

人脐带间充质干细胞抑制前列腺癌转移的作用及机理研究*

吴云剑^{1,2}, 魏强^{1△}, 聂明², 尹勇², 席勇²

1. 四川大学华西医院 泌尿外科(成都 610041); 2. 成都市第一人民医院/成都市中西医结合医院 泌尿外科(成都 610041)

【摘要】 目的 观察人脐带间充质干细胞(UMSCs)是否能抑制前列腺癌的生长和转移,并探讨其机制。方法 以组织贴壁法分离人UMSCs。UMSCs与LNCaP、PC-3前列腺癌细胞Transwell共培养12 h、24 h、48 h和72 h,检测前列腺癌细胞的增殖状态,计算共培养72 h时UMSCs对前列腺癌细胞增殖的抑制率。UMSCs与LNCaP、PC-3前列腺癌细胞Transwell共培养48 h,检测UMSCs对前列腺癌细胞侵袭力的抑制情况,计算抑制率。采用MILLIPLEX[®]_{MAP}液相芯片技术检测共培养72 h后培养上清液中基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9和基质金属蛋白酶组织抑制因子(TIMP)-1、TIMP-2的表达。**结果** 与UMSCs共培养后,前列腺癌细胞的增殖受到了抑制。LNCaP增殖速度在共培养72 h时低于对照组($P < 0.05$),细胞增殖抑制率为37.21%;PC-3增殖速度在共培养48 h和72 h时低于对照组($P < 0.05$),72 h时细胞增殖抑制率为31.27%。Transwell侵袭实验结果提示共培养48 h后,前列腺癌细胞侵袭力受到抑制,侵袭力抑制率分别为48.35%(LNCaP)和46.91%(PC-3)。共培养72 h后,LNCaP和PC-3分泌的MMP-2、MMP-9较对照组减少($P < 0.05$),TIMP-1、TIMP-2的表达较对照组增加($P < 0.05$)。**结论** UMSCs可通过分泌MMPs的拮抗剂TIMPs来抑制前列腺癌细胞的增殖和侵袭转移能力。

【关键词】 间充质干细胞 前列腺癌 抑制

The Inhibitory Effect and Mechanism of Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells on Prostate Cancer Metastasis

WU Yun-jian^{1,2}, WEI Qiang^{1△}, NIE Ming², YIN Yong², XI Yong². 1. Department of Urology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Urology, Chengdu First People's Hospital/Chengdu Integrated TCM and Western Medicine Hospital, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: weiqiang933@126.com

【Abstract】 Objective To test whether umbilical cord mesenchymal stem cells (UMSCs) can inhibit the growth and metastasis of prostate cancer cells, and to investigate the mechanism. **Methods** The UMSCs from human umbilical cord tissue were isolate by explant technique. After being co-cultured the UMSCs with LNCaP and PC-3 cells for 24 h, 48 h and 72 h, LNCaP and PC-3 cells' proliferation were tested and the 72 h proliferation inhibitory rate (IR) was calculated. Transwell invasion assay was used to test the migration and invasion abilities of prostate cancer cells after being co-cultured with UMSCs for 48 h. The invasion IR were calculated. The expression of matrix metalloproteinases (MMP)-2, MMP-9, tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-1 and TIMP-2 in the 72 h co-culture supernatants were tested by MILLIPLEX[®]_{MAP} method. **Results** The proliferation of prostate cancer cells was inhibited after being co-cultured with UMSCs. The proliferation rate of LNCaP was lower than control group at 72 h ($P < 0.05$), and the proliferation IR was 37.21%. The proliferation rate of PC-3 was lower than control group at 48 h and 72 h ($P < 0.05$), and the proliferation IR was 31.27% at 72 h. Transwell invasion assays showed that co-culturing 48 h with UMSCs inhibited the invasive abilities of LNCaP and PC-3, and the invasion IR were 48.35% (LNCaP) and 46.91% (PC-3). Co-culturing 72 h, the expression of MMP-2 and MMP-9 were down-regulated ($P < 0.05$) and the secretion of TIMP-1 and TIMP-2 were up-regulated ($P < 0.05$) compared with control group. **Conclusion** UMSCs can inhibit the proliferation and invasion abilities of prostate cancer cells by secreting TIMPs, the antagonist of MMPs, which suppressed the overexpression of MMPs.

【Key words】 Mesenchymal stem cells Prostate cancer Inhibitory effect

间充质干细胞 (mesenchymal stem cells,

MSCs)向肿瘤部位迁移、“归巢”的特性的发现^[1-2],带来了大量的将MSCs应用于肿瘤的研究。MSCs对肿瘤细胞的生长、侵袭及转移能力等方面发挥着直接或间接的作用,这些作用可能是促进效应^[3],也可能对肿瘤产生抑制效应^[4]。由于MSCs具有向肿

* 四川省卫生和计划生育委员会科研课题(No. 150026)、成都市科技局科技惠民技术研发项目(No. 2015-HM01-00153-SF)和成都市卫生和计划生育委员会科研课题(No. 2015097)资助

△ 通信作者, E-mail: weiqiang933@126.com

瘤部位“归巢”和分泌细胞因子的功能,尽管有促进成瘤的风险,它仍然被认为是进行基因靶向治疗的理想细胞载体。

MSCs 与肿瘤关系密切, MSCs 除了可以作为携带肿瘤杀伤基因的载体,其本身在特定条件下,也具有抑制肿瘤的作用,特别是对肿瘤转移能力的抑制。一些研究^[5-6]发现,通过与 MSCs 共培养或注射 MSCs 的方式,肿瘤细胞的增殖和侵袭转移能力受到明显抑制。其机制可能与 MSCs 抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)有关。上皮细胞间质转型(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是一种在胎儿胚胎发生及成体自我组织修复中发生的生理过程,也是上皮来源肿瘤细胞发生转移的基础。前列腺癌(prostate cancer, PCa)是男性常见的恶性实体肿瘤,由于其发生、发展隐匿,确诊时常已发生骨转移,使患者丧失获得根治性治疗的机会,影响患者生存率。目前,调控前列腺癌转移的基因及机制还不甚清楚,近来一些研究发现 Wnt/ β -catenin 信号通路在前列腺癌 EMT 过程中发挥着极其重要的作用^[7]。

本研究主要以人脐带 MSCs (umbilical cord MSCs, UMSCs)为对象,观察 UMSCs 是否能抑制前列腺癌细胞的生长和转移。若存在抑制作用,则进一步探讨其抑制效应的机理是否与 MMPs 及其抑制因子基质金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMPs)有关。通过本课题的研究,以期为局部晚期或转移性前列腺癌的治疗提供可能的新思路和新途径。

1 材料与方法

1.1 细胞及主要试剂

脐带标本:脐带采集自四川大学华西第二医院住院的健康足月剖宫产妇,长度约 20 cm,4 h 内进行处理。本研究得到了本院医学伦理委员会的认可,并与胎儿父母签署了知情同意书。人类雄激素依赖性前列腺癌细胞株 LNCaP 及雄激素非依赖性前列腺癌细胞株 PC-3 均购自美国模式培养物集存库(American type culture collection, ATCC)。L-DMEM、H-DMEM、RPMI1640 培养基及胎牛血清(FBS)购自美国 Gibco 公司。Cell Counting Kit (CCK-8 试剂盒)购自上海领潮生物科技有限公司。人 MMPs 液相芯片试剂盒(HMMP2MAG)及 TIMPs 液相芯片试剂盒(HTIMP1MAG)购自德国 Merck Millipore 公司。Transwell 共培养体系用 12

孔板及小室(Chamber)购自康宁公司。Transwell 侵袭实验用 24 孔板及小室(Matrigel Invasion Chambers)购自 BD 公司。

1.2 UMSCs 的分离和培养

用含 30~50 mL L-DMEM 的无菌采集瓶采集健康足月剖宫产胎儿脐带,脐带长约 20 cm。将血凝块尽量去除,剖开动静脉,用 PBS 洗净血污, PBS 浸泡。将脐带组织剪碎至 1 mm \times 1 mm \times 1 mm 大小组织块,加 20~30 mL PBS 洗涤、离心、弃上清。按每 75 cm² 培养瓶接种 0.5 mL 脐带组织,同时,分别加入 10 mL 含血清完全培养液(10% FBS/L-DMEM),放入体积分数为 5%的 CO₂ 恒温增湿培养箱中培养。第 3 天半量换液,第 7 天全量换液,倒置显微镜下观察,待细胞生长至 80% 融合时,以 TNE(0.25% 胰蛋白酶,0.01% EDTA)消化,根据细胞数量按 1:2~1:3 传代。第 3 代(P3)细胞用于后续实验研究。

1.3 前列腺癌 LNCaP 细胞及 PC-3 细胞的培养

将复苏的 LNCaP 细胞和 PC-3 细胞分别加入 10 mL 10% FBS/RPMI1640 培养基和 10% FBS/H-DMEM 培养基中,放入孵箱,在 37 °C、体积分数为 5%的 CO₂ 及饱和湿度条件下培养。观察细胞生长情况,待长满培养瓶底 80% 时可予细胞传代。

1.4 UMSCs 与前列腺癌细胞 Transwell 共培养

以 0.4 μ m 孔径的 Transwell 小室将 UMSCs 和 LNCaP 细胞在 12 孔板内共培养,肿瘤细胞位于上室,接种密度为 0.5 \times 10⁵~1 \times 10⁵ mL⁻¹; UMSCs 位于下室,接种密度为 0.5 \times 10⁶~1 \times 10⁶ mL⁻¹。以相同接种密度单独培养的 LNCaP 细胞为阴性对照(negative control, NC)组。分别于 12 h、24 h、48 h、72 h 时以 CCK-8 检测共培养的前列腺癌 LNCaP 细胞和 NC 组的前列腺癌 LNCaP 细胞的增殖状态。UMSCs 与 PC-3 细胞共培养实验方法同 UMSCs 与 LNCaP 共培养。

1.5 CCK-8 实验检测肿瘤细胞增殖情况

分别于共培养 12 h、24 h、48 h、72 h 时,将 Transwell 小室转移至空白孔内,排除下室 UMSCs 对检测的影响,下室加入原 UMSCs 的培养基。实验组和 NC 组每孔均加入 40 μ L CCK-8 试剂,每组设 4 个平行孔和只加培养基不含细胞的空白对照(black control, BC)组,孵箱继续培养 4 h。于酶标仪上 450 nm 波长下检测各孔吸光度(A)值,得到连续 4 个 A₄₅₀ 值后绘制前列腺癌 LNCaP 和 PC-3 细胞增殖曲线。以时间为横坐标,测得的 A₄₅₀ 值为纵坐

标,代表肿瘤细胞相对数,绘制生长曲线。

计算共培养 72 h 时肿瘤细胞生长抑制率 (inhibitory rate, IR): $IR(\%) = (1 - \text{实验组 } A_{450}) / \text{阴性对照组 } A_{450} \times 100\%$ 。

1.6 Transwell 侵袭实验

将 UMSCs 和前列腺癌 LNCaP 细胞在 24 孔板 (8 μm , 基底膜内侧面附 Matrigel 基质胶) 内共培养。200 μL LNCaP 细胞接种于上室,接种密度为 $0.5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$; 200 μL UMSCs 位于下室,接种密度为 $0.5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ 。以相同接种密度单独培养于上室的 LNCaP 细胞为 NC 组,下室内加入完全培养基。若小室外侧面出现气泡,要将小室提起,去除气泡,再将小室放进培养板。共培养 48 h 后,计数穿过聚碳酸酯膜位于小室外侧面的 LNCaP 细胞。PC-3 细胞侵袭实验方法同 LNCaP 细胞侵袭实验。

计算肿瘤细胞侵袭力抑制率: $IR(\%) = (\text{NC 组穿过膜细胞数} - \text{实验组穿过膜细胞数}) / \text{NC 组穿过膜细胞数} \times 100\%$ 。

1.7 MILLIPLEX[®]_{MAP} 液相芯片检测 MMPs、TIMPs 的表达

收集 1.4 中与 UMSCs 共培养 72 h 后的 LNCaP 和 PC-3 细胞的培养上清液作为实验组;以单独培养 72 h 的两种前列腺癌细胞的上清液为对照组。按照 MILLIPLEX[®]_{MAP} 液相芯片说明书分别检测样本中的 MMP-2、MMP-9 和 TIMP-1、TIMP-2 的表达。

1.8 统计学方法

两组间均数的比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用方差分析,组间两两比较采用 SNK 和 LSD 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 UMSCs 的分离及培养

原代细胞培养至 10 d 左右细胞融合达到 90% 左右,细胞呈极性排列,集落呈漩涡状(图 1)。予细胞传代后,贴壁速度增快,生长迅速;3 d 后首次换液,5~7 d 左右细胞便铺满瓶底,融合成片,细胞排列较整齐,分布较均匀,生长较一致,杂细胞相对已较少可再次传代扩增。

2.2 前列腺癌细胞株的培养

2.2.1 前列腺癌 LNCaP 细胞的培养 经 10% FBS/RPMI1640 培养基培养后,正常生长的前列腺癌 LNCaP 细胞贴壁生长,界限清晰,培养液澄清透

明(图 2A);高倍镜下可见细胞向外伸出许多突触和突起,彼此之间通过突起相互联系成网状(图 2B)。

2.2.2 前列腺癌 PC-3 细胞的培养 正常生长的前列腺癌 PC-3 细胞株在 10% FBS/H-DMEM 培养基中生长快速、贴壁良好,胞体呈梭形,胞核明显,椭圆形或圆形,突触生长活跃(图 2C)。一般 2~3 d 就能长满 T25 培养瓶(图 2D)。

2.3 UMSCs 对前列腺癌细胞增殖的抑制作用

2.3.1 UMSCs 对 LNCaP 细胞增殖的抑制作用

UMSCs 与 LNCaP 共培养 24 h、48 h 时,实验组 LNCaP 细胞增殖速度与 NC 组差异无统计学意义;72 h 时实验组 LNCaP 细胞增殖速度低于 NC 组 ($P < 0.001$) (图 3A)。72 h 时 UMSCs 对 LNCaP 细胞的生长抑制率为 37.21%。

2.3.2 UMSCs 对 PC-3 细胞增殖的抑制作用

UMSCs 与 PC-3 共培养 24 h 时,实验组 PC-3 细胞增殖速度与 NC 组差异无统计学意义;48 h ($P = 0.002$) 和 72 h ($P < 0.001$) 时实验组 PC-3 细胞增殖速度低于 NC 组(图 3B)。72 h 时 UMSCs 对 PC-3 细胞的生长抑制率为 31.27%。

2.4 UMSCs 对前列腺癌细胞侵袭能力的抑制作用

2.4.1 UMSCs 对 LNCaP 细胞侵袭能力的抑制作用 结果见图 4。经与 UMSCs 共培养 48 h 后,实验组 LNCaP 细胞消化 Matrigel 基质胶穿过聚碳酸酯膜进入下室的细胞数量 (41.78 ± 7.07) 较 NC 组 (80.89 ± 8.61) 减少,差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。48 h 时 UMSCs 对 LNCaP 细胞侵袭力抑制率为 48.35%。

2.4.2 UMSCs 对 PC-3 细胞侵袭能力的抑制作用 结果见图 5。经与 UMSCs 共培养 48 h 后,实验组 PC-3 细胞消化 Matrigel 基质胶穿过聚碳酸酯膜进入下室的细胞数量 (108.78 ± 10.37) 较 NC 组 (204.89 ± 18.86) 减少,差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。48 h 时 UMSCs 对 PC-3 细胞侵袭力抑制率为 46.91%。

2.5 UMSCs 对前列腺癌细胞 MMPs 和 TIMPs 表达的影响

2.5.1 前列腺癌细胞 MMP-2、MMP-9 的表达

结果见附表。与 UMSCs 共培养 72 h 后,实验组无论是 LNCaP 还是 PC-3 细胞分泌的 MMP-2、MMP-9,均较 NC 组减少 ($P < 0.001$)。

2.5.2 前列腺癌细胞 TIMP-1、TIMP-2 的表达情况 结果见附表。与 UMSCs 共培养 72 h 后,实验组无论是 LNCaP 还是 PC-3 细胞分泌的 TIMP-1、TIMP-2 均较 NC 组增加 ($P < 0.001$)。

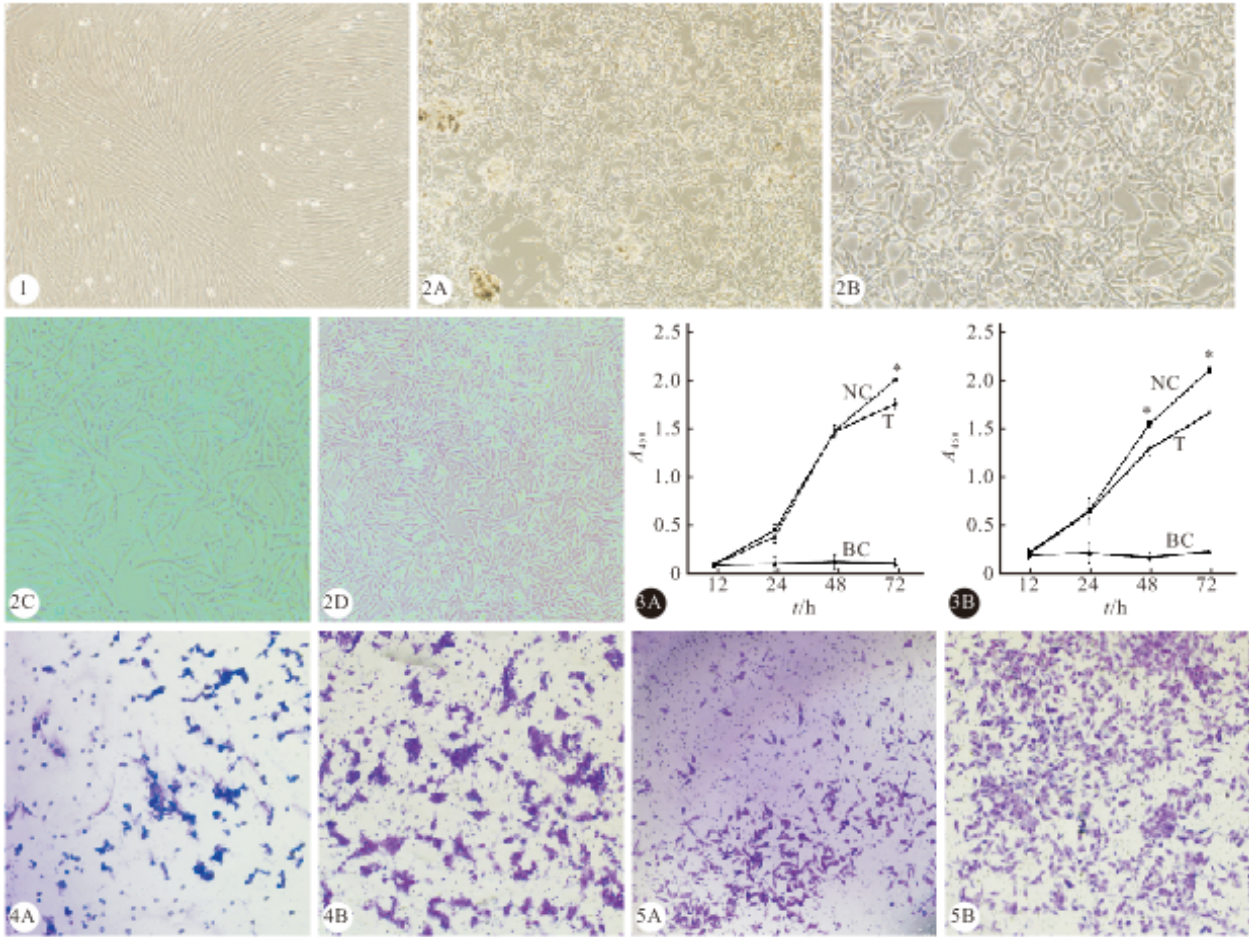


图 1 培养 10 d 的原代 UMSCs。×200
图 2 正常生长的前列腺癌 LNCaP 细胞和 PC-3 细胞
图 3 UMSCs 与 LNCaP(A) 和与 PC-3(B) 共培养抑制前列腺癌细胞增殖

图 4 UMSCs 对 LNCaP 细胞体外侵袭转移能力的影响。×100

图 5 UMSCs 对 PC-3 细胞体外侵袭转移能力的影响。×100

Fig 1 Day 10 cultivation of primary umbilical cord masenchymal stem cells. ×200

Fig 2 Morphology of human LNCaP and PC-3 cells

Fig 3 After co-cultured, the proliferation of LNCaP (A) and PC-3 (B) cells were inhibited by UMSCs (NC: Negative control group; BC: Blank control group; T: Treatment group. * $P < 0.05$, vs. NC group)

Fig 4 The inhibitory effect of UMSCs on invasiveness of LNCaP cells. ×100

Fig 5 The inhibitory effect of UMSCs on invasiveness of PC-3 cells. ×100

2A: The LNCaP cells grew adhering to the wall (×100); 2B: The LNCaP cells with many cytoplasmic processes cells interconnected with each other (×200); 2C: The spindle shape of PC-3 cells with many cytoplasmic processes presented good adherence (×200); 2D: The PC-3 cells kept confluent in the flask after cultivation for 2-3 days (×100); 4A: UMSCs+LNCaP group; 4B, 5B: NC group; 5A: UMSCs+PC-5 group

附表 共培养 72 h 后前列腺癌细胞 MMPs 和 TIMPs 的表达情况/(pg/mL)

Table MMPs and TIMPs changes in prostate cancer cells co-cultured with UMSCs *in vitro*/(pg/mL)

Index	LNCaP			PC-3		
	Treatment group	NC group	P	Treatment group	NC group	P
MMP-2	53.93±27.04	2 923.42±459.20	<0.001	83.52±110.48	1 397.67±164.86	<0.001
MMP-9	73.71±21.40	970.75±235.90	<0.001	58.14±5.58	964.08±66.75	<0.001
TIMP-1	79 865.33±15 330.81	1 967.67±118.88	<0.001	6 334.17±664.42	376.50±21.95	<0.001
TIMP-2	2 888.25±200.55	422.33±61.59	<0.001	4 303.33±579.34	1 023.41±45.42	<0.001

NC: Negative control

3 讨论

随着经济的发展和水平的提高,我国的前

列腺癌发病率近年来呈快速上升趋势。前列腺癌患者最主要的病死原因,是以骨转移为主的全身广泛转移,究其原因主要是:①前列腺癌起病隐匿,无明

显症状,一些患者往往于疾病确诊之时就已经发生了转移;②经系统内分泌治疗后,对抗雄激素治疗敏感的前列腺癌会逐渐转变为去势抵抗性前列腺癌(castration resistant prostate cancer, CRPC),使得内分泌治疗无效,疾病无法控制,导致转移。由于肿瘤细胞不依赖于雄激素生长,使得 CRPC 成为了一种缺乏有效药物治疗手段的不可治疗的疾病。目前虽然有一些针对 CRPC 的新药,如阿比特龙等,但仍然处于临床试验阶段,其真正疗效尚未明确证实。对于转移性前列腺癌的治疗,临床上仍然缺乏有效的办法。

近年来,由于 MSCs 具有强有力的调节免疫应答和改善血管生成的能力,并且具有弱免疫原性和向肿瘤部位归巢的能力^[8],MSCs 在肿瘤学界也引起了广泛的关注。一些研究已经证明,MSCs 可以通过激活 T 淋巴细胞以及 NK 细胞等方式发挥抑制增殖活跃细胞的细胞增殖的作用^[9-12],但其潜在机理尚不清楚。国内外研究发现骨髓和脂肪来源的 MSCs 都可以阻止肿瘤细胞的增殖和生长^[5-6],本研究选用 UMSCs 作为目标细胞,试图证明 UMSCs 与骨髓和脂肪来源的 MSCs 一样,对肿瘤细胞的增殖也能发挥这种抑制作用。本研究以前列腺癌 LNCaP 和 PC-3 细胞为研究对象,通过与 UMSCs 共培养发现,UMSCs 能够明显抑制前列腺癌 LNCaP 和 PC-3 细胞的增殖,并且分别在共培养第 72 h 和 48 h 时出现明显的增殖抑制效应。

MMP-2 和 MMP-9 的过量表达可促进肿瘤细胞突破降解基底膜,导致肿瘤细胞进入血液循环,再转移至远处器官。多个研究发现,MMP-2 和 MMP-9 与前列腺癌的转移有明确的关系。转移性前列腺癌患者的血浆和尿液中 MMP-2、MMP-9 含量明显增加^[13-14];MMP-2、MMP-9 的分泌可以促进前列腺肿瘤细胞血管的生成^[15],ZHANG 等^[16]发现转移前列腺癌中 MMP-2、MMP-9 的表达明显高于正常前列腺组织、良性前列腺增生组织和器官局限性前列腺癌组织。MMPs 的蛋白水解作用主要受一类内生性蛋白酶原抑制剂家族调节,即 TIMPs 家族。TIMPs 家族至少包括两种相对分子质量的成员:TIMP-1 和 TIMP-2。许多细胞系都分泌 MMPs 和 TIMPs 的复合物,从而使得基底膜不断更新、处于动态的平衡状态。虽然正常组织和肿瘤组织均表达 MMPs 和 TIMPs,但在表达量上存在差异,肿瘤组织的 TIMPs 表达受到抑制而 MMPs 表达增多,从而使得其细胞具有侵袭性。

本研究使用 Transwell 侵袭实验模型来模拟前列腺癌转移的过程。Transwell 小室底部内侧面的一层 Matrigel 基质胶即是模仿内皮下的基底膜。前列腺癌细胞分泌的 MMP-2 和 MMP-9 穿透、降解了 Matrigel 基质胶后即可进入小室底外侧面,从而发生“转移”。通过对与 UMSCs 共培养后突破 Matrigel 基质胶、到达小室底外侧面的 LNCaP、PC-3 两种前列腺癌细胞进行计数,来反映 UMSCs 对前列腺癌细胞侵袭转移能力的抑制作用。结果显示,共培养后无论是 LNCaP 还是 PC-3 细胞穿过 Matrigel 基质胶的数量明显比未共培养的细胞少,反映其侵袭力和转移能力的下降。通过以 MILLIPLEX[®]_{MAP} 液相芯片技术检测的 MMPs 和 TIMPs 的表达情况,推测上述实验结果的机理可能为:在共培养过程中,UMSCs 通过自身分泌或者促进前列腺癌细胞分泌 TIMPs 的方式抑制了 MMPs 的过量表达,从而使得前列腺癌细胞的侵袭转移能力受到了抑制。

综上所述,本研究探讨了 UMSCs 对前列腺癌 LNCaP、PC-3 细胞的增殖和侵袭转移能力的抑制作用,进一步揭示了 UMSCs 对前列腺癌细胞抑制作用的可能机制。本研究将 UMSCs 和前列腺癌的治疗联系在了一起,为局部晚期或转移性前列腺癌的治疗提供了可能的新思路和新途径。

参 考 文 献

- [1] ROORDA BD, TER ELST A, KAMPS WA, *et al.* Bone marrow-derived cells and tumor growth: contribution of bone marrow-derived cells to tumor micro-environments with special focus on mesenchymal stem cells. *Crit Rev Oncol Hematol*,2009,69(3):187-198.
- [2] KIDD S, SPAETH E, DEMBINSKI JL, *et al.* Direct evidence of mesenchymal stem cell tropism for tumor and wounding microenvironments using *in vivo* bioluminescent imaging. *Stem Cells*,2009,27(10):2614-2623.
- [3] BECKERMANN BM, KALLIFATIDIS G, GROTH A, *et al.* VEGF expression by mesenchymal stem cells contributes to angiogenesis in pancreatic carcinoma. *Br J Cancer*,2008,99(4):622-631.
- [4] BLOCK GJ, OHKOUCHI S, FUNG F, *et al.* Multipotent stromal cells are activated to reduce apoptosis in part by upregulation and secretion of stanniocalcin-1. *Stem Cells*, 2009,27(3):670-681.
- [5] ZHU Y, SUN Z, HAN Q, *et al.* Human mesenchymal stem cells inhibit cancer cell proliferation by secreting DKK-1. *Leukemia*,2009,23(5):925-933.
- [6] QIAO L, XU ZL, ZHAO TJ, *et al.* DKK1 secreted by

- mesenchymal stem cells inhibits growth of breast cancer cells via depression of Wnt signaling. *Cancer Lett*,2008,269(1): 67-77.
- [7] JIANG YG, LUO Y, HE DL, *et al*. Role of Wnt/ β -catenin signaling pathway in epithelial-mesenchymal transition of human prostate cancer induced by hypoxia-inducible factor-1 α . *Int J Urol*,2007,14(11):1034-1039.
- [8] DWYER RM, KHAN S, BARRY FP, *et al*. Advances in mesenchymal stem cell-mediated gene therapy for cancer. *Stem Cell Res Ther*,2010,1(3):25.
- [9] GLENNIE S, SOEIRO I, DYSON PJ, *et al*. Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T cells. *Blood*,2005,105(7):2821-2827.
- [10] AGGARWAL S, PITTENGER MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*, 2005,105(4):1815-1822.
- [11] CORCIONE A, BENVENUTO F, FERRETTI E, *et al*. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood*,2006,107(1):367-372.
- [12] SOTIROPOULOU PA, PEREZ SA, GRITZAPIS AD, *et al*. Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells. *Stem Cells*,2006,24(1):74-85.
- [13] MOSES MA, WIEDERSCHAIN D, LOUGHLIN KR, *et al*. Increased incidence of matrix metalloproteinases in urine of cancer patients. *Cancer Res*,1998,58(7):1395-1399.
- [14] GOHJI K, FUJIMOTO N, HARA I, *et al*. Serum matrix metalloproteinase-2 and its density in men with prostate cancer as a new predictor of disease extension. *Int J Cancer*, 1998,79(1):96-101.
- [15] STEARNS ME, RHIM J, WANG M. Interleukin 10 (IL-10) inhibition of primary human prostate cancer-induced angiogenesis: IL-10 stimulation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and inhibition of matrix metalloproteinase (MMP)-2/MMP-9 secretion. *Clin Cancer Res*,1999,5(1): 189-196.
- [16] ZHANG L, SHI J, FENG J, *et al*. Type IV collagenase (matrix metalloproteinase-2 and -9) in prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis*,2004,7(4):327-332.

(2016-10-10 收稿,2017-02-25 修回)

编辑 余琳

(上接第 530 页)

- [9] LI XQ, TIAN W, LIU XX, *et al*. Corosolic acid inhibits the proliferation of glomerular mesangial cells and protects against diabetic renal damage. *Sci Rep*,2016,6:26854[2016-10-11]. <http://www.nature.com/articles/srep26854>. doi: 10.1038/srep26854.
- [10] JIANG XY, LU DB, JIANG YZ, *et al*. PGC-1 α prevents apoptosis in adipose-derived stem cells by reducing reactive oxygen species production in a diabetic microenvironment. *Diabetes Res Clin Pract*, 2013,100(3): 368-375.
- [11] LABAER J, GARRETT MD, STEVENSON LF, *et al*. New functional activities for the p21 family of CDK inhibitors. *Genes Dev*,1997,11(7):847-862.
- [12] LIU CM, QI XL, YANG YF, *et al*. Betulinic acid inhibits cell proliferation and fibronectin accumulation in rat glomerular mesangial cells cultured under high glucose condition. *Biomed Pharmacother*,2016,80:338-342[2016-10-11]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2016.02.040>.
- [13] ZHU L, ZHAO S, LIU S, *et al*. PTEN regulates renal extracellular matrix deposit via increased CTGF in diabetes mellitus. *J Cell Biochem*,2016,117(5):1187-1198.
- [14] KLAASSEN I, VAN GEEST RJ, KUIPER EJ, *et al*. The role of CTGF in diabetic retinopathy. *Exp Eye Res*,2015, 133:37-48[2016-10-11]. <http://dx.org/10.1016/j.exer.2014.10.016>.
- [15] BAI X, HOU X, TIAN J, *et al*. CDK5 promotes renal tubulointerstitial fibrosis in diabetic nephropathy via erk1/2/ppargamma pathway. *Oncotarget*,2016,7(24):36510-36528.
- [16] WANG X, SHI L, HAN Z, *et al*. Follistatin-like 3 suppresses cell proliferation and fibronectin expression via p38MAPK pathway in rat mesangial cells cultured under high glucose. *Int J Clin Exp Med*,2015,8(9):15214-15221.
- [17] WANG Y, WANG Y, LUO M, *et al*. Novel curcumin analog C66 prevents diabetic nephropathy via JNK pathway with the involvement of p300/CBP-mediated histone acetylation. *Biochim Biophys Acta*,2015,1852(1):34-46.
- [18] TULI R, TULI S, NANDI S, *et al*. Transforming growth factor-beta-mediated chondrogenesis of human mesenchymal progenitor cells involves N-cadherin and mitogen-activated protein kinase and Wnt signaling cross-talk. *J Biol Chem*, 2003,278(42):41227-41236.
- [19] LIU W, LAN T, XIE X, *et al*. S1P2 receptor mediates sphingosine-1-phosphate-induced fibronectin expression via MAPK signaling pathway in mesangial cells under high glucose condition. *Exp Cell Res*,2012,318(8):936-943.
- [20] LI X, LIU W, WANG Q, *et al*. Emodin suppresses cell proliferation and fibronectin expression via p38MAPK pathway in rat mesangial cells cultured under high glucose. *Mol Cell Endocrinol*,2009,307(1/2):157-162.

(2017-01-15 收稿,2017-05-12 修回)

编辑 沈进