

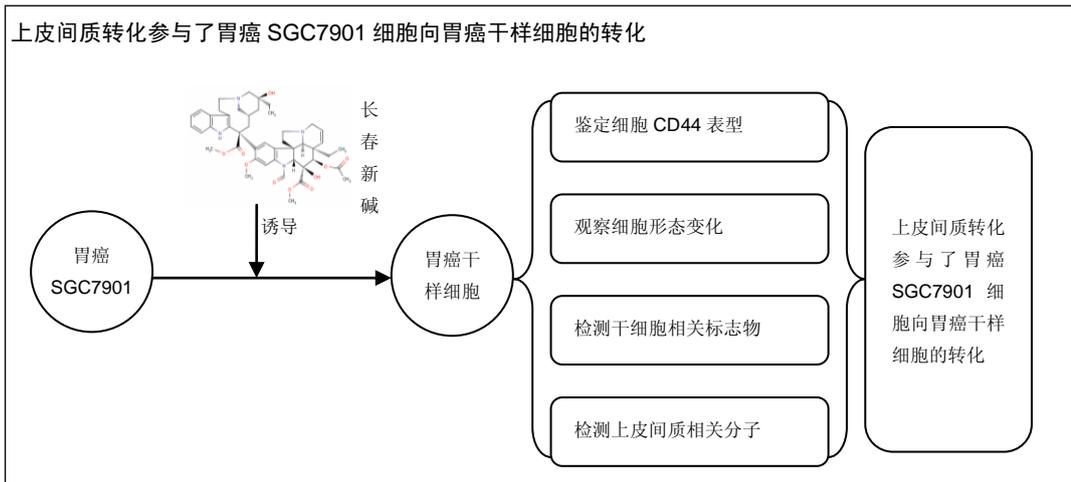
# 上皮间质转化在胃癌SGC7901细胞向胃癌干细胞转化过程中的作用

邢会军<sup>1</sup>, 赵艳军<sup>2</sup>, 侯雷<sup>1</sup>, 孙勇<sup>1</sup>, 刘朋<sup>1</sup>, 李春辉<sup>3</sup>(承德医学院附属医院, <sup>1</sup>胃肠外科, <sup>2</sup>急诊科, <sup>3</sup>病理科, 河北省承德市 067000)

引用本文: 邢会军, 赵艳军, 侯雷, 孙勇, 刘朋, 李春辉. 上皮间质转化在胃癌 SGC7901 细胞向胃癌干细胞转化过程中的作用[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(10):1426-1432.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.10.008 ORCID: 0000-0001-5257-766X(邢会军)

文章快速阅读:



邢会军, 男, 1966 年生, 河北省承德市人, 汉族, 硕士, 副主任医师。主要从事胃肠肿瘤的研究。

通讯作者: 赵艳军, 硕士, 副主任医师, 承德医学院附属医院急诊科, 河北省承德市 067000

中图分类号: R394.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2016)10-01426-07

稿件接受: 2016-01-12

<http://www.crter.org>

文题释义:

**上皮间质转化:** 是指上皮细胞失去其形态和功能后, 逐渐转化为间质样细胞的过程, 与肿瘤的侵袭、转移、复发以及耐药性密切相关。上皮间质转化的调控因素有很多, 如 E-钙黏蛋白、转化生长因子  $\beta$ 、Wnt 信号通路、微 RNA 及转录因子等。

**上皮间质转化与肿瘤的关系:** 上皮间质转化过程抑制致癌基因引起的提前衰老。在上皮间质转化过程中的肿瘤可以拮抗化疗和免疫疗法, 并且逃脱免疫系统的监视。最近的研究中发现上皮间质转化中的细胞可以获得类似于干细胞的特性, 这些尚未分化的间质细胞从表达 E-钙黏蛋白变为表达 N-钙黏蛋白, 并且表达 Snail, 蛋白酶, 以及一些细胞全能性转录因子如 Oct-4 和 Nanog。

摘要

**背景:** 有研究发现上皮间质转化和肿瘤的侵袭、转移以及耐药性密切相关, 但关于上皮间质转化在胃癌 SGC7901 细胞向胃癌干细胞转化过程中的作用的研究较为少见。

**目的:** 探讨上皮间质转化在胃癌 SGC7901 细胞向胃癌干细胞转化过程中的作用。

**方法:** 长春新碱诱导胃癌 SGC7901 细胞, 并对长春新碱诱导的胃癌 SGC7901 细胞进行培养筛选制备胃癌干细胞, 鉴定细胞 CD44 表型、观察细胞形态变化、检测干细胞相关标志物、检测上皮间质转化相关分子。

**结果与结论:** ①胃癌 SGC7901 细胞传代后经过长春新碱诱导后细胞形态发生了改变, 无血清悬浮培养后, 见克隆样细胞球生成, 同时 CD44 表型的细胞比例下降; ②胃癌干细胞中的 SOX2 和 OCT4 的表达水平以及间质标志物 Snail1 mRNA、Twist mRNA 和 Vimentin mRNA 表达水平均明显高于胃癌 SGC7901 细胞, 但上皮细胞标志物 E-钙黏蛋白 mRNA 表达水平明显低于胃癌 SGC7901 细胞; ③结果表明胃癌 SGC7901 细胞能够成功转化为胃癌干细胞, 上皮间质转化参与了胃癌 SGC7901 细胞向胃癌干样细胞的转化。

**关键词:**

干细胞; 肿瘤干细胞; 上皮间质转化; 胃癌; 胃癌干细胞; 耐药; 复发; 转移; 长春新碱; 诱导

**主题词:**

上皮细胞; 间质细胞; 组织工程

**基金资助:**

河北省医学科学研究重点课题计划(ZL20140103)

Xing Hui-jun, Master,  
Associate chief physician,  
Department of  
Gastrointestinal Surgery,  
Affiliated Hospital of  
Chengde Medical  
University, Chengde  
067000, Hebei Province,  
China

Corresponding author:  
Zhao Yan-jun, Master,  
Associate chief physician,  
Department of Emergency,  
Affiliated Hospital of  
Chengde Medical  
University, Chengde  
067000, Hebei Province,  
China

## Role of epithelial-mesenchymal transition in transformation of gastric cancer cells SGC7901 to gastric cancer stem cells

Xing Hui-jun<sup>1</sup>, Zhao Yan-jun<sup>2</sup>, Hou Lei<sup>1</sup>, Sun Yong<sup>1</sup>, Liu Peng<sup>1</sup>, Li Chun-hui<sup>3</sup> (<sup>1</sup>Department of Gastrointestinal Surgery, <sup>2</sup>Department of Emergency, <sup>3</sup>Department of Pathology, Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei Province, China)

### Abstract

**BACKGROUND:** Studies have found that epithelial-mesenchymal transition is closely related with tumor invasion, metastasis, and drug resistance, but studies on the role of epithelial-mesenchymal transition in the transformation process of gastric cancer cells SGC7901 to gastric cancer stem-like cells are rarely reported.

**OBJECTIVE:** To explore the effect of epithelial-mesenchymal transition in the transformation process of gastric cancer cells SGC7901 to gastric cancer stem-like cells.

**METHODS:** Vincristine-induced SGC7901 cells were cultured and screened to prepare gastric cancer stem-like cells. CD44 phenotype, morphological changes, stem cell-related markers, and epithelial-mesenchymal transition related molecules were detected.

**RESULTS AND CONCLUSION:** After passage, vincristine-induced SGC7901 cells presented with morphological changes, and clonal cell spheres generated after serum-free suspension culture. Meanwhile, the proportion of SGC7901 cells positive for CD44 was decreased. Expression levels of SOX2, OCT4, Snail1 mRNA, Twist mRNA and Vimentin mRNA were significantly higher in the gastric cancer stem-like cells than SGC7901 cells, but the expression level of E-cadherin was lower in the gastric cancer stem-like cells than SGC7901 cells. These findings indicate that gastric cancer cells SGC7901 can be successfully transformed into gastric cancer stem-like cells, and the epithelial-mesenchymal transition is involved in this transforming progress.

**Subject headings:** Epithelial Cells; Stromal Cells; Tissue Engineering

**Funding:** the Medical Science Research Project of Hebei Province, No. ZL20140103

**Cite this article:** Xing HJ, Zhao YJ, Hou L, Sun Y, Liu P, Li CH. Role of epithelial-mesenchymal transition in transformation of gastric cancer cells SGC7901 to gastric cancer stem cells. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(10):1426-1432.

## 0 引言 Introduction

胃癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一, 发病率比较高, 近年来随着医疗条件的改善, 抗幽门螺杆菌的重视, 以及饮食方式的调整, 胃癌患者的死亡率明显下降<sup>[1-3]</sup>, 目前胃癌的治疗主要有手术治疗、化学治疗以及放射治疗, 分子靶向药物作为一种新的治疗方法也在胃癌的治疗中应用<sup>[4-6]</sup>, 虽然医疗水平和医疗技术不断进步, 胃癌的5年生存率仍然比较低, 其中胃癌的转移、耐药和复发是影响胃癌治疗效果的主要原因<sup>[7-9]</sup>, 因此对胃癌转移、耐药和复发机制的研究至关重要<sup>[10-12]</sup>。

胃癌干细胞学说为胃癌的发生发展, 以及胃癌的转移、耐药和复发提供了新的思路<sup>[13-16]</sup>。上皮间质转化和癌症细胞的侵袭特性密切相关, 使上皮细胞具有间质的特性, 是上皮细胞癌症转移和侵袭的主要途径<sup>[17-19]</sup>, 研究上皮间质转化的发生机制和调节机制对探讨癌症的侵袭和转移具有重要意义, 上皮间质转化伴有干细胞特征, 能够使没有分化能力的癌症细胞经过上皮间质转化变为肿瘤干细胞<sup>[20]</sup>。目前关于上皮间质转化对胃癌

SGC7901细胞向胃癌干细胞转化过程中作用的研究不多, 本实验拟对此进行分析。

## 1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照细胞学实验。

1.2 时间及地点 实验在2014年9月至2015年6月在承德医学院附属医院实验室完成。

1.3 材料 胃癌SGC7901细胞购自承德医学院。

### 上皮间质转化检测使用的主要试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
RPMI1640培养基、DMEM/F12培养基	Invitrogen公司
长春新碱	深圳万乐药业有限公司
PE-抗人CD44抗体、HRP标记的抗兔IgG	北京中杉公司
FcR阻断剂	北京碧咨生物科技有限公司
流式细胞仪	美国Becton Dickinson公司
SIGMA 500/VP电镜	卡尔蔡司
成像系统	Bio-Rad

## 1.4 方法

**1.4.1 长春新碱诱导胃癌 SGC7901 细胞** 将胃癌 SGC7901 细胞接种到 RPMI1640 培养基中进行培养, 隔天进行一次换液, 4 d 开始传代培养, 对生长良好的胃癌 SGC7901 细胞进行胰蛋白酶进行消化, 制备胃癌 SGC7901 细胞悬液, 接种到 6 孔板中进行培养, 细胞生长至 80% 以上时更换含长春新碱的培养液, 继续培养 72 h, 得到长春新碱诱导的 SGC7901 肿瘤细胞。

**1.4.2 长春新碱诱导胃癌 SGC7901 细胞的培养筛选** 将长春新碱诱导后的 SGC7901 肿瘤细胞在 DMEM/F12 培养基中进行(无血清悬浮)培养, 制备细胞悬液, 接种到 96 孔板中培养, 10 d 左右形成细胞球, 形成细胞球后每隔 3 d 进行一次半量换液。

35 d 后收集细胞悬液进行离心, 弃去上清液, PBS 重悬细胞, 离心, 弃去上清液, 加入 Stem Pro<sup>®</sup> Accutase<sup>®</sup>(StemPro Accutase 细胞分离试剂)重悬细胞, 孵育后加入 DMEM/F12 培养基重悬细胞, 离心, 再加入 DMEM/F12 培养基重悬细胞, 接种到培养瓶中培养, 得到胃癌干样细胞。

**1.4.3 胃癌 SGC7901 细胞以及胃癌干样细胞 CD44 表型的鉴定** 采用流式细胞仪法进行鉴定, 分别去生长良好的胃癌 SGC7901 细胞和胃癌干样细胞进行消化, 离心, 细胞筛过滤后, 制成细胞悬液, 置入上样管和同型对照管, 上样管中加入 PE-抗人 CD44 抗体和 FcR 阻断剂, 同型对照管中加入同型对照抗体和 FcR 阻断剂, 进行孵育, PBS 洗涤后进行流式细胞仪检测。

**1.4.4 电镜观察胃癌 SGC7901 细胞以及胃癌干样细胞的形态** 将生长良好的胃癌 SGC7901 细胞以及胃癌干样细胞经过胰蛋白酶消化, 离心, 弃去上清液, PBS 重悬, 离心, 弃去上清液, 加入戊二醛固定, 在用饿酸固定, 电镜下观察。

**1.4.5 Western blot 检测胃癌 SGC7901 细胞和胃癌干样细胞的干细胞相关标志物** 将胃癌 SGC7901 细胞和胃癌干样细胞经裂解液裂解, 测定蛋白浓度, 配制积成胶和分离胶, 在转移缓冲液中进行平衡, 转膜, 丽春红染色, PBS 洗涤, 脱脂奶粉封闭, 一抗过夜孵育, PBST 洗涤, HRP 标记的抗兔 IgG 孵育, PBST 洗涤, ECL 显色, Bio-Rad 成像系统采集图像。

**1.4.6 qRT-PCR 检测胃癌 SGC7901 细胞和胃癌干样细胞上皮间质转化相关分子 mRNA 的表达** 收集胃癌 SGC7901 细胞和胃癌干样细胞, 提取 cDNA, 采用 qRT-PCR 的方法进行检测胃癌 SGC7901 细胞和胃癌

干样细胞的间质标志物 Snail1 mRNA、Twist mRNA 和 Vimentin mRNA 以及上皮细胞标志物 E-钙黏蛋白的 mRNA 表达水平。

**1.5 主要观察指标** 胃癌 SGC7901 细胞和胃癌干样细胞的间质标志物 Snail1 mRNA、Twist mRNA 和 Vimentin mRNA 以及上皮细胞标志物 E-钙黏蛋白的 mRNA 表达情况。

**1.6 统计学分析** 采用 SPSS 软件进行处理, 均数采用 *t* 检验进行比较, 取  $P=0.05$  为显著标准。

## 2 结果 Results

**2.1 胃癌 SGC7901 细胞和胃癌干样细胞的形态** 胃癌 SGC7901 细胞传代后呈四方形或者呈多角形, 贴壁生长迅速, 细胞之间粘连紧密; 胃癌 SGC7901 细胞经过长春新碱诱导后细胞形态发生了改变, 呈纺锤形或者圆形, 细胞间的紧密连接丢失, 将长春新碱诱导后的细胞进行无血清悬浮培养, 可见克隆样细胞球生成(图1)。

胃癌 SGC7901 细胞的细胞核比较小, 细胞质比较多, 常染色体比较多; 胃癌干细胞的细胞核比较多, 细胞质比较少, 未见明显核仁。

**2.2 胃癌 SGC7901 细胞和胃癌干细胞的表面标志物的表达** 流式细胞仪检测结果显示, 胃癌 SGC7901 细胞中具有 CD44 表型的细胞比例为 99%, 而经过无血清培养富集的克隆样生长的胃癌干细胞中具有 CD44 表型的细胞比例只有 83.5%(图2)。

**2.3 胃癌 SGC7901 细胞和胃癌干细胞的结构差异** 胃癌 SGC7901 细胞的细胞核比较小, 细胞质比较多, 常染色体比较多。

胃癌干样细胞的细胞核比较多, 细胞质比较少, 未见明显核仁(图3)。

**2.4 胃癌 SGC7901 细胞和胃癌干样细胞的干细胞标志物的表达** Western blot 结果显示, 胃癌干样细胞中的 SOX2 和 OCT4 的表达情况明显高于胃癌 SGC7901 细胞(图4)。

**2.5 胃癌 SGC7901 细胞和胃癌干样细胞上皮间质转化相关分子 mRNA 的表达** 由表1看出: 胃癌干样细胞的间质标志物 Snail1 mRNA、Twist mRNA 和 Vimentin mRNA 的表达均明显高于胃癌 SGC7901 细胞的间质标志物 Snail1 mRNA、Twist mRNA 和 Vimentin mRNA 的表达( $P < 0.05$ ); 胃癌干样细胞的上皮细胞标志物 E-钙黏蛋白的 mRNA 表达明显低于胃癌 SGC7901 细胞的上皮细胞标志物 E-钙黏蛋白的 mRNA 表达( $P < 0.05$ )。

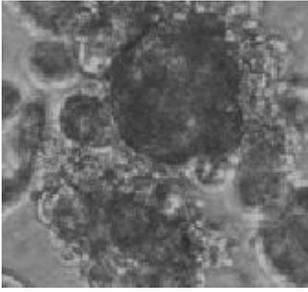


图 1 长春新碱诱导的胃癌 SGC7901 在无血清培养基中的形态 (x200)

Figure 1 Morphology of vincristine-induced SGC7901 cells cultured in serum-free medium (x200)

图注: 经长春新碱诱导的胃癌 SGC7901 经无血清培养后可见克隆样细胞球生成。

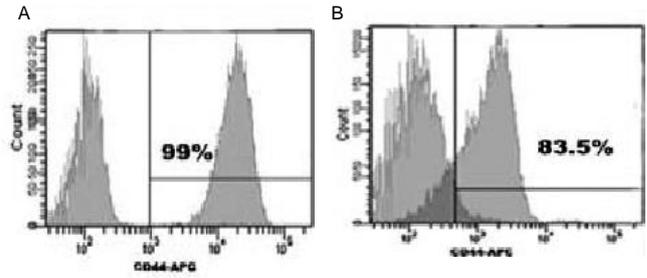


图 2 胃癌 SGC7901 细胞和胃癌干细胞的表面标志物 CD44 的表达

Figure 2 CD44 expression of gastric cancer cells SGC7901 and gastric cancer stem cells

图注: 图中 A 为胃癌 SGC7901 细胞; B 为胃癌干细胞。

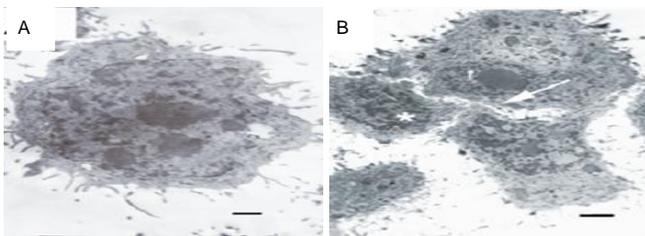


图 3 胃癌 SGC7901 细胞和胃癌干细胞的细胞形态(x200)

Figure 3 Morphology of gastric cancer cells SGC7901 and gastric cancer stem cells (x200)

图注: 图中 A 为胃癌 SGC7901 细胞细胞形态; B 为胃癌干细胞细胞形态。

表 1 胃癌 SGC7901 细胞和胃癌干样细胞间质标志物、上皮细胞标志物 mRNA 表达情况 (log10)

Table 1 Mesenchymal and epithelial marker expression of gastric cancer cells SGC7901 and gastric cancer stem cells

标志物	胃癌 SGC7901 细胞	胃癌干样细胞	t	P
Snail1	10 <sup>-2.6</sup>	10 <sup>-0.5</sup>	21.453	0.000
Twist	10 <sup>-3.5</sup>	10 <sup>-0.8</sup>	17.463	0.000
Vimentin	10 <sup>-2.7</sup>	10 <sup>-0.3</sup>	26.781	0.000
E-钙黏蛋白	10 <sup>-4.7</sup>	10 <sup>-5.3</sup>	14.756	0.000

研究发现治疗后残留的微小病灶含有一定数量的肿瘤干细胞, 考虑癌症复发的根源在于肿瘤干细胞, 肿瘤干细胞和组织干细胞相似, 具有自我分化和不断更新能力, 和肿瘤的转移、复发等关系密切<sup>[25-28]</sup>。胃癌干细胞的来源有终末分化细胞重新获得干性以及分化潜能干细胞恶变两种, 胃黏膜干细胞是胃癌干细胞的一种<sup>[13, 29-30]</sup>, 能够代替不断衰老的胃黏膜细胞, 维持干细胞的细胞池, 具有不断自我更新能力<sup>[16, 31]</sup>, 由于胃黏膜干细胞的寿命比较长, 接触致癌因子的可能比较大, 发生癌变的概率比较大。终末分化细胞重新获得干性是指终末分化细胞在各种因素的作用下, 其基因表达发生变化, 激活干性基因而使终末分化细胞重新获得干性, 目前关于终末分化细胞重新获得干性研究比较多的为上皮间质转化<sup>[32]</sup>。

上皮间质转化是指上皮细胞在一定条件的作用下, 由上皮表型转化到间质表型的一种过程, 上皮间质转化是上皮细胞为了适应周围环境的变化而发生的一种暂时性的转化过程, 这种过程是可以逆转的, 这种转化和创伤的修复, 胚胎的生长发育, 肿瘤的发生发展有密切关系<sup>[33-34]</sup>。正常上皮细胞的稳定性是由细胞之间通过桥

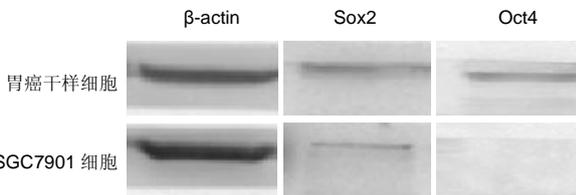


图 4 Western blot 检测干细胞标志物 SOX2 和 OCT4 的表达

Figure 4 Western blot detection of the expression of stem cell markers OCT4 and SOX2

### 3 讨论 Discussion

胃癌是中国比较高发的消化系统恶性肿瘤, 目前主要的治疗方法是手术治疗, 虽然胃癌根治性切除手术率比较高, 但 5 年内的生存率依然在 60% 以下, 围手术期进行辅助化疗能够提高患者的生存率, 但围手术期辅助化疗仍然没有办法彻底清除肿瘤细胞, 这是目前胃癌治疗过程中存在的主要问题<sup>[21-22]</sup>, 考虑可能原因为胃癌手术联合化疗后仍有少量微小病灶存在, 而这些微小病灶采用传统的方法不能检测到, 这些微小病灶可能为对化疗药物耐药, 或者静息状态下的肿瘤细胞复发<sup>[23-24]</sup>, 因此复发的胃癌细胞具有长期寂静以及抵抗化疗药物的特性, 和肿瘤干细胞具有一定的相似性, 有

粒连接和黏附连接等细胞连接来维持的, 并固定在基底膜上, 上皮细胞在一定条件的作用下, 会发生上皮间质转化, 上皮间质转化过程中上皮细胞之间的连接发生断裂, 连接蛋白发生降解, 或者连接蛋白重新进行分布, 使上皮细胞的稳定性被破坏, 极性丧失, 细胞的形态由扁平变为长梭形, 周边形成伪足, 角蛋白骨架转化为波形蛋白骨架, 细胞收缩性增加, 同时细胞的生物学行为也发生改变, 上皮间质转化后侵袭和迁移能力增强, 抗凋亡及抗衰老能力增加, 上皮间质转化最主要的特征是侵袭和迁移能力的变化。上皮间质转化的分子机制为<sup>[35-37]</sup>: ①细胞间连接和转录因子: 上皮细胞的稳定性和极性主要靠细胞间连接进行维持的, 黏附连接的主要分子式 E-钙黏蛋白, E-钙黏蛋白主要稳定上皮细胞的骨架稳定, 转录因子能够和 E-钙黏蛋白结合, 抑制 E-钙黏蛋白进行转录。②Wnt-β-连环蛋白通路和 E-钙黏蛋白: Wnt-β-连环蛋白通路是上皮间质转化的主要调节途径, 在无 Wnt 信号时, β-连环蛋白和 α-连环蛋白以及 E-钙黏蛋白结合并黏附在肌动蛋白细胞上参与细胞的稳定性和黏附性, 当 Wnt 信号通路被激活时会破坏 β-连环蛋白和 α-连环蛋白以及 E-钙黏蛋白的结合, 破坏细胞稳定性和黏附性, 促进上皮间质转化的发生。③β-连环蛋白和 PI13K/AKT 途径: 上皮细胞间的黏附连接由 E-钙黏蛋白和 β-连环蛋白结合维持, PI13K/AKT 途径是调节癌症细胞侵袭、转移、增殖以及凋亡的主要途径, PI13K/AKT 途径激活后促进 β-连环蛋白的核转位和积聚, 促进上皮间质转化。④转化生长因子 β 和 Smad 蛋白: 转化生长因子 β 是一种细胞因子, 可以引起 Smad 蛋白的磷酸化, 调控上皮间质转化的病理生理过程。

上皮间质转化参与肿瘤的发生发展, 在组织纤维化以及胚胎的发生中发挥重要作用, 和胃癌的发生发展关系比较密切, 胃癌的发生过程经过胃部正常胃黏膜发展为慢性胃炎, 发展为萎缩性胃炎, 再发展为胃黏膜的上皮化生, 再发展为胃黏膜的不典型增生以及胃癌, 在胃癌的发生发展过程中, E-钙黏蛋白不断下降, E-钙黏蛋白的基因突变是胃癌发生的机制之一, 表明上皮间质转化参与了胃癌的发生<sup>[38-42]</sup>, 随着上皮间质转化的不断发展, 胃癌细胞的转移和侵袭能力增强, 恶性程度不断升高, 并获得耐药性和肿瘤干细胞样表型。进展期胃癌的主要特征是胃癌的转移和侵袭, 胃癌细胞发生上皮间质转化是, 细胞连接发生断裂, 细胞骨架进行重排, 使胃癌细胞的抗凋亡能力以及侵袭和转移能力增强, 发生上

皮间质转化的胃癌颗粒细胞比较容易离开胃癌原发部位, 经各种途径向远处转移。上皮间质转化和胃癌的多药耐药性也密切相关, 在胃癌化疗过程中, 胃癌细胞产生耐药的过程有发生上皮间质转化的倾向, 在上皮间质转化的过程中, 胃癌细胞可以获得侵袭和迁移的能力, 胃癌细胞的上皮间质转化具有干细胞样表型的特点使其能够抵抗药物的毒性, 增加细胞的耐药性<sup>[43-46]</sup>。本实验通过长春新碱诱导胃癌 SGC7901 细胞, 并对长春新碱诱导的胃癌 SGC7901 细胞进行培养筛选制备胃癌干细胞, 鉴定 2 种细胞 CD44 表型、观察细胞形态变化、检测干细胞相关标志物、检测上皮间质转化相关分子。结果发现, 胃癌 SGC7901 细胞传代后呈四方形或者呈多角形, 贴壁生长迅速, 细胞之间粘连紧密; 胃癌 SGC7901 细胞经过长春新碱诱导后细胞形态发生了改变, 呈纺锤形或者圆形, 细胞间的紧密连接丢失, 将长春新碱诱导后的细胞进行无血清悬浮培养, 可见克隆样细胞球生成。胃癌 SGC7901 细胞中具有 CD44 表型的细胞比例在 99.12%, 而经过无血清培养富集的克隆样生长的胃癌干细胞中具有 CD44 表型的细胞比例只有 81.43%。胃癌 SGC7901 细胞的细胞核比较小, 细胞质比较多, 常染色体比较多; 胃癌干样细胞的细胞核比较多, 细胞质比较少, 未见明显核仁。胃癌干样细胞中的 SOX2 和 OCT4 的表达情况明显高于胃癌 SGC7901 细胞中的 SOX2 和 OCT4 的表达情况。胃癌干样细胞的间质标志物 Snail1 mRNA、Twist mRNA 和 Vimentin mRNA 的表达均明显高于胃癌 SGC7901 细胞的间质标志物 Snail1 mRNA、Twist mRNA 和 Vimentin mRNA 的表达; 胃癌干样细胞的上皮细胞标志物 E-钙黏蛋白的 mRNA 表达明显低于胃癌 SGC7901 细胞的上皮细胞标志物 E-钙黏蛋白的 mRNA 表达。

由此可见, 胃癌 SGC7901 细胞能够被长春新碱成功诱导, 被长春新碱诱导的胃癌 SGC7901 细胞具有干细胞样特性, 长春新碱诱导的胃癌干细胞样细胞表面的间质标志物高于胃癌 SGC7901 细胞, 长春新碱诱导的胃癌干细胞样细胞表面的上皮细胞标志物低于胃癌 SGC7901 细胞, 表明上皮间质转化参与胃癌 SGC7901 细胞向胃癌干细胞样转化。

**作者贡献:** 那会军进行实验设计, 实验实施为那会军和赵艳军, 实验评估为那会军和侯雷, 资料收集为那会军和孙勇, 刘朋和那会军成文, 那会军审校, 李春辉和那会军对文章负责。

**利益冲突:** 所有作者共同认可文章内容不涉及相关利益冲突。

**伦理问题:** 实验未涉及伦理问题。

**文章查重:** 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

**文章外审:** 本刊实行双盲外审制度, 文章经国内小同行外审专家审核, 符合本刊发稿宗旨。

**作者声明:** 文章第一作者对研究和撰写的论文中出现的不良行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

**文章版权:** 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

#### 4 参考文献 References

- [1] 邹小农,孙喜斌,陈万青,等.2003-2007年中国胃癌发病与死亡情况分析[J].肿瘤,2012,32(2):109-114.
- [2] Putney J, O'Grady G, Angeli TR, et al. Determining the efficient inter-electrode distance for high-resolution mapping using a mathematical model of human gastric dysrhythmias. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2015; 2015:1448-1451.
- [3] 郑朝旭,郑荣寿,陈万青.中国2009年胃癌发病与死亡分析[J].中国肿瘤,2013,22(5):327-332.
- [4] Tang X, Zhang J, Che X, et al. The Clinicopathological Features and Long-Term Survival Outcomes of Mucinous Gastric Carcinoma: a Consecutive Series of 244 Cases from a Single Institute. J Gastrointest Surg. 2016. in press.
- [5] Bosković T, Zivojinov M, Sabo JI, et al. Rare solitary fibrous tumor of the stomach: A case report. Vojnosanit Pregl. 2015;72(11):1035-1038.
- [6] 季加孚.我国胃癌防治研究三十年回顾[J].中国肿瘤临床,2013,(22):1345-1351.
- [7] 张学伟,郑安斌,石炜,等.胃癌根治术后复发转移的影响因素及其对预后的影响[J].实用癌症杂志,2015,(7):1062-1064.
- [8] Barchi LC, Yagi OK, Jacob CE, et al. Predicting recurrence after curative resection for gastric cancer: External validation of the Italian Research Group for Gastric Cancer (GIRCG) prognostic scoring system. Eur J Surg Oncol. 2016;42(1):123-131.
- [9] Lee JW, Jo K, Cho A, et al. Relationship Between 18F-FDG Uptake on PET and Recurrence Patterns After Curative Surgical Resection in Patients with Advanced Gastric Cancer. J Nucl Med. 2015;56(10):1494-1500.
- [10] 朱正纲.胃癌复发、转移诊治难点与对策[J].中国实用外科杂志,2015,(10):1037-1039,1045.
- [11] Squires MH 3rd, Kooby DA, Poultides GA, et al. Effect of Perioperative Transfusion on Recurrence and Survival after Gastric Cancer Resection: A 7-Institution Analysis of 765 Patients from the US Gastric Cancer Collaborative. J Am Coll Surg. 2015; 221(3):767-777.
- [12] 胡建昆,赵林勇,陈心足.胃癌术后复发、转移的随访与监测[J].中国实用外科杂志,2015,(10):1082-1085.
- [13] 杨浪.胃癌干细胞的分离鉴定及其在胃癌侵袭转移中的作用与分子机制[D].重庆:第三军医大学,2013.
- [14] Choi YJ, Kim N, Chang H, et al. Helicobacter pylori-induced epithelial-mesenchymal transition, a potential role of gastric cancer initiation and an emergence of stem cells. Carcinogenesis. 2015;36(5):553-563.
- [15] Wang J, Yu J, Wu J, et al. Experimental study of human bone marrow mesenchymal stem cells on regulating the biological characteristics of gastric cancer cells. Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi. 2015;18(2):159-165.
- [16] 牛磊,鄱洪庆,陈凛.Lgr5-Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路与胃癌干细胞的研究进展[J].解放军医学院学报,2014, 35(12):1268-1272.
- [17] 查郎. HMGA2促进胃癌上皮细胞间质转化分子机制研究[D].重庆:重庆医科大学,2013.
- [18] Boyle MJ, Williams B, Ross L. Assessing student paramedic visual and verbal checks for defibrillation safety-an observational study. Springerplus. 2015;4:773.
- [19] 庄铭锴,陈丰霖.上皮间质转化相关的生物标志在胃癌中的研究进展[J].世界华人消化杂志,2013,(30):3204-3210.
- [20] 印凡,徐霞,赵东宝.上皮间质转化与肿瘤干细胞在肿瘤转移中的作用[J].第二军医大学学报,2011,32(12):1357-1360.
- [21] 吴楠蝶,魏嘉,刘宝瑞.胃癌分子靶向治疗的研究进展[J].医学研究生学报,2014,(12):1318-1322.
- [22] Jung JH, Kim BJ, Choi CH, et al. Second-look endoscopy with prophylactic hemostasis is still effective after endoscopic submucosal dissection for gastric neoplasm. World J Gastroenterol. 2015;21(48):13518-13523.
- [23] Kim HS, Kim SO, Kim BS. Use of a clinical pathway in laparoscopic gastrectomy for gastric cancer. World J Gastroenterol. 2015;21(48):13507-13517.
- [24] 李一鑫,李秀明,张楠,等.幽门螺杆菌感染与胃癌发生发展及预后的相关性研究[J].中华肿瘤防治杂志,2015, 22(2):91-94,108.
- [25] 王为忠,康振华.胃癌复发转移的再手术问题[J].中国实用外科杂志,2008,(9):770-772.

- [26] Marrelli D, Morgagni P, de Manzoni G, et al. External Validation of a Score Predictive of Recurrence after Radical Surgery for Non-Cardia Gastric Cancer: Results of a Follow-Up Study. *J Am Coll Surg.* 2015; 221(2):280-290.
- [27] Kang WM, Meng QB, Yu JC, et al. Factors associated with early recurrence after curative surgery for gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2015;21(19): 5934-5940.
- [28] 张燕平, 李宁, 邓文英, 等. 干细胞标志物SOX-2、 $\beta$ -catenin 表达与胃癌术后复发转移关系[J]. *中国癌症杂志*, 2014, (9):684-689.
- [29] Zhao Y, Feng F, Zhou YN. Stem cells in gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2015;21(1):112-123.
- [30] Wang M, Cai J, Huang F, et al. Pre-treatment of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells with interleukin-6 abolishes their growth-promoting effect on gastric cancer cells. *Int J Mol Med.* 2015;35(2): 367-375.
- [31] Morisaki T, Yashiro M, Kakehashi A, et al. Comparative proteomics analysis of gastric cancer stem cells. *PLoS One.* 2014;9(11):e110736.
- [32] 李阳, 赵永福. 胃癌干细胞的分离、鉴定及其特性[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(32):5188-5192.
- [33] 杨燕, 邹晓平. 上皮间质转化与胃癌的研究进展[J]. *国际消化病杂志*, 2014, 34(5):334-337.
- [34] Rahimi A, Vazini H, Alhani F, et al. Relationship Between Low Back Pain With Quality of Life, Depression, Anxiety and Stress Among Emergency Medical Technicians. *Trauma Mon.* 2015;20(2): e18686.
- [35] 朱登峰, 姜波健. 胃癌转移中上皮间质转化的作用及其调控机理[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2015, (10):1284-1288.
- [36] Kim CH, Kim GW, Cha WC, et al. For how long can two emergency medical technicians perform high-quality cardiopulmonary resuscitation? *J Int Med Res.* 2015;43(6):841-850.
- [37] 马飞, 张明迪, 王雅杰. IL-6与上皮-间质转化因子胃癌组织表达相关性及其临床意义研究[J]. *中国实用外科杂志*, 2014, (3):259-263.
- [38] Knox S, Dunne S, Cullen W, et al. A qualitative assessment of practitioner perspectives post-introduction of the first continuous professional competence (CPC) guidelines for emergency medical technicians in Ireland. *BMC Emerg Med.* 2015;15:11.
- [39] 徐晶钰, 张璇, 秦志丰, 等. 从细胞上皮-间质转化角度探讨从痰论治胃癌侵袭转移[J]. *中华中医药学刊*, 2014, (9): 2076-2078.
- [40] Wood D, Kalinowski EJ, Miller DR, et al. Pediatric continuing education for EMTs: recommendations for content, method, and frequency. *The National Council of State Emergency Medical Services Training Coordinators. Pediatr Emerg Care.* 2004;20(4): 269-272.
- [41] Dwyer D. Experiences of registered nurses as managers and leaders in residential aged care facilities: a systematic review. *Int J Evid Based Healthc.* 2011;9(4):388-402.
- [42] Buckley S, Coleman J, Davison I, et al. The educational effects of portfolios on undergraduate student learning: a Best Evidence Medical Education (BEME) systematic review. *BEME Guide No. 11. Med Teach.* 2009;31(4):282-298.
- [43] Hwang JY, Kim KY, Lee KH. Factors that influence the acceptance of telemetry by emergency medical technicians in ambulances: an application of the extended technology acceptance model. *Telemed J E Health.* 2014;20(12):1127-1134.
- [44] 张翠. 上皮-间质转化(EMT)与胃癌耐药和转移关系的初步研究[D]. 延安: 延安大学, 2012.
- [45] Boudreaux E, Jones GN, Mandry C, et al. Patient care and daily stress among emergency medical technicians. *Prehosp Disaster Med.* 1996;11(3): 188-193; discussion 193-194.
- [46] Boudreaux E, Mandry C. Sources of stress among emergency medical technicians (Part I): What does the research say? *Prehosp Disaster Med.* 1996;11(4): 296-301.