

低氧对 K562 细胞侵袭转移的增强作用

聂应明,戴碧涛

(重庆医科大学附属儿童医院血液科,重庆 400014)

[摘要] 目的 研究低氧对白血病细胞株 K562 细胞侵袭能力和转移能力的影响。方法 细胞体外常规培养,用浓度为 1%,3%,5% 的氧分别处理细胞 24 h,以常氧培养 K562 细胞为对照组,通过细胞黏附实验检测细胞黏附力,细胞迁移实验检测细胞运动力,肿瘤细胞体外侵袭实验检测细胞侵袭力,RT-PCR 检测血管内皮生长因子(VEGF),MMP-2,MMP-9 mRNA 的表达,Western blot 检测细胞 HIF-1 α 蛋白的表达。结果 与对照组相比,3% 和 5% 的氧均增强 K562 细胞黏附力、运动力和侵袭力($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而且还能上调 K562 细胞 HIF-1 α 蛋白,HIF-1 α mRNA,VEGF mRNA,MMP9 mRNA,MMP2 mRNA 的表达($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);而 1% 氧与对照组相比,以上各检测指标无明显变化($P > 0.05$)。结论 适度低氧能增强白血病细胞株 K562 细胞侵袭能力和转移能力,其机制可能是通过 HIF-1 α 上调 VEGF,MMP-2 和 MMP-9 表达实现的。[中国当代儿科杂志,2009,11(7):566-570]

[关键词] 低氧;侵袭转移;缺氧诱导因子-1 α ;血管内皮生长因子;基质金属蛋白酶;K562 细胞

[中图分类号] R733.72 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2009)07-0566-05

Enhancement effects of hypoxia on invasion and metastasis of K562 cells

NIE Ying-Ming, DAI Bi-Tao. Department of Hematology, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China (Dai B-T, Email: bitaodai@126.com)

Abstract: Objective To study the potential effect of hypoxia on invasion and metastasis of leukemia cell line K562. **Methods** K562 cells were cultured with the conventional method *in vitro* and treated with 1%, 3% and 5% oxygen for 24 hrs. The normoxic cultured K562 cells were used as the control group. Cell adhesion assay, cell migration assay and cell invasion assay were used to detect the adhesion, migration and invasion abilities of K562 cells. RT-PCR was used to measure the mRNA expression of HIF-1 α , VEGF, MMP-2 and MMP-9. The protein level of HIF-1 α was measured by Western blot. **Results** Compared with the control group, the 3% and 5% oxygen treatment groups significantly increased the adhesion, migration and invasion abilities of K562 cells ($P < 0.05$ or < 0.01), and up-regulated the protein level of HIF-1 α and the mRNA levels of HIF-1 α , VEGF, MMP-9 and MMP-2 ($P < 0.05$ or 0.01). However, there were no significant differences in the above indexes between the 1% oxygen treatment and the control groups. **Conclusions** Moderate hypoxia can enhance the abilities of invasion and metastasis of K562 cells, probably by an up-regulation of HIF-1 α level and VEGF, MMP-2 and MMP-9 mRNA expression. [Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11 (7):566-570]

Key words: Hypoxia; Invasion and metastasis; Hypoxia inducible factor-1 α ; Vascular endothelial growth factor; Matrix metalloproteinase; K562 cell

白血病是造血系统的恶性肿瘤,肿瘤细胞发生侵袭转移是大多数癌症患者死亡的主要原因。缺氧是恶性肿瘤微环境的基本特征之一。缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor -1 alpha, HIF- 1 α)是受低氧直接调控的主要核转录因子之一,在肿瘤细胞的增殖、浸润和转移过程中起重要作用,低氧可上调其 mRNA 和蛋白表达水平^[1]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是促进血管生成的重要因子,它能促进血管形成和新基质形成,为肿瘤生长、侵袭和转移提供基础^[2];基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)在肿瘤细胞侵袭和转移中的作用主要通过胞外水解作用,破坏胞外基质的平衡,从而使肿瘤细胞突破基底膜和细胞外基质构成的组织化学屏障,侵袭到周围组织及转移至远处组织^[3]。目前的研究表明,在实体瘤中 HIF-1 α 可通过调控 VEGF 和 MMPs 等靶基因的转录,促进血管的形成及细胞外基质的降解,从而使肿瘤细胞发生侵袭转移^[1,4]。然而,有关低氧对

[收稿日期]2008-11-28;[修回日期]2008-12-24
[作者简介]聂应明,男,硕士研究生。主攻方向:血液肿瘤疾病。
[通讯作者]戴碧涛,女,副教授,重庆医科大学附属儿童医院血液科,邮编:400014。

白血病细胞侵袭转移的研究尚未见报道。本实验以人慢性髓细胞性白血病细胞株 K562 细胞为研究对象,观察低氧对 K562 细胞侵袭转移能力的影响,并进一步探讨白血病细胞侵袭转移机制。

1 材料和方法

1.1 细胞株、主要试剂和仪器

1.1.1 细胞株 人慢性髓细胞性白血病细胞株 K562 细胞、小鼠胚胎成纤维细胞系 NIH3T3 均由重庆医科大学儿科研究所传代保存。

1.1.2 主要试剂 优级胎牛血清(FBS)、小牛血清白蛋白(BSA, TBD 公司);四甲基偶氮唑蓝(MTT)、二甲基亚砷(DMSO, Sigama 公司);人工重构成基底膜胶(Matrigel, BD 公司);纤维粘连蛋白(FN, 罗氏公司);聚碳酸酯微孔滤膜(Millicell 小室, Millipore 公司);Trizol reagent(Invitrogen 公司);TaKaRa RT-PCR 试剂盒(宝生物工程有限公司);鼠抗人 HIF-1 α 单克隆抗体、山羊抗鼠多克隆抗体、辣根酶标记的 GAPDH(Santa Cruz 公司)

1.1.3 引物 上海英骏生物技术有限公司合成(表1)。

表1 引物序列、扩增片段及退火温度

基因	引物序列	大小 (bp)	退火 温度(℃)
HIF-1 α	5'-CCCTGCAGTAGGTTTCTGCT-3'	460	64
	5'-CTCAAAGTCGGACAGCTCCA-3'		
VEGF	5'-AGTGCTCCCAGGCTGCAC-3'	69	66
	5'-TCCATGAACTTCACCACTTCGT-3'		
MMP-9	5'-TCGAACTTTGACAGCGACAAGA-3'	214	58
	5'-GAACCTGAGCCACGGCCTCCAA-3'		
MMP-2	5'-CCTGGAAGCGGAATGGAA-3'	346	60
	5'-GTCCGGCCCCCTCCATCGT-3'		
β -actin1	5'-GGAAATCGTGCGTGACAT-3'	474	58
	5'-GTCCGGCCCCCTCCATCGT-3'		
β -actin2	GTGATCTCCTTCTGTCATCTGT	695	59
	CACCACACCTTCTACAATGAGC		
GAPDH	5'-CATGAGAAGTATGACAACAGCCT-3'	113	66
	5'-AGTCCTTCCACGATACCAAAAGT-3		

1.1.4 主要仪器 CO₂ 细胞培养箱(Forma Scientific, 美国),倒置显微镜(Nikon DS-U1, 日本),酶标仪(TECAN SUNRISE, 瑞士),梯度 PCR 仪(Biometra, 美国),电泳仪(BIO-RAD, 美国),凝胶成像扫描系统(BIO-RAD, 美国),测氧仪(BIO-RAD, 美国),半干转电转仪(BIO-RAD, 美国)。

1.2 细胞培养和分组

K562 细胞复苏后用含 10% FBS 的 RPMI 1640 培

养液常规培养,取对数生长期的细胞用于实验。将细胞置于 CO₂ 细胞培养箱独立密闭小室,充入 5% CO₂ 和 95% 氮气混合气体,用测氧仪分别调整氧浓度为 1% ,3% ,5% ,分别培养 24 h,以常氧培养细胞为正常对照组;1% ,3% ,5% 氧浓度条件下培养组分别为 1% 处理组、3% 处理组、5% 处理组;另设空白组即只加等量的培养液而不加细胞悬液。

1.3 细胞黏附实验

用无血清培养液稀释 FN(0.1 g/L),取 50 μ L/孔加入 96 孔培养板,4℃ 包被过夜。吸出残余液体,每孔加入 50 μ L 含 10 g/L BSA 的无血清培养液,37℃ 孵育 30 min。用含 10 g/L BSA 和 1% FBS 的培养液,调整细胞密度为 5 $\times$ 10⁸/L,将 200 μ L 细胞悬液接种于包被 FN 的 96 孔板;每组平行设 5 个复孔。37℃、5% CO₂ 培养箱内培养 1 h 后,弃上清,PBS 冲洗除去未粘附细胞,弃 PBS 后加 MTT 液(5 g/L) 20 μ L/孔,置 37℃ 培养箱内孵育 4 h,平板离心机离心(1 000 r/min)5 min,弃上清,加入 DMSO 150 μ L/孔,振荡 2 min,酶标仪测各孔细胞 490 nm 处吸光度值(A 值),间接计数黏附细胞数^[5]。以对照组 A 值为参照,按以下公式计算各组细胞黏附率:

黏附率 = [(实验组 A 值-空白组 A 值)/(正常对照组 A 值-空白组 A 值)] $\times$ 100%

1.4 细胞迁移实验

制备条件培养液:常规培养 NIH3T3 细胞,在长势良好的情况下,换无血清培养液继续培养 24 h,收集上清液,过滤除菌,-20℃ 保存备用。用无血清培养液调整细胞密度为 5 $\times$ 10⁸/L,将 Millicell 小室放入 24 孔培养板,上室加入 200 μ L 细胞悬液,下室加入条件培养液和含 10% FBS 培养液各 200 μ L,另设空白组,只加等量的培养液而不加细胞悬液,每组平行设 5 个复孔。置 37℃、5% CO₂ 培养箱内培养 12 h 后,取出 Millicell 小室,收集运动至下室的细胞,MTT 法测 A 值间接计数运动穿膜细胞数^[5]。以对照组 A 值为参照,按以下公式计算各组细胞迁移率:

迁移率 = [(实验组 A 值-空白组 A 值)/(正常对照组 A 值-空白组 A 值)] $\times$ 100%

1.5 肿瘤细胞体外侵袭实验

用无血清培养液适当稀释 Matrigel(按试剂说明书操作),取 50 μ L Matrigel 稀释液均匀包被 Millicell 小室底部的正面,室温风干。取 50 μ L FN(0.1 g/L)均匀包被 Millicell 小室底部的反面,室温风干。将 Millicell 小室放入 24 孔培养板,上室培养液为含 10 g/L BSA 和 1% FBS 培养液,调整细胞密度为 5 $\times$ 10⁸/L,将 200 μ L 细胞悬液接种到上室,下室加

入条件培养液和含 20% FBS 培养液各 200 μ L, 每组平行设 5 个复孔。置 37℃、5% CO₂ 培养箱内培养 48 h 后, 取出 Millicell 小室, 用棉签擦去微孔滤膜上层的细胞, 固定、染色穿过微孔滤膜侵袭至下室的细胞, 在 400 倍倒置显微镜下计数侵袭穿膜细胞数, 每张膜选取 10 个视野^[5]。以对照组侵袭细胞数为参照, 按以下公式计算各组细胞侵袭率:

侵袭率 = (实验组侵袭穿膜细胞数/ 正常对照组侵袭穿膜细胞数) $\times$ 100%

1.6 逆转录聚合酶链式反应 (RT-PCR)

1%、3%、5% 氧分别作用 K562 细胞 24 h 后, 各组收集 5 $\times$ 10⁶ 个细胞, 应用 Trizol reagent 提取各组细胞的总 RNA, 紫外分光光度仪和 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定总 RNA 的质量。按 RT-PCR 试剂盒说明书进行逆转录和扩增, 每组扩增 30 个循环, 各组退火温度见表 1。HIF-1 α , MMP-2, MMP-9 PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳分离, VEGF 的 PCR 产物经 4% 琼脂糖凝胶电泳分离, 凝胶成像仪图像结果扫描, 用 Quantity One 图像分析软件包进行光密度计算, 以 β -actin 或 GAPDH 为内参校正。

1.7 蛋白质免疫印迹 (Western blot)

1%、3%、5% 氧分别作用 K562 细胞 24 h 后, 各组收集 5 $\times$ 10⁶ 个细胞, 应用蛋白提取试剂盒提取各组细胞总蛋白, BCA 法蛋白定量, 按每泳道 50 μ g 蛋白进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 分离胶浓度均为 8%, 浓缩胶浓度 5%。半干法电转移至硝酸纤维素膜, 含 5% 脱脂奶粉的 TTBS (1.5 g 奶粉加入 30 mL 含 0.05% Tween 的 TBS 溶液配制而成) 4℃ 封闭 2 h, 一抗 (1:100 稀释) 孵育过夜, 二抗孵育 1 h, 化学发光法显色, 凝胶成像仪图像结果扫描, 用 Quantity One 图像分析软件包进行光密度计算, 以 GAPDH 为内参校正。

1.8 统计学分析方法

所得结果均用均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 数据分析采用 SPSS 12.0, 计量资料的多组比较采用方差分析, $P < 0.05$ 有显著性意义。

2 结果

2.1 低氧对 K562 细胞黏附力的影响

1%、3%、5% 氧分别处理 K562 细胞 24 h 后, 以常氧培养 K562 细胞为对照组进行黏附实验。经统计学分析, 3% 处理组、5% 处理组黏附细胞数明显多于对照组和 1% 处理组 ($P < 0.01$), 3% 处理组与 5% 处理组比较, 前者细胞黏附能力强于后者

($P < 0.05$); 1% 处理组与对照组比较, 差异无显著性 ($P > 0.05$), 见表 2。

表 2 不同浓度氧处理 K562 细胞 24 h 后的细胞黏附力

($\bar{x} \pm s, n = 5$)		
组别	吸光度值	黏附率 (%)
空白组	0.047 $\pm$ 0.002	—
对照组	0.086 $\pm$ 0.005	100
1% 处理组	0.087 $\pm$ 0.007	101.20 $\pm$ 0.17
3% 处理组	0.121 $\pm$ 0.006 ^{a, b}	191.60 $\pm$ 0.27
5% 处理组	0.109 $\pm$ 0.007 ^{b, c}	160.00 $\pm$ 0.24

a: 与对照组比较, $P < 0.01$; b: 与 1% 处理组比较, $P < 0.01$; c: 与 3% 处理组比较, $P < 0.05$

2.2 低氧对 K562 细胞运动能力的影响

1%、3%、5% 氧分别处理 K562 细胞 24 h 后, 以常氧培养 K562 细胞为对照组进行迁移实验。经统计学分析, 3% 处理组和 5% 处理组穿膜细胞数明显多于对照组和 1% 处理组 ($P < 0.01$), 3% 处理组与 5% 处理组比较, 前者运动能力有明显增强 ($P < 0.01$); 1% 处理组与对照组比较差异无显著性 ($P > 0.05$), 见表 3。

表 3 不同浓度氧处理 K562 细胞 24 h 后的细胞运动能力

($\bar{x} \pm s, n = 5$)		
组别	吸光度值	迁移率 (%)
空白组	0.045 $\pm$ 0.02	—
对照组	0.074 $\pm$ 0.04	100
1% 处理组	0.076 $\pm$ 0.04	110.09 $\pm$ 0.20
3% 处理组	0.107 $\pm$ 0.04 ^{a, b}	214.71 $\pm$ 0.30
5% 处理组	0.089 $\pm$ 0.04 ^{a, b, c}	154.60 $\pm$ 0.29

a: 与对照组比较, $P < 0.01$; b: 与 1% 处理组比较, $P < 0.01$; c: 与 3% 处理组比较, $P < 0.01$

2.3 低氧对 K562 细胞侵袭能力的影响

1%、3%、5% 氧分别处理 K562 细胞 24 h 后, 以常氧培养 K562 细胞为对照组进行侵袭实验。经统计学分析, 3% 处理组和 5% 处理组穿膜细胞数明显多于对照组及 1% 处理组 ($P < 0.01$); 3% 处理组与 5% 处理组比较, 前者侵袭能力明显强于后者 ($P < 0.05$); 1% 处理组与对照组比较, 差异无显著性 ($P > 0.05$), 见表 4。

2.4 低氧对 K562 细胞 HIF1- α , VEGF, MMP-2 和 MMP-9 mRNA 的影响

各组总 RNA 经紫外分光光度仪测 A₂₆₀/A₂₈₀ 比值 > 1.8 , 经 1% 琼脂糖凝胶电泳分离后, 可见 3 条亮度不等的条带, 由亮到暗依次为 28S、18S 和 5.8S, 符合实验要求。各组 PCR 产物电泳结果见图 1。

表 4 不同浓度氧处理 K562 细胞 24 h 后的细胞
侵袭力

($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	侵袭细胞数(个)	侵袭率(%)
对照组	97.2 ± 3.7	100
1% 处理组	97.6 ± 6.5	100.7 ± 0.1
3% 处理组	141.0 ± 6.2 ^{a,b}	146.3 ± 0.1
5% 处理组	131.4 ± 4.4 ^{a,b,c}	127.5 ± 0.1

a:与对照组比较, $P < 0.01$;b:与 1% 处理组比较, $P < 0.01$;c:与 3% 处理组比较, $P < 0.05$

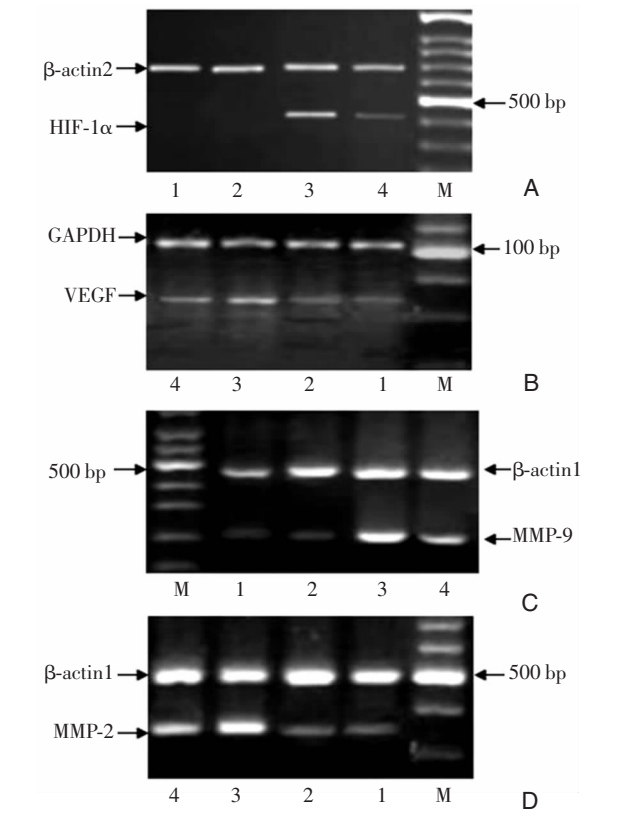


图 1 各组 PCR 产物电泳结果 A: HIF-1 α mRNA; B: VEGF mRNA; C: MMP-9 mRNA; D: MMP-2 mRNA
1:对照组; 2:1% 处理组; 3:3% 处理组; 4:5% 处理组; M:Marker

表 5 不同浓度氧处理 K562 细胞 24 h 后 HIF1- α , VEGF, MMP-9 mRNA 表达的影响

($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	HIF1- α	VEGF	MMP-9	MMP-2
对照组	0.08 ± 0.02	0.41 ± 0.03	0.35 ± 0.04	0.52 ± 0.06
1% 处理组	0.08 ± 0.02	0.42 ± 0.04	0.34 ± 0.02	0.50 ± 0.06
3% 处理组	0.91 ± 0.06 ^{a,b}	0.72 ± 0.04 ^{a,b}	0.87 ± 0.05 ^{a,b}	0.98 ± 0.03 ^{a,b}
5% 处理组	0.66 ± 0.04 ^{a,b,c}	0.65 ± 0.03 ^{a,b,d}	0.76 ± 0.04 ^{a,b,d}	0.87 ± 0.04 ^{a,b,c}

a:与对照组比较, $P < 0.01$;b:与 1% 处理组比较, $P < 0.01$;c:与 3% 处理组比较, $P < 0.01$;d:与 3% 处理组比较, $P < 0.05$

3 讨论

低氧在肿瘤发生发展过程中的作用日益受到重视,目前的研究发现,恶性肿瘤内广泛缺氧,使肿瘤

图像用 Quantity One 图像分析软件包进行光密度计算,以 β -actin 或 GAPDH 为内参校正。经统计学分析,3% 处理组和 5% 处理组 HIF-1 α , VEGF, MMP-9 及 MMP-2 mRNA 的表达均明显高于对照组和 1% 处理组($P < 0.01$);与 5% 处理组比较,3% 处理组的 HIF-1 α mRNA ($P < 0.01$), VEGF mRNA ($P < 0.05$), MMP-9 mRNA ($P < 0.05$) 及 MMP-2 mRNA ($P < 0.01$) 的表达均有增强;1% 处理组与对照组比较,各检测指标差异无显著性($P > 0.05$),见表 5。

2.5 低氧对 K562 细胞表达 HIF1- α 蛋白的影响
各组总蛋白经 BCA 法蛋白定量后,按每泳道 50 μ g 蛋白进行电泳分离。各组 HIF1- α 蛋白 Western Blot 检测结果见图 2。

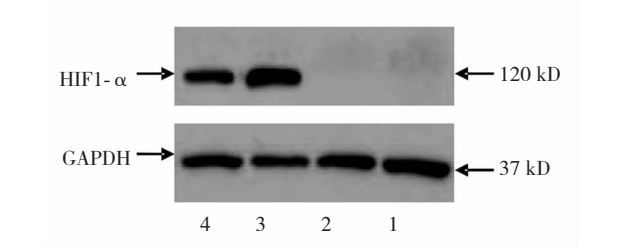


图 2 各组 HIF1- α 蛋白 Western blot 检测结果 1:对照组; 2:1% 处理组; 3:3% 处理组; 4:5% 处理组

图像用 Quantity One 图像分析软件包进行吸光度计算,以 GAPDH 为内参校正。经统计学分析, HIF-1 α 在 1% 处理组为 0.03 ± 0.01 、对照组为 0.04 ± 0.01 无明显表达,3% 处理组 HIF-1 α 蛋白的表达为 1.04 ± 0.05 ,5% 处理组为 0.88 ± 0.23 ,均明显高于对照组和 1% 处理组($P < 0.01$);3% ,5% 处理组之间比较,3% 处理组 HIF-1 α 蛋白水平亦有明显高于 5% 处理组($P < 0.05$)。

细胞更具有侵袭性,容易发生远处转移^[6]。本研究发现,用不同浓度的氧培养 K562 细胞 24 h,浓度为 3% 和 5% 的氧均能增强 K562 细胞黏附力、运动力和侵袭力($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);而 1% 氧与常氧组相比,各检测指标差异无显著性($P > 0.05$),且细

胞无明显增殖。提示适度的低氧能增强 K562 细胞的侵袭能力和转移能力;过度低氧则可能因能量代谢障碍而使肿瘤细胞活性受到抑制。

为进一步探讨适度低氧增强 K562 细胞侵袭能力和转移能力的机制,本研究检测了 HIF-1 α 蛋白以及 HIF-1 α , VEGF, MMP-2, MMP-9 mRNA 表达水平。HIF-1 α 是 HIF-1 的功能性亚基,其基因位于 14q21-q24。在缺氧条件下, HIF-1 α 降解受阻,在细胞浆内积聚增多,同时向细胞核内转移,与缺氧反应元件上的 HIF-1 α 结合位点结合,启动靶基因转录表达,引起一系列细胞对缺氧的反应。同时,缺氧也可通过磷酸肌醇-3 激酶和丝裂原活化蛋白激酶途径将 HIF-1 α 磷酸化,增加其稳定性并增强 HIF-1 α 蛋白的合成^[7]。本实验中常氧条件下,在 HIF-1 α mRNA 及蛋白水平均无明显表达,而在 3% 和 5% 氧条件下培养 24 h K562 细胞 HIF-1 α 表达显著增加($P < 0.05$),提示低氧能上调 K562 细胞 HIF-1 α 的表达,但在 1% 氧条件 HIF-1 α 未见明显表达,这可能与氧浓度过低抑制了细胞的活性有关。

VEGF 是促进血管生成的重要因子,它能促进血管形成和新基质形成,为肿瘤生长、侵袭和转移提供基础^[2]。而 HIF-1 α 可在多个层次调节 VEGF 的表达,主要包括增强 VEGF 的转录活性和增加 VEGF mRNA 稳定性两个方面^[8]。本研究发现 VEGF mRNA 在常氧条件下即有表达,随着氧浓度的降低其表达显著增加($P < 0.01$),且与 HIF-1 α mRNA 及蛋白表达变化趋势一致,提示 HIF-1 α 可上调 K562 细胞 VEGF mRNA 的表达。MMPs 也是 HIF-1 α 调控的靶基因之一。目前有研究表明, HIF-1 可以引起 MMPs 的表达增加, Kim 等^[9]发现,在非小细胞肺癌中 HIF-1 α , VEGF 和 MMP-9 mRNA 水平明显升高,且 HIF-1 α 与 VEGF 和 MMP-9 mRNA 表达具有相关性。而 Fujiwara 等^[10]研究发现,低氧可以明显诱导神经胶质瘤细胞株 HIF-1 α 和 MMP-2 mRNA 的表达,增强肿瘤细胞的侵袭能力,而用小分子 RNA 干扰 HIF-1 α 的表达后发现,低氧对 MMP-2 的诱导作用明显减弱。本研究结果表明, MMP-2 和 MMP-9 mRNA 在常氧条件下即有一定水平的表达,随着氧浓度的降低其表达显著增加($P < 0.01$),但在 1% 氧条件下无明显改变,提示适度低氧引起的 MMP-2 和 MMP-9 mRNA 升高与 HIF-1 α 有关。然而,目前 HIF-1 α 引起 MMPs 的升高主要局限于现象的研究,而具体机制可能与 Wnt 信号中 E-cadherin-catenin 复合物的形成有关^[11]。

此外,我们还发现,不同浓度的氧培养 K562 细胞 24 h 后, HIF-1 α 蛋白, HIF-1 α mRNA, VEGF mRNA, MMP-2 mRNA 及 MMP-9 mRNA 的表达水平随着氧分压的升高呈现出先升高而后降低的趋势,这与 K562 细胞侵袭能力和转移能力的变化一致。提示低氧可能通过 HIF-1 α 上调 VEGF, MMP-2 和 MMP-9 表达而增强 K562 细胞的侵袭能力和转移能力。

综上所述,适度低氧能增强白血病细胞株 K562 细胞的侵袭转移能力,其作用机制可能是通过 HIF-1 α 上调 VEGF, MMP-2 和 MMP-9 表达而实现的,但其具体调控机制尚不明确,有待进一步研究。针对肿瘤缺氧途径的特异性治疗,可望为白血病的髓外浸润提供新的治疗方法,从而改善患者的生活质量,提高生存率。

[参 考 文 献]

- [1] Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy [J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3 (10):721-732.
- [2] Siriwardena BS, Kudo Y, Ogawa I, Udagama MN, Tilakaratne WM, Takata T. VEGF-C is associated with lymphatic status and invasion in oral cancer [J]. J Clin Pathol, 2008, 61 (1):103-108.
- [3] Klein G, Vellenga E, Fraaije MW, Kamps WA, de Bont ES. The possible role of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in cancer, e. g. acute leukemia [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2004, 50 (2):87-100.
- [4] Sun B, Zhang D, Zhang S, Zhang W, Guo H, Zhao X. Hypoxia influences vasculogenic mimicry channel formation and tumor invasion-related protein expression in melanoma [J]. Cancer Lett, 2007, 249 (2):188-197.
- [5] 司徒镇强, 吴军正. 细胞培养 [M]. 西安:世界图书出版公司, 2004, 216-228.
- [6] Brahimi-Horn MC, Chiche J, Pouyssegur J. Hypoxia and cancer [J]. J Mol Med, 2007, 85 (12):1301-1307.
- [7] Zagórska A, Dulak J. HIF-1: the knowns and unknowns of hypoxia sensing [J]. Acta Biochim Pol, 2004, 51 (3):563-585.
- [8] Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: Role of the HIF system [J]. Nat Med, 2003, 9 (6):677-684.
- [9] Kim SJ, Rabbani ZN, Dewhirst MW, Vujaskovic Z, Vollmer RT, Schreiber EG, et al. Expression of HIF-1 α , CA IX, VEGF, and MMP-9 in surgically resected non-small cell lung cancer [J]. Lung Cancer, 2005, 49 (3):325-335.
- [10] Fujiwara S, Nakagawa K, Harada H, Nagato S, Furukawa K, Teraoka M, et al. Silencing hypoxia-inducible factor-1 α inhibits cell migration and invasion under hypoxic environment in malignant gliomas [J]. Int J Oncol, 2007, 30 (4):793-802.
- [11] 谢涛, 袁响林. 乏氧对基质金属蛋白酶促肿瘤转移的影响研究进展 [J]. 中国癌症杂志, 2006, 16 (12):1075-1078.

(本文编辑:徐福兰)