

# HOXC10对胃癌细胞增殖和转移的调控作用及其机制研究

侯佳宁,李粤,吕国庆\*

北京大学深圳医院 胃肠外科, 广东 深圳 518000

**【摘要】** 目的 观察HOXC10对胃癌细胞增殖和转移的调节作用。方法 采用RT-PCR方法检测人胃癌组织及癌旁正常组织中HOXC10的mRNA水平,同时检测胃癌细胞株BGC823、SGC7901细胞和正常胃黏膜细胞株GES-1细胞中HOXC10 mRNA和蛋白的表达。将胃癌BGC823细胞分别进行HOXC10 siRNA、阴性对照siRNA转染,并采用CCK-8法观察各组细胞增殖能力,采用细胞克隆形成检测各组细胞的克隆形成能力,采用transwell小室实验观察各组细胞侵袭能力,采用蛋白质印迹法实验检测上皮间质表型蛋白的表达。采用裸鼠皮下移植瘤和肺转移模型评价HOXC10对BGC823肿瘤生长和肺转移能力的影响。结果 人胃癌组织中HOXC10的表达水平高于癌旁正常组织( $P<0.05$ ); BGC823、SGC7901细胞HOXC10表达水平均高于GES-1细胞( $P<0.05$ )。BGC823细胞HOXC10 siRNA组的细胞增殖能力,克隆形成能力和侵袭能力均显著低于siRNA对照序列组(均 $P<0.05$ );与NC siRNA组相比,HOXC10 siRNA组的间质表型蛋白波形蛋白(vimentin)和转移相关分子MMP-9的mRNA和蛋白均显著下调,而上皮表型蛋白上皮钙黏素的mRNA和蛋白均显著上调。HOXC10过表达引起的细胞功能、mRNA和蛋白的变化与HOXC10 siRNA相反。HOXC10 siRNA能显著抑制BGC823细胞裸鼠移植瘤的生长和肺转移灶的形成。结论 HOXC10是人胃癌中潜在的诊断和预后生物标志物或治疗靶点。

**【关键词】** HOXC10; 胃癌; 增殖; 转移

## The effects and mechanisms of HOXC10 on gastric cancer cell proliferation and metastasis

Hou Jianing, Li Yue, Lyu Guoqing\*

Department of Gastrointestinal Surgery, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen 518000, Guangdong, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the expression of HOXC10 in gastric cancer cells and its effects on cell proliferation and metastasis. **Method** The HOXC10 mRNA levels in human gastric cancer tissues and tumor adjacent normal tissues were detected by RT-PCR assay. The mRNA and protein levels of HOXC10 in human gastric cancer cell lines BGC823, SGC7901 and human normal gastric mucosa epithelial cells GES-1 were measured by RT-PCR and Western blot analysis. Human gastric cancer cell BGC823 were transfected with HOXC10 siRNA and NC siRNA, then subjected to proliferation, colony formation and invasion function studies via CCK-8, cell clone formation and transwell invasion assay, respectively. Western blot assay was used to determine the changes of EMT proteins in BGC823 cells after HOXC10 siRNA transfection. Nude mice xenografts and lung metastasis models were used to test the effects of HOXC10 siRNA on tumor growth and lung metastatic foci formation of BGC823 cells. **Results** The HOXC10 mRNA levels in human gastric cancer tissues were significantly higher than tumor adjacent normal tissues. The HOXC10 mRNA and protein levels in BGC823 and SGC7901 were conspicuously upregulated compared with GSE-1. The cell proliferation rate, colony formation and invasion capacities were remarkably attenuated in HOXC10 siRNA-transfected BGC823 cells. HOXC10 siRNA-transfected BGC823 cells showed downregulation in mRNA and protein levels of vimentin and MMP-9, while E-cadherin showed upregulation. The changes of proliferation, colony formation, invasion ability and mRNA and protein levels in BGC823

基金项目:1.广东省科学技术研究基金项目(A2019257);2.深圳市医疗卫生“三名”工程(SZSM201612051)

\*通信作者:吕国庆, E-mail: 0821@pkusz.com

transfected with HOXC10 plasmid revealed crosscurrent compared with HOXC10 siRNA transfection. HOXC10 siRNA significantly suppressed BGC823 xenografts tumor growth and inhibited the formation of lung metastatic foci. **Conclusion** HOXC10 may be a promising biomarker of gastric cancer diagnosis, prognosis and a potential therapeutic target.

**【Key words】** HOXC10; Gastric cancer; Proliferation; Invasion

胃癌是全球发病率高和致死率高的恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>。目前,胃癌的外科手术治疗、放疗、化疗和靶向治疗等综合治疗方案虽然取得了一定的进展和疗效,但患者的生存率仍然较低,预后较差<sup>[2]</sup>。放疗和化疗有不可避免的不良副反应,严重影响患者的生存质量<sup>[2,3]</sup>。而由于胃癌缺乏明确的诊断和治疗标志物,靶向治疗也仅能使一部分患者受益<sup>[4,5]</sup>。此外,胃癌的淋巴结转移和远端转移是目前胃癌治疗面临的主要困难,也是胃癌复发和治疗失败的重要原因<sup>[5]</sup>。

人源 HOX 基因家族分为 A~D 四簇,该基因在个体发育和组织器官形成过程中发挥着重要的作用,调控细胞生长、受体信号和细胞运动等多个生物学过程。近年来研究发现,HOX 基因在多种肿瘤细胞中过度表达,并在肿瘤的生长和转移过程中有着重要的作用<sup>[6]</sup>。HOXC10 是 HOX 家族的一个成员,HOXC10 的异常表达与多种肿瘤的不良预后有关,如胶质瘤<sup>[7]</sup>、肺癌<sup>[8]</sup>和乳腺癌<sup>[9]</sup>等。其中在胶质瘤细胞中,HOXC10 基因敲除能促进细胞凋亡和抑制细胞增殖和迁移<sup>[7]</sup>。在乳腺癌原发灶中 HOXC10 表达上调,而在化疗失败后的转移灶组织中的 HOXC10 表达水平上调更为显著<sup>[10]</sup>。迄今为止,对于 HOXC10 在胃癌转移与上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的关系尚缺乏报道,本研究重点研究 HOXC10 调控胃癌细胞生长和侵袭的作用,并阐明其相关的分子机制,为胃癌的精准治疗提供更明确的治疗预测指标和新的治疗靶点。

## 1 资料与方法

1.1 实验材料 胃癌细胞株 BGC823、SGC7901 细胞和正常胃黏膜细胞株 GES-1 购买自 ATCC。DMEM 培养基,胎牛血清(FBS),青、链霉素,PBS 购自 Hyclone 公司;一抗 HOXC10,上皮钙黏素和波形蛋白(vimentin)购自 Abcam 公司;GAPDH 和二抗 HRP-山羊抗兔 IgG 购买自 Cell Signaling Technology;CCK-8 购买自 Bimake 公司;Matrigel 基

质胶,8.0 μm transwell 小室购自 Corning 公司;蛋白质印迹法实验耗材和试剂购自 Bio-Rad 公司;人 MMP-9 酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) kit 购自深圳欣博盛生物;HOXC10 siRNA 和 NC siRNA 及 siRNA 慢病毒转染试剂盒均购自苏州吉玛基因有限公司;Lipofectamine™ 3000 转染试剂,BCA 蛋白定量试剂盒,细胞 RIPA 裂解液和蛋白酶抑制剂购买自 Invitrogen 公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 胃癌临床组织 胃癌组织及其匹配的癌旁组织来自北京大学深圳医院胃肠外科/胃肠肿瘤诊疗中心。组织样本及所依托的研究项目通过了北京大学深圳医院医学伦理委员会的伦理审批并取得了患者的知情同意。

1.2.2 细胞增殖实验 取对数生长期的 BGC823 细胞,胰酶消化并制备成单细胞悬液,细胞计数后,按 2000 个细胞/孔接种到 96 孔板。细胞贴壁培养过夜后进行 HOXC10 siRNA 和 NC siRNA 转染,转染 6 h 后更换新鲜培养基,继续培养 24、48、72 和 96 h,加入 100 μl 含 CCK-8(稀释 100 倍)的完全培养基,细胞培养箱孵育 2 h 后,使用酶标仪在 450 nm 波长读取吸光值。细胞增殖计算公式(%)=(HOXC10 siRNA 转染组吸光值-空白孔吸光值)/(NC siRNA 转染组吸光值-空白孔吸光值)×100%。

1.2.3 细胞克隆形成实验 取对数生长期的 BGC823 细胞,胰酶消化并制备成单细胞悬液,细胞计数后,按  $2 \times 10^5$  个细胞/孔接种到 6 孔板。细胞贴壁培养过夜后 HOXC10 siRNA 和 NC siRNA 转染,转染 6 h 后更换新鲜培养基。转染 48 h,细胞消化计数,按 500 个细胞/孔接种到 12 孔板,继续培养 10 d,每 2 天换液 1 次。培养第 10 天后,细胞用 4%多聚甲醛固定 15 min,并使用 0.1%结晶紫染色液染色 30 min。使用体式显微镜对细胞克隆团拍照并计数。

1.2.4 细胞侵袭实验 取对数生长期的 BGC823

细胞,胰酶消化并制备成单细胞悬液,细胞计数后,按 $2 \times 10^5$ 个细胞/孔接种到6孔板。细胞贴壁培养过夜后HOXC10 siRNA和NC siRNA转染,转染6 h后更换新鲜培养基,继续培养24 h。transwell上室先用30  $\mu$ l稀释好的Matrigel基质胶(使用预冷的PBS稀释5倍)包被,放置培养箱中使基质胶凝固1 h。转染后的细胞使用胰酶消化并使用无血清培养基制备呈单细胞悬液,细胞计数后,按 $2 \times 10^4$ 个细胞/孔接种到transwell的上室,接种体积为100  $\mu$ l,下室加入600  $\mu$ l含血清培养基。培养箱孵育24 h后,细胞使用4%多聚甲醛固定15 min,并使用0.1%结晶紫染色液染色30 min。用棉签将transwell上室残留的细胞擦去,使用倒置光学显微镜观察transwell小室滤膜下侧的细胞并拍照计数。

**1.2.5 蛋白质印迹法** 取对数生长期的BGC823细胞,胰酶消化并制备成单细胞悬液,细胞计数后,按 $2 \times 10^5$ 个细胞/孔接种到6孔板。细胞贴壁培养过夜后HOXC10 siRNA和NC siRNA转染,转染6 h后更换新鲜培养基,继续培养。培养48 h后,弃去培养基,使用PBS洗2次,加入适量的RIPA裂解液,收集细胞裂解总蛋白。细胞总蛋白使用BCA蛋白定量试剂盒定量后进行蛋白质印迹法检测相关蛋白的变化。

**1.2.6 RT-PCR检测** 胃癌组织和癌旁组织的HOXC10 mRNA表达水平以及胃癌细胞株和正常胃黏膜细胞的HOXC10 mRNA表达水平使用RT-PCR检测。组织总RNA和细胞总RNA使用RNeasy Plus Mini kit(Qiagen)试剂盒提取;RNA反转录使用All-in-One™ cDNA第一链合成试剂盒(Bimake)。取1  $\mu$ g提取的总RNA加入2  $\mu$ l PCR Master Mix,并用DPEC水补充体积到10  $\mu$ l;使用Bio-Rad PCR仪进行反转录,程序为:25  $^{\circ}$ C 10 min,55  $^{\circ}$ C 30 min,85  $^{\circ}$ C 5 min。反转录得到的cDNA产物按照LightCycler 480 SYBR Green I Master(Bimake)产品说明书配制20  $\mu$ l PCR反应体系,即50 ng cDNA,10  $\mu$ l 2  $\times$  SYBR Green I Master,PCR正向引物和PCR反向引物各1  $\mu$ l(终浓度均为0.5  $\mu$ mol/L),并用DPEC水补充体积到20  $\mu$ l。在LightCycler 480(Roche)仪器上进行PCR扩增,反应条件为:95  $^{\circ}$ C/5 min,然后95  $^{\circ}$ C/10 s,56  $^{\circ}$ C/20 s,72  $^{\circ}$ C/20 s,共40个循环。mRNA相对表达量计算公式为: $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 。GAPDH作为内参基因。

**1.2.7 裸鼠皮下移植瘤和肺转移模型构建** 收集对数生长期的BGC823(稳定转染HOXC10 siRNA和NC siRNA)细胞,PBS洗2遍,加入稀释好的Matrigel基质胶(用预冷的PBS稀释2倍),按 $5 \times 10^7$ 个细胞/ml的密度接种到裸鼠腋下,接种体积0.2 ml。接种7 d后,使用游标卡尺对肿瘤大小进行测量,瘤径大小计算公式:瘤径( $\text{mm}^3$ )= $1/2 \times a \times b^2$ (其中a为肿瘤的长径,b为肿瘤的短径)。肺转移模型构建采用尾静脉注射肿瘤细胞的方法<sup>[11]</sup>,同样收集细胞,PBS洗2遍后,细胞使用无血清DMEM重悬,调整细胞密度为 $1 \times 10^6$ 个细胞/ml,将细胞悬液通过尾静脉缓慢注射到裸鼠体内。注射细胞21 d后,处死裸鼠,取肺组织进行苏木精-伊红染色。肺转移灶切片使用普通光学显微镜观察并拍照,并统计每个视野下肺转移灶的数量。

**1.3 统计学分析** 实验结果以( $\bar{x} \pm s$ )表示,并使用GraphPad Prism 7.0软件进行统计学分析。两个变量之间采用非配对Student *t*检验方法分析,多变量之间采用单因素方差分析进行图基(Tukey)检验方法分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 HOXC10在胃癌组织和胃癌细胞中高表达** 首先使用RT-PCR方法对收集的胃癌组织( $n=121$ )和癌旁组织( $n=46$ )HOXC10 mRNA的表达水平进行检测,实验结果表明胃癌组织的HOXC10 mRNA总体水平显著高于癌旁组织(图1A)。对其中的16份胃癌组织和匹配的癌旁组织进行PCR分析,结果表明胃癌组织的HOXC10 mRNA水平均高于癌旁组织(图1B)。蛋白质印迹法检测也同样表明胃癌组织的HOXC10蛋白水平显著高于癌旁组织(图1C)。此外,还对胃癌细胞株BGC823和SGC7901及胃正常黏膜上皮细胞GES-1进行HOXC10 mRNA和蛋白水平检测,结果发现GES-1的HOXC10 mRNA(图1D)和蛋白水平(图1E)均明显低于BGC823和SGC7901。

**2.2 HOXC10 siRNA能抑制胃癌细胞的增殖和侵袭能力** 选取HOXC10表达水平较高的BGC823细胞进行体外实验研究。HOXC10能够调节细胞的增殖和运动,首先使用siRNA对BGC823细胞进行HOXC10敲除,研究HOXC10基因下调对细胞增殖和运动的影响。RT-PCR(图2A)和蛋白质印迹法(图2B、C)结果显示HOXC10 siRNA能显著

降低 BGC823 细胞的 HOXC10 mRNA 和蛋白水平。接着使用转染后的细胞进行细胞增殖和侵袭实验。CCK-8 细胞增殖实验结果显示 HOXC10 siRNA 能时间依赖性地抑制 BGC823 细胞增殖(图 2D)。此外 HOXC10 siRNA 还能明显抑制 BGC823 细胞的体外克隆形成(图 2E、F)。接着对 BGC823 细胞的侵袭能力进行研究,transwell 小室侵袭实验结果表明 HOXC10 siRNA 能显著地抑制 BGC823 的侵袭能力(图 2G、H)。以上结果说明 HOXC10 能影响胃癌细胞增殖和侵袭能力。为了探讨 CCND1 和 MMP-9 及 EMT 是否分别参与了 HOXC10 调节 BGC823 细胞的增殖和侵袭过程及可能的作用机制,RT-PCR 结果显示 HOXC10 siRNA 能明显下调 CCND1(图 3A)、MMP-9(图 3B)和上皮细胞标志物 CDH1(图 3C),而上调间质细胞标志物 VIM(图 3C)。此外,ELISA 和蛋白质印迹法结果也显示 HOXC10 siRNA 能抑制细胞 EMT 过程(图 3D、E)

发挥降低侵袭能力的效果。

2.3 HOXC10 过表达能增强胃癌细胞的增殖和侵袭能力 为了进一步确证 HOXC10 对胃癌细胞增殖和侵袭能力的影响,我们对 BGC823 细胞进行 HOXC10 蛋白进行过表达。RT-PCR 和蛋白质印迹法结果显示 HOXC10 质粒相比空载质粒,能明显提高 BGC823 细胞的 HOXC10 mRNA(图 4A)和蛋白水平(图 4B、C)。并对 HOXC10 过表达的 BGC823 细胞进行增殖和侵袭实验,结果与 HOXC10 siRNA 变化趋势相反,HOXC10 过表达能明显促进 BGC823 细胞的增殖(图 4D)和克隆形成(图 4E、F),并提高了细胞的侵袭能力(图 4G、H)。此外也同样进行了 CCND1 和 MMP-9 及 EMT 相关基因和蛋白变化的检测。结果显示 HOXC10 过表达显著提高了 CCND1(图 5A)、MMP-9(图 5B)和上皮细胞标志物 CDH1 的基因水平(图 5C),而下调了间质细胞标志物 VIM mRNA 水平(图 5C)。ELISA 和蛋白

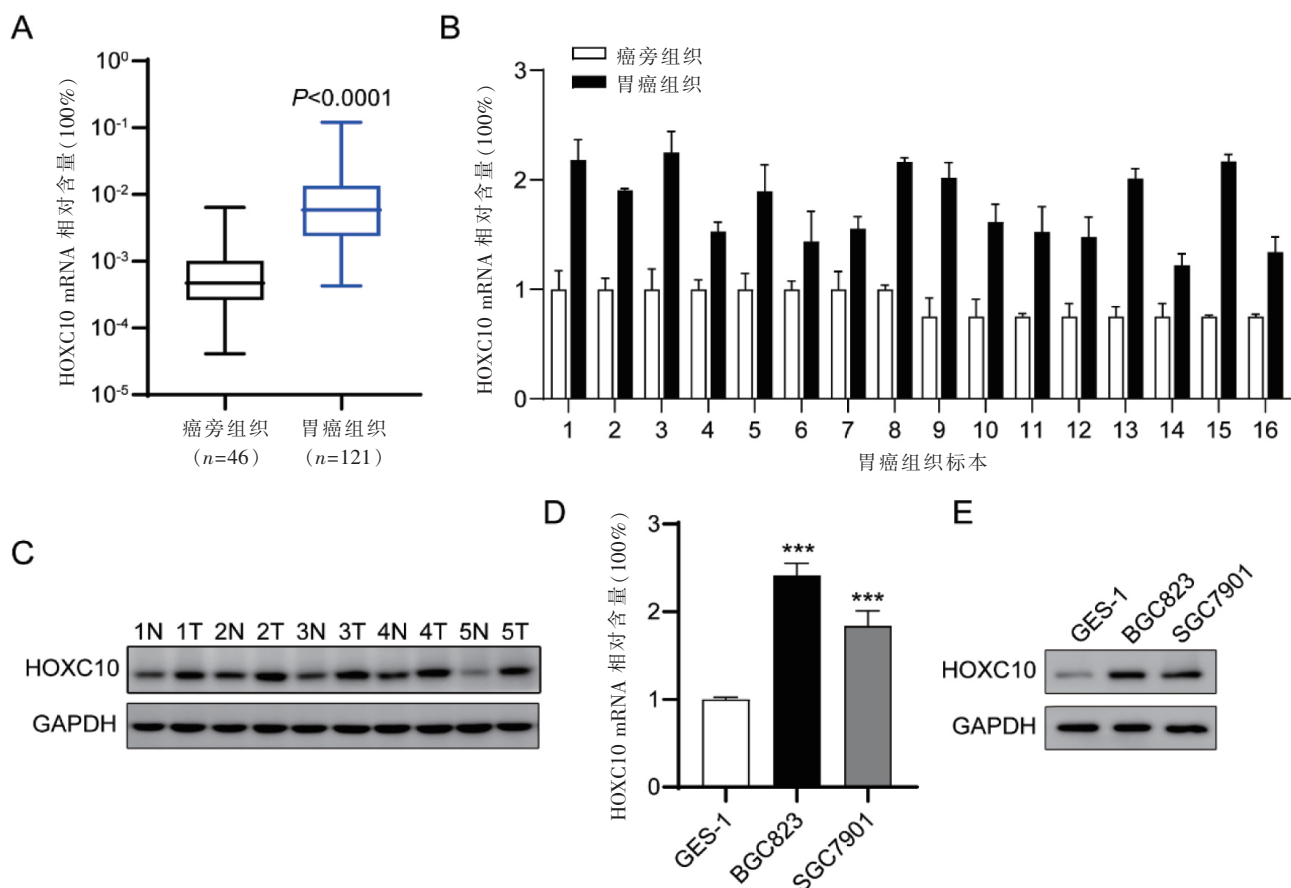


图 1 HOXC10 在人胃癌组织和胃癌细胞中高表达

注:A,RT-PCR 法检测胃癌组织的 HOXC10 mRNA 总体水平显著高于癌旁组织 ( $P<0.0001$ );B,RT-PCR 法检测胃癌组织和相匹配的癌旁组织,结果表明胃癌组织的 HOXC10 mRNA 表达水平平均高于癌旁组织;C,蛋白质印迹法检测 HOXC10 蛋白在胃癌组织中的表达高于癌旁组织(N 为癌旁组织,T 为胃癌组织);D、E,RT-PCR 法和,蛋白质印迹法检测胃癌细胞系 BGC823、SGC7901 中的 HOXC10 mRNA 和蛋白表达均高于正常胃黏膜上皮细胞 GES-1( $***P<0.001$ )。

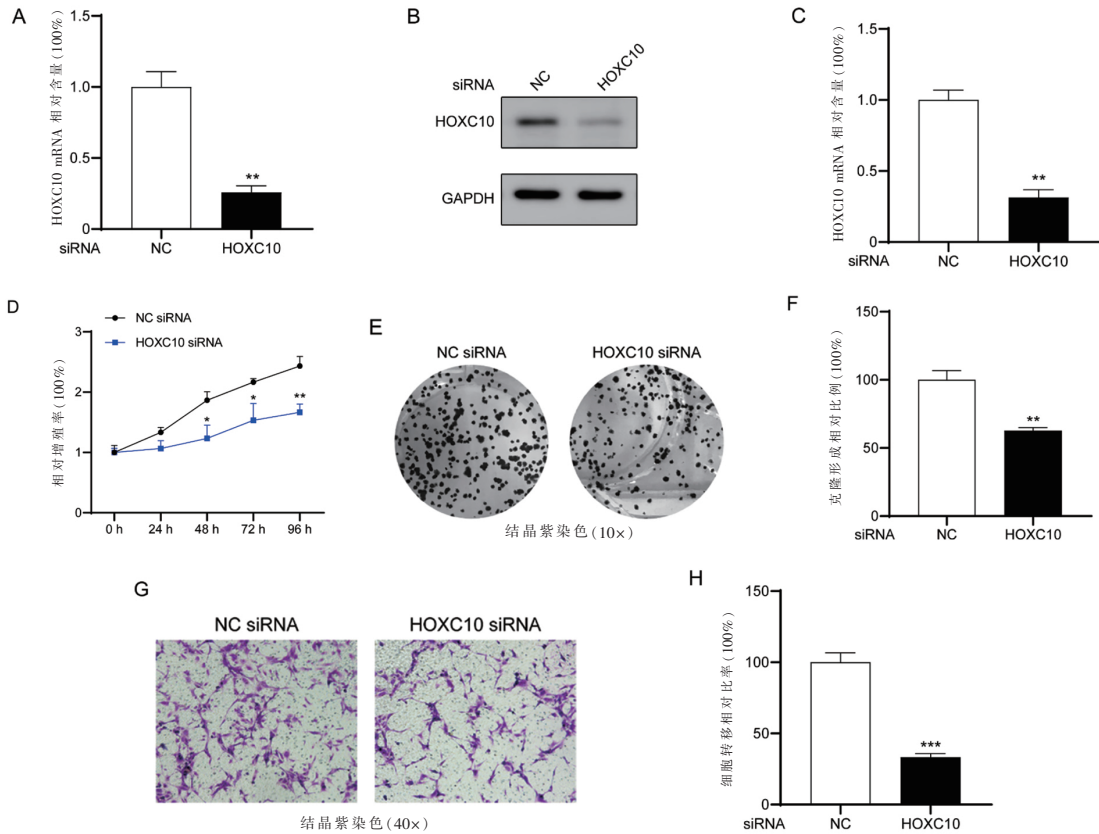


图2 HOXC10 siRNA抑制胃癌细胞的增殖和侵袭能力

注:A~C,HOXC10 siRNA能显著降低BGC823细胞的HOXC10 mRNA和蛋白水平;D,利用CCK-8细胞增殖实验验证HOXC10 siRNA对BGC823细胞的增殖具有抑制作用;E、F,HOXC10 siRNA明显抑制BGC823细胞的体外克隆形成;G、H,transwell侵袭实验验证HOXC10 siRNA明显抑制BGC823细胞的侵袭能力。\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P<0.001$ 。

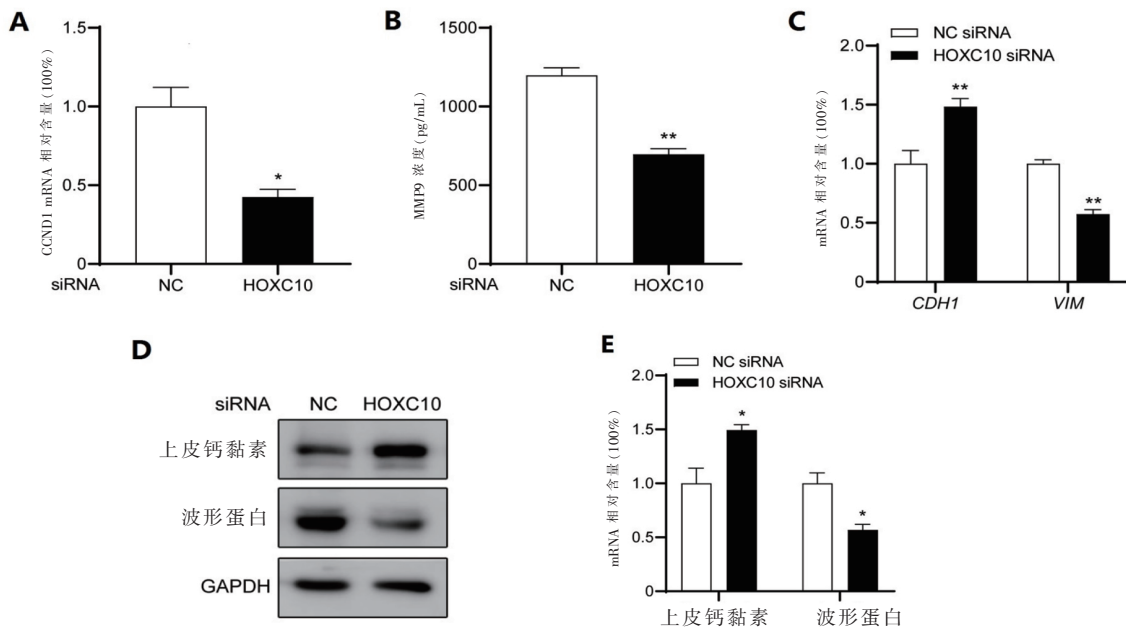


图3 HOXC10 siRNA抑制胃癌细胞BGC823增殖和侵袭的机制

注:A,RT-PCR结果提示HOXC10 siRNA能够下调BGC823细胞CCND1水平;B,RT-PCR结果提示HOXC10 siRNA抑制BGC823细胞MMP-9的分泌;C~E,RT-PCR、ELISA和蛋白质印迹法结果提示HOXC10 siRNA抑制BGC823细胞的EMT过程。\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P<0.001$ 。

质印迹法结果也表明 HOXC10 过表达促进了 BGC823 细胞 EMT 过程(图 5D、E)发挥明显的促进侵袭的作用。

**2.4 HOXC10 基因敲除能抑制胃癌移植瘤生长和肺转移灶的形成** 裸鼠是评价肿瘤生长和转移的重要模型,我们构建了 HOXC10 基因敲低的稳转细胞株进行研究,实验结果显示,相比 NC siRNA 的 BGC823 裸鼠移植瘤,HOXC10 siRNA 能明显抑制裸鼠移植瘤的生长,表现为瘤径大小的减缓(图 6A)和瘤重的降低(图 6B)。此外,还使用尾静脉注射胃癌细胞构建肿瘤肺转移模型,结果显示 HOXC10 siRNA 能明显减少荷瘤鼠肺转移灶的数量(图 6C、D)。以上结果表明 HOXC10 siRNA 能抑制 BGC823 裸鼠移植瘤的生长和肺转移。

### 3 讨论

胃癌是一种全球化的恶性肿瘤,其预后较差,

死亡率高,严重威胁人类的健康。胃癌的治疗是以手术治疗为主,联合化疗、放疗、靶向治疗及免疫治疗的综合治疗体系。在综合治疗的基础上,我国的胃癌患者的生存率与同为胃癌高发国家的日本、韩国相比,仍有巨大差距。由于经济水平、居民健康意识、居民饮食习惯等原因,我国胃癌患者分期较晚,预后较差,绝大多数为进展期腺癌,因此对于胃癌的早期诊断及特异性治疗就变得更加迫切<sup>[3]</sup>。尽管已有胃癌靶向药物应用于临床,但治疗过程中复发、转移和耐药的问题不可避免<sup>[5]</sup>。肿瘤转移是导致肿瘤治疗失败的最主要的原因之一,因此,研究胃癌生长和转移的机制,寻找特异性治疗的靶点是提高胃癌治疗效果,改善患者生存治疗的重要途径。

恶性肿瘤的突出特征之一是细胞异常增殖<sup>[12]</sup>。我们体外的 CCK8 和细胞克隆形成实验证实 HOXC10 siRNA 能够抑制胃癌细胞增殖,而 HOXC10

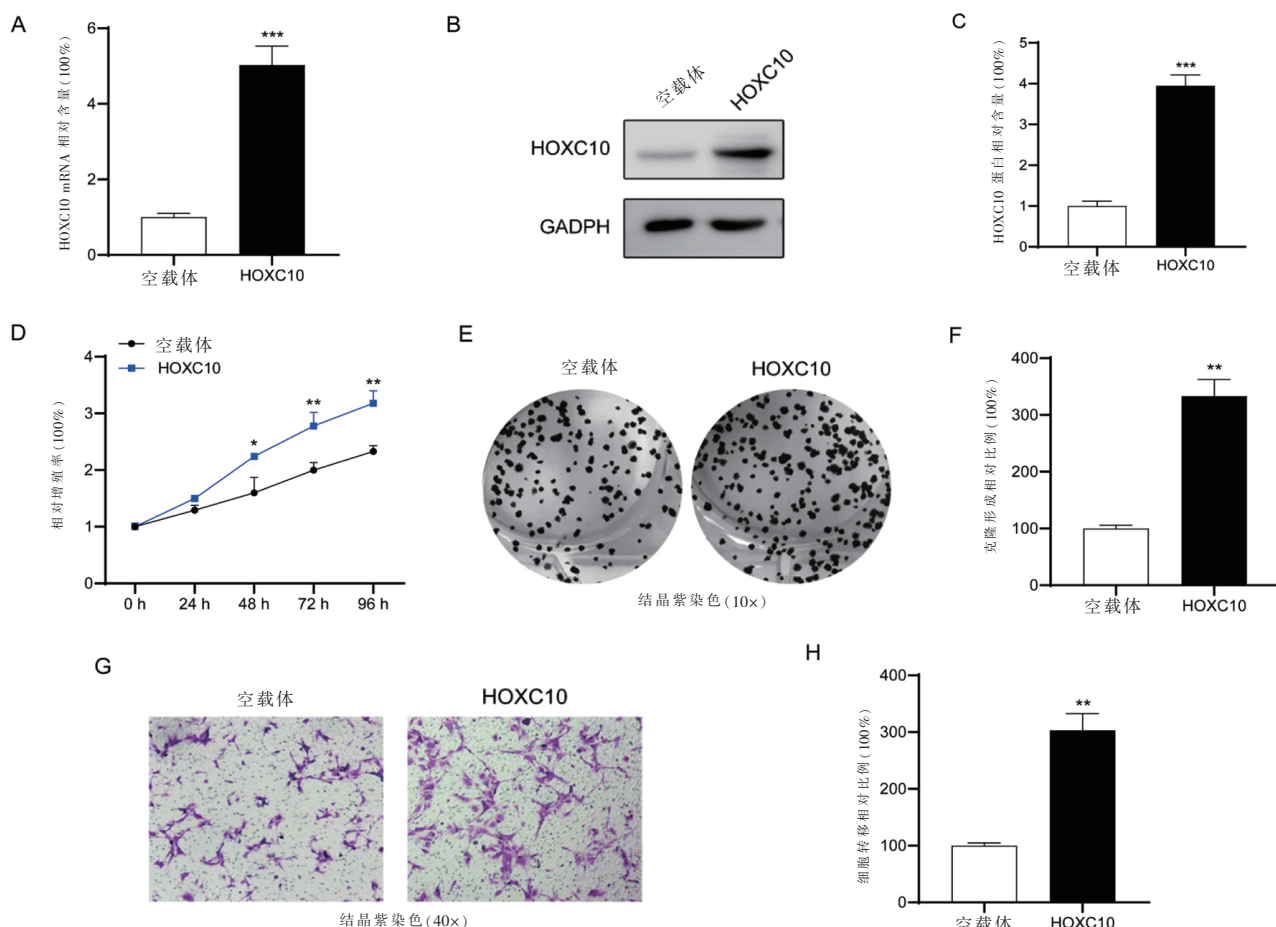


图 4 HOXC10 过表达增强 BGC823 细胞的增殖和侵袭能力

注:A~C, RT-PCR 及蛋白质印迹法验证 HOXC10 过表达质粒的构建与转染;D, 利用 CCK-8 细胞增殖实验验证 HOXC10 过表达对 BGC823 细胞的增殖具有促进作用;E、F, HOXC10 过表达明显促进 BGC823 细胞的体外克隆形成;G、H, transwell 侵袭实验验证 HOXC10 过表达促进 BGC823 细胞的侵袭能力。\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

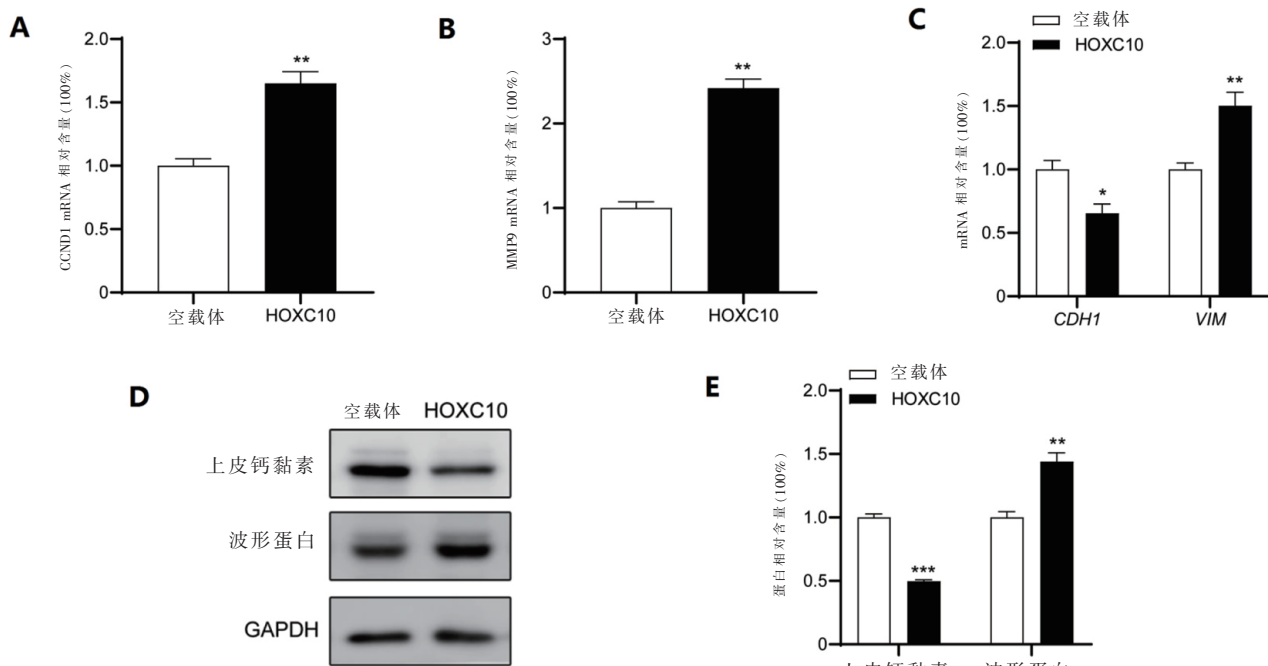


图5 HOXC10过表达促进BGC823细胞增殖和侵袭的机制

注:A, RT-PCR结果提示HOXC10过表达能够上调BGC823细胞CCND1水平;B, RT-PCR结果提示HOXC10过表达促进BGC823细胞MMP-9的分泌;C-E, RT-PCR、ELISA和蛋白质印迹法结果提示HOXC10过表达促进BGC823细胞的EMT过程。\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

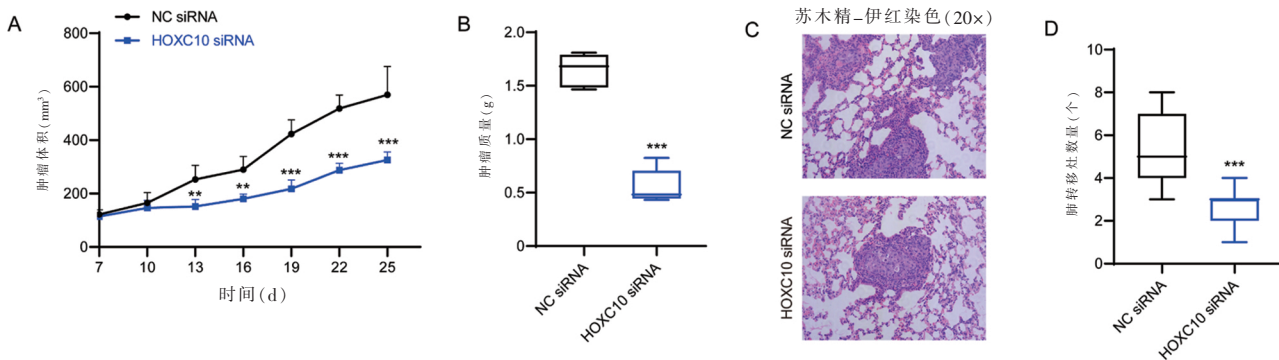


图6 HOXC10基因敲除能抑制胃癌移植瘤生长和肺转移灶的形成

注:A、B, HOXC10 siRNA能够抑制裸鼠移植瘤的生长过程。C、D, HOXC10 siRNA能够抑制荷瘤鼠的肺转移过程。\*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

过表达能促进胃癌细胞的增殖。此外,体内裸鼠移植瘤模型也证实HOXC10 siRNA能抑制荷瘤鼠肿瘤的生长,由此表明HOXC10是一个促癌基因。因此研究HOXC10异常表达对胃癌的发生发展发生和转移中的作用具有极其重要的意义。

EMT是肿瘤转移过程中的一个重要生物学过程,表现为上皮细胞之间的紧密连接、黏附连接和间隙连接等的分解,进而诱导间质基因表达的激活,诱导细胞发生肌动蛋白结果重组,产生丝状伪

足并上调基质金属蛋白酶的表达来降解细胞外基质,从而获得运动和侵袭能力<sup>[13-15]</sup>。该过程表现为上皮细胞标志物上皮钙黏素、ZO-1等蛋白的下调,而间质细胞标志物波形蛋白、神经钙黏素、MMP-9等蛋白的上调<sup>[13-15]</sup>。细胞中的EMT受多种生长因子或其他细胞蛋白驱动,也同样受多种转录因子的调控。如TGF- $\beta$ 通过Smad信号传导通路诱导细胞EMT<sup>[16]</sup>。生长因子,如HGF能通过激活c-Met受体,并激活RAS-Raf-MEK-ERK信号

级联反应,激活的 ERK1/2 能够入核调控转录上调 EMT 转录因子、细胞运动和侵袭调节因子等,从而诱导细胞 EMT<sup>[17]</sup>。此外 wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路也是调节细胞 EMT 的重要通路之一,该通路 Wnt3a、 $\beta$ -catenin 和 cyclinD1 等 mRNA 在胃癌组织中显著上调,且胃癌转移患者组织中 Wnt3a 等分子 mRNA 水平显著上调<sup>[18]</sup>,由此可见胃癌 Wnt 信号通路异常激活在胃癌发展和转移过程中有重要的作用。本实验发现 HOXC10 siRNA 能抑制胃癌细胞的增殖、克隆形成和减低侵袭能力。机制研究发现 HOXC10 siRNA 能显著下调波形蛋白 mRNA 和蛋白水平,而上调上皮钙黏素 mRNA 和蛋白水平,表现出抑制 EMT 的作用,同时还能下调 CCND1 和 MMP-9 mRNA 水平及 MMP-9 分泌水平,从而抑制胃癌细胞的增殖和侵袭。cyclinD1 作为 wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的靶基因之一,也受到 HOXC10 的调控,表明 HOXC10 与  $\beta$ -catenin 之间相互作用,具体作用机制需要进一步探索。

本研究不仅阐明了 HOXC10 在胃癌细胞生长和转移中的重要作用,并发现 HOXC10 能够调节细胞 EMT 过程,将为 HOXC10 在胃癌转移中的机制研究提供新思路,同时还可以为 HOXC10 作为胃癌诊断和预后的生物标志物及胃癌治疗的靶点提供理论支持。

#### 参考文献

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6):394-424.
- [2] VAN CUTSEM E, SAGAERT X, TOPAL B, et al. Gastric cancer[J]. Lancet, 2016, 388(10060): 2654-2664.
- [3] ZONG L, ABE M, SETO Y, et al. The challenge of screening for early gastric cancer in China [J]. Lancet, 2016, 388(10060): 2606.
- [4] OBA K, PAOLETTI X, BANG Y J, et al. Role of chemotherapy for advanced/recurrent gastric cancer: An individual-patient-data meta-analysis [J]. Eur J Cancer, 2013, 49(7): 1565-1577.
- [5] KANAT O, O'NEIL B, SHAHDA S. Targeted therapy for advanced gastric cancer: A review of current status and future prospects [J]. World J Gastrointest Oncol, 2015, 7(12): 401-410.
- [6] BHATLEKAR S, FIELDS J Z, BOMAN B M. HOX genes and their role in the development of human cancers [J]. J Mol Med (Berl), 2014, 92(8): 811-823.
- [7] GUAN Y, HE Y, LV S, et al. Overexpression of HOXC10 promotes glioblastoma cell progression to a poor prognosis via the PI3K/AKT signalling pathway [J]. J Drug Target, 2019, 27(1): 60-66.
- [8] TANG X L, DING B X, HUA Y, et al. HOXC10 promotes the metastasis of human lung adenocarcinoma and indicates poor survival outcome[J]. Front Physiol, 2017, 8: 557.
- [9] PATHIRAJA T N, NAYAK S R, XI Y, et al. Epigenetic reprogramming of HOXC10 in endocrine-resistant breast cancer[J]. Sci Transl Med, 2014, 6(229): 229r-241r.
- [10] ABBA M C, SUN H, HAWKINS K A, et al. Breast cancer molecular signatures as determined by SAGE: Correlation with lymph node status[J]. Mol Cancer Res, 2007, 5(9): 881-890.
- [11] TIMMONS J J, COHESSY S, WONG E T. Injection of syngeneic murine melanoma cells to determine their metastatic potential in the lungs[J]. J Vis Exp, 2016, (111): 54039.
- [12] HANAHAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: The next generation[J]. Cell, 2011, 144(5): 646-674.
- [13] SINGH M, YELLE N, VENUGOPAL C, et al. EMT: Mechanisms and therapeutic implications [J]. Pharmacol Ther, 2018, 182: 80-94.
- [14] JOLLY M K, WARE K E, GILJA S, et al. EMT and MET: Necessary or permissive for metastasis? [J]. Mol Oncol, 2017, 11(7): 755-769.
- [15] DIEPENBRUCK M, CHRISTOFORI G. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) and metastasis: Yes, no, maybe? [J]. Curr Opin Cell Biol, 2016, 43: 7-13.
- [16] KATSUNO Y, LAMOUILLE S, DERYNCK R. TGF-beta signaling and epithelial-mesenchymal transition in cancer progression[J]. Curr Opin Oncol, 2013, 25(1): 76-84.
- [17] BENDINELLI P, MARONI P, MATTEUCCI E, et al. HGF and TGFbeta1 differently influenced Wwox regulatory function on Twist program for mesenchymal-epithelial transition in bone metastatic versus parental breast carcinoma cells [J]. Mol Cancer, 2015, 14: 112.
- [18] FENG C, ZHOU Y X, XU K B, et al. Gastroenterology, Expression of Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling in Gastric Cancer and the Relationship of Tumor Metastasis [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2014, 14(21):4109-4112.