 10.2217/bmm-2017-0098.
- Nagai M, Furihata T, Matsumoto S, Ishii S, Motohashi S, Yoshino I, *et al.* Identification of a new organic anion transporting polypeptide 1B3 mRNA isoform primarily expressed in human cancerous tissues and cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 418(8): 818-23.
- Furihata T, Sun Y, Chiba K. Cancer-type organic anion transporting polypeptide 1B3: current knowledge of the gene structure, expression profile, functional implications and future perspectives. *Curr Drug Metab* 2015; 16(6): 474-85.
- Sissung TM, Ley AM, Strobe JD, McCrea EM, Beedie S, Peer CJ, *et al.* Differential expression of OATP1B3 mediates unconjugated testosterone influx. *Mol Cancer Res* 2017; 15(8): 1096-105.
- Tan DS, Agarwal R, Kaye SB. Mechanisms of transcoelomic metastasis in ovarian cancer. *Lancet Oncol* 2006; 7(11): 925-34.
- Gallo D, Ferlini C, Scambia G. The epithelial-mesenchymal transition and the estrogen-signaling in ovarian cancer. *Curr Drug Targets* 2010; 11(4): 474-81.
- Jeon SY, Hwang KA, Choi KC. Effect of steroid hormones, estrogen and progesterone, on epithelial mesenchymal transition in ovarian cancer development. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2016; 158: 1-8.
- Vergara D, Merlot B, Lucot JP, Collinet P, Vinatier D, Fourier I, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer. *Cancer Lett* 2010; 291(1): 59-66.