

· 基础研究 ·

HDGF 过表达促进胶质瘤细胞体外迁移与侵袭及 β -catenin 磷酸化

傅松¹, 龙卫国², 张爱霞^{1*}

¹南京医科大学药学院, 江苏 南京 211166; ²江苏大学附属医院病理科, 江苏 镇江 212000

[摘要] 目的: 研究上调肝癌衍生生长因子(hepatoma-derived growth factor, HDGF)表达对胶质瘤细胞体外生物学行为的影响。方法: 通过MTS实验和溴代脱氧尿苷(bromodeoxyuridine, BrdU)掺入实验, 研究过表达HDGF对恶性胶质瘤细胞株DBTRG体外增殖的影响。采用划痕实验、Transwell小室迁移实验和侵袭实验, 研究过表达HDGF对DBTRG细胞体外迁移与侵袭能力的影响。通过Western blot和免疫荧光实验研究上调HDGF表达对细胞黏附分子的表达及亚细胞定位的影响。结果: 过表达组与对照组细胞在增殖率和新生细胞比例上均无明显差异。迁移和侵袭实验结果显示, HDGF过表达细胞较对照细胞的迁移距离、细胞数量及侵袭细胞数均显著增加。此外, HDGF过表达可增加N-cadherin表达但降低 β -catenin蛋白水平。进一步的结果显示HDGF过表达不影响 β -catenin核转位, 但可促进其磷酸化。结论: 上调HDGF表达可显著增强DBTRG细胞体外迁移与侵袭能力, 这一作用可能与HDGF促进 β -catenin磷酸化有关。

[关键词] HDGF; 胶质瘤; 迁移; 侵袭; β -catenin

[中图分类号] R739.4

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2019)04-505-08

doi: 10.7655/NYDXBNS20190408

HDGF overexpression enhances migration and invasion of glioma cells by promoting β -catenin phosphorylation *in vitro*

Fu Song¹, Long Weigu², Zhang Aixia^{1*}

¹School of Pharmacy, NMU, Nanjing 211166; ²Department of Pathology, Affiliated Hospital, Jiangsu University, Zhenjiang 212000, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of up-regulation of hepatoma-derived growth factor (HDGF) expression on the biological behavior of glioma cells *in vitro*. **Methods:** The effects of overexpression of HDGF on the proliferation of malignant glioma cell line DBTRG were examined by MTS and bromodeoxyuridine (BrdU) incorporation experiments. The effects of HDGF up-regulation on the migration and invasion of DBTRG *in vitro* were investigated by Wound-healing assay, Transwell assay and Matrigel invasion assay, respectively. Western blot and immunofluorescence were used to determine the expression and subcellular localization of cell adhesion molecules. **Results:** There was no significant difference in the proliferation rate and the proportion of BrdU positive cells between the overexpressing group and the control group. Compared with the control group, the numbers of migration and invasion cells in the HDGF overexpression group were significantly increased. In addition, overexpression of HDGF increased N-cadherin expression but decreased β -catenin protein levels. Furthermore, HDGF did not affect the nuclear translocation of β -catenin, but promoted its phosphorylation. **Conclusion:** HDGF enhances migration and invasion of DBTRG glioma cells *in vitro* by promoting β -catenin phosphorylation.

[Key words] HDGF; glioma; migration; invasion; β -catenin

[J Nanjing Med Univ, 2019, 39(04):505-512]

肝癌衍生生长因子(hepatoma-derived growth

factor, HDGF)是最初分离于人肝细胞癌细胞株HuH-7条件培养基、可促进成纤维细胞生长的酸性肝素结合蛋白^[1]。现已知HDGF不仅能够促进内皮细胞、平滑肌细胞及多种恶性肿瘤细胞的增殖, 而且具有

[基金项目] 江苏省自然科学基金(BK2011767)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: aixia.zhang@njmu.edu.cn

促进细胞增殖迁移、血管生成、抗凋亡和神经营养等生物学活性^[2-4]。

HDGF的上述生物学功能使其与恶性肿瘤之间的关系成为近年来研究的焦点。大量研究证实,HDGF在多种人类恶性肿瘤中过表达,且在肿瘤的发生、发展及预后中发挥着重要作用^[5-9]。本课题组在前期发现胶质瘤、乳腺癌和前列腺癌中均存在HDGF过表达,并且其表达水平与肿瘤恶性程度高度相关^[10]。下调HDGF表达可显著抑制乳腺癌细胞MCF-7和前列腺癌细胞DU145的增殖^[9]。在恶性胶质瘤细胞株中,我们发现HDGF表达下调明显削弱U87细胞的体外迁移、侵袭及体内成瘤能力,但对其体外增殖却影响甚微^[11]。无独有偶,Hsu等^[12]也报道HDGF表达下调对恶性胶质瘤细胞株G5T迁移与侵袭能力的抑制远大于对其增殖的抑制。基于这些极为相似的结果,我们推测同其促细胞增殖作用相比较,HDGF对胶质瘤侵袭性的影响可能更为重要。为了证实这一猜测,我们建立了稳定过表达HDGF的恶性胶质瘤细胞株,研究了上调HDGF表达对胶质瘤细胞体外恶性生物学行为的影响以及可能的分子机制。

1 材料和方法

1.1 材料

胶质瘤细胞株DBTRG由美国Van Andel研究所惠赠,本室保存。过表达质粒pEGFP-HDGF由本实验组前期构建并对其生物学活性进行了验证^[13]。转染试剂FuGENE HD(罗氏公司,美国),G418和溴代脱氧尿苷(bromodeoxyuridine, BrdU)(Sigma-Aldrich公司,美国)。HDGF抗体由本实验室自制^[14], β -catenin和磷酸化 β -catenin(p- β -catenin)抗体(Cell Signaling Technology公司,美国),N-cadherin抗体(Santa Cruz公司,美国),罗丹明标记的羊抗小鼠IgG和罗丹明标记的羊抗兔IgG(Jackson ImmunoResearch,美国)。DMEM培养基(dulbecco's modification of eagle's medium, DMEM)、0.25%胰蛋白酶(Invitrogen公司,美国),胎牛血清(fatal bovine serum, FBS)(BI公司,以色列)。RIPA裂解液(上海碧云天生物有限公司),ECL化学发光底物(Millipore公司,美国),DAPI(Invitrogen公司,美国),CellTiter 96[®]AQueousOne试剂(Promega公司,美国),Transwell(Millipore公司,美国),Matrigel侵袭小室(BD Biosciences公司,美国),凝胶成像仪(上海天能科技有限公司产品),荧光显微镜(Zeiss公

司,德国)。

1.2 方法

1.2.1 稳定转染过表达HDGF细胞株的建立

参照转染试剂FuGENE HD说明书的操作步骤将pEGFP-HDGF载体转染至DBTRG胶质瘤细胞中,同时以转染空载体pEGFP-N1作为阴性对照。48 h后加入400 μ g/mL G418进行阳性细胞株的筛选。结合荧光显微镜观察所见及Western blot的结果对稳转细胞株进行鉴定。

1.2.2 细胞增殖实验

分别采用MTS和BrdU掺入实验研究过表达HDGF对DBTRG细胞增殖的影响^[15-16]。将HDGF过表达细胞(DBTRG-H)和对照组细胞(DBTRG-M)重悬于无血清的培养基中,调整细胞密度为 5×10^4 个/mL,按照100 μ L/孔接种于96孔板中,每组设立5个复孔。培养24、48、72、96 h后,分别加入CellTiter 96[®]AQueousOne试剂(20 μ L/孔),37 $^{\circ}$ C孵育4 h,用酶标仪测定490 nm的吸光度。

在BrdU掺入实验中,将两组细胞分别接种于24孔板内的玻片上,每组2个复孔,37 $^{\circ}$ C培养过夜,次日更换为新鲜无血清培养基,继续培养24 h或48 h,加入10 μ mol/L BrdU孵育2 h。细胞经固定、变性及5%牛血清白蛋白封闭后,加BrdU抗体4 $^{\circ}$ C孵育过夜。加罗丹明标记的羊抗小鼠IgG孵育1 h。用DAPI对细胞核进行复染、封片。于荧光显微镜下观察,拍照。采用Image J软件对DAPI和BrdU标记的细胞分别进行计数。BrdU掺入实验中新增殖细胞比例=(BrdU阳性细胞数/DAPI标记的总细胞数) $\times 100\%$,2个复孔所得的新增殖细胞比例的均值计为1次实验结果,实验重复3次。

1.2.3 软琼脂克隆形成实验

将细胞悬液与含0.6%琼脂糖的DMEM培养基按1:1混合,按照1 mL/孔接种于预先包被0.6%琼脂的6孔板中,每孔接种 2×10^3 个细胞。每组设3个复孔,37 $^{\circ}$ C培养。21 d后用结晶紫染色,于倒置显微镜下拍照并计数克隆数量。

1.2.4 划痕实验

将DBTRG-M、DBTRG-H两组细胞按 2×10^5 个/孔分别接种于6孔板,每组3个复孔。当细胞接近100%汇合度时,用200 μ L吸头垂直画出“一”字划痕,用PBS清洗2遍,除去脱落漂浮的细胞后,加入2 mL无血清培养基。于倒置显微镜下拍照记录,为0 h。培养24 h后再次拍照记录。采用Image J软件对两组细胞划痕的距离进行测量分析。

1.2.5 体外迁移和侵袭实验

迁移实验中,用无血清 DMEM 重悬细胞,调整细胞密度至 2×10^5 个/mL。在 Transwell 的上室中加入 100 μ L 细胞悬液,下室加入含有 10% FBS 的新鲜培养基作为趋化培养基,每组设 3 个复孔。24 h 后,用棉签小心擦去上室底部的细胞,迁移至下室的细胞经 4% 多聚甲醛固定、0.1% 结晶紫染色后在 200 倍倒置显微镜下随机取 5 个视野拍照计数。

细胞侵袭实验中,用无血清 DMEM 重悬细胞,密度为 3.5×10^5 个/mL。取 100 μ L 细胞悬液加入 Matrigel 的 Transwell 上室中,其余步骤同迁移实验。

1.2.6 Western blot

收集 DBTRG-M 和 DBTRG-H 细胞沉淀,经 RIPA 裂解后,离心取上清制备蛋白样品。样品经电泳、转膜后,5% 脱脂奶粉溶液室温封闭 1 h。分别加入 HDGF、 β -catenin、p- β -catenin 和 N-cadherin 的抗体,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。次日弃去一抗,加入 HRP 标记的二抗室温孵育 1 h。洗膜 4 次后,加入 ECL 化学发光底物,在凝胶成像仪上曝光成像。用 Image J 软件对免疫印迹条带进行灰度分析。

1.2.7 免疫荧光

将 DBTRG-M 和 DBTRG-H 细胞分别接种于玻片上培养 24 h,经 4% 多聚甲醛固定、5% BSA 封闭、0.1% Triton X-100 透膜后,加 β -catenin 抗体 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。第 2 天弃去一抗,加入罗丹明标记羊抗兔 IgG 室温孵育 2 h。用 DAPI 复染细胞核、封片,400 倍倒置

荧光显微镜下观察拍照。

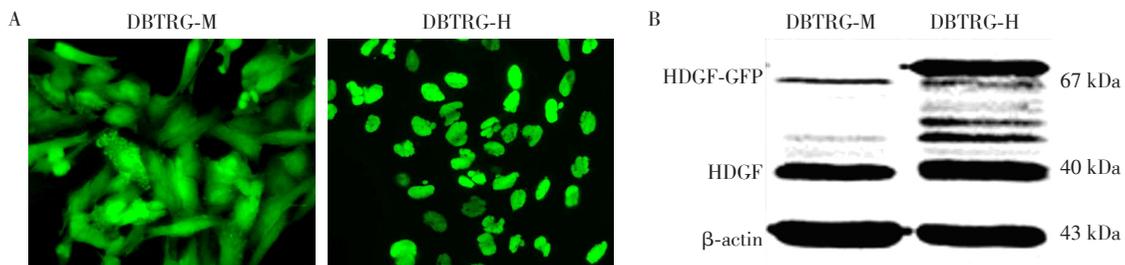
1.3 统计学方法

每个实验均重复 3 次以上,实验数据以均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用 GraphPad Prism 6 软件对数据进行统计分析,两组数据间比较采用双侧 *t* 检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 过表达 HDGF 胶质瘤细胞株的建立

本课题组前期对多株恶性胶质瘤细胞株中 HDGF 表达的研究结果显示,U87 细胞株表达水平最高,DBTRG 表达水平最低^[11],因此选择 DBTRG 细胞为研究对象,分别将 pEGFP-HDGF 重组质粒和 pEGFP-N1 空载体转染至该细胞。经 G418 筛选 3 周后,在荧光显微镜下可见这两组细胞中,95% 以上为带有绿色荧光的阳性细胞。在转染空载体的对照组 DBTRG-M 细胞中,绿色荧光呈全细胞弥散分布,而转染 pEGFP-HDGF 重组质粒的 DBTRG-H 细胞中,绿色荧光定位于细胞核中(图 1A),提示稳转过表达 HDGF 细胞株已经建立。为进一步证实这一结果,又进行了 Western blot。如图 1B 所示,DBTRG-M 细胞中,仅见 1 条约 40 kDa 的 HDGF 本底表达条带,DBTRG-H 细胞则呈现 40 kDa 和 67 kDa 的两条带,分别为内源性表达的本底 HDGF 和 HDGF-GFP 融合蛋白。以上结果证明稳转过表达 HDGF 细胞株成功建立。



A: 分别将 pEGFP-N1 空载体和 pEGFP-HDGF 重组质粒转染至 DBTRG 细胞。G418 筛选 3 周后,荧光显微镜下可见绿色荧光弥散分布于对照组 DBTRG-M 细胞中,而转染 pEGFP-HDGF 重组质粒的 DBTRG-H 细胞中,绿色荧光定位于细胞核中($\times 400$);B: Western blot 鉴定结果。

图 1 稳转过表达 HDGF 胶质瘤细胞株的建立

Figure 1 Establishment of stable HDGF overexpressing glioma cell line

2.2 上调 HDGF 表达对 DBTRG 细胞增殖无影响

我们在前期研究中发现,下调 HDGF 表达可显著抑制前列腺癌细胞 DU145 和乳腺癌细胞 MCF7 的体外增殖^[9],但在胶质瘤细胞 U87 中却并未表现出同样的生长抑制效应^[11]。由此带来的疑问是: HDGF 促细胞生长作用是否存在组织和细胞类型的差异? 因此,我们首先进行 MTS 实验。如图 2A 所

示,在连续 96 h 培养过程中,DBTRG-H 细胞与 DBTRG-M 细胞呈现出几乎相同的增殖率,提示过表达 HDGF 并无促进 DBTRG 细胞体外生长的作用。为了进一步验证这一结果,又通过 BrdU 掺入实验比较了过表达组与对照组中新增殖细胞的比例。结果显示,无血清培养 24 h 或 48 h,对照组与 HDGF 过表达组中 BrdU 阳性细胞所占的比例亦无明显差异(图

2B)。综合MTS和BrdU掺入实验结果,证实HDGF表达上调对DBTRG细胞的体外增殖无影响。

2.3 HDGF过表达可促进DBTRG细胞锚着非依赖性生长

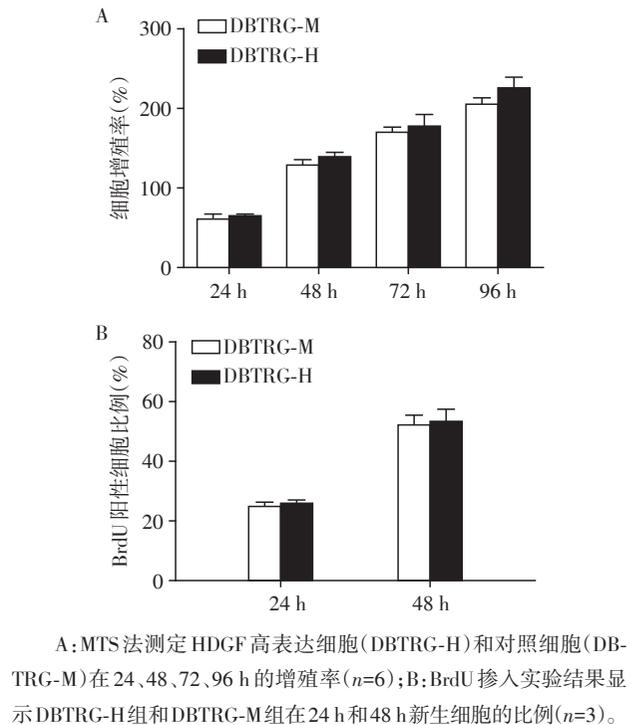
采用软琼脂克隆形成实验评价HDGF表达上调对DBTRG细胞锚着非依赖性生长的影响。培养3周后,可见DBTRG-H细胞形成的克隆不仅数量明显多于DBTRG-M细胞,而且这些克隆体积更大,分枝更多(图3)。这些结果表明,HDGF表达上调不仅可促进胶质瘤细胞的锚着非依赖性生长,而且有更高的侵袭潜能。

2.4 上调HDGF表达增强DBTRG细胞体外迁移和侵袭

为研究HDGF上调对DBTRG细胞迁移能力的影响,我们分别进行了划痕实验和Transwell实验。如图4所示,划伤24h后,同DBTRG-M组细胞相比较,DBTRG-H组细胞迁移距离显著增加。Transwell实验的定量分析结果显示,DBTRG-H组的平均迁移细胞数明显多于DBTRG-M组(图5)。由此证明,HDGF表达上调可显著提高DBTRG细胞的运动迁移能力。在此基础上,我们通过Matrigel侵袭实验进一步研究了HDGF过表达对DBTRG细胞侵袭特性的影响。结果显示,与DBTRG-M组相比,DBTRG-H组穿过Matrigel发生侵袭的细胞数量显著增加(23.4 ± 2.8 vs. 59.4 ± 7.4, P < 0.001, 图5),表明HDGF的上调显著促进了胶质瘤细胞的体外侵袭。

2.5 HDGF过表达促进N-cadherin的表达和β-catenin磷酸化

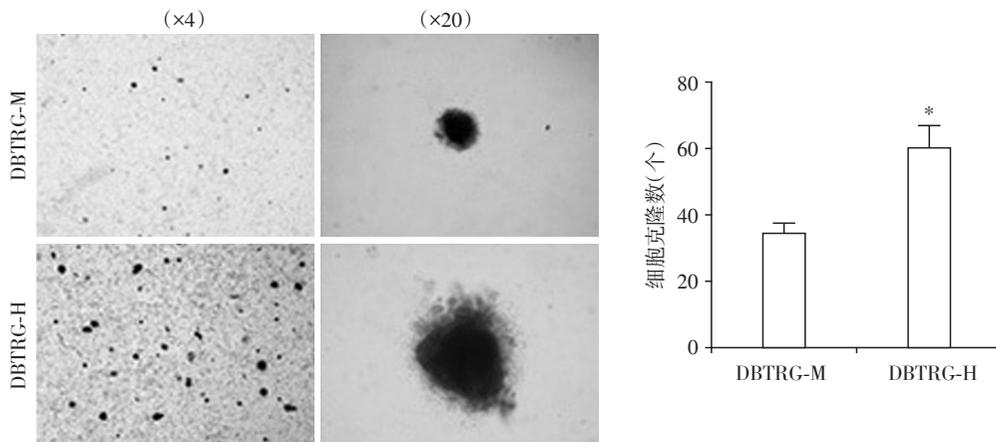
细胞迁移和侵袭的过程需要细胞间黏附分子的协调、动态的组装与分解,catenin与cadherin形成



A: MTS法测定HDGF高表达细胞(DBTRG-H)和对照细胞(DBTRG-M)在24、48、72、96 h的增殖率(n=6); B: BrdU掺入实验结果显示DBTRG-H组和DBTRG-M组在24 h和48 h新生细胞的比例(n=3)。

图2 HDGF表达升高对DBTRG细胞生长无影响
Figure 2 Elevation of HDGF expression has no effects on DBTRG cells growth

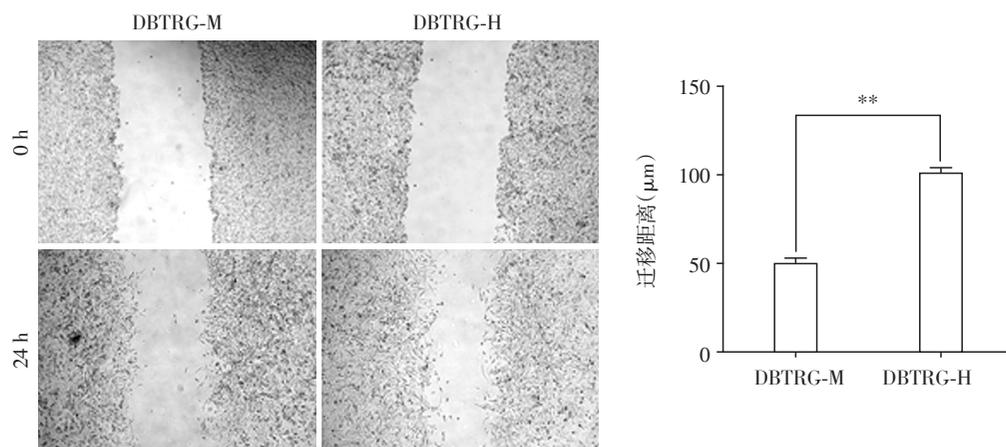
的复合物是细胞间黏附的主要调控因素。在胶质瘤中,β-catenin与N-cadherin结合,从而调节肿瘤细胞间的黏附^[17]。据报道,敲除HDGF可抑制胶质瘤细胞U251和U87的侵袭以及β-catenin与N-cadherin的表达^[18]。为了探讨β-catenin和N-cadherin是否与HDGF促进DBTRG细胞侵袭有关,我们进行了免疫印迹试验。结果表明,与DBTRG-M细胞相比,N-cadherin在DBTRG-H细胞中的表达明显增加,而β-catenin的表达显著降低(图6B)。β-catenin作为



软琼脂克隆形成实验的典型图片(左)和统计结果(右)。*P < 0.01, n=3。

图3 HDGF上调促进DBTRG细胞的锚着非依赖性生长

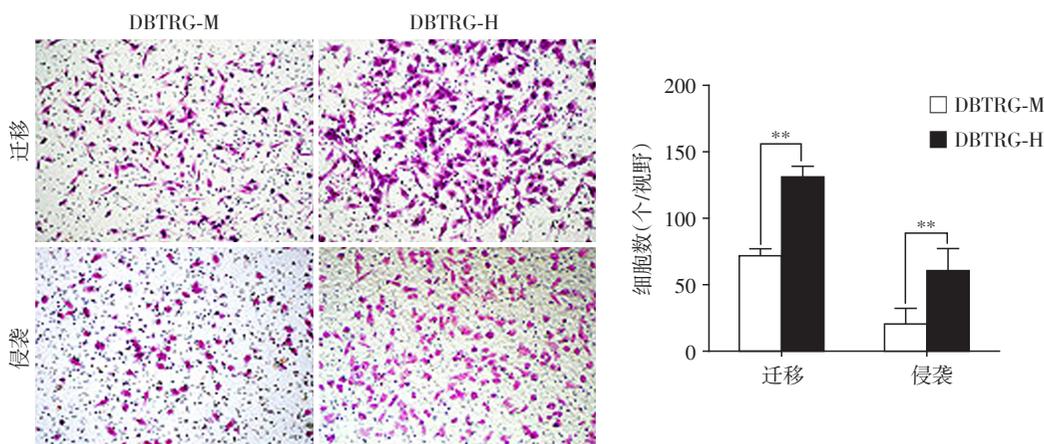
Figure 3 HDGF up-regulation promotes anchorage-independent growth in DBTRG cells



划痕实验的典型图片($\times 40$)和迁移距离的统计结果。 $**P < 0.001, n=3$ 。

图4 HDGF上调对DBTRG细胞运动能力的影响

Figure 4 Effect of HDGF up-regulation on the motility of DBTRG cells



采用Transwell迁移实验和Matrigel侵袭实验分别研究上调HDGF表达对DBTRG细胞体外迁移与侵袭的影响。A:迁移和侵袭实验结果的典型图片($\times 100$);B:迁移与侵袭实验的统计结果。 $**P < 0.001, n=3$ 。

图5 上调HDGF表达促进DBTRG细胞的体外迁移和侵袭

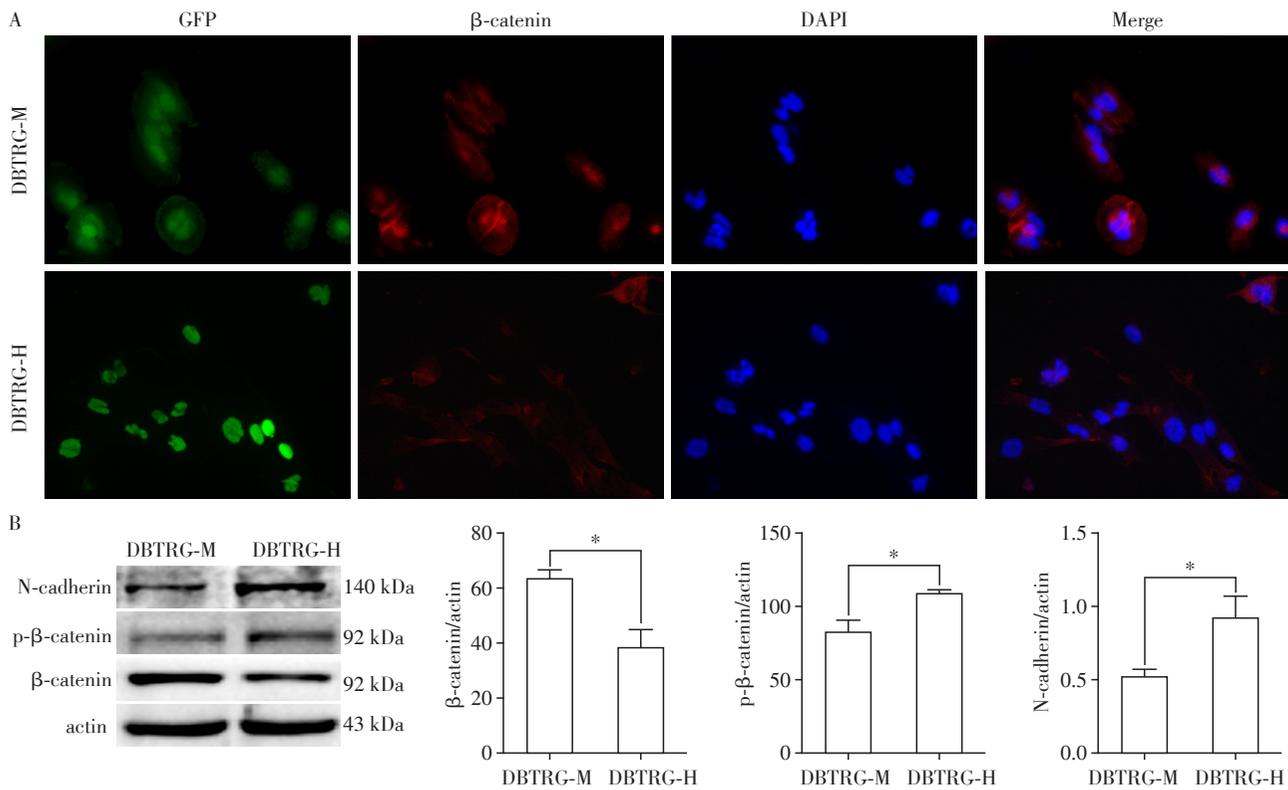
Figure 5 HDGF up-regulation enhances the migration and invasion of DBTRG cells *in vitro*

Wnt途径的关键调控因子,从细胞质转运到细胞核,促进下游靶基因的转录,从而增强肿瘤细胞的迁移与侵袭^[19]。为了研究 β -catenin表达降低是否归因于其向细胞核转位,我们通过免疫荧光观察了 β -catenin的亚细胞定位。如图6A所示, β -catenin在DBTRG-H细胞中的表达显著降低,这与Western blot结果一致。然而,无论是DBTRG-M细胞还是DBTRG-H细胞中,均未见明显的 β -catenin核积累现象。这些结果提示,HDGF的上调可能只是降低 β -catenin的总蛋白量,而对Wnt途径无影响。在Wnt信号缺失的情况下, β -catenin磷酸化后迅速被泛素蛋白酶体所降解。我们的结果显示DBTRG-H细胞中磷酸化 β -catenin水平较DBTRG-M细胞显著增加,提示上调HDGF可促进 β -catenin磷酸化,从而导

致 β -catenin降解。

3 讨论

HDGF是一种具有生长因子活性的核蛋白,在多种恶性肿瘤中高度表达。越来越多的证据表明,HDGF在肿瘤进展、血管生成、转移和复发中起着重要作用^[20-22]。下调HDGF表达可抑制多种肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭^[12]。然而,我们先前的实验发现沉默HDGF对胶质瘤细胞U87的迁移和侵袭有显著抑制作用,但对细胞增殖影响不大^[11]。在此,我们的实验数据表明,上调HDGF表达对DBTRG胶质瘤细胞的增殖没有影响,但可显著促进其体外迁移与侵袭。进一步的研究结果表明,HDGF过表达可促进N-cadherin的表达和 β -catenin磷酸化。



A: 免疫荧光染色显示β-catenin(红色)在DBTRG-M和DBTRG-H细胞中的表达和亚细胞定位。细胞核用DAPI(蓝色)复染(×400); B: Western blot检测HDGF上调对N-cadherin、β-catenin以及磷酸化β-catenin的影响, *P < 0.05, n=3。

图6 HDGF过表达促进N-cadherin表达和β-catenin磷酸化

Figure 6 HDGF overexpression increases the expression of N-cadherin and β-catenin phosphorylation

HDGF的表达水平与细胞增殖无关并不是胶质瘤所特有的,在其他类型的肿瘤中也有相关发现。在早期非小细胞肺癌(non-small-cell carcinoma, NSCLC)组织中,HDGF表达水平与细胞增殖指标Ki67之间并不存在相关性^[23]。下调A549、H226、H358等肺癌细胞的HDGF表达,上述细胞株的非锚着依赖性生长及体外迁移与侵袭能力受到显著抑制,但锚着依赖性生长却几乎不受影响^[24]。此外,虽然HDGF中和抗体可明显抑制裸鼠肺癌细胞异种移植瘤的生长,但对于体外培养肺癌细胞,该抗体并无诱导其凋亡或抑制其生长作用^[25]。这些已有的报道和我们的研究结果表明,在某些类型的恶性肿瘤如肺癌和恶性胶质瘤中,HDGF高表达的作用可能并不是促有丝分裂。

作为一种广谱预后指标,HDGF过表达与包括脑胶质瘤在内的多种人类恶性肿瘤预后不良呈正相关^[26-29]。临床病理研究表明,HDGF的表达水平与肺癌、胃癌、乳腺癌的浸润深度、淋巴结转移及远处转移密切相关^[24,30-31]。体外实验结果提示HDGF可通过调节上皮-间充质转化(epithelial-mesenchy-

mal transition, EMT)影响乳腺癌和前列腺癌细胞的侵袭性^[32]。Song等^[33]报道敲除HDGF可抑制胶质瘤细胞的侵袭及EMT标志物如vimentin、β-catenin和N-cadherin的表达。本研究结果显示,HDGF过表达可促进胶质瘤细胞的迁移与侵袭并增加N-cadherin的表达。此外,也观察到DBTRG-H过表达细胞表现出间充质样形态(数据未显示)。β-catenin作为Wnt信号转导的重要调节因子,从细胞质转运到细胞核,触发EMT相关基因表达,增强胶质瘤细胞的迁移能力^[19,34]。然而,我们的研究结果显示,HDGF的上调降低了β-catenin蛋白水平,但不影响其核转位,这表明HDGF可能不依赖于经典的Wnt/β-catenin途径调节胶质瘤细胞的EMT。目前已知β-catenin除通过其转录活性影响肿瘤细胞的迁移与侵袭以外,尚可通过catenin/cadherin复合物的动态组装与解聚调节肿瘤细胞的迁移和侵袭。与β-catenin磷酸化伴随的是catenin/cadherin复合物解聚。一些生长因子信号可以诱导β-catenin磷酸化,增强胶质瘤细胞的迁移能力^[35-36]。因此,我们的结果提示,HDGF可能是通过促进β-catenin磷酸化,降低

总的 β -catenin水平,使 β -catenin/N-cadherin复合物解聚,细胞与细胞黏附性降低,从而增加胶质瘤细胞的迁移和侵袭。

侵袭性不仅是恶性胶质瘤的重要特征,也是决定其预后的关键因素。通过本项研究,进一步证实了HDGF在恶性胶质瘤细胞侵袭中的重要作用。因此,靶向HDGF可作为改善恶性胶质瘤预后的一种治疗策略。

【参考文献】

- [1] Nakamura H, Izumoto Y, Kambe H, et al. Molecular cloning of complementary DNA for a novel human hepatoma-derived growth factor. Its homology with high mobility group-1 protein[J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(40): 25143-25149
- [2] Chen Z, Qiu S, Lu X. The expression and clinical significance of HDGF in osteosarcoma [J]. *Onco Targets Ther*, 2015, 8(4): 2509-2517
- [3] Narron JV, Stoops TD, Barringhaus K, et al. Hepatoma-derived growth factor is expressed after vascular injury in the rat and stimulates smooth muscle cell migration [J]. *Pediatr Res*, 2006, 59(6):778-783
- [4] Florespérez A, Marchat LA, Sánchez LL, et al. Differential proteomic analysis reveals that EGCG inhibits HDGF and activates apoptosis to increase the sensitivity of non-small cells lung cancer to chemotherapy [J]. *Proteom Clin Appl*, 2016, 10(2):172-182
- [5] Zhou Y, Zhou N, Fang W, et al. Overexpressed HDGF as an independent prognostic factor is involved in poor prognosis in Chinese patients with liver cancer [J]. *Diagn Pathol*, 2010, 5(1):1-10
- [6] Ren H, Chu Z, Mao L. Antibodies targeting hepatoma-derived growth factor as a novel strategy in treating lung cancer [J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(5):1106-1112
- [7] Jie M, Wei X, Cao L, et al. shRNA targeting HDGF suppressed cell growth and invasion of squamous cell lung cancer [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2010, 42(1):52-57
- [8] Shetty A, Dasari S, Banerjee S, et al. Hepatoma-derived growth factor: A survival-related protein in prostate oncogenesis and a potential target for vitamin K2 [J]. *Urol Oncol-Semin Orig Investig*, 2016, 34(11):483.e1-483.e8
- [9] Guo Z, He Y, Wang S, et al. Various effects of hepatoma-derived growth factor on cell growth, migration and invasion of breast cancer and prostate cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2011, 26(2):511-517
- [10] Zhang A, Long W, Guo Z, et al. Development and clinical evaluation of a multi-purpose mAb and a sandwich ELISA test for hepatoma-derived growth factor in lung cancer patients [J]. *J Immunol Methods*, 2010, 355(1-2):61-67
- [11] Zhang A, Long W, Guo Z, et al. Downregulation of hepatoma-derived growth factor suppresses the malignant phenotype of U87 human glioma cells [J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(1):62-68
- [12] Hsu SS, Chen CH, Liu GS, et al. Tumorigenesis and prognostic role of hepatoma-derived growth factor in human gliomas [J]. *J Neurooncol*, 2012, 107(1):101-109
- [13] 郭泽, 龙卫国, 曹伯良, 等. HDGF真核表达质粒的构建、表达及其生物活性检测 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2010, 30(5):602-606
- [14] 张爱霞. 抗GP73、HDGF抗体的制备、夹心ELISA法的建立及临床初步应用 [D]. 南京:南京医科大学, 2009
- [15] Wu HY, Tang Y, Gao LY, et al. The synergetic effect of edaravone and borneol in the rat model of ischemic stroke [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 740:522-531
- [16] Zhang F, Qian X, Qin C, et al. Phosphofructokinase-1 Negatively Regulates Neurogenesis from Neural Stem Cells [J]. *Neurosci Bull*, 2016, 32(3):205-216
- [17] Shi Q, Song X, Wang J, et al. FRK inhibits migration and invasion of human glioma cells by promoting N-cadherin/beta-catenin complex formation [J]. *J Mol Neurosci*, 2015, 55(1):32-41
- [18] Nie E, Zhang X, Xie S, et al. β -catenin is involved in Bex2 down-regulation induced glioma cell invasion/migration inhibition [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 456(1):494-499
- [19] Kahlert UD, Maciaczyk D, Doostkam S, et al. Activation of canonical WNT/beta-catenin signaling enhances in vitro motility of glioblastoma cells by activation of ZEB1 and other activators of epithelial-to-mesenchymal transition [J]. *Cancer Lett*, 2012, 325(1):42-53
- [20] Shih TC, Tien YJ, Wen CJ, et al. MicroRNA-214 downregulation contributes to tumor angiogenesis by inducing secretion of the hepatoma-derived growth factor in human hepatoma [J]. *J Hepatol*, 2012, 57(3):584-591
- [21] Zhang G, Liu Z, Chen Y, et al. High serum HDGF levels are predictive of bone metastasis and unfavorable prognosis in non-small cell lung cancer [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2017, 242(2):101-108
- [22] Yamamoto S, Tomita Y, Hoshida Y, et al. Expression of hepatoma-derived growth factor is correlated with lymph node metastasis and prognosis of gastric carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(1):117-122
- [23] Ren HN, Tang XM, Lee JJ, et al. Expression of hepatoma-derived growth factor is a strong prognostic predictor for patients with early-stage non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(16):3230-3237
- [24] Zhang J, Ren H, Yuan P, et al. Down-regulation of hepato-

- ma-derived growth factor inhibits anchorage-independent growth and invasion of non-small cell lung cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(1):18-23
- [25] Ren H, Chu Z, Mao L. Antibodies targeting hepatoma-derived growth factor as a novel strategy in treating lung cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(5):1106-1112
- [26] Yang G, Zhang A, Wang J, et al. Hepatoma-derived growth factor promotes growth and metastasis of hepatocellular carcinoma cells [J]. *Cell Biochem Funct*, 2016, 34(4): 274-285
- [27] Tsai CC, Huang SC, Tai MH, et al. Hepatoma-derived growth factor upregulation is correlated with prognostic factors of early-stage cervical adenocarcinoma [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(11):21492-21504
- [28] Chen X, Yun J, Fei F, et al. Prognostic value of nuclear hepatoma-derived growth factor(HDGF)localization in patients with breast cancer[J]. *Pathol Res Pract*, 2012, 208(8):437-443
- [29] Yang Y, Liang S, Li Y, et al. Hepatoma-derived growth factor functions as an unfavorable prognostic marker of human gliomas[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(5):7179-7184
- [30] Song R, Cong L, Ni G, et al. MicroRNA-195 inhibits the behavior of cervical cancer tumors by directly targeting HDGF[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(1):767-775
- [31] Bao CH, Liu K, Wang XT, et al. Prognostic role of hepatoma-derived growth factor in solid tumors of Eastern Asia: a systematic review and meta-analysis[J]. *APJCP*, 2015, 16(5):1803-1811
- [32] Chen SC, Kung ML, Hu TH, et al. Hepatoma-derived growth factor regulates breast cancer cell invasion by modulating epithelial-mesenchymal transition [J]. *J Pathol*, 2012, 228(2):158-169
- [33] Song Y, Hu Z, Long H, et al. A complex mechanism for HDGF-mediated cell growth, migration, invasion, and TMZ chemosensitivity in glioma[J]. *J Neurooncol*, 2014, 119(2):285-295
- [34] Mehta S, Lo CC. Developmentally regulated signaling pathways in glioma invasion [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(3):385-402
- [35] David MD, Yeramian A, Dunach M, et al. Signalling by neurotrophins and hepatocyte growth factor regulates axon morphogenesis by differential β -catenin phosphorylation [J]. *J Cell Sci*, 2008, 121(16):2718-2730
- [36] Paul I, Bhattacharya S, Chatterjee A, et al. Current understanding on EGFR and Wnt/ β -catenin signaling in glioma and their possible crosstalk [J]. *Genes Cancer*, 2013, 4(11-12):427-446

[收稿日期] 2018-11-24

(上接第490页)

- temic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(8):2467-2475
- [33] Zhang Z, Feng R, Niu L, et al. Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Inhibit T Follicular Helper Cell Expansion Through the Activation of iNOS in Lupus-Prone B6.MRL-Fas(lpr) Mice [J]. *Cell Transplant*, 2017, 26(6):1031-1042
- [34] 殷玉俊, 李晶, 裘影影, 等. 间质干细胞对SLE患者外周血T细胞的免疫抑制作用 [J]. *中华皮肤科杂志*, 2009, 42(11):735-738
- [35] Burst V R, Gillis M, Putsch F, et al. Poor cell survival limits the beneficial impact of mesenchymal stem cell transplantation on acute kidney injury [J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2010, 114(3):e107-e116
- [36] Deng W, Chen W, Zhang Z, et al. Mesenchymal stem cells promote CD206 expression and phagocytic activity of macrophages through IL-6 in systemic lupus erythematosus [J]. *Clin Immunol*, 2015, 161(2):209-216
- [37] Wang D, Niu L, Feng X, et al. Long-term safety of umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation for systemic lupus erythematosus: a 6-year follow-up study [J]. *Clin Exp Med*, 2017, 17(3):333-340
- [38] Niu H, Fang G, Tang Y, et al. The function of hematopoietic stem cells is altered by both genetic and inflammatory factors in lupus mice [J]. *Blood*, 2013, 121(11):1986-1994
- [39] Nagasawa T, Kikutani H, Kishimoto T. Molecular cloning and structure of a pre-B-cell growth-stimulating factor [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994, 91(6):2305-2309
- [40] Weber T S. Cell Cycle-Associated CXCR4 Expression in Germinal Center B Cells and Its Implications on Affinity Maturation [J]. *Front Immunol*, 2018, 9:1313

[收稿日期] 2018-09-21