

TGF- β_1 和 ERK₁/ERK₂ 的相互作用及对人胰腺癌细胞生长的影响

董春燕, 刘铁夫, 李兆申*, 屠振兴, 满晓华, 赵 岚, 张晓峰

(第二军医大学长海医院消化内科, 上海 200433)

[摘要] **目的:** 研究转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) 和细胞外信号调节激酶 K₁/细胞外信号调节激酶 K₂ (ERK₁/ERK₂) 对胰腺癌生长的影响及其相互关系, 并探讨它们对胰腺癌作用的可能机制。 **方法:** 应用免疫组织化学技术检测临床胰腺癌患者病理组织中 TGF- β_1 和 ERK₁/ERK₂ 蛋白表达情况; MTT 法观察不同剂量 TGF- β_1 对人胰腺癌 Panc-1 细胞生长的影响; Western 印迹法观察不同剂量 TGF- β_1 对 ERK₁/ERK₂ 蛋白表达的影响。 **结果:** 胰腺癌患者组织 TGF- β_1 、ERK₁ 和 ERK₂ 蛋白均呈显著性高表达, 其阳性表达率分别为 66.67% (30/45)、86.70% (39/45) 和 84.44% (38/45), 而在对照组织的阳性表达率分别为 30% (6/20)、30% (6/20) 和 20% (4/20), 两者间存在显著差异 ($P < 0.05$); TGF- β_1 抑制 Panc-1 细胞生长, 随着剂量的增加和作用时间的延长, 其抑制作用逐渐增强, 到第 4 天抑制作用达高峰, 随后抑制作用不同程度的减弱, 细胞生长速度加快; 外源 TGF- β_1 不能改变 ERK₁/ERK₂ 蛋白的高表达状态。 **结论:** 胰腺癌患者病理组织强表达 TGF- β_1 和 ERK₁/ERK₂ 蛋白; 外源 TGF- β_1 在一定阶段抑制胰腺癌细胞系生长, 但不改变 ERK₁/ERK₂ 的表达; 胰腺癌细胞逃避 TGF- β_1 抑制作用的机制之一可能是高水平 ERK₁/ERK₂ 的表达。

[关键词] 胰腺肿瘤; 转化生长因子 β_1 ; 细胞外信号调节激酶 K₁/细胞外信号调节激酶 K₂

[中图分类号] R 735.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2005)03-0314-05

Effect of transforming growth factor- β_1 and extracellular signal-regulated kinase 1/2 on growth of human pancreatic cancer

DONG Chun-yan, LIU Tie-fu, LI Zhao-shen*, TU Zheng-xing, MAN Xiao-hua, ZHAO Lan, ZHANG Xiao-feng (Department of Gastroenterology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] **Objective:** To observe the effect of TGF- β_1 and ERK₁/ERK₂ on the growth of human pancreatic carcinoma and to study their relationship and the possible mechanisms by which they affect the carcinoma. **Methods:** The immunohistochemistry method was used to detect the expression of TGF- β_1 , ERK₁ and ERK₂ in 45 case of pancreatic cancer and 20 patients with benign pancreas diseases. The MTT method was used to study the effect of TGF- β_1 on the Panc-1 cell proliferation; Western blot method was used to detect the effects of TGF- β_1 on the expression of ERK₁/ERK₂ proteins. **Results:** Immunohistochemistry showed that the positive rates of TGF- β_1 , ERK₁ and ERK₂ in 45 pancreatic cancer tissues were 66.67% (30/45), 86.70% (39/45) and 84.44% (38/45), respectively, whereas the positive rate of these proteins in 20 case matched benign pancreas disease were 30% (6/20), 30% (6/20) and 20% (4/20), respectively. The expression of TGF- β_1 was closely related with carcinoma metastasis. The MTT showed that the growth of Panc-1 was inhibited by TGF- β_1 in the earlier period and the inhibitory rates for growth of Panc-1 was positively correlated with the dose of TGF- β_1 . Western blot showed that TGF- β_1 did not change the expression of ERK₁ and ERK₂ proteins. **Conclusion:** The expression of TGF- β_1 and ERK₁/ERK₂ in pancreatic cancer tissue is significantly increased. TGF- β_1 inhibits the growth of human pancreatic cancer cell Panc-1 in the earlier period but TGF- β_1 does not change the expression of ERK₁ and ERK₂ proteins. The high expression of ERK₁/ERK₂ proteins may inhibit the TGF- β induced inhibition of carcinoma cell growth.

[KEY WORDS] pancreatic neoplasms; transforming growth factor- β_1 ; extracellular signal-regulated kinase 1/2

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2005, 26(3): 314-318]

转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β) 是一类对靶细胞具有多种特殊作用的细胞生长和分化调节蛋白^[1,2]。TGF- β_1 是这一家族中重要一员, 广泛参与哺乳动物的各种病理生理过程, 在调节细胞生长、分化、凋亡和间质合成等方面起重要作用。人们已发现人类许多疾病尤其是肿瘤中存在 TGF- β 通路异常, TGF- β 信号转导通路的紊乱可

使细胞逃避 TGF- β 介导的生长抑制效应。TGF- β 信号转导, 目前主要是 TGF- β -Smad4/DPC4 和 TGF- β -MAPK 这两个效应相反的通路。

[基金项目] 上海市科委重大项目 (03JC14007)。

[作者简介] 董春燕 (1974-), 女 (汉族), 博士, 讲师。

E-mail: kathy197455@sohu.com

* Corresponding author. E-mail: zhsl@81890.net

细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERKs)是有丝分裂原激活蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)家族的一个亚族^[3~5],可被许多细胞因子和生长因子激活,介导细胞增殖、分化等信号转导。ERK₁和 ERK₂是其中的两个重要成员。

胰腺癌发病隐匿,恶性程度高,手术切除率低,是预后最差的恶性肿瘤之一。近年在世界范围内,胰腺癌发病率呈上升趋势。进行深入的胰腺癌基础和临床研究以提高胰腺癌的诊断、预防和治疗水平,改善患者的预后,是当前研究的发展方向。本研究检测胰腺癌患者病理组织中 TGF- β_1 和 ERK₁/ERK₂蛋白表达情况,观察不同剂量 TGF- β_1 对人胰腺癌 Panc-1 细胞生长及 ERK₁/ERK₂蛋白表达的影响,以探讨 TGF- β_1 和 ERK₁/ERK₂对胰腺癌发生发展的影响及可能的作用机制,揭示 TGF- β -ERK₁/ERK₂通路上下游元件之间相互关系。

1 材料和方法

1.1 临床标本采集 45例石蜡包埋胰腺癌组织收集于哈尔滨医科大学附属第一临床医学院和第三临床医学院外科1998~2003年手术切除标本,全部病例均经病理诊断。其中男性21例,女性24例。年龄为25~74岁,平均年龄(45±12)岁。根据1987年UICC制定的TNM临床分期,I~II期18例,III~IV期27例。组织学分期,高中分化31例,低分化14例。转移状况,有淋巴或远隔转移27例,无转移18例。同时收集胰腺囊肿8例,胰腺囊腺瘤6例,胰腺炎伴潴留囊肿2例,正常胰腺组织4例,共计20例作为对照。

1.2 细胞培养 人胰腺癌细胞系 Panc-1 购于中国医科大学细胞生物研究所,细胞在含有10%小牛血清DMEM培养液中,每2~4d传代1次,观察细胞形态及生长情况。

1.3 主要试剂 TGF- β_1 来源于 Pepro Tech EC. LTD,DMEM培养液购自 Gibco BRL 公司,兔抗人 TGF- β_1 、ERK₁和 ERK₂的 IgG 抗体、辣根过氧化物酶标记的二抗、MTT 及 DAB、S-P 试剂盒均购自北京中山生物技术公司。

1.4 主要方法

1.4.1 免疫组织化学方法 应用 S-P 法,操作具体步骤按说明书进行。所有切片均由2位病理科医生独立阅片后综合评定,组织中阳性细胞数>10%为阳性。以 TGF- β_1 、ERK₁/ERK₂蛋白表达阳性的乳腺癌组织标本作为阳性对照。以 PBS 代替一抗作

为阴性对照。

1.4.2 MTT 方法 细胞制成 5×10^3 /ml 细胞悬液,接种96孔板中培养24h,换无血清培养液血清饥饿24h,再分别换高、中、低剂量 TGF- β_1 (10 ng/ml、1.0 ng/ml、0.1 ng/ml)无血清培养液,对照组只加无血清培养液,培养后第1、2、3、4、5、6、7天加 MTT,酶标仪570nm波长测光密度值(D),用 D_{570} 值计算细胞生长抑制率。以细胞生长抑制率绘制出细胞生长抑制曲线。细胞生长抑制率=(1-处理组细胞 D_{570} 值/对照组细胞 D_{570} 值)×100%。

1.4.3 Western 印迹法 细胞经 EDTA 消化脱壁制成细胞悬液,均匀接种于培养瓶中,4h后细胞贴壁,换无血清培养液培养24h,分别换含有10 ng/ml 和 0.1 ng/ml TGF- β_1 无血清培养液,对照组换无血清培养液。在 TGF- β_1 处理后的5 min、30 min 及 24 h 时收集细胞,裂解细胞提取总蛋白,测蛋白含量、样品处理,SDS-PAGE 电泳分离,电转移过夜至硝酸纤维素膜上,加入 ERK₁/ERK₂ 抗体,孵育2h,洗膜,加辣根过氧化物酶标记的二抗,DAB显色,观察拍照,凝胶图像分析系统对表达情况进行分析。

1.5 统计学处理 以 SASS 统计学软件对试验结果进行分析,阳性率比较用 χ^2 检验,相关关系用配对计数资料的 χ^2 检验及 Simple Kappa Coefficient 一致性检验。

2 结果

2.1 胰腺癌组织中 TGF- β_1 和 ERK₁/ERK₂蛋白的表达情况

2.1.1 TGF- β_1 和 ERK₁/ERK₂蛋白表达免疫组化结果 TGF- β_1 蛋白阳性颗粒主要位于胞质,呈棕黄色(图1),胰腺癌阳性表达率为66.67%(30/45),良性病变组织的阳性率为30%(6/20),两者阳性率有显著差异($P < 0.05$)。ERK₁和 ERK₂蛋白阳性颗粒主要位于胞质,呈强表达棕黄颗粒,部分为核一质型(图1),ERK₁和 ERK₂在胰腺癌组织的阳性表达率分别为86.70%(39/45)和84.44%(38/45),在良性病变组织的正常胰腺腺泡和少量胞质中着色阳性率分别为30%(6/20)和20%(4/20),胰腺癌组织和对照组织阳性率有显著差异($P < 0.05$)。

2.1.2 TGF- β_1 、ERK₁和 ERK₂表达与临床病理的关系 如表1所示 TGF- β_1 与患者年龄、性别、肿瘤组织分化、临床分型均无显著差异,与肿瘤转移情况相关($P < 0.05$)。ERK₁/ERK₂与患者年龄、性别、肿瘤组织分化程度、临床分型、转移情况均无显著相关。

表 1 TGF-β₁、ERK₁ 和 ERK₂ 在人胰腺癌组织中的表达及与临床病理指标之间的关系

Tab 1 Correlation between protein expression and clinical pathology in human pancreatic cacinoma(TGF-β₁ ,ERK₁ and ERK₂)

Clinical pathology	n	TGF-β ₁			ERK ₁			ERK ₂		
		Positive	χ ²	P	Positive	χ ²	P	Positive	χ ²	P
Group			7.534	<0.05		31.104	<0.05		25.151	<0.05
Pancreatic carcinoma	45	30			39			38		
Control	20	6			6			4		
Sex			0.000	>0.05		0.000	>0.05		0.000	>0.05
Male	21	14			18			18		
Female	24	16			21			20		
Age			0.044	>0.05		0.000	>0.05		0.576	>0.05
<60	22	15			19			20		
≥60	23	15			20			18		
Differentiation			0.000	>0.05		0.000	>0.05		0.363	>0.05
Well, moderately	31	21			26			25		
Poorly	14	9			13			13		
TNM			2.179	>0.05		0.000	>0.05		1.191	>0.05
I - II	18	13			16			17		
III - IV	27	17			23			21		
Metastasis			6.667	<0.05		0.649	>0.05		2.037	>0.05
Metastasis	18	8			17			13		
No metastasis	27	22			22			25		

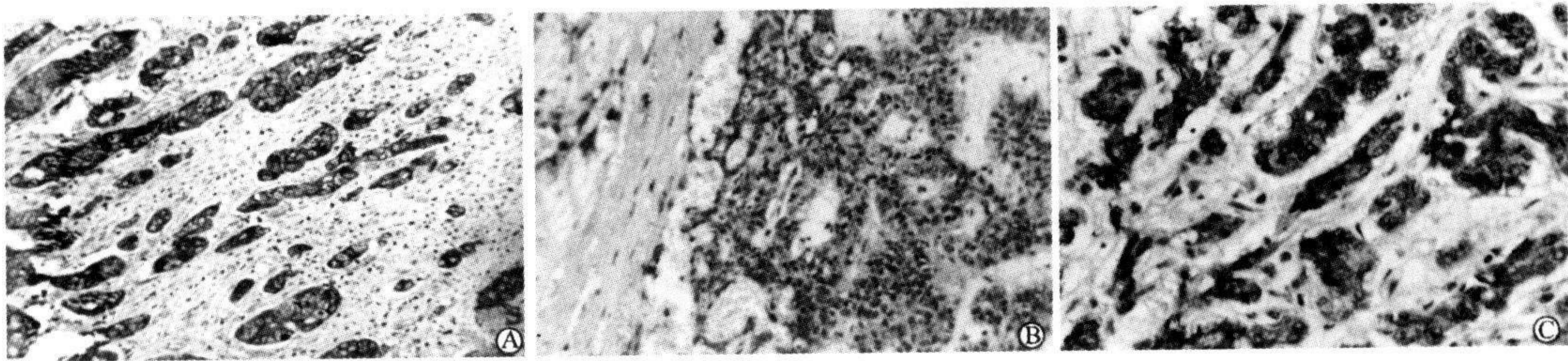


图 1 TGF-β₁ (A) 、ERK₁ (B) 和 ERK₂ (C) 在人胰腺癌组织中的表达

Fig 1 Expression of TGF-β₁ (A) ,ERK₁ (B) and ERK₂ (C) in pancreatic carcinoma tissue(S-P, ×200)

2.1.3 TGF-β₁、ERK₁ 和 ERK₂ 蛋白表达之间的关系 如表 2、表 3 所示,TGF-β₁ 与 ERK₁ 及 ERK₂ 二者均有相关性,ERK₁ 和 ERK₂ 二者之间也有相关性。

表 2 TGF-β₁、ERK₁ 和 ERK₂ 表达之间的关系

Tab 2 Relationship among expression of TGF-β₁ ,ERK₁ and ERK₂

		ERK ₁ ^a		ERK ₂ ^b	
		(+)	(-)	(+)	(-)
TGF-β ₁	(+)	30	29	1	28
	(-)	15	10	5	10
Total		45	39	6	28

^a:χ² = 5.409 (P<0.05), Kappa = 0.551 (P<0.05); ^b:χ² = 4.083 (P<0.05), Kappa = 0.308 (P<0.05)

表 3 ERK₁ 和 ERK₂ 表达之间的关系

Tab 3 Relationship between expression of ERK₁ and ERK₂

		ERK ₂	
		(+)	(-)
ERK ₁	(+)	38	36
	(-)	7	3
Total		45	39

χ² = 9.644, P<0.05; Kappa = 0.551, P<0.05

2.2 TGF-β₁ 对 Panc-1 细胞形态的影响 对照组细胞形态为多角形,生长旺盛,细胞密度大,折光性强。经 TGF-β₁ 处理后细胞出现不同程度变小变圆,细胞密度稀少,折光差,部分细胞脱落漂浮于培养液中,随作用时间延长,剂量增加,脱落细胞增多。

2.3 MTT法观察 TGF- β_1 对 Panc-1 细胞生长的影响 采用 MTT 法,细胞不同剂量 TGF- β_1 处理 7 d,用酶标仪测细胞 D_{570} 值,用公式计算细胞生长抑制率绘制曲线(图 2)。第 1 天开始随着剂量的增加和作用时间的延长,TGF- β_1 对细胞抑制作用增强、细胞生长速度减慢,到第 4 天 TGF- β_1 的细胞抑制作用达高峰、细胞生长停滞,随后抑制作用减弱,生长速度随之加快。

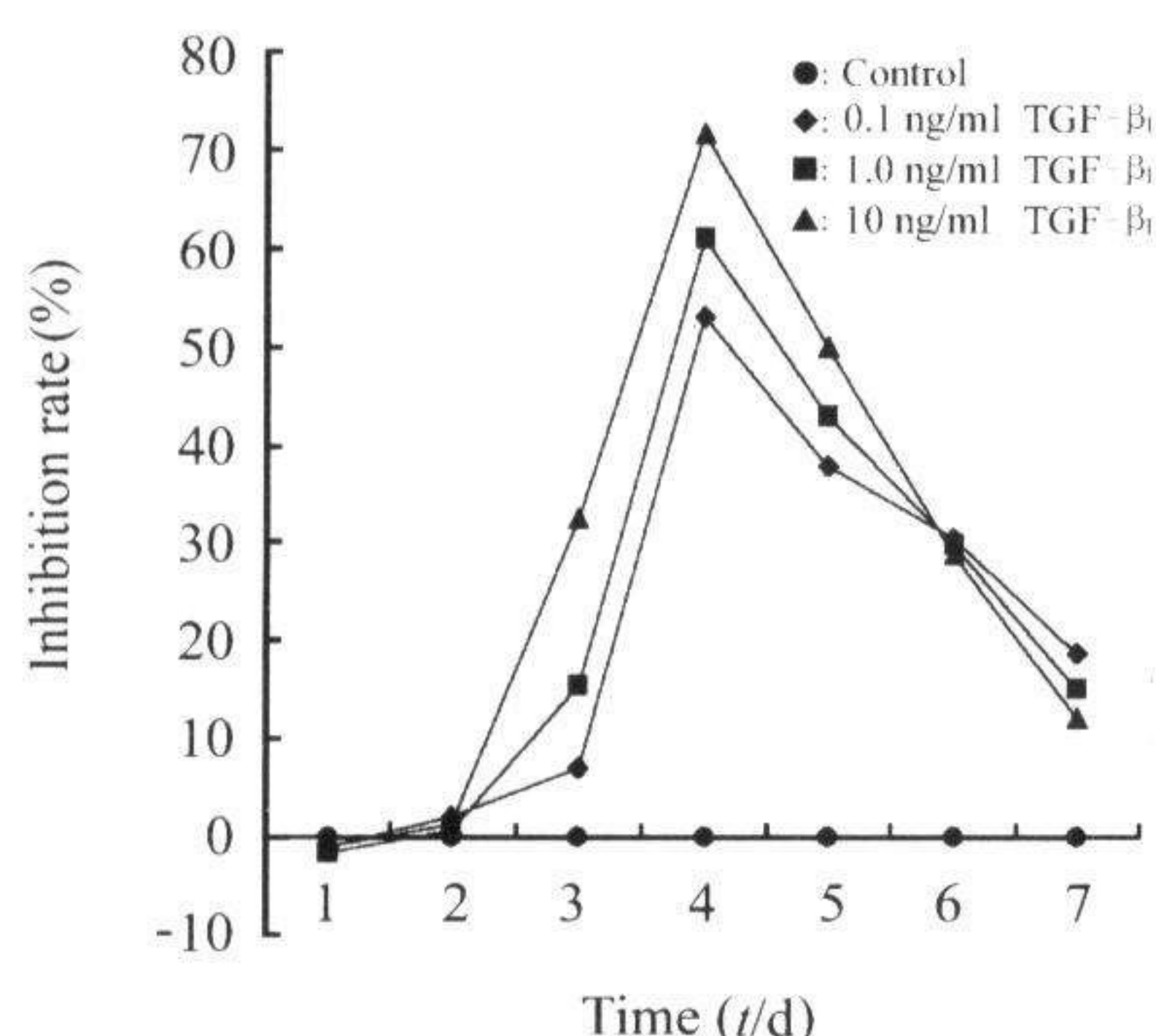


图 2 TGF- β_1 对 Panc-1 细胞生长抑制作用曲线

Fig 2 Growth curve of Panc-1 cells inhibited by TGF- β_1

2.4 Western 印迹法观察 TGF- β_1 对 ERK₁/ERK₂蛋白表达的影响 高、低剂量 TGF- β_1 组及对照组各组细胞均有较强的 ERK₁及 ERK₂蛋白表达,同时各组细胞 ERK₁及 ERK₂的表达未见明显变化(图 3),TGF- β_1 不能改变 ERK₁/ERK₂蛋白的高表达。

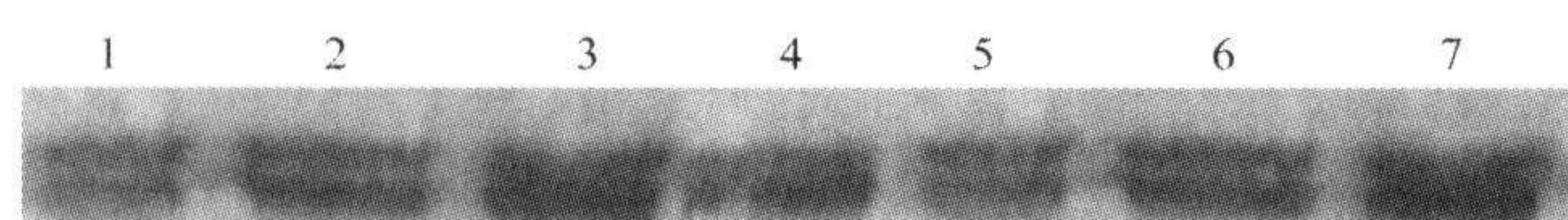


图 3 细胞经 TGF- β_1 处理后 ERK₁/ERK₂蛋白表达情况

Fig 3 ERK₁/ERK₂ expression in TGF- β_1 treated cells

1:5 min,0.1 ng/ml group;2:30 min,0.1 ng/ml group;3:24 h,0.1 ng/ml group;4:Control group;5:5 min,10 ng/ml group; 6:30 min, 10 ng/ml group;7:24 h,10 ng/ml group

3 讨论

近 20 年以来 TGF- β 一直是国内外研究热点之一,对其生物学效应及作用机制研究不断深入,TGF- β 通路完整性的检测主要集中在经典通路 TGF- β /Smad 以及 TGF- β /MAPK 两个效应相反的信号转导通路,TGF- β 生物学效应取决于激活哪一条通路。Smad 信号转导通路^[6,7]可介导细胞生长抑制效应,通常认为由该通路的配体、受体、SMAD 蛋白、转录调节的靶基因组成一个肿瘤抑制通路。TGF- β 能参与 MAPK 通路的信号转导,这早已为研究者所发现,最近有关研究发现 TGF- β 对

MAPK 通路的激活可使肿瘤细胞有一个选择性的生长优势。MAPK 通路是重要的细胞分裂调节系统,在调控细胞增殖、分裂和凋亡过程中起到重要作用^[3~5,8,9]。MAPK 是一组丝/苏氨酸磷酸化激酶,主要包括 ERKs、JNK 及 p38 三个亚家族。

在患者肿瘤组织方面,TGF- β_1 表现为两种不同甚至截然相反的作用^[10~13]:在肿瘤早期阶段,由于其引起生长周期阻断的作用,可作为肿瘤抑制物;在肿瘤进展过程中,TGF- β_1 由肿瘤细胞和其周围的基质细胞产生,且细胞因 TGF- β_1 的抑制增殖作用消失而出现优势生长;在肿瘤生长的晚期阶段,TGF- β_1 作为肿瘤的促进因子,通过刺激血管生成、细胞播散、免疫抑制及合成细胞外基质等提供适宜肿瘤生长、浸润及转移的微环境。多项研究^[10~15]显示,许多肿瘤组织均有 TGF- β_1 的高表达。本研究显示人胰腺癌组织中有 TGF- β_1 过表达现象,45 例胰腺癌 TGF- β_1 阳性表达 30 例,阳性率为 66.67%,而 20 例对照组织 TGF- β_1 阳性表达只有 6 例,阳性率 30%,二者阳性率有显著差异;TGF- β_1 与 45 例患者年龄、性别、肿瘤组织分化、临床分型均无相关性,与肿瘤转移情况相关,有转移患者癌组织 TGF- β_1 阳性率明显高于无转移者。TGF- β_1 在肿瘤组织中高表达的具体机制尚不十分清楚,可能与肿瘤细胞对 TGF- β_1 的合成增加及释放异常,及多数肿瘤组织存在 TGF- β 受体表达降低、突变失活、Smad 信号转导通路中断等因素负反馈刺激 TGF- β_1 的合成释放有关。

TGF- β 对大多数细胞都有生长抑制作用^[16],能够诱导 Cdk 抑制剂 p15^{INK4B}和 p21^{WAF1}的表达,两者结合并抑制周期蛋白 CDK 复合物的活性,将细胞可逆性地阻断于 G₁期。TGF- β 作为肿瘤抑制因子抑制细胞增殖,促使细胞分化或凋亡。所以,体外培养细胞中加入外源性 TGF- β_1 对细胞的生长有确实的抑制作用。本实验显示从第 1 天开始随着剂量的增加和作用时间的延长,TGF- β_1 对细胞抑制作用逐渐增强、细胞生长速度明显减慢,到第 4 天 TGF- β_1 的细胞抑制作用达高峰、细胞生长停滞,随后抑制作用减弱,生长速度随之加快。

为考察哪些因素使细胞在后期对 TGF- β_1 的细胞抑制作用敏感性降低的,本实验初步探讨了 ERK 途径在 TGF- β_1 抑制胰腺癌细胞生长过程中所起的作用。Western 印迹法检测 ERK₁/ERK₂蛋白时发现,不同剂量 TGF- β_1 (10 ng/ml、1.0 ng/ml、0.1 ng/ml)组及对照组各组细胞在 5 min、30 min、24 h 均有较强的 ERK₁及 ERK₂蛋白表达,同时各组细胞在加入 TGF- β_1 后 ERK₁及 ERK₂的表达未

见有明显变化, TGF- β_1 不降低 ERK₁/ERK₂ 蛋白的强表达。胰腺癌细胞生长过程中有较强的 ERK₁ 及 ERK₂ 蛋白表达, 活跃的 ERK₁/ERK₂ 磷酸化一系列转录因子, 包括 c-myc、stat、SAP-1 (AP-1 家族包括 c-jun、c-fos) 等, 从而引起细胞增殖, 这可能是肿瘤细胞逃避 TGF- β 介导的生长抑制效应机制之一, 具体的机制有待探讨证实。

MAPK 通路可被多种刺激 (细胞因子、生长因子、神经递质、激素、细胞应激和细胞黏附等) 活化, 下游分子包括多种蛋白激酶、磷脂酶以及转录因子, 被活化后直接磷酸化核转录因子和其他蛋白激酶等多种底物, 调节相关基因的转录, 参与细胞生长、发育、分裂及保持细胞间的功能同步等多种生理过程, 并在细胞恶性转化等病理过程中起重要作用。ERKs 是 MAPK 家族的一个亚族^[3~5,8,9], ERK₁ 和 ERK₂ 是 ERKs 中的两个重要成员, 分别是相对分子质量为 44 000 和 42 000 的蛋白, 其同源性约为 80%。ERK₁ 和 ERK₂ 广泛存在, 可被多种配体和细胞外界刺激所激活, 具有细胞种类特异性。活化的 ERK 激酶移位到细胞核, 磷酸化一系列转录因子, 引起细胞增殖分化, 调节细胞周期和细胞生存。研究显示在乳腺癌、肝癌及胃癌等肿瘤组织中有 ERK₁ 和 ERK₂ 的过表达发生。但 ERK₁ 和 ERK₂ 在胰腺癌组织中表达的研究较少。本实验组织学研究结果是: ERK₁ 和 ERK₂ 在人胰腺癌组织的阳性表达率分别为 86.70% 和 84.44%, 在良性病变对照组织的阳性率分别为 30% 和 20%, 胰腺癌组和对照组阳性率有显著差异。ERK₁ 和 ERK₂ 参与胰腺癌的发生发展, 但 ERK₁、ERK₂ 蛋白表达与临床病理参数无明显相关性。

本研究结果显示 TGF- β_1 、ERK₁ 和 ERK₂ 表达之间均有相关性, ERK₁、ERK₂ 作为 TGF- β_1 下游靶基因与 TGF- β_1 互相协同参与胰腺癌的发生发展, 具体机制尚需进一步研究。胰腺癌的发生发展是一个多因素的复杂过程, 与其他恶性肿瘤一样, 是多基因异常改变的结果, MAPK 级联系统作为 TGF- β_1 的下游信号转导通路在胰腺癌的发生、发展及转移过程中起着十分重要的作用, 如果将其作为胰腺癌基因治疗的靶点, 阻断这一活跃的增殖信号途径, 恢复细胞对 TGF- β_1 的细胞抑制作用的敏感性, 将会为胰腺癌的治疗开辟有效的新途径。

【参考文献】

- [1] Massague J. TGF- β signal transduction[J]. *Annu Rev Biochem*, 1998, 67: 753-791.
- [2] Piek E, Heldin CH, Ten-Dijke P. Specificity, diversity, and regulation in TGF- β superfamily signaling[J]. *FASEB J*,

1999, 13 (15): 2105-2124.

- [3] Selvamurugan N, Kwok S, Alliston T, *et al*. Transforming growth factor-beta 1 regulation of collagenase-3 expression in osteoblastic cells by cross-talk between the Smad and MAPK signaling pathways and their components, Smad2 and Runx2[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(18): 19327-19334.
- [4] Hammaker DR, Boyle DL, Chabaud-Riou M, *et al*. Regulation of c-Jun N-terminal kinase by MEKK-2 and mitogen-activated protein kinase kinases in rheumatoid arthritis[J]. *J Immunol*, 2004, 172(3): 1612-1618.
- [5] Dazy S, Damiola F, Parisey N, *et al*. The MEK-1/ERKs signalling pathway is differentially involved in the self-renewal of early and late avian erythroid progenitor cells[J]. *Oncogene*, 2003, 22(58): 9205-9216.
- [6] Bartsch D, Barth P, Bastian D, *et al*. Higher frequency of DPC4/Smad4 alterations in pancreatic cancer cell lines than in primary pancreatic adenocarcinomas[J]. *Cancer Lett*, 1999, 139(1): 43-49.
- [7] Hahn SA, Haque AT, Maskaluk CA, *et al*. Homozygous deletion map at 18q21.1 in pancreatic cancer[J]. *Cancer Res*, 1996, 56(3): 490-494.
- [8] Seger R, Krebs EG. The MAPK signaling cascade [J]. *FASEB J*, 1995, 9(9): 726-735.
- [9] Stuhlmeier KM, Pollaschek C. Differential effect of transforming growth factor beta (TGF-beta) on the genes encoding hyaluronan synthases and utilization of the p38 MAPK pathway in TGF-beta-induced hyaluronan synthase 1 activation [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(10): 8753-8760.
- [10] Song BC, Chung YH, Kim JA, *et al*. Transforming growth factor-beta 1 as a useful serologic marker of small hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer*, 2002, 94(1): 175-180.
- [11] Breier G, Blum S, Peli J, *et al*. Transforming growth factor-beta and Ras regulate the VEGF/VEGF-receptor system during tumor angiogenesis[J]. *Int J Cancer*, 2002, 97(2): 142-148.
- [12] Wahl SM, Hunt DA, Wong HL, *et al*. Transforming growth factor- β is a potent immunosuppressive agent that inhibits IL-1-dependent lymphocyte proliferation[J]. *J Immunol*, 1988, 140(9): 3026-3032.
- [13] Lin CM, Wang FH, Lee PK. Activated human CD4⁺ T cells induced by dendritic cell stimulation are most sensitive to transforming growth factor-beta; implications for dendritic cell immunization against cancer[J]. *Clin Immunol*, 2002, 102(1): 96-105.
- [14] Grady WM, Rajput A, Myeroff L, *et al*. Mutation of the type II transforming growth factor-beta receptor is coincident with the transformation of human colon adenomas to malignant carcinomas[J]. *Cancer Res*, 1998, 58(14): 3101-3104.
- [15] Coyle B, Freathy C, Gant TW, *et al*. Characterization of the transforming growth factor- β_1 -induced apoptotic transcriptome in FaO hepatoma cells[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(8): 5920-5928.
- [16] Florenes VA, Bhattacharya N, Bani MR, *et al*. TGF- β_1 mediated G1 arrest in a human melanoma cell line lacking p15INK4B: evidence for cooperation between p22Cip1/WAF1 and p27Kip1[J]. *Oncogene*, 1996, 13(11): 2447-2457.

【收稿日期】 2005-01-14

【修回日期】 2005-02-25

【本文编辑】 贾泽军, 邓晓群