



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.011
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.011
Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(3):363-369.

· 基础研究 ·

下调 NDRG1 表达对胰腺癌细胞增殖与凋亡的影响

张小薄¹, 高峰¹, 谭晓冬¹, 周磊¹, 王怀涛¹, 石刚²

(1. 中国医科大学附属盛京医院 普通外科, 辽宁 沈阳 110004; 2. 辽宁省肿瘤医院 大肠外科, 辽宁 沈阳 110042)

摘要

目的: 探讨 NDRG1 在胰腺癌细胞中的表达及其与 MMP-7 的关系。

方法: 检测 NDRG1 与 MMP-7 蛋白与 mRNA 在 4 种胰腺癌细胞株 (PANC-1、BXPC-3、CAPAN-2、SW1990) 表达; 构建靶向 NDRG1 的干扰质粒 siNDRG1, 转染 PANC-1 细胞, 检测转染后 PANC-1 细胞 NDRG1 与 MMP-7 蛋白与 mRNA 的表达, 以及增殖与凋亡情况。

结果: 4 种细胞株中均有 NDRG1 与 MMP-7 蛋白与 mRNA 的表达, 且两者的表达水平随着细胞分化程度的降低而升高 (均 $P < 0.05$); PANC-1 细胞转染 siNDRG1 后, NDRG1 与 MMP-7 的蛋白与 mRNA 表达均明显降低、细胞增殖明显抑制、凋亡率明显升高 (均 $P < 0.05$)。

结论: NDRG1 的表达与胰腺癌细胞的分化程度密切相关, 且可能通过上调 MMP-7 表达促进胰腺癌细胞的生长。

关键词

胰腺肿瘤; N-myc 下游调节基因 1; 细胞分化
中图分类号: R735.9

Influence of down-regulation of NDRG1 expression on proliferation and apoptosis in pancreatic cancer cells

ZHANG Xiaobao¹, GAO Feng¹, TAN Xiaodong¹, ZHOU Lei¹, WANG Huaitao¹, SHI Gang²

(1. Department of General Surgery, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China; 2. Department of Colorectal Surgery, Liaoning Cancer Hospital, Shenyang 110042, China)

Abstract

Objective: To investigate NDRG1 expression and its relation with MMP-7 in pancreatic cancer cells.

Methods: The protein and mRNA expressions of NDRG1 and MMP-7 in 4 different pancreatic cancer cell lines (PANC-1, BXPC-3, CAPAN-2 and SW1990) were determined. The interference plasmids siNDRG1 were transfected into PANC-1 cells after their construction, and then the protein and mRNA expressions of NDRG1 and MMP-7, cell proliferation and apoptosis after transfection were determined.

Results: All the 4 cell lines presented either the protein or mRNA expressions of both NDRG1 and MMP-7, and their expression levels were increased with decrease of the degree of cell differentiation (all $P < 0.05$). In PANC-1 after siNDRG1 trasfection, the protein and mRNA expressions of both NDRG1 and MMP-7 were reduced, proliferation was suppressed, and apoptosis rate was increased significantly (all $P < 0.05$).

Conclusion: NDRG1 expression is closely related to the degree of differentiation of pancreatic cancer cells, and may probably promote cell growth through up-regulating MMP-7 expression.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30973501)。

收稿日期: 2015-01-11; 修订日期: 2015-02-20。

作者简介: 张小薄, 中国医科大学附属盛京医院主治医师, 主要从事胰腺及胃肠道肿瘤基础与临床方面的研究。

通信作者: 谭晓冬, Email: tanxd@sj-hospital.org

Key words Pancreatic Neoplasms; N-myc Downstream Regulated Gene 1; Cell Differentiation

CLC number: R735.9

胰腺癌发病率与病死率呈现逐年上升趋势,是预后最差的消化系统恶性肿瘤之一^[1]。胰腺导管腺癌是胰腺癌中最常见的病理类型,对胰腺癌发病机制的研究不断深入,并对有效治疗方法的寻求也一直在各研究中心展开^[2]。靶基因的筛选及治疗靶点的选择是目前的研究热点及未来胰腺癌治疗的主要方向^[3-4]。N-myc下游调节基因1(N-myc downstream regulated gene 1, NDRG1)是NDRG家族成员,研究^[5]表明,NDRG1在细胞生长分化及细胞周期中有重要作用。基质金属蛋白酶(MMP)是蛋白水解酶家族,在肿瘤形成微环境中起到重要作用,MMP-7是MMP中主要成员之一,可以与NDRG1的辅基酰基载体蛋白结合,从而影响肿瘤的分化、凋亡、浸润及转移等恶行行为^[6]。研究^[7-8]认为,NDRG1及MMP-7在子宫内膜癌、肺癌、结肠癌、肝癌等多种恶性肿瘤中呈现高表达,与恶性肿瘤直径、TNM分期、细胞分化程度等具有相关性。本研究采用小干扰RNA(siRNA)对胰腺癌细胞株中NDRG1表达进行检测并干扰下调,目的在于观察NDRG1基因表达对胰腺癌细胞分化、增殖及凋亡中所起的作用,并观察NDRG1对MMP-7表达的调节作用,探讨其机制,为进一步研究其功能及基因治疗靶向提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

细胞株PANC-1、BXPC-3、CAPAN-2、SW1990均购自中科院上海细胞库,细胞培养方法为贴壁细胞培养法,并进行传代及保留,所有细胞实验均采用对数生长期细胞。miRNA提取分离试剂盒、LipofectamineTM2000、RPIM1640、TRIzol及MTT试剂盒(美国Sigma公司),All-in-OneTM qPCR Mix试剂盒(美国GeneCopoeia公司),Annexin V-FITC/PI试剂盒(南京凯基生物公司),NDRG1兔多克隆抗体及MMP-7山羊多克隆抗体(北京中杉金桥生物制品有限公司)。引物均由上海吉玛制药技术有限公司进行设计合成。NDRG1序列:上游5'-GAT CAC UCU CCG ATG UGC CUT-3',下游5'-UGC UTU CUG CCG UAT GCA GTG-3';MMP-7上游引物:5'-CAG CCG

CAT TTC GGC ATC A-3',下游引物:5'-CCG UCC GTG ACG AGC GAC-3';siNDRG1序列:上游5'-GAT GUU CUC CGC CUT GAT CAC-3',下游5'-UGC CGU UGC AGT GCA TGC UTU-3';阴性对照序列:上游5'-UCC ACC TUA CGU TUC ACC AGT-3',下游5'-GCA CCA CUG UCU CTC GGA UCT-3'。

1.2 研究方法

1.2.1 Western blot法 依照蛋白提取试剂盒说明书进行各细胞株总蛋白的提取,BCA定量试剂盒进行蛋白浓度的测定,样品定量为5 g/L,于每条泳道进行上样50 μg蛋白,采用12%十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺进行凝胶电泳,在电压70 V条件下经80 min电转移至PVDF膜。5%脱脂奶粉封闭2 h,加入一抗,在4 °C条件下孵育过夜。TBST洗膜后,加入二抗室温条件下孵育1.5 h, TBST清洗,采用ECL发光,以凝胶显像仪进行显像。采用QuantityOne进行灰度值检测。

1.2.2 qRT-PCR法 按照RNA分离试剂盒及TRIzol试剂盒说明书步骤提取并纯化各细胞株总RNA,所有RNA样本浓度均稀释至1 g/L,依据逆转录及扩增试剂盒说明书规定步骤进行逆转录及扩增。

总RNA浓度测定:用DEPC水调零后取1.5 μL样品置于ND-1000全波长紫外/可见光扫描分光光度计测样台上进行测量,对 A_{260}/A_{280} 值以及浓度进行记录,总RNA样品在 A_{260}/A_{280} 为1.8~2.0,RNA纯度较高,无DNA、蛋白质等污染,浓度为100~1 458.2 μg/μL。

总RNA完整性检测:取RNA样品1 μL,1%琼脂凝胶电泳80 V电压电泳20 min,EB染色10 min,于凝胶成像系统下观察并进行拍照。结果显示5s RNA、18s RNA、28s RNA条带完整,总RNA抽取完整。

RT-PCR反应体系为(2×All-in-One qPCR Mix 10 μL,45×Syber Green 2 μL,Primer F 1 μL,Primer R 1 μL,cDNA 2 μL,ddH₂O 4 μL),反应条件如下:95 °C预变性10 min;95 °C变性10 s、60 °C退火20 s、72 °C延伸10 s,45个循环。所有反应均设立复孔,并以DEPC水代替模板,cDNA作为阴性对照。

1.2.3 siNDRG1及阴性对照序列转染PANC-1细胞 siNDRG1及阴性对照序列由上海吉玛制药技术有限公司合成。转染前24 h取对数生长期细胞,

0.25%胰酶消化成单细胞悬液,分别以 10×10^4 和 20×10^4 孔接种至24孔板中,对融合达到70%~90%的细胞株进行转染,细胞分3组:空白对照组、siNDRG1组及阴性对照组。对siNDRG1组及阴性对照序列组依照LipofectamineTM2000试剂说明书步骤进行转染,转染48 h后按照miRNA提取及分离试剂盒说明书步骤进行总RNA完整性检测,应用紫外分光光度仪检测RNA溶解光密度值A(介于260~280 nm处比值),计算RNA的浓度及纯度,比值为1.8~2.1者可用于进一步实验。采用Western blot法及qRT-PCR对转染后PANC-1细胞中NDRG1在蛋白水平及mRNA水平表达的转染效率进行检测。并采用Western blot法及qRT-PCR对PANC-1细胞siNDRG1转染后MMP-7在蛋白水平及mRNA水平表达进行检测。

1.2.4 MTT法检测转染后PANC-1细胞增殖 取各组PANC-1细胞,按MTT试剂盒操作步骤,以 5×10^3 细胞/孔密度接种于96孔细胞培养板内,并设立3个复孔,培养24、48、72、96、120 h后,每孔内加入5 mg/mL MTT液2 μ L,继续进行温育4 h,弃上清后加入DMSO 150 μ L,进行振荡溶解结晶,比色选择570 nm波长,在酶联免疫检测仪上进行各孔光吸收值测定,并重复3次试验,取平均值。

1.2.5 流式细胞仪检测转染后PANC-1细胞凋亡

PANC-1细胞进行转染48 h后,取各组细胞,依照Annexin V-FITC/PI试剂盒说明书步骤进行操作,流式细胞仪Alexa FITC最大激发波长488 nm,最大发射波长为509 nm,PI-DNA复合物最大激发波长为535 nm,最大发射波长为615 nm,采用软件Cell Quest进行分析。Alexa FITC为X轴,PI为Y轴,每个样本采集为10 000个细胞,区分开早期凋亡细胞、晚期凋亡细胞及继发坏死细胞区,计算出阳性细胞的百分比例,并重复3次试验,取平均值。

1.3 统计学处理

采用PASW Statistics 18.0软件进行统计分析,率的比较采用 χ^2 检验,Western blot、qRT-PCR及MTT结果采用GraphPad Prism 6.0进行单因素方差分析及作图, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胰腺癌细胞株的Western blot法检测结果

NDRG1(60 kDa)在PANC-1、BXPC-3、CAPAN-2、SW1990细胞株中均有表达,低分化细胞(PANC-1)中NDRG1蛋白水平表达较中

分化(BXPC-3)及高分化细胞株(CAPAN-2、SW1990)高,差异均有统计学意义(PANC-1 vs. BXPC-3: $q=3.4$, $P < 0.05$; PANC-1 vs. CAPAN-2: $q=7.23$, $P < 0.01$; PANC-1 vs. SW1990: $q=8.65$, $P < 0.01$); MMP-7(28 kD)在4种细胞株中表达与NDRG1的趋势一致(PANC-1 vs. BXPC-3: $q=3.5$, $P < 0.05$; PANC-1 vs. CAPAN-2: $q=9.27$, $P < 0.01$; PANC-1 vs. SW1990: $q=10.58$, $P < 0.01$) (图1)。

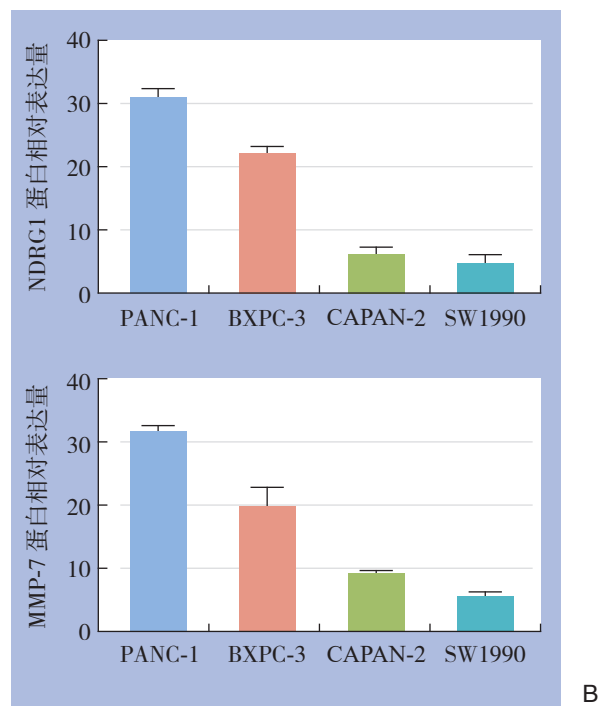
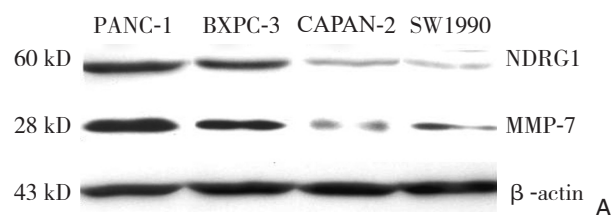


图1 各细胞株NDRG1与MMP-7蛋白表达检测

A: Western blot条带; B: NDRG1与MMP-7蛋白表达量比较

Figure 1 Determination of NDRG1 and MMP-7 protein expressions in cell lines A: Western blot bands; B: Comparison of the expression levels of both NDRG1 and MMP-7 protein

2.2 各细胞株的qRT-PCR检测

4组细胞株中NDRG1及MMP-7在mRNA水平均有表达,低分化细胞(PANC-1)中NDRG1在mRNA水平表达较中分化(BXPC-3)及高分化细胞株(CAPAN-2、SW1990)高,差异均有统计学意义(PANC-1 vs. BXPC-3: $q=3.15$, $P < 0.05$;

PANC-1 vs. CAPAN-2: $q=9.35$, $P<0.01$; PANC-1 vs. SW1990: $q=9.95$, $P<0.01$); MMP-7的mRNA在4种细胞株中表达趋势与NDRG1一

致 (PANC-1 vs. BXPC-3: $q=3.27$, $P<0.05$; PANC-1 vs. CAPAN-2: $q=8.66$, $P<0.01$; PANC-1 vs. SW1990: $q=9.17$, $P<0.01$) (图2)。

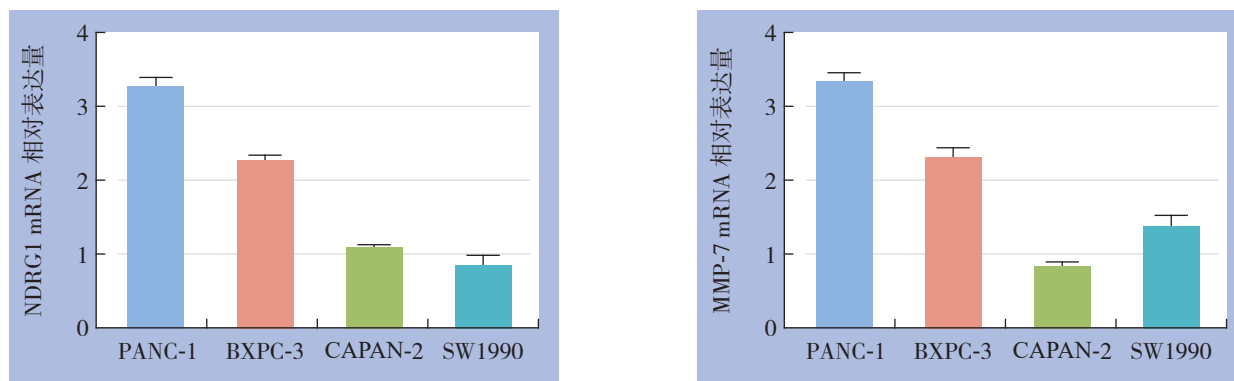


图2 各细胞株 NDRG1 及 MMP-7 mRNA 表达检测

Figure 2 Determination of NDRG1 and MMP-7 mRNA expressions in cell lines

2.3 Western blot 及 qRT-PCR 对 siNDRG1 转染效果的检测

Western blot与qRT-PCR结果显示, siNDRG1转染组PANC-1细胞NDRG1蛋白与mRNA表达水平明显低于空白对照组 (均 $P<0.05$), 但阴性对照组与空白对照组间差异无统计学意义 (均 $P>0.05$) (图3)。

2.4 siNDRG1 转染后 MMP-7 蛋白与 mRNA 表达变化

Western blot结果显示, siNDRG1转染组PANC-1细胞MMP-7蛋白与mRNA表达水平明显低于空白对照组 (均 $P<0.05$), 但阴性对照组与空白对照组间差异无统计学意义 (均 $P>0.05$) (图4)。

2.5 MTT 检测 siNDRG1 干扰后 PANC-1 细胞增殖变化

空白对照组、siNDRG1转染组与阴性对照组PANC-1细胞增殖率72 h: (62.53 ± 9.45)%、(42.26 ± 10.24)%、(59.87 ± 6.19)%; 96 h: (83.26 ± 6.47)%、(51.39 ± 11.29)%、(79.98 ± 7.04)%; 120 h: (84.67 ± 7.12)%、(61.57 ± 4.38)%、(81.43 ± 7.84)%。siNDRG1干扰后PANC-1细胞增殖能力受到抑制, 在72、96、120 h与空白对照组比较, 差异均具有统计学意义 ($t=9.454$, $P<0.01$; $t=12.367$, $P<0.01$; $t=3.733$, $P<0.05$), 而阴性对照组与空白对照组在各时间点差异均无统计学意义 (均 $P>0.05$) (图5)。

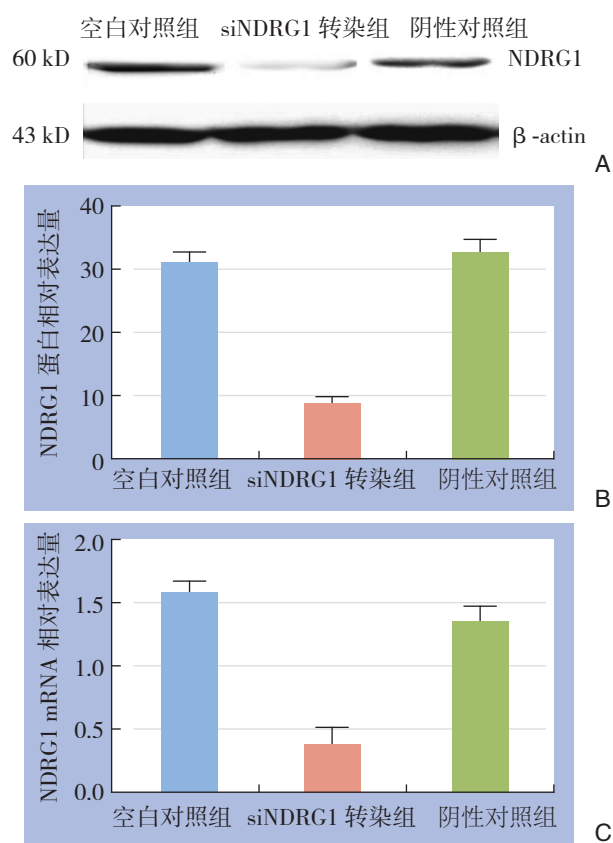


图3 各组 PANC-1 细胞 NDRG1 蛋白与 mRNA 检测

A: Western blot 条带; B: 各组 NDRG1 蛋白表达量比较; C: 各组 NDRG1 mRNA 表达量比较

Figure 3 Determination of NDRG1 protein and mRNA expressions in each group of PANC-1 cells

A: Western blot bands; B: Comparison of the expression levels of NDRG1 protein among groups; C: Comparison of the expression levels of NDRG1 mRNA among groups

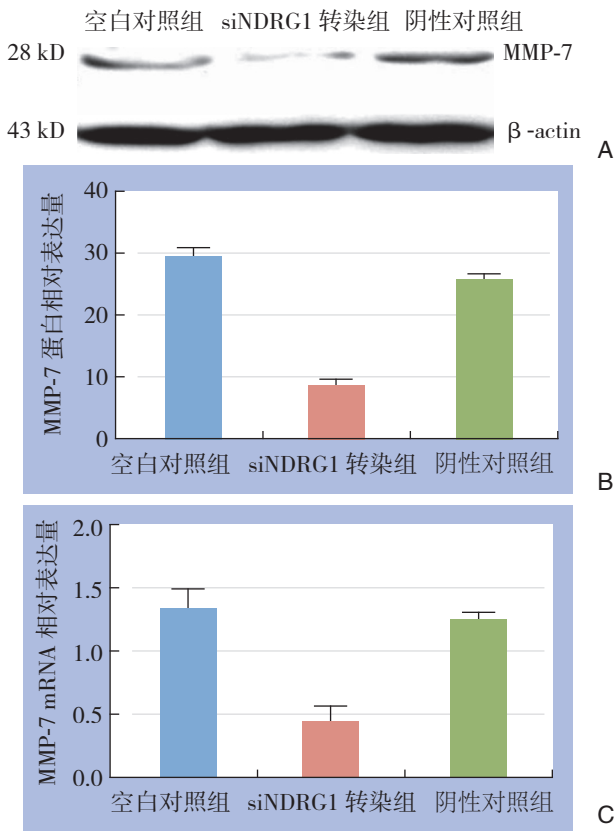


图4 各组 PANC-1 细胞 MMP-7 蛋白与 mRNA 检测
A: Western blot 条带; B: 各组 MMP-7 蛋白表达量比较;
C: 各组 MMP-7 mRNA 表达量比较

Figure 4 Determination of MMP-7 protein and mRNA expressions in each group of PANC-1 cells A: Western blot bands; B: Comparison of the expression levels of MMP-7 protein among groups; C: Comparison of the expression levels of MMP-7 mRNA among groups

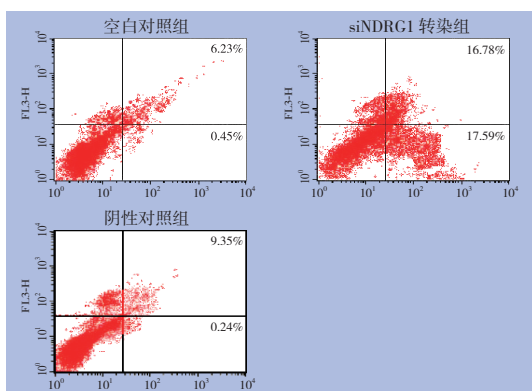


图6 各组 PANC-1 细胞凋亡检测

Figure 6 Detection of cell apoptosis in each group of PANC-1 cells among groups

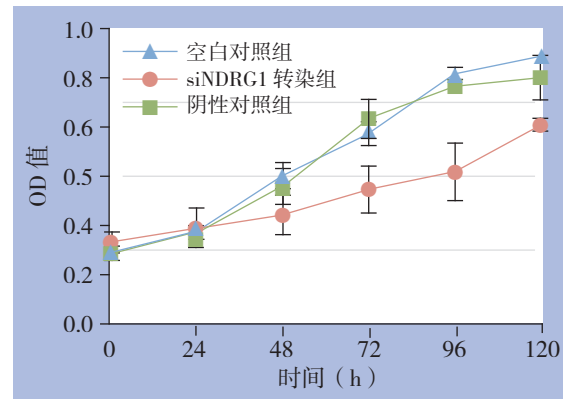
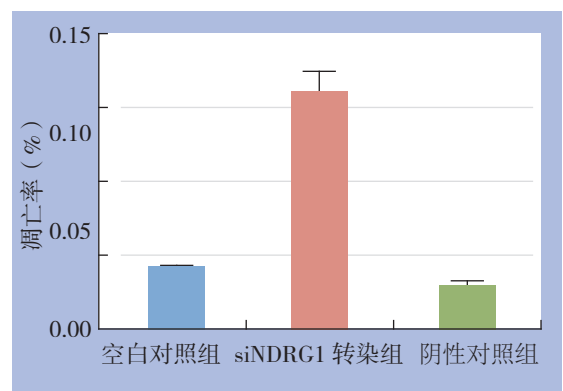


图5 各组 PANC-1 细胞增殖检测

Figure 5 Determination of proliferation in each group of PANC-1 cells

2.6 流式细胞仪检测 siNDRG1 干扰后 PANC-1 细胞凋亡变化

siNDRG1 组、空白对照组、阴性对照组 PANC-1 细胞凋亡率分别为 17.59%、0.45%、0.24%，siNDRG1 组与阴性对照组或空白对照组比较，凋亡率明显增高，差异均有统计学意义（均 $P < 0.05$ ），阴性对照组或空白对照组间差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）（图6）。



A: 流式细胞仪检测; B: 各组凋亡率比较

A: Flow cytometry determination; B: Comparison of apoptosis rates

3 讨论

胰腺癌以发现晚、治疗效果差、预后差及病

死率高为特点^[9]。经多中心研究显示，胰腺癌的1年生存率低于20%，5年生存率低于5%。80%以上的患者在确诊时已经发生广泛转移。患者均死

于癌肿恶性生长、转移及浸润^[10]。胰腺导管腺癌在胰腺癌病理分型中占80%~90%^[11]。目前无论是手术、放疗及化疗均不能显著提高患者的生存率^[12]。针对胰腺癌相关基因靶向治疗是目前的研究热点。胰腺癌的发生及发展是多基因的协同作用的结果^[13]。

本研究显示,在蛋白水平,NDRG1及MMP-7在PANC-1、BXPC-3、CAPAN-2、SW19904组细胞株中均有表达,在低分化细胞PANC-1中NDRG1在蛋白水平表达较中分化BXPC-3及高分化细胞株CAPAN-2、SW1990中高,提示,NDRG1及MMP-7可能参与恶性肿瘤细胞的生长及分化行为,NDRG1及MMP-7表达上调会导致胰腺癌细胞分化程度差,恶性度增高。在mRNA水平,NDRG1及MMP-7在PANC-1表达较BXPC-3及CAPAN-2、SW1990中高,提示NDRG1及MMP-7对胰腺癌细胞分化及恶性生长行为的调节在基因水平即已发生。NDRG1作为 α/β 水解酶,具有磷酸泛酰巯基乙胺序列,能够活化氨基酸及脂肪酸,在细胞生长分化及细胞周期中起到重要作用^[14],参与肿瘤细胞的蛋白水解代谢,从而促进肿瘤细胞的分化潜能,细胞周期从G₁期向G₂期转化。NDRG1没有水解酶的催化位点,受N-myc的抑制。NDRG1位于人染色体8q24,全长约60 kb,包含着16个外显子及15个内含子,C末端包含3段特有的具有10个亲水性氨基酸残基串联重复序列^[15]。基质金属蛋白酶作为蛋白水解酶家族,在肿瘤形成微环境中起到重要作用^[16]。

本研究采用siRNA转染胰腺癌PANC-1细胞株,经Western blot及qRT-PCR在蛋白及mRNA水平证明沉默效率达到60%以上,成功的下调了NDRG1在PAN-1细胞中的表达。NDRG1下调后,经Western blot及qRT-PCR检测发现,MMP-7在蛋白及mRNA水平表达下调^[10]。NDRG1对恶性肿瘤生长分化等恶性行为的调控可能通过调控MMP-7表达实现,MMP-7可与NDRG1的辅基酰基载体蛋白结合形成复合体从而影响恶性肿瘤的行为,NDRG1也可能上调MMP-7表达从而通过水解活性促进胰腺癌细胞从原发灶脱落、迁移,在远隔器官种植浸润^[17]。MMP-7以酶原形式产生,激活后即形成IV型胶原酶,从而降解、破坏靠近肿瘤表面细胞外基质中I型、III型胶原,诱发肿瘤细胞沿

缺失的基膜环形浸润,结果即为恶性肿瘤细胞的侵袭转移^[18]。MMP-7可以与NDRG1的辅基酰基载体蛋白结合,两者以复合体形式存在并激活,从而影响胰腺癌的生长分化、凋亡增殖等恶性行为。

MTT显示,siNDRG1干扰后PANC-1细胞增殖能力受到抑制,在72、96、120 h均低于空白对照组,NDRG1表达下调后PANC-1细胞的增殖能力明显受到抑制,流式细胞检测也显示,siNDRG1干扰后PANC-1细胞凋亡率升高,并以早期凋亡为主,NDRG1过表达可能抑制肿瘤细胞凋亡,对其进行敲除后胰腺癌细胞凋亡增加。NDRG1通过与靶基因3'端非翻译区的不完全配对抑制靶基因mRNA的翻译或降解,从而参与细胞分化、增殖、发育、凋亡、代谢生物过程^[19]。NDRG1对胰腺癌细胞增殖及凋亡的调控作用可能与对MMP-7表达的调控密切相关,需进一步实验证明。

本研究显示,NDRG1表达上调对胰腺癌细胞的分化、增殖及凋亡具有调控作用。NDRG1对胰腺癌细胞的调控作用可能通过MMP-7表达实现。本研究可能为胰腺癌治疗提供新的靶点,为胰腺癌的治疗提供新的思路。

参考文献

- [1] Frakes JM, Strom T, Springett GM, et al. Resected pancreatic cancer outcomes in the elderly[J]. *J Geriatr Oncol*, 2014, doi: 10.1016/j.jgo.2014.11.005. [Epub ahead of print]
- [2] Kim B, Ahmed S, Hsueh EC. 胰腺癌的手术治疗现状[J]. *中国普通外科杂志*, 2013, 22(9):1105-1113.
- [3] Wachuła E, Ćwikła JB, Rogowski W, et al. Assessment of the safety and efficiency of sunitinib malate in metastatic neuroendocrine tumours of the pancreas (NEN G1/G2) depending on the number and type of earlier therapeutic lines - initial report[J]. *Endokrynol Pol*, 2014, 65(6):472-478.
- [4] Zhu L, Liu Y, Chen G. Diagnostic value of mesothelin pancreatic cancer: a meta-analysis[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(11):4000-4007.
- [5] Bhattacharjee V, Zhou Y, Yen T. A synthetic lethal screen identifies the Vitamin D receptor as a novel gemcitabine sensitizer in pancreatic cancer cells[J]. *Cell Cycle*, 2014, 13(24):3839-3856.
- [6] Dixon KM, Lui GY, Kovacevic Z, et al. Dp44mT targets the AKT, TGF- β and ERK pathways via the metastasis suppressor NDRG1 in normal prostate epithelial cells and prostate cancer cells[J]. *Br J Cancer*, 2013, 108(2):409-419.

- [7] Zhu X, Han Y, Yuan C, et al. Overexpression of Reg4, alone or combined with MMP-7 overexpression, is predictive of poor prognosis in colorectal cancer[J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(1):320-328.
- [8] Zhu L, Li X, Chen Y, et al. High-mobility group box 1: a novel inducer of the epithelial-mesenchymal transition in colorectal carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2015, 357(2):527-534.
- [9] Shadfan BH, Simmons AR, Simmons GW, et al. A multiplexable, microfluidic platform for the rapid quantitation of a biomarker panel for early ovarian cancer detection at the point-of-care[J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2015, 8(1):37-48.
- [10] Zhu LY, Ren L, Ge Z, et al. Observation of microvessels and invasion in early colorectal neoplasms on narrow band imaging: combination with CD34 and matrix metalloproteinase-7 expression[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 26(12):1428-1433.
- [11] Wang X, Zuo D, Chen Y, et al. Shed Syndecan-1 is involved in chemotherapy resistance via the EGFR pathway in colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2014, 111(10):1965-1976.
- [12] 张亮, 王建方, 杨国山, 等. 胰腺癌多种治疗模式的临床疗效对比[J]. *中国普通外科杂志*, 2013, 22(9):1138-1141.
- [13] Paiella S, De Pastena M, Esposito A, et al. Selective agenesis of pancreatic isthmus parenchyma with preservation of main pancreatic duct continuity, a very rare entity: Case report[J]. *Int J Surg Case Rep*, 2015, 6C:169-171.
- [14] Sharma KL, Rai R, Srivastava A, et al. A multigenic approach to evaluate genetic variants of PLCE1, LXRs, MMPs, TIMP, and CYP genes in gallbladder cancer predisposition[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(9):8597-8606.
- [15] Lee JC, Chung LC, Chen YJ, et al. N-myc downstream-regulated gene 1 downregulates cell proliferation, invasiveness, and tumorigenesis in human oral squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2014, 355(2):242-252.
- [16] Wang X, Zuo D, Chen Y, et al. Shed Syndecan-1 is involved in chemotherapy resistance via the EGFR pathway in colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2014, 111(10):1965-1976.
- [17] Qin Y, Ye GX, Wu CJ, et al. Effect of DAPK1 gene on proliferation, migration, and invasion of carcinoma of pancreas BxPC-3 cell line[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(11):7536-7544.
- [18] Jin R, Liu W, Menezes S, et al. The metastasis suppressor NDRG1 modulates the phosphorylation and nuclear translocation of β -catenin through mechanisms involving FRAT1 and PAK4[J]. *J Cell Sci*, 2014, 127(Pt 14):3116-3130.
- [19] Takakura K, Koido S, Kan S, et al. Prognostic markers for patient outcome following vaccination with multiple MHC Class I/II-restricted WT1 peptide-pulsed dendritic cells plus chemotherapy for pancreatic cancer[J]. *Anticancer Res*, 2015, 35(1):555-5562.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 张小薄, 高峰, 谭晓冬, 等. 下调NDRG1表达对胰腺癌细胞增殖与凋亡的影响[J]. *中国普通外科杂志*, 2015, 24(3):363-369. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.011

Cite this article as: ZHANG XB, GAO F, TAN XD, et al. Influence of down-regulation of NDRG1 expression on proliferation and apoptosis in pancreatic cancer cells[J]. *Chin J Gen Surg*, 2015, 24(3):363-369. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.011

《中国普通外科杂志》声明

我们发现,经常有人假冒《中国普通外科杂志》编辑部的名义,在互联网上发布征稿信息或谎称能包在本刊发表学术论文,并向投稿人、作者收取发表费,这不仅严重损害了我编辑部的声誉,更严重侵犯了投稿人、作者的合法权益。在此,本编辑部郑重声明:本刊没有设立其他采编点和分支机构,也从未委托任何单位和个人组稿。我刊用稿以文章的学术质量为唯一标准,实行三审制和匿名审稿制,不向作者收取审稿费用;版面费是在稿件经三审定稿、录用、发排后按相关规定收取。敬请各位投稿人、作者在投稿前认真核对本编辑部联系方式,保护自己的合法权益,以免上当受骗。

请作者投稿前确认以下信息:

中国普通外科杂志投稿网站: www.zpwz.net

编辑部联系方式: 0731-84327400; Email: pw4327400@126.com

编辑部地址: 湖南省长沙市开福区湘雅路 87 号湘雅医院内 1-102

中国普通外科杂志编辑部