

## 讨 论

食管癌是全世界高发肿瘤之一,尽管过去 20 多年来对食管癌的治疗手段不断改进,但食管癌患者的 5 年生存率仍只有 15% ~ 34%<sup>[5]</sup>。化疗是晚期食管癌综合治疗中的常用手段,如何降低肿瘤对化疗药物耐药、增加化疗药物的敏感度是近年来研究的热点。

HO-1 被认为是体内的一种细胞保护基因,各种氧化应激和炎症因子均能诱导其表达。最近的研究发现 HO-1 在食管癌等多种肿瘤中高表达,其表达的增加可以上调多药耐药 (MDR) 蛋白和多药耐药相关蛋白 (Mrp) 的生成,从而降低肿瘤细胞对放化疗的敏感度<sup>[6,7]</sup>。本研究利用的 HO-1 siRNA 在 mRNA 和蛋白水平均可以对 HO-1 进行有效的抑制,而 Hemin (10 μmol/L) 对 HO-1 的表达有促进作用。MTS 法、流式细胞术检测结果显示,与空白对照组比较,HO-1 表达的升高使细胞对 5-FU 的敏感度下降,而干扰 HO-1 表达后,细胞对 5-FU 的敏感度增强,其增殖能力减弱,凋亡增加。

HO-1 表达上调增加肿瘤细胞对化疗药物敏感度,其具体分子机制可能是:①HO-1 催化血红素降低细胞内促氧化介质,并增加铁离子内流,诱导强抗氧化剂铁蛋白的合成;②HO-1 的代谢产物 CO、胆绿素具有抗凋亡和抗自由基的作用;③HO-1 通过 PI<sub>3</sub>K/AKT/MAPK 等信号系统影响细胞的活性<sup>[1]</sup>。最近研究认为,活性氧 (ROS) 与细胞凋亡密切相关,而基因沉默 HO-1 后能诱导细胞内活性氧 (ROS) 表达增加及线粒体功能障碍,这可能是导致肿瘤细胞对

化疗药物敏感度增加的原因<sup>[8]</sup>。综上所述,应用小 RNA 干扰技术特异性抑制 HO-1 基因的表达,以增强肿瘤细胞对化疗的敏感度,对临床肿瘤治疗有一定的潜在研究价值。

## 参考文献

- 1 Berberat PO, Dambrauskas Z, Gulbinas A, *et al.* Inhibition of heme oxygenase - 1 increases responsiveness of pancreatic cancer cells to anticancer treatment[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(10): 3790 - 3798
- 2 Kuroda H, Takeno M, Murakami S, *et al.* Inhibition of heme oxygenase - 1 with an epidermal growth factor receptor inhibitor and cisplatin decreases proliferation of lung cancer A549 cells[J]. Lung Cancer, 2010, 67(1): 31 - 36
- 3 Miyake M, Fujimoto K, Anai S, *et al.* Clinical significance of heme oxygenase - 1 expression in non - muscle - invasive bladder cancer[J]. Urol Int, 2010, 85(3): 355 - 363
- 4 夏利龙,朱成楚,陈保富,等. 血红素加氧酶-1 对食管癌细胞株 Eca109 增殖及凋亡作用的影响[J]. 医学研究杂志, 2013, 42(8): 60 - 63
- 5 Allum WH, Stenning SP, Bancewicz J, *et al.* Long - term results of a randomized trial of surgery with or without preoperative chemotherapy in esophageal cancer[J]. J Clin Oncol, 2009, 27(30): 5062 - 5067
- 6 张健,朱成楚,陈保富,等. 血红素加氧酶-1 在食管癌中的表达及意义[J]. 实用医学杂志, 2011, 27(20): 3635 - 3637
- 7 张健,朱成楚. 血红素加氧酶-1 与食管疾病的关系[J]. 温州医学院学报, 2011, 41(6): 594 - 600
- 8 Kongpetch S, Kukongviriyapan V, Prawan A, *et al.* Crucial role of heme oxygenase - 1 on the sensitivity of cholangiocarcinoma cells to chemotherapeutic agents[J]. PLoS One, 2012, 7(4): e34994

(收稿日期:2014-02-11)

(修回日期:2014-02-20)

## siRNA 靶向干扰 COX-2 基因对胃癌 BGC823 细胞侵袭、迁移的影响

于建平 刘宏斌 韩晓鹏 苏琳 李洪涛 李坤 王璟

**摘 要 目的** 探讨 siRNA 靶向干扰 COX-2 基因对胃癌细胞 BGC823 侵袭迁移能力的影响及可能机制。**方法** 应用 Lipofectamine 2000 将 COX-2 siRNA (siRNA-COX-2 组) 阴性对照 siRNA (siRNA-control 组) 转入到细胞 BGC823 中,应用 Transwell 小室分析胃癌细胞 BGC823 转染前后对胃癌细胞侵袭、迁移能力的变化。应用 RT-PCR 检测胃癌细胞转染前后 COX-2、β-catenin 的 mRNA 水平,应用 Western blot 法检测胃癌细胞转染前后 COX-2、β-catenin、MMP-2、MMP-9 的蛋白的表达水平

基金项目:甘肃省科技厅科技重大专项基金资助项目(2010GS04390)

作者单位:730000 兰州大学第二临床医学院(于建平、王璟);730050 兰州军区兰州总医院(刘宏斌、韩晓鹏、苏琳、李洪涛、李坤)

通讯作者:刘宏斌,电子信箱:Liuhongbin999@163.com

变化。**结果** siRNA - COX - 2 组穿过 Transwell 小室微孔膜的细胞数明显下降, COX - 2、 $\beta$  - catenin 的 mRNA 水平及 COX - 2、 $\beta$  - catenin、MMP - 2、MMP - 9 的蛋白的表达水平明显减少 ( $P < 0.05$ )。**结论** COX - 2 基因的表达与胃癌细胞 BGC823 的侵袭、迁移密切相关, 可能与通过抑制 WNT/ $\beta$  - catenin 信号通路抑制 MMP2、MMP9 有关。

**关键词** COX - 2  $\beta$  - catenin 侵袭 迁移 siRNA

[中图分类号] R735 [文献标识码] A

**Small Interfering RNA - mediated COX - 2 Gene Silencing Inhibits the Invasion and Migration of Gastric Cancer Cell Line BGC823.** Yu Jianping, Liu Hongbin, Han Xiaopeng, et al. The Second Clinical Medical College of Lanzhou University, Gansu 730000, China

**Abstract Objective** To investigate the effect of small interfering RNA - mediated COX - 2 gene silencing inhibits on invasion and migration of gastric cancer cell line BGC823 and its mechanism. **Methods** COX - 2 siRNA was transfected into cell line BGC823 using Lipofectamine 2000. The cell migration and proliferation was evaluated using Transwell. The transcription of COX - 2 and  $\beta$  - catenin was detected by semi - quantitative reverse transcription - polymerase chain reaction, and the protein expression level of COX - 2,  $\beta$  - catenin, MMP - 2, MMP - 9 was detected by Western blot. **Results** The cells numbers of siRNA - COX - 2 through the Transwell chambers microporous membrane was significantly decreased. The transcription of COX - 2,  $\beta$  - catenin and the protein expression of COX - 2,  $\beta$  - catenin, MMP - 2, MMP - 9 were significantly decreased. **Conclusion** The COX - 2 gene expression is closely related to the cell invasion and migration of gastric cell line BGC823, maybe inhibit the expression of MMP2 and MMP9 by inhibit the WNT/ $\beta$  - catenin signaling pathway.

**Key words** COX - 2;  $\beta$  - catenin; Invasion; Migration; siRNA

胃癌是我国最常见的消化道恶性肿瘤之一, 每年新发病例约 40 万, 占世界新发胃癌的 42%。而手术治疗是目前胃癌治疗的基本手段<sup>[1,2]</sup>。但有很多胃癌患者明确诊断后已到中晚期, 单纯手术治疗效果不佳, 手术后辅助化疗效果也并不太理想<sup>[3]</sup>。因此靶向药物治疗成为是目前治疗恶性肿瘤的新方向。COX - 2 是在病理状态下促进花生四烯酸转化为前列腺素 2 的限速酶, 目前多项研究表明 COX - 2 在调控胃癌细胞增殖、凋亡、前致癌物活化、血管生成及浸润转移等方面有高度相关性<sup>[4]</sup>。约 70% 的胃癌组织中表达 COX - 2, 因此其有望成为胃癌靶向药物治疗的一个靶点, 本实验通过应用 siRNA 靶向干扰高表达 COX - 2 胃癌细胞株 BGC823, 来研究其在胃癌细胞侵袭、迁移中的作用机制。

### 材料与方法

1. 材料及试剂: 人胃癌细胞系 BGC823 由兰州大学第二临床学院普外科实验室赠予。胎牛血清, RPMI 1640 培养液购自于 Hyclone 公司, Lipofectamine 2000, 化学合成的 siRNA - COX - 2 及 siRNA Reagent System、siRNA - Negative Control 购自 Santacruz 公司; 兔抗人 COX - 2 抗体、兔抗人  $\beta$  - catenin 抗体、兔抗人 MMP2 抗体、兔抗人 MMP9 抗体及兔抗人  $\beta$  - actin 购自 ABCOM 公司, 鼠抗兔二抗购自北京中杉金桥公司, Transwell 小室购自 Sigma 公司, Matrigel 基质胶购自 BD 公司。Trizol 试剂及 RT - PCR 试剂盒购自日本 TaKaRa 公司, PCR 引物由宝生物工程(大连)有限公司合成。

2. 实验仪器: CO<sub>2</sub> 细胞培养箱 (Thermo Electron Corporation 公司), 生物安全柜 (Forma Scientific 公司), ChemiDoc -

It2 凝胶成像分析系统 (美国 UVP 公司), 凝胶电泳仪 (Amersham Biosciences)。

3. 细胞培养及转染: 配制含有 10% 的胎牛血清的 RPMI1640 培养液为完全培养基培养细胞, 于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱常规培养。转染前一天将对数生长其胃癌细胞 BGC823 接种于 6 孔板内, 每孔接种  $5 \times 10^5$  个细胞, 准备 siRNA - COX - 2 及 siRNA - Negative Control, 待细胞贴壁 80% 左右时应用 Lipofectamine 2000 转染 BGC823 细胞。转染 6h 后加入等体积的含有 20% 的胎牛血清的培养基继续培养 48 ~ 72h, 转染成功细胞用于 Transwell 小室侵袭、迁移实验及 Western blot 法检测。

4. Transwell 法胃癌细胞体外侵袭实验: 实验前将枪头、RPMI 1640 培养液、Transwell 小室、24 孔板置于 4℃ 冰箱预冷, -20℃ 保存的 Matrigel 于 4℃ 冰箱过夜融化, 用 RPMI 1640 培养液按 1:8 稀释, 取 20  $\mu$ l 平铺于 Transwell 板上室 37℃, 30min 聚合成胶。取转染 48h 的 siRNA - COX - 2 组和 siRNA - control 组细胞用 PBS 洗 3 次, 用 RPMI 1640 培养液制成  $5 \times 10^5$  个/毫升细胞悬液, 于上室加入 200  $\mu$ l 细胞悬液, 下室加入 500  $\mu$ l 完全培养基。设 3 个复孔, 置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱常规培养 24h, 取出 Transwell 小室, 吸出培养液, 并用 PBS 洗涤 2 次, 用 0.1% 结晶紫染色固定 30min, 用棉签轻轻擦除上层未迁移细胞及 Matrigel, 用 PBS 洗涤 2 次。400 倍显微镜下 (高倍视野) 随机计数 5 个视野细胞数, 取 5 个视野平均细胞数。

5. Transwell 法胃癌细胞体外迁移实验: 本实验方法与肿瘤侵袭实验相同, 不同之处是本实验 Transwell 小室上室无需加入 Matrigel。

6. RT - PCR 检测转染前后 COX - 2、 $\beta$  - catenin 的 mRNA 表达水平: 组织总 RNA 的提取参照 RNAiso 试剂盒 (TAKARA 公司) 说明书操作, 进行 RNA 纯度测定、浓度检测和 RNA 完

完整性检测。按说明书操作完成反转录后,配制 PCR 反应体系,进行 PCR 反应。引物序列及长度见表 1。反转录反应条件为:37℃ 15min,85℃ 5s,4℃ 5min;PCR 反应采用 25 $\mu$ l 反应体系,反应条件为:95℃ 2min,95℃ 30s,32 个循环;55℃ 30s,32 个循环;72℃ 30s,32 个循环;72℃ 3min。反应结束后取 PCR 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳,紫外光下拍照记录结果。

表 1 引物的序列及长度

| 基因               | 引物 | 序列(5'→3')                 | 扩增长度(bp) |
|------------------|----|---------------------------|----------|
| COX-2            | F  | TCCCTGAGCATCTACGGTT       | 108      |
|                  | R  | CATCGCATACTCTGTTGTGTT     |          |
| $\beta$ -catenin | F  | GAGTGCTGAAGGTGCTATCTGTCTG | 115      |
|                  | R  | TTCTGAACAAGACGTTGACTTGGA  |          |
| $\beta$ -actin   | F  | TCCTGTGGCATCCACGAAACT     | 315      |
|                  | R  | GAAGCATTGCGGTGACGAT       |          |

7. 应用 Western bolt 法检测转染前后 COX-2、 $\beta$ -catenin、MMP-2、MMP-9 的蛋白表达水平:将正常细胞、转染 siRNA-COX-2 及 siRNA-negative control 72h 后细胞,用 PBS 洗涤 2 次,每瓶加入 200 $\mu$ l + 2 $\mu$ l PMSF 于 4℃ 裂解 30min,用干净细胞刮刀刮取瓶壁细胞,收集瓶内细胞碎片和裂解液至 1.5ml 离心管,4℃ 下 1400  $\times$  g 离心 10min,吸取上清,分装至 1.5ml 离心管,应用 BCA 法测定蛋白浓度后,加入 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液水浴 5min 变性处理。每个电泳道上样 20 $\mu$ g 总蛋白,用 10% 的分离胶。先用 80V 恒压电泳至溴酚蓝进入分离胶,约 30min,后转用 120V 恒压电泳至溴酚蓝刚好跑出分离胶时约 40min,终止电泳。将蛋白质 300mA 恒电流转至 PVDF 膜上;5% 脱脂奶室温封闭 2h 后,分别与相应一抗(1:500) 4℃ 孵育过夜,二抗(1:7500) 室温避光孵育 1.5h,然后使用加入 ECL 超敏发光液在 ChemiDoc-It2 凝胶成像分析系统中选择合适曝光时间曝光。以目的条带吸光度值与对应  $\beta$ -actin 的吸光度值之比作为目的蛋白表达强弱的指标。

8. 统计学方法:数据采用 SPSS 18.0 软件包进行统计分析,计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较使用 *t* 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. 侵袭、迁移实验结果:随机抽取 5 个高倍视野计算每个视野的细胞总数,取平均值。结果表明正常细胞穿过微孔膜的细胞数于 siRNA-control 组无明显差异( $P > 0.05$ ),而 siRNA-control 组穿过微孔膜的细胞数明显多于 siRNA-COX-2 组( $P < 0.05$ ),详见图 1~图 3、表 2。

2. 转染 siRNA-COX-2 后,COX-2、 $\beta$ -catenin mRNA 及蛋白水平表达下调:BGC823 细胞稳定感染后,采用 RT-PCR 及 Western blot 法检测 COX2、 $\beta$ -catenin mRNA 和蛋白的表达情况。RT-PCR 结果显示,与 BGC823 组及 siRNA-control 组相比,转

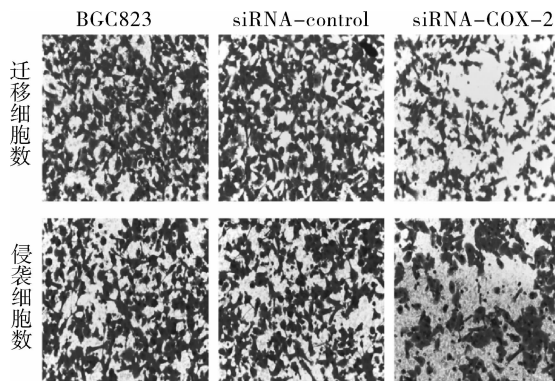
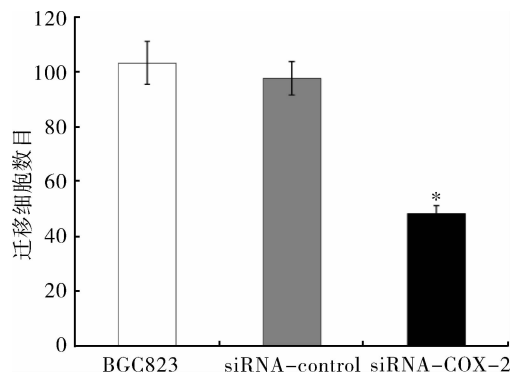
图 1 转染后各组迁移、侵袭能力变化( $\times 400$ )

图 2 转染后各组迁移能力之间的比较

与 siRNA-control 组相比, \*  $P < 0.05$

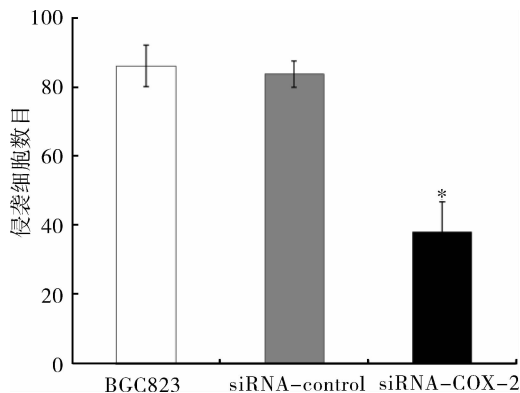


图 3 转染后各组侵袭能力之间的比较

与 siRNA-control 组相比, \*  $P < 0.05$

表 2 各组穿过微孔膜的细胞数( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别              | 复孔(n) | 迁移               | 侵袭               |
|-----------------|-------|------------------|------------------|
| BGC823 组        | 3     | 103.3 $\pm$ 7.8  | 88.5 $\pm$ 7.9   |
| siRNA-control 组 | 3     | 97.7 $\pm$ 6.1 * | 84.9 $\pm$ 6.5 # |
| siRNA-COX-2     | 3     | 48.3 $\pm$ 3.1   | 37.6 $\pm$ 5.2   |

与 siRNA-COX-2 组比较, \*  $P < 0.05$

染 siRNA-COX-2 后,COX-2、 $\beta$ -catenin 的 mRNA 表达明显下调( $P < 0.05$ ,图 4)。而 Western blot 结果也发现实验组中的 COX-2、 $\beta$ -catenin 蛋白表达降

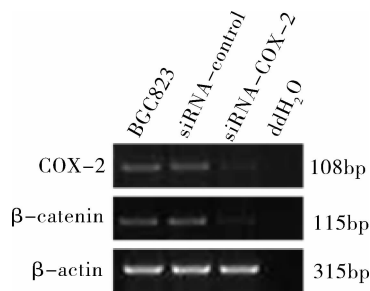


图 4 转染 48h 后 COX-2、β-catenin mRNA 表达变化

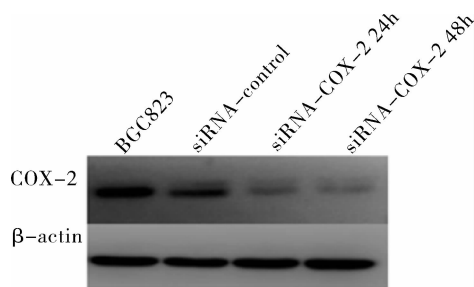


图 5 转染 24、48h 后 COX-2 蛋白表达变化

低,结果与 RT-PCR 结果一致 ( $P < 0.05$ , 图 5)。与此同时,Western blot 法检测结果还发现,COX-2 表达下调后,相关信号分子 MMP-2、MMP-9 蛋白的相对表达量显著降低 ( $P < 0.05$ , 图 6)。进而说明 COX-2 是通过调控这些信号分子的表达影响了胃癌细胞的生物学功能。

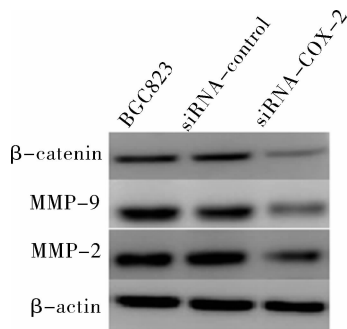


图 6 转染 48h 后 β-catenin、MMP-9、MMP-2 蛋白表达变化

## 讨 论

RNAi 是 1998 年 Fire 等<sup>[5]</sup>首次成功应用并命名的一项新的基因抑制技术,因其具有高度的保守性及特异性,及其与传统的基因抑制方法相比具有更强、更持久的抑制效果,而被广泛应用于基因治疗的研究中<sup>[5,6]</sup>。近年来,随着对胃癌的研究,RNAi 技术在胃癌的研究中也取得了很大的成就,其不但在体外实验中有较强的抑制效果,其在低等动物甚至哺乳动物研

究中也得到令人满意的效果<sup>[7]</sup>。Yi 等<sup>[4]</sup>通过 siRNA 沉默 SGC 7901 中 PRL-3 基因后发现 ERK 1/2 mRNA 及蛋白水平明显降低,并且胃癌细胞的运动及迁移能力均下降。本实验也应用 RNAi 技术抑制 COX-2 基因的表达观察体外细胞侵袭、迁移能力的变化,并得到预期效果。因此该技术有望成为于人类基因组功能研究、基因治疗及药物开发等方面的一种新手段。

近年来 COX-2 基因的高表达与肿瘤的关系得到广泛关注,大量研究表明 COX-2 高表达于胃癌的发生密切相关,其主要可以通过促进细胞增殖、抑制细胞凋亡、促进血管生成、增强肿瘤侵袭能力、耐药及免疫抑制等方面影响患者预后<sup>[8-10]</sup>。目前选择性 COX-2 抑制剂已被美国 FDA 批准为结肠家族性腺瘤病的治疗药物,预防结肠癌的发生,而其靶向抑制剂塞来昔布在胃癌中的应用也取得一定成果<sup>[11,12]</sup>。在癌症的发生机制中,往往于多条信号通路有关,而处于通路上游或节点基因往往调控多条信号通路,本实验通过从基因水平靶向敲出 COX-2 基因观察 WNT 信号通路的变化及于 MMP-2、MMP-9 的关系。WNT 信号通路目前主要有:①经典 WNT/β-catenin-TCF/LEF 通路;②平面细胞极性通路;③ WNT/Ca<sup>2+</sup> 通路;④调节纺锤体方向和非对称细胞分裂的细胞内途径。而 β-catenin 在胃癌发生发展中起关键作用,正常情况下 β-catenin 在胞质中与 Axin、APC、CK1 及 GSK-3β 结合形成 Axin-APC-GSK-3β 复合物导致 β-catenin 降解而维持在较低水平。而 WNT 信号通路激活后,抑制了 Axin-APC-GSK-3β 复合物的形成,进而导致 β-catenin 降解减少,大量 β-catenin 在胞质中异常聚集并核异位,进入细胞核的 β-catenin 即可激活 WNT 信号通路,导致肿瘤的发生及转移<sup>[13,14]</sup>。大量研究表明,COX-2 信号通路的激活可激活 WNT 信号通路,并促进肿瘤的生成。另有研究表明,在肠型胃癌中,COX-2 及 WNT 信号通路均激活,甚至在模拟裸鼠模型发现,只有其中一条信号通路激活的前提下不能形成胃癌模型,因此这两条通路在胃癌中一定存在协同关系,促进肿瘤的形成及发展<sup>[15,16]</sup>。

肿瘤细胞从细胞间粘连中脱离出来,通过细胞外基质的阻挡而进入其他组织、血管、淋巴管中而发生转移。而基质金属蛋白酶家族(MMPs)是引起细胞外基质降解的主要酶类之一。其异常表达与胃癌的侵袭迁移有密切关系<sup>[17]</sup>。大量研究表明,COX-2/

PGE<sub>2</sub> 及 Wnt/ $\beta$  - catenin 信号通路于 MMPS 的表达有关<sup>[18-21]</sup>。本实验通过 siRNA - COX - 2 靶向沉默胃癌细胞株 BGC823 COX - 2 基因后发现 COX - 2、 $\beta$  - catenin mRNA 及蛋白水平明显下降,而 Transwell 小室实验发现 COX - 2 基因沉默后细胞的侵袭迁移能力明显下降,笔者认为其下降于 MMP - 2、MMP - 9 表达降低有关,而  $\beta$  - catenin 细胞内表达降低则是因为 COX - 2 通路的关闭。而 MMP - 2、MMP - 9 表达降低与  $\beta$  - catenin 的表达呈正相关,其机制可能是 COX - 2 通过抑制  $\beta$  - catenin 来完成的。

综上所述,COX - 2/PGE<sub>2</sub> 及 Wnt/ $\beta$  - catenin 信号通路均在胃癌的早期发生作用,它们之间的协同作用促使胃癌的发生、发展。两个信号通路的抑制对胃癌的治疗至关重要,有效抑制两通路的激活对防止胃癌的转移有重要意义,对这两个通路的研究将对胃癌的个体化治疗提供有力证据。

#### 参考文献

- 1 郑民华,藏路.腹腔镜胃癌根治术的现状[J].腹腔镜外科杂志,2010,15(3):161-163
- 2 郑民华,藏路.腹腔镜外科治疗早期胃癌的现状[J].内科理论与实践,2010,5(3):203-206
- 3 Song W, Jiang R, Zhao CM. Role of integrin - linked kinase in multi - drug resistance of human gastric carcinoma SGC7901/DDP cells [J]. Asian Pac J Cancer Prev,2012,13(11):5619
- 4 Yi Cao, Yi Tu, Jinhong Mei, *et al.* RNAimediated knockdown of PRL3 inhibits cell invasion and down regulates ERK 1/2 expression in the human gastric cancer cell line, SGC7901 [J]. Mol Med Rep, 2013,7(6):1805-1811
- 5 Fire A, Xu S, Montgomery M, Kostas S, *et al.* Potent and specific genetic interference by double - stranded RNA in *Caenorhabditis elegans* [J]. Nature,199,391(6669):806-811
- 6 Dorsett Y, Tuschl T. siRNAs: applications in functional genomics and potential as therapeutics [J]. Nat Rev Drug Discov, 2004, 3(4):318-329
- 7 Fujita T, Yanagihara K, Takeshita F, *et al.* Intraperitoneal delivery of a small interfering RNA targeting NEDD1 prolongs the survival of scirrhous gastric cancer model mice [J]. Cancer Sci,2013,104(2):214-222
- 8 张艳飞,王璐,符兆英.环氧合酶-2与肿瘤的发生发展[J].中华实用全科医学杂志,2005,5(11):25-26
- 9 朱风尚,陈锡美,王毅军,等.塞来昔布增强胃癌化疗药物疗效的机制研究[J].中国临床药理学杂志,2009,3(24):237-239
- 10 张富华,庄剑波.环氧合酶-2与胃癌的研究进展[J].国际内科学杂志,2009,36(7):395-398
- 11 凌桂琴,王绪,王琳,等.塞来昔布对胃癌细胞增殖的影响[J].河南医学研究,2006,15(4):332-335
- 12 周海存,刘宏斌.塞来昔布防治胃癌的机制及应用前景[J].中华消化外科杂志,2013,12(4):317-320
- 13 Neth P, Ries C, Karow M, *et al.* The Wnt signal transduction pathway in stem cells and cancer cells: influence on cellular invasion [J]. Stem Cell Rev,2007,3(1):18-29
- 14 Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer [J]. Nature,2005,434(7035):843-850
- 15 刘宣,李丹光,周利红,等. COX - 2/PGE<sub>2</sub> 激活 WNT/ $\beta$  - catenin 信号通路调控人肠癌细胞 VEGF 表达 [J]. 第二军医大学学报,2012,11(33):1178-1181
- 16 Hiraku I, Hiroko O, Masanobu O, *et al.* Mouse gastric tumor models with prostaglandin E2 pathway activation show similar gene expression profiles to intestinal - type human gastric cancer [J]. BMC GENOMICS,2009,10:615
- 17 袁宏伟.缺氧诱导因子1 $\alpha$ 诱导型一氧化碳合酶在胃癌中的表达研究[J].中国医刊,2013,48(6):29-31
- 18 饶芳,杨玉珍,刘南植. COX - 2 与 MMP - 2 蛋白在胃癌组织中的表达及意义[J].胃肠病学和肝病学杂志,2004,13(2):147-150
- 19 张占学,范占彬,杨彦林.胃癌中 COX - 2、MMP - 9 与 hMSH2 表达的相关性研究[J].河北医药,2013,35(10):1447-1449
- 20 宋隆明. SOX7 对胃癌 MKN45 细胞株体外迁移侵袭的影响[J].重庆医学,2012,41(24):2504-2509
- 21 田素芳,熊炎炎.  $\beta$  - 连接素和基质金属蛋白酶 - 2 在胃腺癌组织和淋巴结转移灶中的表达及其意义 [J]. 武汉大学学报(医学版),2010,31(2):216-219 (收稿日期:2014-02-02)

(修回日期:2014-02-17)

## 《医学研究杂志》启用远程稿件处理系统的启事

《医学研究杂志》目前已经启用远程稿件处理系统,请各位作者登陆《医学研究杂志》网站:<http://www.yx-yjzz.cn>,登陆注册投稿系统,填写作者相关信息后进行投稿。咨询电话:010-52328679(单政编辑)。

《医学研究杂志》编辑部