

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.02.042

◇临床医学◇

慢病毒介导的性别决定区 Y 框蛋白 9 表达下调对抑制 Wnt 信号通路调控乳腺癌细胞侵袭能力的影响

马耀增, 张茂锋, 刘洪波, 王鹏, 王宏伟

作者单位: 洛阳市第一人民医院普外二科, 河南 洛阳 471002

通信作者: 王宏伟, 男, 主任医师, 研究方向为胸外科, E-mail: wanghw2007live@163.com

摘要: **目的** 研究慢病毒介导的性别决定区 Y 框蛋白 9(SOX9)表达下调对抑制 Wnt 信号通路调控乳腺癌细胞侵袭能力的影响。**方法** 以 Wnt 信号通路抑制剂 XAV939 处理乳腺癌细胞 MDA-MB-436, 噻唑蓝(MTT)法测定细胞增殖活性, 蛋白质免疫印迹(Western blot)检测细胞中 SOX9 蛋白及 Wnt 信号通路蛋白 β -连环蛋白(β -catenin)、下游靶基因 c-myc 表达水平。SOX9 siRNA 慢病毒感染 MDA-MB-436 细胞, Realtime PCR 和蛋白质印迹法检测干扰效果。细胞划痕实验测定细胞迁移能力, Transwell 小室检测细胞侵袭能力, 蛋白质印迹法检测细胞中基质金属蛋白酶-2(MMP-2)和上皮间质转化(EMT)相关蛋白上皮性钙黏附素(E-cadherin)、神经性钙黏附素(N-cadherin)表达水平。**结果** XAV939 能够下调 MDA-MB-436 细胞增殖活性, 抑制乳腺癌细胞中 SOX9 蛋白表达, 降低 Wnt 信号通路蛋白 β -catenin、c-myc 表达水平。SOX9 siRNA 慢病毒感染后的 MDA-MB-436 细胞中 SOX9 mRNA 和蛋白水平降低。下调 SOX9 的 MDA-MB-436 细胞侵袭数目从 (85.56 ± 4.35) 降低至 (64.15 ± 3.25) , 迁移率从 $(74.16 \pm 6.25)\%$ 降低至 $(54.12 \pm 3.96)\%$, 细胞中 MMP-2 蛋白水平降低, E-cadherin 蛋白水平升高, N-cadherin 蛋白水平降低。XAV939 也能够下调 MDA-MB-436 细胞侵袭数目从 (85.56 ± 4.35) 降低至 (51.23 ± 2.87) , 迁移率从 $(74.16 \pm 6.25)\%$ 降低至 $(45.28 \pm 3.59)\%$, 抑制细胞中 MMP-2 蛋白表达, 促进 E-cadherin 蛋白表达, 下调 N-cadherin 蛋白表达水平。XAV939 处理下调 SOX9 的 MDA-MB-436 细胞, 细胞侵袭数目降低至 (34.18 ± 2.59) , 迁移率降低至 $(24.78 \pm 1.68)\%$, 细胞中 MMP-2 蛋白表达水平下降更多, E-cadherin 蛋白水平升高更多, N-cadherin 蛋白水平下降更多。**结论** 抑制 Wnt 信号通路下调乳腺癌细胞中 SOX9 的表达水平, 降低其表达能够协同 Wnt 信号通路抑制剂降低乳腺癌细胞侵袭迁移能力。

关键词: 乳腺肿瘤; SOX9 转录因子类; 肿瘤浸润; Wnt 信号通路; 基质金属蛋白酶 2; 钙黏着糖蛋白类

Inhibiting effect of down-regulation of lentivirus mediated sex determining region Y-box 9 expression on Wnt signaling pathway mediated invasion of breast cancer cells

MA Yaozeng, ZHANG Maofeng, LIU Hongbo, WANG Peng, WANG Hongwei

Author Affiliation: Department of General Branch 2, The First People's Hospital of Luoyang, Luoyang, Henan 471002, China

Abstract: Objective To study the role of lentivirus mediated SOX9 down-regulation in the invasion of breast cancer cells by inhibiting Wnt signaling pathway. **Methods** Wnt signaling pathway inhibitor XAV939 was used to treat breast cancer cell line MDA-MB-436. MTT assay was used to determine cell proliferation activity. Western blot was used to detect the expression level of SOX9 protein and Wnt signaling pathway protein β -catenin and c-myc in cells. SOX9 siRNA lentivirus infection MDA-MB-436 cells, Realtime PCR and Western blot were used to detect the interference effect. Cell migration ability was measured by cell scratch test. Transwell was used to detect cell invasiveness. Western blot was used to detect the expression levels of MMP-2 and EMT related proteins E-cadherin and N-cadherin in cells. **Results** XAV939 can reduce the proliferation activity of MDA-MB-436 cells, inhibit SOX9 protein expression in breast cancer cells, and reduce the expression level of Wnt signaling pathway β -catenin and c-myc. After SOX9 siRNA lentivirus infection, the level of SOX9 mRNA and protein decreased in MDA-MB-436 cells, the number of invasive cells decreased from (85.56 ± 4.35) to (64.15 ± 3.25) , and the migration rate decreased from $(74.16 \pm 6.25)\%$ to $(54.12 \pm 3.96)\%$, the level of MMP-2 protein in the cells decreased, the level of E-cadherin protein elevated, the level of N-cadherin protein decreased. XAV939 can also reduce the invasion and migration ability of MDA-MB-436 cells, the number of invasive cells decreased from (85.56 ± 4.35) to (51.23 ± 2.87) , and the migration rate decreased from $(74.16 \pm 6.25)\%$ to $(45.28 \pm 3.59)\%$, and inhibiting the expression of MMP-2 protein in cells, promoted the expression of E-cadherin protein, and down-regulated the expression of N-cadherin protein. XAV939 treatment of MDA-MB-436 cells decrease SOX9, the number of cell invasion was decreased to (34.18 ± 2.59) .

2.59), and the migration rate was decreased to $(24.78 \pm 1.68)\%$. The expression level of MMP-2 protein in the cells decreased more, the level of E-cadherin protein increased more, the level of N-cadherin protein decreased more. **Conclusion** Inhibition of Wnt signaling pathway down-regulates SOX9 expression in breast cancer cells, knocking down its expression synergy with Wnt signaling pathway inhibitors reduces invasion and migration of breast cancer cells.

Key words: Breast neoplasms; SOX9 transcription factor; Neoplasm invasiveness; Wnt signaling pathway; Matrix metalloproteinase 2; Cadherins

乳腺癌多发于女性,极少数的男性也有发生,其是起源于乳腺上皮组织的恶性肿瘤,原发性的乳腺癌致死率不高,乳腺癌转移是其致死的重要原因,乳腺癌转移机制较为复杂,乳腺癌细胞从原发部位脱落以后,进入淋巴管或血管到达新的组织器官形成转移灶,这一过程中乳腺癌细胞侵袭、迁移、上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)是关键^[1-2]。Wnt信号通路在肿瘤中过度激活,抑制其激活后可以降低肿瘤细胞的转移和增殖能力^[3]。性别决定区Y框蛋白9(sex determining region Y-box 9, SOX9)是一种癌基因,在乳腺癌等多种肿瘤中高表达,沉默其表达可以抑制肿瘤细胞的转移能力^[4-5]。有研究显示,SOX9位于Wnt信号通路的下游,Wnt信号通路激活后可以上调SOX9的表达,发挥促肿瘤作用^[6]。目前对于SOX9在乳腺癌细胞侵袭、迁移中的作用尚不明确,本实验自2017年3月至2018年3月以乳腺癌细胞MDA-MB-436为体外研究对象,探讨SOX9对乳腺癌细胞侵袭迁移能力的影响及Wnt信号通路的调控作用,以期明确乳腺癌转移机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料 乳腺癌细胞MDA-MB-436购自上海酶研生物科技有限公司;Wnt信号通路抑制剂XAV939购自美国MedChemExpress;SOX9抗体、 β -连环蛋白(β -catenin)抗体、c-myc抗体购自Santa Cruz Biotechnology;基质金属蛋白酶-2(matrix metalloprotease, MMP-2)抗体、上皮性钙黏附素(E-cadherin)抗体、神经性钙黏附素(N-cadherin)抗体购自美国Cell signaling Technology;SOX9 siRNA慢病毒由上海锐赛生物技术有限公司构建包装;引物由南京金斯瑞生物科技有限公司合成。

MDA-MB-436细胞培养条件为:37℃,5%二氧化碳培养箱,饱和湿度。细胞密度为90%时,添加0.25%的胰蛋白酶将细胞消化后,接种在细胞培养瓶中继续培养。

1.2 Wnt信号通路抑制剂对乳腺癌细胞增殖活性影响 MDA-MB-436细胞浓度调整为每100 μ L的细胞悬浮液中含有3 000个细胞,种植到96孔板中,

每个孔内加入100 μ L,孵育过夜以后,把上清液吸除,添加含有0、5、10、20、40 μ mol/L的Wnt信号通路抑制剂XAV939的细胞培养液,继续培养24 h。在实验孔中加入20 μ L的噻唑蓝(MTT)结合4 h以后,将MTT溶液吸除,加入二甲基亚砜(DMSO)将结晶溶解以后,选取570 nm,用酶标仪检测OD值。以0 μ mol/L作为对照,以不加细胞的孔作为空白孔,分析细胞抑制率,设置0 μ mol/L作用组抑制率为0,分析其他浓度梯度抑制率变化。

1.3 抑制Wnt信号通路对乳腺癌细胞中SOX9、 β -catenin、c-myc蛋白表达影响 MDA-MB-436细胞用0、20 μ mol/L的XAV939处理24 h以后,按照每个6孔板中加入120 μ L的蛋白裂解液将细胞裂解以后,以14 000 g离心约5 min后,吸取上清,把沉淀弃掉。取10 μ L的蛋白用于二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量检测,其余样品中加入5 $\times$ 上样缓冲溶液,置于水浴中煮沸5 min。分别配制9%的分离胶及5%的浓缩胶,把预先准备好的蛋白加入到聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)上样孔内,每个孔中加入20 μ g蛋白,常规方法电泳以后,进行转膜。PVDF膜靠近正极,凝胶靠近负极,0.25 A电流进行转膜约180 min。以TBST(Tris-HCl缓冲盐溶液+Tween)洗涤以后,把聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜放在含有封闭液(5%牛血清白蛋白)的平皿中孵育2 h,再与SOX9、 β -catenin、c-myc抗体在4℃过夜孵育后,再放在二抗反应液中孵育2 h。ECL发光,显影后,分析条带的光密度值,以每组的GAPDH作为参照。SOX9、 β -catenin、c-myc抗体以1:200、1:400、1:400稀释,二抗以1:5 000稀释。

1.4 实验分组和慢病毒感染 MDA-MB-436细胞分成4组,依次为对照组、XAV939、SOX9-si、SOX9-si + XAV939,对照组、XAV939用感染阴性对照慢病毒的MDA-MB-436细胞,SOX9-si、SOX9-si + XAV939用感染SOX9 siRNA慢病毒的MDA-MB-436细胞。XAV939、SOX9-si + XAV939在实验开始0 h时在细胞培养液中添加20 μ mol/L的XAV939。MDA-MB-436细胞慢病毒感染步骤简述如下:细胞密度为40%时,在细胞中加入慢病毒颗粒,调整慢病毒感

染复数为20,感染12 h后,把细胞培养板取出,添加新鲜的培养液,培养3 d以后,用puromycin筛选稳定感染的细胞株扩大培养。

1.5 干扰效果检测 用Realtime PCR和蛋白质印迹法检测干扰效果,蛋白质印迹法步骤同上。Realtime PCR步骤如下:将对照组、SOX9-si细胞用冰预冷的PBS洗涤后,按照每个6孔板中加入1mL的TRIZOL裂解液把细胞裂解以后,添加1/5体积的氯仿溶液混合离心后,吸取水相层的溶液,加入异丙醇后在室温沉淀RNA,离心后,用75%的乙醇将RNA洗涤,晾干后,添加无RNase水溶解以后,进行cDNA合成。用M-MLV和oligo(dT)合成cDNA,步骤同试剂盒说明书。取cDNA,进行Realtime PCR,0.5 μmol/L的正、反向引物各1 μL、12.5 μL的SYBR Premix Taq™、1 μL的cDNA模板、25 μL的ddH₂O混合后,置于PCR仪上,程序设置为:95℃预变性30 s后,进行PCR反应,PCR共循环40次,程序为95℃5 s,60℃20 s。GAPDH正向引物为5'-AATC-CATCACCATCTTCCA-3',反向引物5'-TGGACTC-CACGACGTACTCA-3'。SOX9正向引物为5'-CAT-CACCCAGGTCAGCAA-3',反向引物5'-TGGAG-GTTTATAGCTCGG-3'。

1.6 细胞迁移能力检测 细胞划痕实验检测细胞迁移能力。取慢病毒感染后的乳腺癌细胞接种到6孔板,接种密度为5×10⁵个/孔,细胞铺满以后,枪头垂直的在底部划出细痕,添加PBS将划落的细胞洗涤,用不含血清的细胞培养液培养,按照对照组、XAV939、SOX9-si、SOX9-si + XAV939分组处理,在0 h和24 h检测划痕宽度。细胞迁移率为细胞迁移的距离与划痕初始宽度的百分比。

1.7 细胞侵袭能力检测 用Transwell小室检测细胞侵袭能力变化。取8 μm的Transwell小室,添加DMEM稀释的Matrigel,放置于37℃孵育1 h。将对照组、XAV939、SOX9-si、SOX9-si + XAV939按照上述方法处理,悬浮于不含血清的培养液中,细胞密度为5×10⁵个/mL,每个小室中加入200 μL的细胞悬浮液,侵袭时间设置为24 h。将培养板取出以后,用4%的多聚甲醛固定,苏木素染色以后,在光学显微镜下观察细胞数目,每组至少选取10个视野。

1.8 细胞中MMP-2和EMT相关蛋白E-cadherin、N-cadherin表达水平检测 将对照组、XAV939、SOX9-si、SOX9-si + XAV939按照上述方法处理,培养24 h以后,用蛋白质印迹法方法测定细胞内MMP-2、E-cadherin、N-cadherin蛋白水平变化,步骤同上。

1.9 统计学方法 实验数据用SPSS 21.0软件分

析,采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组数据用独立样本 t 检验;多组差异比较采用单因素方差分析,两两比较采用SNK- q 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Wnt信号通路抑制剂XAV939对乳腺癌细胞增殖影响 乳腺癌细胞经过5、10、20、40 μmol/L的XAV939处理以后,乳腺癌细胞抑制率依次升高,XAV939能够下调乳腺癌细胞的增殖活性。20 μmol/L的XAV939处理后细胞抑制率接近50%,选用20 μmol/L的XAV939作后续研究。见表1。

表1 不同浓度的XAV939对乳腺癌细胞增殖影响/(%, $\bar{x} \pm s$)

XAV939作用浓度	抑制率
0 μmol/L	0.00
5 μmol/L	16.23±1.14
10 μmol/L	25.74±2.35
20 μmol/L	48.58±1.46
40 μmol/L	75.24±4.13
F 值	497.360
P 值	0.000

2.2 Wnt信号通路抑制剂对乳腺癌细胞中SOX9表达影响 乳腺癌细胞经过20 μmol/L的XAV939处理后,细胞中的SOX9蛋白水平降低,同时细胞中Wnt信号通路关键因子β-catenin、c-myc蛋白水平也降低。XAV939具有下调乳腺癌细胞中SOX9表达水平的作用。见图1,表2。

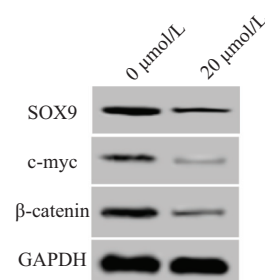


图1 蛋白质印迹法测定XAV939处理后细胞中SOX9蛋白及β-catenin、c-myc蛋白水平

表2 XAV939处理后细胞中SOX9蛋白及β-catenin、c-myc蛋白水平变化/ $\bar{x} \pm s$

XAV939作用浓度	SOX9	β-catenin	c-myc
0 μmol/L	0.48±0.06	0.40±0.03	0.26±0.02
20 μmol/L	0.24±0.05	0.18±0.03	0.13±0.01
t 值	5.322	8.982	10.070
P 值	0.006	0.001	0.001

2.3 慢病毒感染后对乳腺癌细胞中SOX9表达影响 乳腺癌细胞感染SOX9 siRNA慢病毒后,细胞中的SOX9蛋白水平和mRNA水平均降低。构建了

下调SOX9的乳腺癌细胞株。见图2,表3。

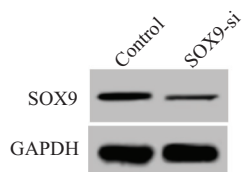


图2 蛋白质印迹法测定慢病毒感染后细胞中SOX9蛋白水平

表3 慢病毒感染后细胞中SOX9蛋白和mRNA水平/ $\bar{x} \pm s$

组别	SOX9蛋白	SOX9 mRNA
对照组	0.53±0.04	1.00±0.00
SOX9-si	0.29±0.03	0.51±0.06
<i>t</i> 值	8.314	14.145
<i>P</i> 值	0.001	0.000

2.4 下调SOX9对XAV939处理后的乳腺癌细胞侵袭和迁移能力影响 XAV939处理后的乳腺癌细胞侵袭数目和迁移率均明显降低,下调SOX9后的乳腺癌细胞的侵袭数目和迁移率也降低。XAV939处理下调SOX9后的乳腺癌细胞,细胞的侵袭数目和迁移率降低更多。下调SOX9协同XAV939抑制乳腺癌细胞的侵袭和迁移。见表4。

表4 下调SOX9和XAV939后细胞侵袭和迁移能力变化/ $\bar{x} \pm s$

组别	侵袭数目/个	迁移率/%
对照组	85.56±4.35	74.16±6.25
XAV939	51.23±2.87 ^a	45.28±3.59 ^a
SOX9-si	64.15±3.25 ^a	54.12±3.96 ^a
SOX9-si + XAV939	34.18±2.59 ^{ab}	24.78±1.68 ^{ab}
<i>F</i> 值	126.776	49.837
<i>P</i> 值	0.000	0.000

注:与对照组比较,^a*P* < 0.05;与SOX9-si、XAV939比较,^b*P* < 0.05

2.5 下调SOX9对XAV939处理后的乳腺癌细胞细胞中MMP-2、E-cadherin、N-cadherin表达影响 XAV939处理后的乳腺癌细胞中MMP-2表达水平降低,E-cadherin表达水平升高,N-cadherin表达水平降低。下调SOX9后的乳腺癌细胞中MMP-2、N-cadherin水平也降低,E-cadherin水平升高。XAV939处理下调SOX9后的乳腺癌细胞,细胞中MMP-2蛋白水平降低更多,E-cadherin蛋白水平升高更多,N-cadherin蛋白水平也下降更多。下调SOX9协同XAV939抑制乳腺癌细胞EMT和合成基质降解酶MMP-2。见图3,表5。

3 讨论

SOX9是目前为止研究最为广泛的SOX蛋白家族成员之一,其在人类早期的胚胎发育中具有重要作用,其突变、重复后可以引起性别反转、CD综合

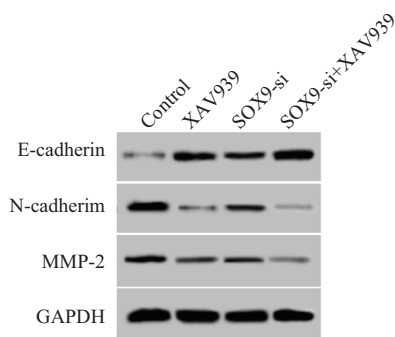


图3 蛋白质印迹法检测下调SOX9及XAV939对细胞中MMP-2、E-cadherin、N-cadherin蛋白表达影响

表5 下调SOX9和XAV939处理后细胞中MMP-2、E-cadherin、N-cadherin蛋白水平变化/ $\bar{x} \pm s$

组别	MMP-2	E-cadherin	N-cadherin
对照组	0.41±0.03	0.12±0.03	0.75±0.06
XAV939	0.21±0.02 ^a	0.67±0.05 ^a	0.20±0.02 ^a
SOX9-si	0.28±0.03 ^a	0.48±0.04 ^a	0.44±0.03 ^a
SOX9-si + XAV939	0.14±0.01 ^{ab}	0.79±0.05 ^{ab}	0.13±0.01 ^{ab}
<i>F</i> 值	69.217	137.013	188.320
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

注:与对照组比较,^a*P* < 0.05;与SOX9-si、XAV939比较,^b*P* < 0.05

征,后续的研究表明,SOX9在心脏、骨骼肌等的发育中也具有调控作用,其表达水平异常参与肿瘤的发生,在乳腺癌、骨肉瘤、卵巢癌、前列腺癌等肿瘤组织中均发现SOX9高表达,并且其参与肿瘤细胞的分化、生长、侵袭等过程^[7-12]。本研究表明,下调SOX9后的乳腺癌细胞的侵袭迁移能力降低,提示SOX9在乳腺癌转移中可能发挥促进作用。

Wnt信号通路参与癌症的发生过程,其在肿瘤组织中过度激活,对于肿瘤细胞的生长、侵袭等生物学特性均有调控作用^[13-14]。Wnt信号通路是一个进化极为保守的、与胚胎发育有关的信号通路,调控着细胞的极化、增殖等多种生物学过程, β -catenin是经典Wnt信号通路的关键因子,其在没有Wnt信号时与细胞质内的蛋白质磷酸酶等形成复合物,该复合物被磷酸化后可以被蛋白酶直接降解,在受到Wnt信号刺激以后, β -catenin形成的复合物不能被磷酸化导致 β -catenin降解受阻,引起 β -catenin在细胞质内积累,细胞质内过量的 β -catenin可以进入细胞核,引起下游靶基因的表达,从而发挥调控细胞多种生物学特性的作用^[15-20]。本实验表明,Wnt信号通路抑制剂可以降低乳腺癌细胞的增殖活性,下调乳腺癌细胞的侵袭和迁移能力,提示Wnt信号通路抑制剂XAV939具有抗肿瘤作用。

目前关于Wnt信号通路与SOX9的调控作用研究尚不明确,在皮肤鳞癌中的研究表明,下调 β -

catenin 表达后的皮肤鳞癌细胞中 SOX9 表达水平降低,细胞的增殖能力下降,并且过表达 SOX9 可以部分恢复下调 β -catenin 对细胞增殖的影响,在软骨细胞中的研究也证实, β -catenin 可以通过调控 SOX9 的表达影响关节软骨修复能力,在结肠癌中的研究表明,灭活 APC 可以激活小鼠中 Wnt 信号通路,诱导 SOX9 的表达,促进结肠腺瘤性上皮细胞的增殖,以上这些研究结果表明, SOX9 可能受到 Wnt 信号通路的正调控作用^[21-25]。本实验的结果显示, Wnt 信号通路抑制剂可以下调乳腺癌细胞中 SOX9 的表达,并且下调 SOX9 表达后的乳腺癌细胞经 Wnt 信号通路作用后,细胞的侵袭和迁移能力降低更多,这可能提示 Wnt 信号通路可以通过调控 SOX9 的表达影响乳腺癌细胞的侵袭和迁移。

综上,下调 SOX9 可以降低乳腺癌细胞侵袭、迁移及 EMT 能力, SOX9 参与介导 Wnt 信号通路调控乳腺癌细胞侵袭迁移过程, Wnt 信号通路能够正调控乳腺癌细胞中 SOX9 的表达,这为以后研究乳腺癌发病机制及 Wnt 信号通路、SOX9 之间的具体调控位点奠定了基础。本实验没有研究上调 SOX9 对抑制 Wnt 信号通路的逆转作用,没有在多株细胞中进行验证,在后续实验中会对上述部分进行深入探讨。

参考文献

- [1] 李菁华.个性化护理对晚期乳腺癌新辅助化疗患者负性情绪和免疫功能的影响[J].安徽医药,2015,19(6):1214-1216.
- [2] BROEKS A, SCHMIDT MK, SHERMAN ME, et al. Low penetrance breast cancer susceptibility loci are associated with specific breast tumor subtypes: findings from the Breast Cancer Association Consortium[J]. Hum Mol Genet, 2011, 20(16): 3289-3303.
- [3] VIJAYAKUMAR S, LIU G, WEN H C, et al. Extracellular LDLR repeats modulate Wnt signaling activity by promoting LRP6 receptor endocytosis mediated by the Itch E3 ubiquitin ligase[J]. Genes Cancer, 2017, 8(7/8): 613-627.
- [4] HASEGAWA S, KITOH H, OHKAWARA B, et al. Tranilast stimulates endochondral ossification by upregulating SOX9 and RUNX2 promoters[J]. Biochemical & Biophysical Research Communications, 2016, 470(2): 356-361.
- [5] WANG G, LUNARDI A, ZHANG J, et al. Zbtb7a suppresses prostate cancer through repression of a Sox9-dependent pathway for cellular senescence bypass and tumor invasion[J]. Nature Genetics, 2013, 45(7): 739-746.
- [6] SANTOS JC, CARRASCO-GARCIA E, GARCIA-PUGA M, et al. SOX9 elevation acts with canonical WNT signaling to drive gastric cancer progression[J]. Cancer Res, 2016, 76(22): 6735-6746.
- [7] LUANPITONG S, LI J, MANKE A, et al. SLUG is required for SOX9 stabilization and functions to promote cancer stem cells and metastasis in human lung carcinoma[J]. Oncogene, 2016, 35(22): 2824-2833.
- [8] XU JQ, ZHANG WB, WAN R, et al. MicroRNA-32 inhibits osteosarcoma cell proliferation and invasion by targeting Sox9[J]. Tumour Biol, 2014, 35(10): 9847-9853.
- [9] RASPAGLIO G, PETRILLO M, MARTINELLI E, et al. Sox9 and Hif-2 α regulate TUBB3 gene expression and affect ovarian cancer aggressiveness[J]. Gene, 2014, 542(2): 173-181.
- [10] XIE Y, LU W, LIU S, et al. Crosstalk between nuclear MET and SOX9/ β -catenin correlates with castration-resistant prostate cancer[J]. Mol Endocrinol, 2014, 28(10): 1629-1639.
- [11] NOWACKA-WOSZUK J, SZCZERBAL I, PAUSCH H, et al. Deep sequencing of a candidate region harboring the SOX9 gene for the canine XX disorder of sex development[J]. Anim Genet, 2017, 48(3): 330-337.
- [12] 陈海燕, 王志莲, 郝敏. SOX9 与肿瘤的研究进展[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2016, 10(3): 424-428. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2016.03.025.
- [13] ZHANG Z, ZHOU C, CHANG Y, et al. Long non-coding RNA CASC11 interacts with hnRNP-K and activates the WNT/ β -catenin pathway to promote growth and metastasis in colorectal cancer[J]. Cancer Lett, 2016, 376(1): 62-73.
- [14] XIN Y, BO T, XIAO YF, et al. Helicobacter pylori upregulates Nanog and Oct4 via Wnt/ β -catenin signaling pathway to promote cancer stem cell-like properties in human gastric cancer[J]. Cancer Lett, 2016, 374(2): 292-303.
- [15] RUDOLF A, SCHIRWIS E, GIORDANI L, et al. β -catenin activation in muscle progenitor cells regulates tissue repair[J]. Cell Rep, 2016, 15(6): 1277-1290.
- [16] 姚杰, 孙军, 宁波. 儿童侵袭性纤维瘤中 β -catenin 的表达和基因突变分析及与复发相关性实验研究[J]. 安徽医药, 2015, 19(8): 1491-1494.
- [17] LI L, FU X, ZHANG W, et al. Wnt signaling pathway is activated in right colon serrated polyps correlating to specific molecular form of β -catenin[J]. Hum Pathol, 2013, 44(6): 1079-1088.
- [18] WEI W, LI M, WANG Y, et al. GSK-3 β inhibitor TWS119 attenuates rTPA-induced hemorrhagic transformation and activates the Wnt/ β -catenin signaling pathway after acute ischemic stroke in rats[J]. Mol Neurobiol, 2016, 53(10): 7028-7036.
- [19] JIANG J, SHI S, ZHOU Q, et al. Downregulation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway is involved in manganese-induced neurotoxicity in rat striatum and PC12 cells[J]. J Neurosci Res, 2014, 92(6): 783-794.
- [20] ZHANG L, YAN R, ZHANG Q, et al. Survivin, a key component of the Wnt/ β -catenin signaling pathway, contributes to traumatic brain injury-induced adult neurogenesis in the mouse dentate gyrus[J]. Int J Mol Med, 2013, 32(4): 867-875.
- [21] 李雪梅. Sox9 介导 Wnt/ β -catenin 信号通路影响皮肤鳞癌细胞增殖的机制[D]. 大连: 大连医科大学, 2015.
- [22] WEI MF, KUO SH. Inhibition of SOX9 may be an effective target for increasing radiosensitivity in gastrointestinal cancer[J]. Ann Transl Med, 2017, 5(10): 224-236.
- [23] PANZA A, PAZIENZA V, RIPOLI M, et al. Interplay between

- SOX9, β -catenin and PPAR γ activation in colorectal cancer[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1833(8):1853-1865.
- [24] USTIYAN V, ZHANG Y, PERL AK, et al. β -catenin and Kras/Foxm1 signaling pathway are critical to restrict Sox9 in basal cells during pulmonary branching morphogenesis[J]. Dev Dyn, 2016, 245(5):590-604.
- [25] SELLA H, WU S, LINCOLN TM. KLF4 and SOX9 transcription factors antagonize β -catenin and inhibit TCF-activity in cancer cells[J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1823(10):1666-1675.

(收稿日期:2018-06-15,修回日期:2018-08-11)

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2020.02.043

◇ 药物与临床 ◇

阿瑞匹坦联合昂丹司琼治疗乳腺癌化疗引起的 恶心呕吐 31 例疗效观察

蔡智慧¹, 李卉¹, 田肖芳¹, 王金明², 安晓娟¹作者单位:¹内蒙古自治区人民医院肿瘤内科, 内蒙古自治区 呼和浩特 010017;²内蒙古兴安盟人民医院疼痛科, 内蒙古自治区 乌兰浩特 137400

通信作者:李卉,女,主任医师,硕士生导师,研究方向为乳腺癌、肺癌等实体瘤化疗靶向治疗, E-mail:lihui2329@163.com

基金项目:内蒙古医科大学科技百万工程联合项目[YKD2018KJBW(LH)060]

摘要:目的 观察阿瑞匹坦联合昂丹司琼治疗化疗药物引起的恶心呕吐的疗效。方法 收集内蒙古自治区人民医院2017年2月至2018年5月行化疗的乳腺癌病人62例,采用随机数字表法分为观察组(阿瑞匹坦+昂丹司琼)及对照组(昂丹司琼组),每组各31例,比较两组药物对预防化疗所致恶心、呕吐的临床疗效。结果 观察组治疗恶心呕吐有效率为87.1%,优于对照组的58.1%($P < 0.05$);两组发生的疲乏、便秘、头痛不良反应比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 阿瑞匹坦联合昂丹司琼注射液能够有效预防高致吐化疗药物引起的恶心呕吐,提高病人生活质量。

关键词:乳腺癌; 抗肿瘤联合化疗方案; 阿瑞匹坦; 昂丹司琼; 恶心; 呕吐

Clinical observation of aprepitant combined with ondansetron in the prevention of nausea and vomiting induced by chemotherapy of breast cancer

CAI Zhihui¹, LI Hui¹, TIAO Xiaofang¹, WANG Jinming², AN Xiaojuan¹Author Affiliations:¹Department of Oncology, Inner Mongolia People's Hospital, Huhehot, Inner MongoliaAutonomous Region 010017, China; ²Department of Pain, Hinggan League People's Hospital, Ulanhot, Inner Mongolia Autonomous Region 137400, China

Abstract: Objective To observe the curative effect of aprepitant combined with ondansetron in the prevention of nausea and vomiting caused by chemotherapy drugs. **Methods** Take the 62 breast tumors patients, who need chemotherapy, in Inner Mongolia People's Hospital from February 2017 to May 2018 were randomly divided into observation group (aprepitant combined with ondansetron) and control group (ondansetron) the 31 cases in each group, compared two groups of drugs for prevention of clinical curative effect of chemotherapy induced nausea and vomiting. **Results** Among 62 patients who achieved the assessment of clinical response, the complete response rates of nausea and vomiting by aprepitant combined with ondansetron vs. ondansetron were 87.1% vs. 58.1%; the observation group is better than control group ($P < 0.05$); The most common ADR in both regimens were fatigue, constipation, headache. There was no statistical significance in the incidence of ADR ($P > 0.05$). **Conclusion** The aprepitant combined with ondansetron regimen is effective for nausea and vomiting induced by chemotherapy, with tolerable toxicity profile, improve the quality of life of patients.

Key words: Breast neoplasms; Antineoplastic combined chemotherapy protocols; Aprepitant; Ondansetron; Nausea; Vomiting

化疗所致恶心、呕吐 (Chemotherapy-induced nausea and vomiting, CINV) 是癌症病人接受化疗时

出现的一种常见的严重副作用^[1-2]。CINV 不仅影响病人的生活质量(QOL), 也决定了化疗顺利完成的