

骨髓瘤细胞可诱导骨髓间充质干细胞的基因表达谱发生暂时和(或)长期性改变

李俊霞¹, 李 皎², 王 欢², 汤 郁², 杨 姣², 夏 雷², 朱 彦², 陆 化^{1*}, 王丽霞², 费小明^{2*}

(¹南京医科大学第一附属医院血液科, 江苏 南京 210029; ²江苏大学附属医院血液科, 江苏 镇江 212001)

[摘要] 目的: 正常骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)在与骨髓瘤细胞相互作用过程中, MSC 的全基因表达谱的改变目前尚未有报道, 本研究就对此进行研究并进一步探索多发性骨髓瘤的发病机制。方法: 正常人骨髓 MSC 与骨髓瘤细胞株在 Transwell 共培养体系培养前后, 用全基因表达芯片检测 MSC 全基因 mRNA 的表达谱, 比较正常 MSC 在与骨髓瘤细胞共培养(MC 组)或共培养后去除骨髓瘤细胞后继续单独培养的 MSC(MA 组), 和 MSC 单独培养的对照组(MK 组)基因表达谱的变化。结果: MC 组与 MK 组相比较, 在所有分析的 10 000 个基因中共发现 837 个差异基因(837/10 000, 8.37%), 其中有 472 个基因表达上调(472/837, 56.39%), 365 个基因表达下调(365/837, 43.61%)。而 MA 组与 MK 组相比较, 共发现 367 个差异基因, 其中有 218 个基因表达上调(218/367, 59.40%), 149 个基因表达下调(149/367, 40.60%)。从芯片结果中筛选出 MMP1、FGFR2、ANGPTL4、MFAP5、TGM2、STC1、CCL7 和 IL-32 这 8 个基因, 经定量 PCR 验证后的结果与基因芯片结果相一致。结论: 骨髓瘤细胞可以诱导正常骨髓 MSC 多种基因表达改变, 并且有些改变即使在骨髓 MSC 脱离骨髓瘤细胞后仍可存在; 此外, 初步筛选到 8 个差异表达基因, 其中 7 个基因在多发性骨髓瘤发病机制中的作用既往未见报道, 有待今后进一步研究。

[关键词] 多发性骨髓瘤; 骨髓间充质干细胞; 共培养; 基因表达谱

[中图分类号] R329.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2012)11-025-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20130106

Both transient and sustained gene expression profile alterations of bone marrow mesenchymal stem cells induced upon co-cultured with myeloma cells

Li Junxia¹, Li Jiao², Wang Huan², Tang Yu², Yang Jiao², Xia Lei², Zhu Yan², Lu Hua^{1*}, Wang Lixia², Fei Xiaoming^{2*}

(¹Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029; ²Department of Hematology, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, China)

[Abstract] **Objective:** Recent researches suggested that the abnormalities of bone marrow microenvironment have important implications for the genesis and evolution of multiple myeloma. However, the gene expression profile (GEP) changes in the interaction between bone marrow mesenchymal stem cell (MSC) and myeloma cells are not reported. **Methods:** To investigate the pathogenesis of multiple myeloma, cDNA microarray was employed to investigate the GEP of MSC before and after interacting with myeloma cells. And the genes with differential expression MSC co-cultured with myeloma cells (the MC groups) or cultured alone to continue after the removal of MM cells (MA groups) compared with the control groups (the MK groups) were screened by scanning and analyzed by computer software. **Results:** After co-cultured of MSC with MM cells (the MC groups), among total 10 000 genes, we filtered a total of 837 differential representing genes (837/10 000, 8.37%), of which there were 472 up-regulated genes (472/837, 56.39%) and 365 genes were down-regulated (365/837, 43.61%). We found 367 differentially expressed genes in the MA groups compared to the control ones, including 218 up-regulated genes (218/367, 59.40%) and 149 down-regulated genes (149/367, 40.60%). Then we selected eight genes (MMP-1, FGFR2, ANGPTL4, MFAP5, TGM2, STC1, CCL7 and IL-32) from differential genes to verify by real-time quantitative PCR and their functions were explored. The Real-time quantitative PCR results were consistent with cDNA microarray results. **Conclusion:**

[基金项目] 国家自然科学基金(81202358); 江苏省自然科学基金(BK2008236); 镇江市社会发展项目(SH2010030, SH2011021)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: luhua1956@yahoo.com.cn; cattlemouse@sohu.com

It is indicated that myeloma cells induce a variety of gene expression changes of normal bone marrow MSC, and some changes still exist even after the removal of MM cells. In addition, among the eight selected genes in this study, seven of them have not been reported to be involved in the pathogenesis of multiple myeloma.

[Key words] multiple myeloma; bone marrow mesenchymal stem cells; co-culture; gene expressing profile

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(1): 025-031]

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是以骨髓和(或)髓外的恶性浆细胞异常扩增、广泛浸润并分泌大量单克隆性免疫球蛋白为特征的恶性克隆性疾病,临床上主要表现为溶骨性破坏、贫血、肾脏损害、免疫缺陷等。而肿瘤微环境对包括 MM 在内的恶性肿瘤有着重要作用。骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)是骨髓微环境的重要组成部分之一,近来研究提示 MM 患者体内的 MSC 出现多种生物学异常,其可通过自分泌或旁分泌形式分泌多种细胞因子影响 MM 细胞的生物学特征^[1-2],并可通过影响成骨前体及破骨细胞的迁移、分化等,参与骨髓瘤骨病的发生及发展。这些研究结果提示, MSC 异常很可能是影响 MM 发生发展的重要机制之一。

目前虽已有多种研究均证实 MM 患者的 MSC 存在多种异常,但是正常的骨髓 MSC 在与骨髓瘤细胞相互接触后,是否会出现目前报道之外的其他基因表达异常?此外,如果 MSC 与骨髓瘤细胞短暂接触后, MSC 的基因表达异常是否仍然存在或出现新的异常?为了研究上述问题,本研究通过观察正常人 MSC 与骨髓瘤细胞共培养或共培养后再单独培养,用全基因组表达芯片的方法,探索骨髓瘤细胞对 MSC 生物学功能的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞来源

3 例正常人 MSC 标本均来自江苏大学附属医院正常供者。骨髓瘤细胞株 U266 及 RPMI8226 由本实验室保存。

1.1.2 主要试剂及仪器

人淋巴细胞分离液购于天津灏洋生物制品科技有限责任公司, L-DMEM 及 RPMI1640 培养液、胎牛血清(FBS)、胰酶均购于美国 Gibco 公司, RNA 抽提液 TRIzol 为美国 Invitrogen 公司产品, 逆转录酶 M-MLV 为美国 Promega 公司产品, 2×PCR Master Mix 购于北京天根生化科技公司。PCR 扩增仪为 ABI7300 型或 Corbett Research, 凝胶图像分析仪为美国 Bio

Rad 公司生产, 孔径为 0.4 μm 的 Transwell 小室为美国 Millipore 公司产品, 6 孔板及培养皿均为美国 Corning 公司产品。基因芯片为美国罗氏公司 NimbleGen (A4542-00-01, 数据库来源为 NCBI HG18, Build 36), 后期制备由北京博奥生物有限公司完成, PCR 引物由上海生物工程技术公司合成, 引物序列见表 1。

1.2 方法

1.2.1 细胞的培养

MSC 的分离、培养及鉴定同既往文献^[3-4], 取第 2~4 代细胞用于实验。U266 和 RPMI8226 细胞培养于含有 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养液中, 取对数生长期的细胞用于后续试验。

1.2.2 共培养体系的建立

将孔径 0.4 μm 的 Transwell 小室架于 6 孔培养板上, 建立不直接接触的共培养体系。上层的 Transwell 小室接种等量混合的 U266 和 RPMI8226 细胞 (1×10^5 个/孔), 培养体系下层的 6 孔培养板中接种 MSC (1×10^4 个/孔); 予 37℃、5% CO₂ 饱和湿度培养箱常规培养, 培养液为含 10% FBS 的 L-DMEM 培养液。实验共分为 3 组: 对照组(MK 组): MSC 单独培养 7 d ($n = 3$); 共培养组(MC 组): MSC 与骨髓瘤细胞(U266 混合 RPMI8226 细胞)通过 Transwell 非直接接触共培养 7 d ($n = 3$); 共培养后继续单独培养组(MA 组): MSC 与骨髓瘤细胞(U266 混合 RPMI8226 细胞)通过 Transwell 非直接接触共培养 7 d 后, 去除骨髓瘤细胞株后 MSC 继续在含 10% FBS 的 L-DMEM 条件下培养 7 d ($n = 3$)。

1.2.3 基因芯片

基因芯片的制备过程同既往文献^[5], 应用美国 Roche 公司的 MS200 扫描仪扫描芯片, 采用 NimbleScan 进行图像分析和数据采集, 再用 SAM 软件进行数据分析, 以 2 倍标准筛选差异表达基因, 即 $Cy5/Cy3 > 2$ 为上调基因, $Cy5/Cy3 < 0.5$ 为下调基因。

1.2.4 定量 PCR 的验证

MSC RNA 提取及逆转录反应分别按照 RNA 抽提试剂盒及 M-MLV 逆转录酶说明书进行。PCR 反

表 1 各基因的引物序列
Table 1 Primers sequences of each gene

基因名称	引物序列(5'→3')	扩增长度(bp)	退火温度(°C)
MMP-1	F: TCTCTGAGGGTCAAGCAGACA R: TGAGCTGCAACACGATGTAAG	199	61
FGFR2	F: GTC AACGCAACGGTCTAACTG R: TGGGACTTGAAGATCCTAACA	249	61
ANGPTL4	F: ACGACTGTGATCCGATTCTT R: GCACCGCTCATCCTCTTA	152	61
MFAP5	F: TTCCTTGAGTTGCTACTTCG R: AGGATAAGAATGTGGGTTGTC	204	61
TGM2	F: TGGGCAGTGACTTTGACGT R: GCACCTTGATGAGGTTGGAC	237	64
STC1	F: ATGGGCTTGACCACCTTACA R: AAGGCTGATTGACTCATTCCTG	157	63
CCL7	F: TGCCCTCACCCCTCCAACAT R: TCCAGGTGCTTCATAAAGTCCTG	289	63
IL-32	F: GCCTTGGCTCCTTGAACCTT R: CATAATAAGCCGCCACTGTCT	215	63
GAPDH	F: TCAACGGATTTGGTCGTATTG R: TGGGTGGAATCATATTGGAAC	136	61

应中标准曲线的建立及反应步骤参考本课题组既往文献^[6]。

2 结果

2.1 细胞的培养及鉴定

MSC 以及 MM 细胞的培养及鉴定结果均同本课题组既往文献报道一致^[3-4]。

2.2 差异基因

应用 SAM 软件整合分析后发现,在所分析的全部 10 000 个基因中,与 MK 组比较,MC 组共发现 837 个差异基因(差异基因筛选标准:差异倍数控制在 2 倍以上,样本数 ≥ 3),在这些基因中,有 472 个基因表达上调(472/837,56.39%),365 个基因表达下调(365/837,43.61%)。

MA 与 MK 组相比较,在分析的 10 000 个基因中,共发现 367 个差异基因,在这些基因中,有 218 个基因表达上调(218/367,59.40%),149 个基因表达下调(149/367,40.60%)。

2.3 生物信息学(gene ontology,GO)分析

利用博奥生物分子功能注释系统(CB-MAS)对上述差异基因进行功能分析发现:与 MK 组比较,MC 组和 MA 组多个基因的功能发生改变,其中上调基因主要涉及细胞信号转导、免疫调节及炎症反应、趋化以及抗凋亡等生物学过程;下调的基因主要涉及生长发育、细胞黏附、转录过程的调节、DNA 结

合等生物学过程。而在分子功能上,上调的基因主要涉及蛋白结合、锌离子结合、生长因子活化、转录因子激活及趋化因子活化等功能;下调的基因主要涉及蛋白结合、钙离子结合及核苷酸的结合等(图1,2)。

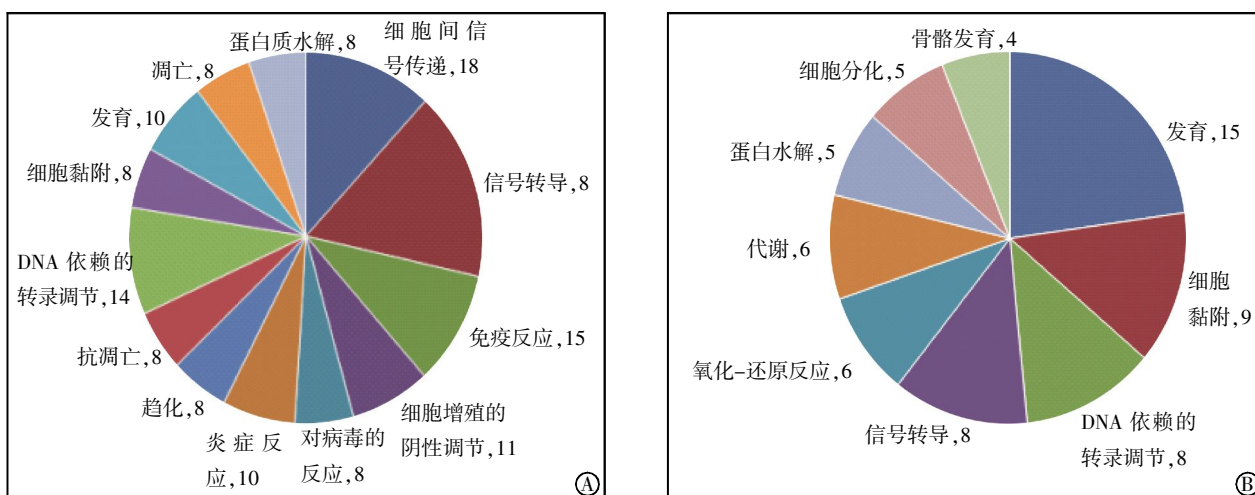
2.4 信号通路分析

在信号通路方面,MC 组与 MK 组相比较,差异基因主要涉及细胞因子及其受体、Toll 样受体、促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、p53、Wnt、JAK-STAT、细胞外基质(extracellular matrix,ECM)、转化生长因子 β (transforming growth factor β ,TGF- β)等信号通路(表 2)。

MA 组与 MK 组比较,差异基因所涉及的信号通路也主要包括细胞因子及受体途径、细胞周期、p53 信号通路、Toll 样受体信号通路等(表 3)。

2.5 PCR 结果的验证

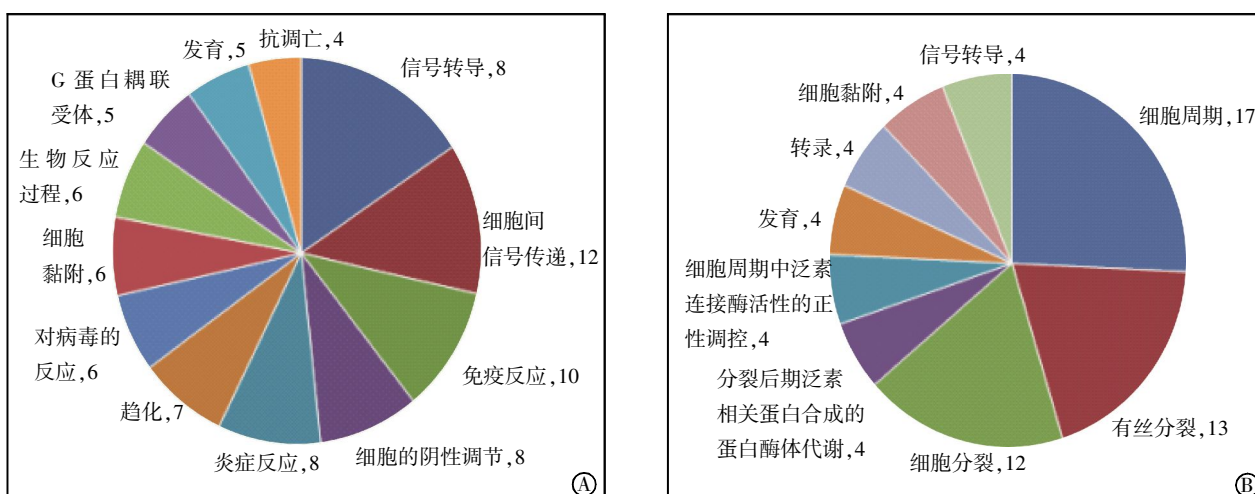
在基因芯片所得到的差异表达基因中,从中筛选出差异比较明显的数个基因:转谷氨酰胺酶 2(transglutaminase 2,TGM2)、趋化因子 7(C-C motif chemokine 7,CCL7)、微原纤维相关蛋白 5(microfibril associated protein 5,MFAP5)、成纤维细胞生长因子受体 2(fibroblast growth factor receptor 2,FGFR2)、基质金属蛋白酶 1(matrix metalloproteinase-1,MMP-1)、斯钙素 1(stanniocalcin 1,STC1)、白介素(interleukin, IL)-32 和血管生成素样蛋白(angiotensin-like 4, ANGPTL4),为进一步验证芯片结果,我们又将原始



A: 上调基因; B: 下调基因。每个条目选择标准为上调基因数目 ≥ 8 或下调基因数目 ≥ 4 个, 同时 MC 与 MK 组比较 $P < 0.05$, 条目后面的数字代表上调或下调的基因数。

图 1 MC 与 MK 组比较表达上调和下调基因涉及的部分生物学功能总结

Figure 1 GO biologic process categories were selected from total list in the MC groups compared with the MK groups



A: 上调基因; B: 下调基因。每个条目选择标准为上调基因数目 ≥ 4 或下调基因数目 ≥ 4 个, 同时 MC 与 MK 组比较 $P < 0.05$, 条目后面的数字代表上调或下调的基因数。

图 2 MA 与 MK 组比较表达上调和下调基因涉及的部分生物学功能总结

Figure 2 GO biologic process categories were selected from total list in MA groups compared with MK ones

标本进行定量 PCR 的验证。PCR 产物琼脂糖凝胶电泳结果显示 MK、MA 和 MC 组 MSC 均表达 FGFR2、MFAP5、TGM2、STC1、CCL7、IL-32、MMP-1 和 ANGPTL4 基因, 电泳条带清晰, 未见明显杂带(图 3)。

进一步通过定量 PCR 方法, 以目的基因拷贝数/内参 GAPDH 拷贝数比值代表相应基因的表达水平, 将 3 组标本的基因相对表达水平取平均值后, 将 MC 与 MK 组、MA 与 MK 组平均值的比值作比较

(表 4)。结果显示: ①与 MK 组相比, MC 组 MSC 的 MMP-1、STC1、CCL7、TGM2、ANGPTL4 及 IL-32 的 mRNA 表达均增高, FGFR2、MFAP5 基因表达降低。②与 MK 组相比, MA 组 MSC 的 MMP-1、STC1、CCL7、TGM2、ANGPTL4、MFAP5 基因表达水平升高, 而 FGFR2 和 IL-32 的基因表达水平仍下降。以上定量 PCR 结果提示各基因表达变化趋势均与基因芯片的结果相一致。

表 2 MC 组与 MK 组比较差异基因所涉及到信号通路

Table 2 The pathways for differential genes in the MC groups compared with the MK groups

信号通路	数量	上调	下调
细胞因子及其受体	17	12	5
MAPK 信号通路	14	9	5
Toll 样受体信号通路	10	10	0
局部黏附	10	5	5
Wnt 信号通路	9	4	5
JAK-STAT 信号通路	9	7	2
p53 信号通路	8	7	1
肌动蛋白细胞骨架调节	8	2	6
ECM 与受体	7	2	5
TGF-β 信号通路	7	2	5
细胞凋亡	7	5	2

信号通路的选择标准为差异基因数目 ≥ 7, 同时 $P < 0.01$ 。

表 3 MA 组与 MK 组比较差异基因所涉及到信号通路

Table 3 The pathways for differential genes in MA groups compared with MK groups

信号通路	数量	上调	下调
细胞因子及其受体	11	10	1
细胞周期	10	2	8
膀胱癌	5	5	0
p53 信号通路	5	1	4
Toll 样受体信号通路	5	5	0
局部黏附	5	5	0
MAPK 信号通路	5	2	3
ECM 与受体	4	3	1
小细胞肺癌	4	4	0
造血细胞	4	3	1

信号通路的选择标准为差异基因数目 ≥ 4, 同时 $P < 0.01$ 。

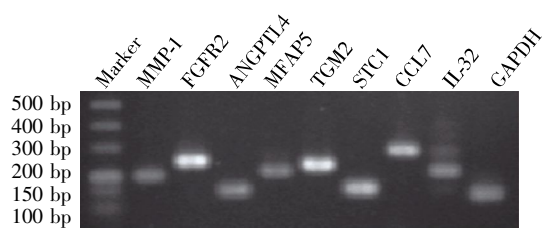


图 3 RT-PCR 验证各差异基因在正常 MSC(MK 组)的表达

Figure 3 Differential genes expressed in normal MSC (the MK groups) assayed by RT-PCR

3 讨论

目前认为肿瘤微环境是支持瘤细胞持续生长增殖的重要基础,对肿瘤的发生发展起促进作用。作为骨髓微环境中重要成分之一的 MSC,近年的研究提示 MM 患者的 MSC 存在多种异常,包括对淋巴细胞的免疫调节能力缺陷,生长因子受体表达减弱,基因芯片发现有趋化相关因子 mRNA 表达改变等,进

而参与肿瘤微环境的形成。我们既往的研究也发现与正常人或非骨髓瘤患者的 MSC 相比,MM 患者的 MSC 的炎症及趋化相关因子如肝细胞生长因子、基质细胞衍生因子等的表达均存在异常^[6],这些异常多支持骨髓瘤的进展和耐药,提示其参与了 MM 的疾病过程。

表 4 基因表达拷贝数的平均值比较

Table 4 Real-time PCR results for expression copies of genes

基因	MC/MK	MA/MK
MMP1	24.50	15.48
FGFR2	0.09	0.65
STC1	6.97	11.98
CCL7	4.54	9.26
TGM2	3.59	9.66
ANGPTL4	30.37	11.96
MFAP5	0.13	12.87
IL-32	6.31	0.65

本研究应用基因芯片检测发现,正常 MSC 与骨髓瘤细胞共培养后,与单独培养的 MSC 相比,其基因表达谱发生多种变化,其中差异表达基因的功能涉及到细胞的信号转导、免疫调节及炎症反应、趋化、代谢、抗凋亡、蛋白合成等多个方面。差异表达基因影响的信号通路包括细胞因子及其受体、Toll 样受体、MAPK、p53、Wnt、JAK-STAT、ECM、TGF- β 等多种信号通路,据报道上述部分信号通路参与了 MM 的疾病进程。

而 MSC 在与骨髓瘤细胞共培养,去除骨髓瘤细胞再继续单独培养一段时间后,与对照组相比较,在分析的 10 000 个基因中,共发现 367 个差异基因,其中有 218 个基因表达上调(218/367,59.40%),149 个基因表达下调(149/367,40.60%),这些差异基因也涉及细胞生长、分化、运动及代谢的多个过程。而 MSC 与骨髓瘤细胞相互作用一旦发生继发性改变后,有些基因的差异表达并不随着骨髓瘤细胞的去除而发生逆转,而另外一些基因的差异表达则在去除骨髓瘤细胞后恢复至原来水平。本文的结果提示:治疗后的 MM 患者即使骨髓瘤细胞绝大部分清除后,骨髓中 MSC 的异常也许仍然存在,这可能是疾病复发的原因之一。此外还有一个有趣的现象,部分差异表达基因是在 MSC 与骨髓瘤细胞脱离接触后出现的,其原因和意义目前尚不清楚,将进一步作相应研究。

此外,本研究初步筛选了 8 个差异表达基因,其中 MMP-1、MFAP5 以及 ANGPTL4 在新生血管的生成中具有重要作用,尤其 MMP-1 已证实可通过活化细胞外信号调节激酶刺激肿瘤微血管上皮细胞生成,促进肿瘤血管的发生,导致肿瘤的生长和转移,同时还参与了骨质吸收和肿瘤浸润的过程,进而导致溶骨性损害和骨髓瘤细胞的髓外浸润^[7,8]。而 ANGPTL4 对不同的肿瘤却有截然相反的作用,在肺癌和黑色素瘤中 ANGPTL4 可抑制肿瘤细胞的迁移与侵袭,而在胃癌、结肠癌等消化道肿瘤中,ANGPTL4 却可通过增强静脉血管的通透性而促进肿瘤细胞的血管转移^[9]。同时研究发现 MFAP5 过表达时也可促进卵巢癌细胞的增殖、转移及耐药等^[10],但是其具体机制仍待进一步研究。

CCL7 和 IL-32 作为多效性的趋化相关因子,可通过活化及诱导免疫细胞产生大量的促炎因子,这些炎性因子作为肿瘤微环境的重要组分,在参与肿瘤细胞的生长、趋化、免疫调节以及炎症反应等过程中具有重要作用。而作为自然杀伤细胞(NK 细胞)的内生性细胞因子,IL-32 在 NK 细胞介导的对肿瘤

细胞的细胞毒作用中也具有重要作用^[11]。IL-32 α 过表达时可以通过激活 p38 MAPK 增强慢性髓细胞白血病细胞 Fas 及 UL16 结合蛋白 2 的表达,进而增强慢性髓细胞白血病细胞对 NK 细胞的易感性而促进其凋亡^[12]。而 TGM2 却可通过聚合 BAX 抑制细胞的内在凋亡途径,以及通过上调 MMP-9 蛋白的表达促进癌细胞的播散与转移^[13-14]。

FGFR2 以及 STC1 在调节细胞的增殖、分化、血管生成以及骨骼发育等过程中均起着十分重要的作用,尤其是参与骨重塑过程的调控^[15]。同时多项研究证实 FGFR2 以及 STC1 与一些血液系统肿瘤也有一定的相关性,如白血病、淋巴瘤以及骨髓增生性疾病等^[16],尤其在白血病患者诊断和复发时 STC1 转录水平明显升高,已成为急性白血病微小残留病和复发早期诊断的一个新的标志物^[17]。

在本研究中,通过基因芯片分析正常人 MSC 与骨髓瘤细胞相互作用后基因表达谱变化情况,发现与骨髓瘤细胞共培养后,MSC 细胞内与生长分化、信号转导、免疫调节及炎症反应、趋化、抗凋亡以及耐药等多种生物学功能相关的基因表达均发生继发性变化,并且部分基因在 MSC 脱离骨髓瘤细胞后仍然异常表达。此外,筛选和验证的 8 个差异表达基因中,除 MMP-1 外的其他差异表达基因目前尚无与 MM 相关的报道。本研究为进一步研究 MSC 在 MM 疾病进程中的分子机制提供了线索。

[参考文献]

- [1] Corre J, Mahtouk K, Attal M, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells are abnormal in multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2007, 21(5):1079-1088
- [2] Matsui W, Wang Q, Barber JP, et al. Clonogenic multiple myeloma progenitors, stem cell properties, and drug resistance [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(1):190-197
- [3] Son BR, Marquez-Curtis LA, Kucia M, et al. Migration of bone marrow and cord blood mesenchymal stem cells in vitro is regulated by stromal-derived factor-1-CXCR4 and hepatocyte growth factor-c-met axes and involves matrix metalloproteinases [J]. *Stem Cells*, 2006, 24(5):1254-1264
- [4] Fei XM, Wu YJ, Chang Z, et al. Co-culture of cord blood CD34(+) cells with human BM mesenchymal stromal cells enhances short-term engraftment of cord blood cells in NOD/SCID mice [J]. *Cytotherapy*, 2007, 9(4):338-347
- [5] Wu Z, Zhang W, Lu Y, et al. Transcriptome profiling of zebrafish infected with *Streptococcus suis* [J]. *Microb Pathog*, 2010, 48(5):178-187
- [6] 胡慧瑾, 陆化, 费小明, 等. 多发性骨髓瘤患者骨髓间

- 充质干细胞趋化相关因子基因表达异常[J]. 中国实验血液学杂志, 2011, 19(1):59-63
- [7] Hecht M, von Metzler I, Sack K, et al. Interactions of myeloma cells with osteoclasts promote tumour expansion and bone degradation through activation of a complex signalling network and upregulation of cathepsin K, matrix metalloproteinases (MMPs) and urokinase plasminogen activator (uPA)[J]. *Exp Cell Res*, 2008, 314(5): 1082-1093
- [8] Hecht M, Heider U, Kaiser M, et al. Osteoblasts promote migration and invasion of myeloma cells through upregulation of matrix metalloproteinases, urokinase plasminogen activator, hepatocyte growth factor and activation of p38 MAPK[J]. *Br J Haematol*, 2007, 138(4):446-458
- [9] Nakayama T, Hirakawa H, Shibata K, et al. Expression of angiopoietin-like 4 (ANGPTL4) in human colorectal cancer; ANGPTL4 promotes venous invasion and distant metastasis[J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(4):929-935
- [10] Mok SC, Bonome T, Vathipadiekal V, et al. A gene signature predictive for outcome in advanced ovarian cancer identifies a survival factor; microfibril-associated glycoprotein 2[J]. *Cancer Cell*, 2009, 16(6):521-532
- [11] Park MH, Song MJ, Cho MC, et al. Interleukin-32 enhances cytotoxic effect of natural killer cells to cancer cells via activation of death receptor 3[J]. *Immunology*, 2012, 135(1):63-72
- [12] Cheon S, Lee JH, Park S, et al. Overexpression of IL-32 increases natural killer cell-mediated killing through up-regulation of Fas and UL16-binding protein 2 (ULBP2) expression in human chronic myeloid leukemia cells[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(14):12049-12055
- [13] Li Z, Xu X, Bai L, et al. Epidermal growth factor receptor-mediated tissue transglutaminase overexpression couples acquired tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand resistance and migration through c-FLIP and MMP-9 proteins in lung cancer cells[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(24):21164-21172
- [14] Kim HJ, Roh MS, Son CH, et al. Loss of Med1/TRAP220 promotes the invasion and metastasis of human non-small-cell lung cancer cells by modulating the expression of metastasis-related genes[J]. *Cancer Lett*, 2012, 312(2):195-202
- [15] Kawaguchi H, Nakamura K, Tabata Y, et al. Acceleration of fracture healing in nonhuman primates by fibroblast growth factor-2[J]. *Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86(2):875-880
- [16] Khnykin D, Troen G, Berner JM, et al. The expression of fibroblast growth factors and their receptors in Hodgkin's lymphoma[J]. *J Pathol*, 2006, 208(3):431-438
- [17] Tohmiya Y, Koide Y, Fujimaki S, et al. Stanniocalcin-1 as a novel marker to detect minimal residual disease of human leukemia[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2004, 204(2):125-133

[收稿日期] 2012-09-18

欢迎投稿 欢迎订閱