

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00117

## 不同化疗耐药性卵巢癌细胞侵袭转移特性的比较

王丹<sup>1△</sup>, 陈超<sup>2△</sup>, 惠宁<sup>1\*</sup>

1. 第二军医大学长海医院妇产科, 上海 200433

2. 第二军医大学长海医院中心实验室, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 观察不同化疗耐药性卵巢癌细胞的侵袭转移特性,并探讨其可能机制。**方法** 体外建立卵巢癌不同梯度顺铂(DDP)耐药细胞系模型(OVCAR-3/DDP-1、OVCAR-3/DDP-2、OVCAR-3/DDP-3);MTT法、流式细胞仪、Transwell小室观察亲本细胞和耐药细胞的增殖、细胞周期分布、细胞侵袭和迁移等生物学特性的变化;ELISA法测定细胞培养上清液中基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、组织金属蛋白酶抑制因子-2(TIMP-2)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、组织金属蛋白酶抑制因子-1(TIMP-1)的浓度。**结果** 成功建立不同梯度顺铂耐药细胞系模型,OVCAR-3/DDP-1、DDP-2、DDP-3细胞的耐药指数依次为3.87、8.39、13.42。耐药细胞均较亲本细胞增殖缓慢, $G_0/G_1$ 期细胞比例增加,S期细胞比例减少,其中OVCAR-3/DDP-2、DDP-3与亲本细胞比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与亲本细胞相比,耐药细胞伴随其耐药性的增加,侵袭转移能力逐渐增强,其中OVCAR-3/DDP-2、DDP-3与亲本细胞相比差异有统计学意义( $P<0.05$ )。细胞上清液中MMP-2/TIMP-2、MMP-9/TIMP-1的比值随顺铂耐药性的增加而逐渐上升,耐药细胞与亲本细胞相比差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 对顺铂耐药性的产生和增加可促进卵巢癌细胞的侵袭和转移,可能部分与耐药细胞MMP-2/TIMP-2、MMP-9/TIMP-1比值上调有关。

**[关键词]** 卵巢肿瘤;顺铂;肿瘤抗药性;肿瘤侵袭;肿瘤转移;基质金属蛋白酶

**[中图分类号]** R 737.31

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 0258-879X(2011)02-0117-06

### Ovarian cancer cells with different drug-resistant abilities: a comparison of migration and invasion capability

WANG Dan<sup>1△</sup>, CHEN Chao<sup>2△</sup>, HUI Ning<sup>1\*</sup>

1. Department of Obstetrics and Gynecology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Central Laboratory, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To observe the relationship between drug-resistance and invasive metastatic behaviors in ovarian cancer cells, and to discuss the related mechanism. **Methods** Human ovarian cancer cell lines with different levels of cisplatin-resistance, namely, OVCAR-3/DDP-1, -2, and -3, were established *in vitro*. The cell proliferation, cell cycle, and cell migration and invasion were assessed by MTT assay, flow cytometry, and Transwell migratory and invasive assays. The protein levels of MMP-2, TIMP-2, MMP-9, and TIMP-1 in the culture supernatants were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** OVCAR-3/DDP-1, -2, -3 cell lines with stable resistance to cisplatin were successfully established, with the resistance indices being 3.87, 8.39, and 13.42, respectively. Compared with the parent cells, OVCAR-3/DDP-1, -2, and -3 exhibited a lower growth rate; the ratios of cells in  $G_0/G_1$  phase were increased and those in S phase were decreased, with significant difference found between OVCAR-3/DDP-2 and -3 cells with OVCAR-3 cells ( $P<0.05$ ). With the enhancement of drug resistance, the invasion and migration capabilities of OVCAR-3/DDP-1, -2, and -3 cells were increased, with significant difference found between OVCAR-3/DDP-2 and -3 cells with the OVCAR-3 cells ( $P<0.05$ ). The ratios of MMP-2/TIMP-2 and MMP-9/TIMP-1 were increased in the cisplatin-resistant cells, with significant difference found between the OVCAR-3/DDP-1, -2, and -3 cells with the OVCAR-3 cells ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Development and enhancement of cisplatin resistance can promote the invasive and metastatic abilities of OVCAR-3 cells, which is partially related to up-regulated ratios of MMP-2/TIMP-2 and MMP-9/TIMP-1 in the resistant cells.

**[Key words]** ovarian neoplasms; cisplatin; neoplasm drug resistance; neoplasm invasiveness; neoplasm metastasis; matrix metalloproteinases

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(2): 117-122]

**[收稿日期]** 2010-12-10

**[接受日期]** 2011-01-20

**[作者简介]** 王丹, 博士生. E-mail: wangdanown@163.com; 陈超, 硕士生. E-mail: chenchao1985@163.com

△共同第一作者(Co-first authors).

\*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81870640, E-mail: huin1956@yahoo.com.cn

根据最新的全球数据统计,卵巢癌发病率在妇科恶性肿瘤中已上升至第2位,死亡率居于首位,5年生存率约30%~50%<sup>[1-2]</sup>。满意的肿瘤细胞减灭术+铂类为基础的联合化疗是卵巢癌公认的最佳初治方案,但70%~80%达到完全缓解的患者会出现肿瘤复发<sup>[3]</sup>。究其原因,手术对于复发性高、易向远处扩散转移的卵巢癌治疗效果较差,而化疗则需要面对卵巢癌细胞对药物的不敏感和产生耐药性等问题。故卵巢癌的侵袭转移和化疗耐药始终是治疗的两大难点。既往对于两者的研究多是独立进行的,伴随近年来生物技术的快速发展,两者之间可能存在的关联已引起国内外学者越来越多的关注。探讨两者可能存在的临床相关性,深入了解两者间的内在关系,无疑对卵巢癌的治疗具有重要指导意义。

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是锌离子依赖的蛋白水解酶,可有效降解细胞外基质,与肿瘤细胞浸润中突破屏障能力的增强有关。MMP-2和MMP-9是MMPs家族的重要成员,其高表达与卵巢癌的增殖、侵袭转移和血管形成关系最为密切<sup>[4-5]</sup>。组织金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs)能特异性抑制MMPs的活性,可以与MMPs形成的2个1:1非共价复合物使之失活。TIMP-2和TIMP-1分别是MMP-2和MMP-9的特异性抑制剂,许多研究<sup>[6-8]</sup>表明,MMP-2/TIMP-2、MMP-9/TIMP-1间平衡失调,是卵巢癌侵袭转移的重要因素,但目前尚缺乏其与卵巢癌化疗耐药性间的相关性研究。因此,本研究拟建立卵巢癌不同梯度顺铂耐药细胞系,观察随着化疗耐药性的产生和增加,其侵袭和迁移等恶性生物学行为的改变,并测定TIMP-2/MMP-2、TIMP-1/MMP-9比值的变化,为研究人卵巢癌细胞化疗耐药和侵袭转移间的关系及阐明其机制提供初步的实验和理论依据。

## 1 材料和方法

1.1 主要试剂及细胞系 人类卵巢低分化浆液性囊腺癌细胞系OVCAR-3购于中国科学院上海生命科学院细胞所(ATCC HTB-161);顺铂(cisplatin, DDP)购自山东齐鲁制药厂;RPMI 1640培养液及胎牛血清为Gibco公司产品;四甲基偶氮唑盐(MTT)购自Sigma公司;胰蛋白酶购自Amresco公司;碘化丙啶(PI)、RNase购自Amresco公司;Matrigel基质蛋白胶购自BD公司,-20℃保存;Transwell小室购自Corning公司,聚碳酸酯膜微孔直径为8 μm;ELISA试剂盒购自上海西唐生物有限公司。

1.2 细胞培养及耐药细胞系的建立 OVCAR-3细

胞于含15%胎牛血清的RPMI 1640培养液中贴壁生长,置37℃、5%CO<sub>2</sub>饱和湿度的培养箱中培养,0.25%胰蛋白酶消化传代。采用DDP浓度梯度递增法,取对数生长期细胞,加入DDP注射液,使DDP在培养液中浓度为0.25 μmol/L,作用48 h,更换培养液继续培养,待细胞恢复生长后重复这样的处理,细胞在同样药物浓度下基本无死亡时提高药物浓度,每次提高约50%,反复传代,增加DDP浓度,直至DDP终浓度分别为1、2、3 μmol/L,并分别命名为OVCAR-3/DDP-1、OVCAR-3/DDP-2、OVCAR-3/DDP-3。耐药细胞诱导成功后,将细胞在无药培养基中培养2个月,检测仍保持相似的耐药性,且细胞状态良好,再进行后续各项实验。

1.3 MTT法测定细胞对DDP的敏感性 参照文献<sup>[9]</sup>,采用常规MTT法检测,酶标仪上测492 nm波长处光密度值(D)。相对抑制率(%)=(1-加药孔D值/对照孔D值)×100%,IC<sub>50</sub>计算器软件计算50%细胞生长抑制时的药物浓度(IC<sub>50</sub>),耐药指数(RI)=耐药细胞IC<sub>50</sub>/亲本细胞IC<sub>50</sub>。

1.4 细胞生长曲线及倍增时间测定 取对数生长期的亲本细胞和3组不同耐药梯度的耐药细胞,各自以5×10<sup>6</sup>个/L接种于24孔培养板中,21孔/组,每日消化3孔,计数活细胞数,连续7 d。绘制细胞生长曲线,按Patterson公式计算群体倍增时间:  $Td = T \times \lg 2 / (\lg N_2 - \lg N_1)$ , N<sub>1</sub>为起始时间细胞数, N<sub>2</sub>为培养T小时后细胞数, T为N<sub>1</sub>到N<sub>2</sub>的时间(h)。

1.5 细胞周期分析 收集对数生长期的亲本细胞、3组不同耐药梯度的耐药细胞各1×10<sup>6</sup>个, PBS洗涤, 75%冷乙醇(4℃)固定过夜。上机前离心15 min,弃固定液,用PBS再次洗涤后,加入RNase和PI,室温放置避光染色30 min,置流式细胞仪检测。测定各周期细胞的比例,每组细胞重复3次。

1.6 细胞侵袭、迁移实验 将亲本细胞和各梯度耐药细胞培养至70%~80%后,胰酶消化收集细胞,用无血清培养液制备单细胞悬液,调整各组细胞密度均为1×10<sup>6</sup>个/ml,按2×10<sup>5</sup>个细胞/(200 μl·孔)加入小室微孔滤膜内表面预先包被好Matrigel基质胶(30 μl/孔)的Transwell小室,24孔板下室加入600 μl含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液。在37℃、5%CO<sub>2</sub>饱和湿度的细胞培养箱中孵育24 h后,取出Transwell小室,用PBS清洗小室滤膜两侧,用PBS浸湿的无菌棉签轻拭去小室滤膜内表面的细胞及人工基底膜。将小室微孔滤膜用4%多聚甲醛固定10 min后结晶紫细胞染色。200倍光学显微镜下观察穿膜细胞数,每张膜取上、下、左、右、中

心选5个视野,计算滤膜下室面的细胞数。每次实验每组细胞各设3个复孔,实验共重复3次。

细胞迁移与侵袭实验相比,Transwell小室内表面不需铺Matrigel胶,且小室在细胞培养箱中的孵育时间为12 h,其余步骤基本相同。

1.7 细胞上清液中MMP-2、TIMP-2、MMP-9、TIMP-1浓度测定 按ELISA试剂盒操作说明书分别测定OVCAR-3和OVCAR-3/DDP-1、-2、-3共4组细胞上清液中MMP-2、TIMP-2、MMP-9、TIMP-1的蛋白水平。实验重复4次。

1.8 统计学处理 采用SPSS 13.0统计软件进行数据分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异比较采用 $t$ 检验,检验水准( $\alpha$ )为0.05。

## 2 结果

2.1 卵巢癌顺铂耐药细胞系的建立及耐药指数的测定 MTT法检测结果表明:亲本细胞OVCAR-3对DDP的 $IC_{50}$ 为 $(6.23 \pm 0.15) \mu\text{mol/L}$ ,顺铂耐药细胞OVCAR-3/DDP-1、-2、-3细胞对DDP的 $IC_{50}$ 依次为 $(22.17 \pm 0.24)$ 、 $(55.22 \pm 0.32)$ 、 $(81.42 \pm 0.35) \mu\text{mol/L}$ ,OVCAR-3/DDP-1、-2、-3细胞对DDP的耐药指数(RI)分别为3.74、8.93、13.40。

2.2 细胞生长曲线及倍增时间 细胞生长曲线见图1。OVCAR-3和OVCAR-3/DDP-1、-2、-3细胞群体倍增时间分别为 $(29.13 \pm 0.46)$ 、 $(28.61 \pm 0.34)$ 、 $(25.79 \pm 0.32)$ 、 $(22.53 \pm 0.41)$  h。耐药OVCAR-3/DDP-1、-2、-3细胞均较亲本细胞生长缓慢,其中OVCAR-3/DDP-2、-3细胞群体倍增时间与OVCAR-3比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

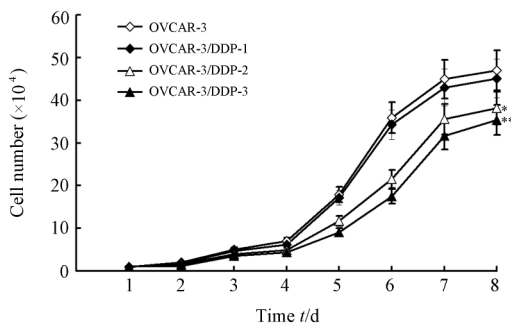


图1 亲本细胞及顺铂耐药细胞生长曲线

Fig 1 Growth curves of OVCAR-3 and OVCAR-3/DDP-1, -2, and -3 cells

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs OVCAR-3;  $n = 3$ ,  $\bar{x} \pm s$

2.3 细胞周期分布 细胞周期分析(表1)表明:相对于OVCAR-3细胞,OVCAR-3/DDP-1、-2、-3细胞

多数分布于 $G_0/G_1$ 期,S期细胞比例减少,OVCAR-3/DDP-1与OVCAR-3比较差异无统计学意义,而OVCAR-3/DDP-2、-3细胞与OVCAR-3相比差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

表1 细胞周期分析结果

Tab 1 Cell cycle of OVCAR-3 and OVCAR-3/DDP-1, -2, and -3 cells

(n=3, $\bar{x} \pm s$ )			
Cell line	$G_0/G_1$	S	$G_2/M$
OVCAR-3	41.35±3.24	48.43±2.28	11.42±0.51
OVCAR-3/DDP-1	43.26±4.34	46.13±2.04	10.73±2.21
OVCAR-3/DDP-2	62.40±3.05*	28.33±1.64*	8.05±1.26*
OVCAR-3/DDP-3	76.83±2.35**	16.59±1.47**	6.42±0.71**

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs OVCAR-3

2.4 耐药细胞侵袭和迁移行为的改变 侵袭实验结果(图2A)表明:培养18 h后,OVCAR-3和OVCAR-3/DDP-1、-2、-3的平均细胞侵袭数,分别为 $(23 \pm 5.14)$ 、 $(24 \pm 6.02)$ 、 $(82 \pm 9.87)$ 、 $(118 \pm 3.42)$ 个。OVCAR-3/DDP-1与OVCAR-3比较差异无统计学意义,而OVCAR-3/DDP-2、-3两组顺铂耐药细胞的平均细胞侵袭数分别是亲本细胞组的2.3倍和3.7倍,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

迁移实验结果(图2B)表明:培养8 h后,OVCAR-3和OVCAR-3/DDP-1、-2、-3的平均细胞迁移数,OVCAR-3/DDP-1与OVCAR-3比较差异无统计学意义,而OVCAR-3/DDP-2、-3两组顺铂耐药细胞的平均细胞迁移数分别是亲本细胞组的2.1倍和4.1倍,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

Transwell小室法结果显示,对顺铂耐药性的产生和增加明显增强了卵巢癌细胞通过胶原基底膜的侵袭能力和穿过微孔滤膜的迁移能力,且耐药性越强,这种恶性生物学行为越显著。

2.5 亲本和各组耐药细胞MMP-2、TIMP-2、MMP-9和TIMP-1蛋白的表达 ELISA法检测各组细胞上清液中目标蛋白含量。与亲本细胞相比,3组顺铂耐药细胞上清液中MMP-2和TIMP-2、MMP-9和TIMP-1的蛋白含量均增加,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),且各组MMP-2、MMP-9的表达增加量均高于同组细胞TIMP-2、TIMP-1的表达增加量,MMP-2/TIMP-2、MMP-9/TIMP-1比值随细胞顺铂耐药性的增强而增加。若以亲本卵巢癌细胞MMP-2/TIMP-2、MMP-9/TIMP-1比值为标准,中度耐药肿瘤细胞MMP-2/TIMP-2、MMP-9/TIMP-1平衡的破坏最明显,差异有统计学意义(表2)。

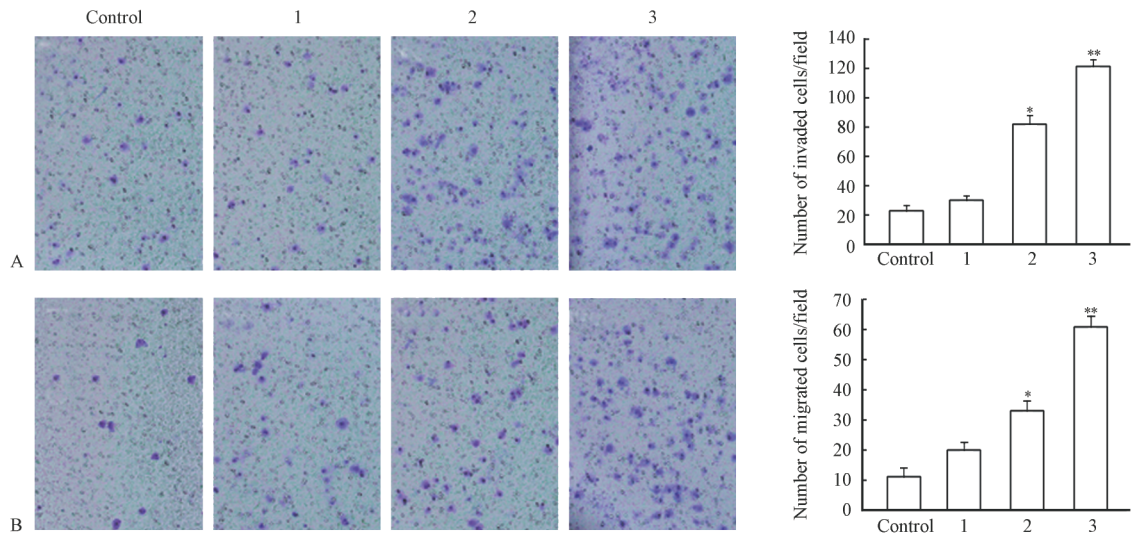


图 2 耐药细胞侵袭和迁移行为的改变

Fig 2 Invasion(A) and migration(B) capabilities of OVCAR-3 and OVCAR-3/DDP-1, -2, and -3 cells

A: Cell invasion was examined by Matrigel; B: Cell motility was examined by uncoated filters. After 18 h(A) or 8 h(B) incubation, cells in the upper side of the filter were removed, and the invaded or migrated cells were fixed, stained, and counted. Left, representative pictures of cells. Columns, mean numbers of invaded or migrated cells in five fields of triplicate wells from three independent experiments. Control: OVCAR-3 cells; 1: OVCAR-3/DDP-1 cells; 2: OVCAR-3/DDP-2 cells; 3: OVCAR-3/DDP-3 cells. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs OVCAR-3 cells

表 2 亲本细胞和各组耐药细胞 MMP-2、TIMP-2、MMP-9 和 TIMP-1 蛋白的表达

Tab 2 Protein levels of MMP-2, TIMP-2, MMP-9, and TIMP-1 in cells of different groups

( $\rho_B / [ng \cdot L^{-1}]$ ;  $n = 4, \bar{x} \pm s$ )

Group	MMP-2	TIMP-2	MMP-9	TIMP-1
OVCAR-3	14.30 ± 1.36	13.02 ± 0.89	15.57 ± 2.66	12.30 ± 0.14
OVCAR-3/DDP-1	17.41 ± 3.37*	14.29 ± 2.87*	21.69 ± 1.50*	15.42 ± 2.16*
OVCAR-3/DDP-2	25.12 ± 6.13**	19.17 ± 5.11**	39.45 ± 3.54**	22.85 ± 1.77**
OVCAR-3/DDP-3	40.72 ± 4.58**	21.36 ± 4.73**	62.47 ± 6.71**	27.85 ± 2.42**

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs OVCAR-3 cells

### 3 讨论

卵巢癌的耐药及转移特性是影响卵巢癌患者生存和预后的关键因素。临床上发现,用铂类药物化疗过的卵巢癌患者出现复发转移后,治疗难度加大,同时多数伴有耐药性的产生。这提示卵巢癌的侵袭转移和化疗耐药性产生有某种内在关系。化疗是否促进癌细胞的侵袭转移,卵巢癌化疗耐药与侵袭转移之间的关系如何,这些问题的深入研究对肿瘤治疗选择和判断预后具有重要意义。

铂类药物是治疗上皮性卵巢癌的首选药物,本研究用浓度梯度递增法建立卵巢癌 OVCAR-3 细胞不同梯度的顺铂耐药细胞系模型,各自对顺铂的耐药指数分别为 3.74、8.93、13.40。Snow 等<sup>[10]</sup>按耐药指数的高低将耐药分为低度( $< 5$ )、中度( $5 \sim 15$ )、高度( $> 15$ )。据此本实验所应用的耐药细胞系模型属于低度至中度耐药,在一定程度上较好地模拟了

卵巢癌化疗过程中耐药性的产生和逐渐增强过程,为观察细胞耐药现象与侵袭转移现象之间的动态关联提供了良好的基础。随后我们观察到,耐药细胞与亲本细胞相比,其生物学特性发生了许多改变,如耐药细胞生长均较缓慢, $G_0/G_1$ 期明显延长,细胞增殖指数下降。其中,低度耐药细胞与亲本细胞相比虽已有差异,但尚不十分明显,但随着耐药性的提高,这些特性的改变在中度耐药细胞中逐步凸显,差异有统计学意义。

Transwell 实验结果显示,与亲本细胞相比,铂类耐药的卵巢癌细胞系侵袭转移力提高,且与耐药程度正相关,提示化疗耐药与侵袭转移的确存在一定的内在联系,卵巢癌细胞化疗耐药后更易浸润、扩散,极大地增加了治疗难度。在低度耐药时,癌细胞的侵袭转移行为即出现了改变,但尚不明显;随着对顺铂耐药性的逐渐增加,癌细胞的侵袭转移能力也随之增强,到达中度耐药时,与亲本细胞相比已有了

明显的差异( $P < 0.05$ )。

肿瘤的浸润与转移是一个非常复杂、多步骤的过程,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解是这一复杂过程的最主要阶段,也是卵巢癌浸润和转移开始的信号和重要途径<sup>[11]</sup>。人体在正常情况下, MMPs 与其体内的组织抑制剂 TIMPs 保持着相对平衡,这对维持正常组织的无肿瘤状态至关重要,平衡的破坏可致肿瘤的发生、演化、侵袭和转移。适量的 TIMPs 能够激活 MMPs 酶原,有助于肿瘤细胞的浸润,而过量的 TIMP 则抑制 MMPs 的活性,抑制肿瘤细胞的转移过程。MMP-2/TIMP-2 和 MMP-9/TIMP-1 比值在良性肿瘤中低表达,但肿瘤细胞可通过上调 MMPs 和(或)下调 TIMPs 的表达,使其生长、浸润及转移能力均得到增强<sup>[12-14]</sup>。本实验以亲本卵巢癌细胞作为对照,检测到不同耐药性各细胞组中的 MMP-2、TIMP-2 和 MMP-9、TIMP-1 蛋白表达水平同时增高,但 MMP-2 和 MMP-9 增高均较同组相对应的抑制因子 TIMP-2 和 TIMP-1 明显,提示 MMP-2/TIMP-2、MMP-9/TIMP-1 比值可随着卵巢癌细胞耐药性的增加而愈加失衡,有助于肿瘤的浸润和转移。而且这种失衡的改变发生在癌细胞增殖、周期改变甚至是侵袭转移行为发生改变之前。因此,我们推测卵巢癌细胞在获得耐药性的同时,发生了侵袭转移相关信号通路的激活导致侵袭相关基因和蛋白,如 MMPs/TIMPs 比值增高,从而促进了其侵袭转移能力的提高。这与临床上发现的卵巢癌复发转移患者化疗效果较差,化疗效果不好的卵巢癌患者易转移的现象一致。

既往对卵巢癌耐药和侵袭转移两方面机制的研究多是分开进行的,很少将两者联系起来。近年来,虽然新的药物和新的治疗方案层出不穷,但卵巢癌患者5年生存率仍无改善。而且由于早期诊断率低,卵巢癌被发现时多已至疾病晚期,复发、耐药侵袭性卵巢癌病例居多,这使得临床医生开始关注化疗耐药和侵袭转移间的相关性,期望找出可同时针对两者的更加全面、有效而非单一侧重的治疗方案,最大限度地控制疾病进展,提高化疗疗效,延长患者生存期。目前,肿瘤的侵袭转移和多药耐药间关系的研究已逐渐受到关注,认为耐药和转移的发生也许不是一个孤立的事件,两者之间可能存在着一种功能上的联系。已有证据支持肿瘤多药耐药与侵袭转移有关的观点,甚至一些新的治疗靶点已被提出<sup>[15-17]</sup>。但也有的研究<sup>[18-19]</sup>显示两者之间并无关联,耐药细胞株克隆能力加强,而侵袭能力并无明显改变。这说明多药耐药和侵袭转移之间的关系还有

待进一步的研究,如:多药耐药基因是如何作用于肿瘤侵袭转移过程,诱导侵袭转移的相关因子是否与肿瘤耐药有关,两者作用的条件或两者作用的信号通路有无交联等。

综上所述,本研究观察了伴随卵巢癌获得性耐药性增强的同时,其侵袭转移特性的改变,对耐药卵巢癌细胞临床生物学行为评估具有重要意义,为研究卵巢癌耐药与侵袭转移间的关系提供了更多实验资料。而 MMPs 和 TIMPs 的表达程度以及 MMPs/TIMPs 间的比例关系能否成为卵巢癌耐药性及预后的判定指标之一,有待于今后更进一步的研究证实。

### [参考文献]

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun M J. Cancer statistics, 2009[J]. CA Cancer J Clin, 2009, 59: 225-249.
- [2] Parkin D M, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002[J]. CA Cancer J Clin, 2005, 55: 74-108.
- [3] Lin H, Changchien C C. Management of relapsed/refractory epithelial ovarian cancer: current standards and novel approaches [J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2007, 46: 379-388.
- [4] Kamat A A, Fletcher M, Gruman L M, Mueller P, Lopez A, Landen C N Jr, et al. The clinical relevance of stromal matrix metalloproteinase expression in ovarian cancer[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12: 1707-1714.
- [5] Murthi P, Barker G, Nowell C J, Rice G E, Baker M S, Kalionis B, et al. Plasminogen fragmentation and increased production of extracellular matrix-degrading proteinases are associated with serous epithelial ovarian cancer progression[J]. Gynecol Oncol, 2004, 92: 80-88.
- [6] Herrera C A, Xu L, Bucana C D, Silva el V G, Hess K R, Gershenson D M, et al. Expression of metastasis-related genes in human epithelial ovarian tumors [J]. Int J Oncol, 2002, 20: 5-13.
- [7] Sakata K, Shigemasa K, Nagai N, Ohama K. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-9, MT1-MMP) and their inhibitors (TIMP-1, TIMP-2) in common epithelial tumors of the ovary[J]. Int J Oncol, 2000, 17: 673-681.
- [8] Manenti L, Paganoni P, Floriani I, Landoni F, Torri V, Buda A, et al. Expression levels of vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinases 2 and 9 and tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and 2 in the plasma of patients with ovarian carcinoma[J]. Eur J Cancer, 2003, 39: 1948-1956.
- [9] 王丹, 惠宁, 吴东. 促性腺激素释放激素类似物逆转卵巢癌细胞对顺铂的耐药性[J]. 第二军医大学学报, 2008, 29: 395-398.  
Wang D, Hui N, Wu D. GnRH analog resensitizes cisplatin-resistant human ovarian cancer cells[J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29: 395-398.
- [10] Snow K, Judd W. Characterisation of adriamycin- and amsacrine-resistant human leukaemic T cell lines[J]. Br J Cancer, 1991, 63: 17-28.

[11] Stack M S, Ellerbroek S M, Fishman D A. The role of proteolytic enzymes in the pathology of epithelial ovarian carcinoma [J]. *Int J Oncol*, 1998, 12: 569-576.

[12] Belotti D, Paganoni P, Manenti L, Garofalo A, Marchini S, Taraboletti G, et al. Matrix metalloproteinases (MMP9 and MMP2) induce the release of vascular endothelial growth factor (VEGF) by ovarian carcinoma cells; implications for ascites formation [J]. *Cancer Res*, 2003, 63: 5224-5229.

[13] Huang L W, Garrett A P, Bell D A, Welch W R, Berkowitz R S, Mok S C. Differential expression of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 protein and mRNA in epithelial ovarian tumors [J]. *Gynecol Oncol*, 2000, 77: 369-376.

[14] Demeter A, Szirmai K, Oláh J, Papp Z, Jeney A. Elevated expression of matrix metalloproteinase-9, and fibronectin concentration in recurrent epithelial ovarian cancer [J]. *Orv Hetil*, 2004, 145: 1617-1624.

[15] De Larco J E, Wuertz B R, Manivel J C, Furcht L T. Progression and enhancement of metastatic potential after exposure of tumor cells to chemotherapeutic agents [J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 2857-2861.

[16] Yang J M, Xu Z, Wu H, Zhu H, Wu X, Hait W N. Overexpression of extracellular matrix metalloproteinase inducer in multi-drug resistant cancer cells [J]. *Mol Cancer Res*, 2003, 1: 420-427.

[17] Nair S, Vadlamudi R K. Emerging significance of ER-coregulator PELP1/MNAR in cancer [J]. *Histol Histopathol*, 2007, 22: 91-96.

[18] D'Incalci M, Steward W P, Gescher A J. Use of cancer chemopreventive phytochemicals as antineoplastic agents [J]. *Lancet Oncol*, 2005, 6: 899-904.

[19] Kimura K, Nakano T, Park Y B, Tani M, Tsuda H, Beppu Y, et al. Establishment of human osteosarcoma cell lines with high metastatic potential to lungs and their utilities for therapeutic studies on metastatic osteosarcoma [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2002, 19: 477-485.

[本文编辑] 贾泽军

· 消 息 ·

### 我校 3 项科技成果荣膺 2010 年度国家科学技术奖

2010 年度国家科学技术奖励大会已隆重召开,本年度国家科学技术奖励共授奖 356 项(人)。其中,国家最高科学技术奖获得者 2 人;国家自然科学基金授奖项目 30 项,其中一等奖空缺、二等奖 30 项;国家技术发明奖授奖项目 46 项,其中一等奖 2 项、二等奖 44 项;国家科学技术进步奖授奖项目 273 项,其中特等奖 3 项、一等奖 31 项、二等奖 239 项;授予 5 名外籍科学家中华人民共和国国际科学技术合作奖。

我校共有 3 项优秀科技成果获得 2010 年度国家科学技术奖,获奖数量位居全军医疗单位之首。3 项国家科学技术奖均为国家科技进步二等奖,分别是:由药学院张卫东教授领衔完成的《基于中医药特点的中药样品库的建立与新药研究》;由长海医院李兆申教授领衔完成的《东南沿海战区野战内科学相关关键技术研究》;以及由长海医院李明教授领衔完成的《脊柱畸形三维矫形创新理论与技术及其临床应用》。

国家科学技术奖是我国对科学技术研究实施的最高级别奖励,是对科技工作者辛勤劳动的充分肯定和高度评价,也是衡量一所大学创新能力和水平的重要标志。“十一五”期间,我校获得的 13 项国家科学技术奖,不仅创造了在军队医疗单位获奖数量最多、奖种最全的骄人成绩,同时也为学校在“十一五”期间获得的各级各类重大项目资金投入交上了满意的答卷,为重大科技成果转化指明了方向。