

干扰整合素转接激酶表达对口腔鳞癌 细胞迁移侵袭影响研究

宋玮华 刘月华 关超 李强

摘要 **目的** 研究干扰整合素转接激酶(ILK)表达对口腔鳞癌细胞迁移和侵袭能力的影响及机制。**方法** 以口腔鳞癌 SCC-25 细胞为研究对象,细胞转染小干扰 RNA 阴性对照(siRNA control)和 ILK 小干扰 RNA(ILK siRNA)分别记为 si-NC 组和 ILK siRNA 组,同时以没有转染的 SCC-25 细胞作为对照组。RT-PCR 和 Western blot 法检测转染效果;噻唑蓝(MTT)检测细胞增殖;细胞划痕实验检测细胞迁移;Transwell 小室检测细胞侵袭;Western blot 法检测基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)表达。**结果** si-NC 组 ILK mRNA 水平和蛋白水平、细胞存活率、细胞迁移率、细胞侵袭数目以及细胞中的 MMP-9、MMP-2 蛋白表达与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。ILK siRNA 组 ILK mRNA 水平和蛋白水平、细胞存活率、细胞迁移率、细胞侵袭数目和细胞中 MMP-2、MMP-9 蛋白表达水平明显低于对照组和 si-NC 组($P<0.05$)。**结论** 干扰 ILK 能够下调口腔鳞癌细胞增殖、迁移及侵袭能力。

关键词 整合素转接激酶 口腔鳞癌 迁移 侵袭

中图分类号 R739.8

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.03.018

Effects of Interference with Integrin-linked Kinase Expression on Migration and Invasion of Oral Squamous Cell Carcinoma. Song Weihua, Liu Yuehua, Guan Chao, et al. Department of Stomatology, Yueyang Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China

Abstract **Objective** To investigate the effect and its mechanism of integrin-linked kinase (ILK) on the migration and invasion of oral squamous cell carcinoma cells. **Methods** The oral squamous cell carcinoma SCC-25 cells were studied, the cells transfected with siRNA control and ILK siRNA were recorded as si-NC group and ILK siRNA group, the SCC-25 cells without transfection were used as controls. Transfection effects were detected by RT-PCR and Western blot. Cell proliferation was detected by MTT. Cell scratch test was used to detect cell migration. Cell invasion was detected by Transwell chamber. The expression of MMP-2 and MMP-9 was detected by Western blot. **Results** The levels of ILK mRNA and protein level, cell survival rate, cell migration rate, the number of cell invasion and the expression of MMP-2, MMP-9 in si-NC group were not significantly different from those in the control group($P>0.05$). The levels of ILK mRNA and protein level, cell survival rate, cell migration rate, the number of cell invasion and the expression of MMP-2, MMP-9 in ILK siRNA group were decreased significantly from those in the control group and si-NC group($P<0.05$). **Conclusion** Interference with ILK inhibits the proliferation, migration and invasion of oral squamous cell carcinoma cells, and its mechanism may be related to the inhibition of MMP-2 and MMP-9 expression.

Key words Integrin-linked kinase; Oral squamous cell carcinoma; Migration; Invasion

口腔鳞癌是一种发生于口腔的常见恶性肿瘤,据统计在所有的口腔癌患者中有 80% 为口腔鳞癌,其世界范围内的发生率仍然呈现逐年上升的趋势。随着医学的不断发展,口腔鳞癌的治疗取得了一定的进步,但由于口腔鳞癌具有早期发病隐匿等特点,提

高口腔鳞癌患者的生存率仍然是目前研究的热点^[1]。随着基因技术的不断发展,靶向基因治疗已经成为癌症治疗的主要研究方向。整合素转接激酶(integrin-linked kinase, ILK)属于丝氨酸/苏氨酸激酶,主要分布于细胞质中^[2]。有研究表明,ILK 在膀胱癌、舌鳞癌等多种癌症中高表达,具有促进癌细胞的增殖、影响癌细胞的转移的作用^[3,4]。本研究通过下调口腔鳞癌细胞中 ILK 的转录和表达水平,用 MTT 法、Western blot 法等多种实验方法研究沉默 ILK 对口腔鳞癌细胞转移潜能的影响,为靶向 ILK 治

基金项目:上海市科学技术委员会科研计划项目(16ZR1601021)

作者单位:200437 上海市中医药大学附属岳阳中西医结合医院口腔科(宋玮华、关超);200001 上海市口腔病防治院正颌科(刘月华、李强)

通讯作者:宋玮华,电子信箱:weihua8911@163.com

疗口腔鳞癌提供新的思路。

材料与方法

1. 实验材料: ILK 多克隆抗体购自于武汉艾美捷生物科技有限公司; 二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 蛋白定量试剂盒购自于北京普利莱基因技术有限公司; 基质金属蛋白酶 - 9 (matrix metalloprotease 9, MMP - 9) 单克隆抗体购自于英国 Santa Cruz 公司; Lipofectamine 2000、Realtime PCR 试剂盒均购自于美国 Invitrogen 公司; ILK、GAPDH 引物均由上海生工生物公司合成; 基质金属蛋白酶 - 2 (matrix metalloprotease 2, MMP - 2) 单克隆抗体购自于英国 Abcam 公司; ILK 小干扰 RNA (ILK siRNA) 和小干扰 RNA 阴性对照 (siRNA control) 购自于上海吉玛生物制药有限公司; 胎牛血清、RPMI1640 培养基、胰蛋白酶均购自于美国 Gibco 公司; 口腔鳞癌细胞 SCC - 25 购自于中国科学院细胞库。

2. 细胞培养: 口腔鳞癌 SCC - 25 细胞培养条件为: 37℃, 5% CO₂ 培养箱, 饱和湿度。细胞培养液用含有 10% 胎牛血清的 RPMI1640。取出保存于液氮中的 SCC - 25 细胞, 在 37℃ 融化后, 接种到细胞瓶中, 观察细胞密度超过 90% 时, 用 0.25% 的胰蛋白酶消化传代培养。

3. 细胞转染及分组: 在转染前的 24h, 将对数生长期的 SCC - 25 细胞以每孔 5×10^4 个细胞接种到 6 孔细胞培养板中。将 250 μl 的 Lipofectamine 2000 与 7.5 μl 的 siRNA control 和 ILK siRNA 分别混合后, 在室温条件下孵育 20min。加入到 6 孔细胞培养板中, 在 37℃, 5% CO₂ 培养箱中培养 48h。分别将转染 siRNA control 和 ILK siRNA 后的 SCC - 25 细胞记为 si - NC 组和 ILK siRNA 组, 同时以没有转染的 SCC - 25 细胞作为对照组。

4. RT - PCR 检测转染后细胞中 ILK mRNA 表达: 取对照组、si - NC 组和 ILK siRNA 组细胞, 培养 48h 后, 按照每两个 6 孔细胞培养板中的细胞加入 1mL Trizol 进行裂解。充分裂解后, 加入 1/5 裂解液体积的氯仿溶液, 混合后, 12000r/min, 4℃ 离心 10min。吸取上层水相溶液, 加入 1/2 体积的异丙醇, 在室温条件下静置 15min, 4℃ 离心 10min, 12000r/min, 将上清液吸除后, 加入 1ml 的 75% 的乙醇洗涤 RNA 两次后, 放在室温环境下干燥, 用无 RNase 的水溶解 RNA, 紫外分光光度计检测 RNA 浓度。反转录合成 cDNA, 按 RT - PCR 试剂盒说明书检测 ILK 水平, 每组设置 5 个复孔, 实验重复 3 次。反应程序为:

95℃, 5min; 95℃, 15s; 65℃, 35s, 40 个循环周期。ILK 上游引物: 5' - GACGACATTTTCACTCAGTGCC - 3', 下游引物: 5' - ACGGTTTCATTACATTGATCCGTG - 3'。GAPDH 上游引物: 5' - CGGAGTCAACGGATTTG - GTCGTAT - 3', 下游引物: 5' - AGCCTTCTCCATGGT - GGTGAAGAC - 3'。

5. Western blot 法检测转染后细胞中 ILK 蛋白表达: 取对照组、si - NC 组和 ILK siRNA 组细胞, 加入 1ml 的裂解液, 在冰上裂解 20min 后, 吸取匀浆液到离心管中, 超声后, 9000r/min, 离心 10min, 吸取上清液, 用 BCA 法对蛋白样品进行定量检测。按照蛋白样品: 5 × Loading Buffer = 5: 1 的体积比例混合后, 煮沸 3min。按照每孔加入 50 μl 的样品进行蛋白电泳, 电泳电压为 120V 恒压。转膜: 300mA, 转膜 70min。在 5% 脱脂奶粉中封闭 60min, 与 1: 1000 倍稀释的一抗在 4℃ 过夜反应后, 1: 2000 倍稀释的二抗在室温反应 60min。显色后, 以目的蛋白灰度值 ÷ GAPDH 灰度值表示蛋白水平, 实验重复 3 次, 取均值。

6. MTT 检测细胞增殖: 取对照组、si - NC 组和 ILK siRNA 组细胞, 接种到 96 孔板中, 每孔加入 10^3 个细胞, 培养 48h。在每孔中加入 MTT 溶液 20 μl (5mg/ml), 在 37℃ 孵育 4h 后, 弃去上清液, 加入 150 μl 的二甲基亚砷溶液, 摇床反应 10min。酶标仪分析 570nm 的吸光度值 (A 值)。每组设置 6 个复孔, 实验重复 3 次。分别按照下面的公式计算分析各组细胞的存活率。ILK siRNA 组或 si - NC 组存活率 (%) = (ILK siRNA 组或 si - NC 组 A 值 ÷ 对照组 A 值) × 100%。

7. Transwell 小室检测细胞侵袭: 在侵袭实验前在 6 孔 Transwell 小室中加入基质胶在 37℃ 孵育 30min。将对照组、si - NC 组和 ILK siRNA 组细胞用无血清的培养液配制成 5×10^4 个/毫升的细胞悬浮液。取 1ml 的含血清细胞培养液加入到下室中, 同时在上室中添加 2ml 的上述细胞悬液。培养 48h 后, 用棉签把没有穿膜的细胞擦掉, 用乙醇固定 20min, 结晶紫染色后, 在显微镜下随机选取 5 个视野进行细胞计数, 实验重复 3 次, 取均值。

8. 细胞划痕实验检测细胞迁移: 取对照组、si - NC 组和 ILK siRNA 组细胞, 接种到 6 孔细胞培养板中, 每孔中加入 2×10^4 个细胞。培养 24h 后, 取移液枪枪头, 在长满细胞的瓶壁上小心的划出一条细痕, 再加入磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 将划下来的细胞洗掉后, 继续培养 48h。分别在 0h

和 48h 观察划痕宽度。每组设置 3 个复孔,实验重复 3 次,取均值。迁移率(%) = 100% × (0h 宽度 - 48h 宽度) ÷ 0h 宽度。

9. Western blot 法测定各组 MMP-2、MMP-9 蛋白水平:分别取上述的对照组、si-NC 组及 ILK siRNA 组细胞,培养 48h 后,检测 MMP-2 和 MMP-9 蛋白水平。

10. 统计学方法:实验数据采用 SPSS 22.0 统计学软件对数据进行统计分析,数据用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组之间的比较采用单因素方差进行分析,两组数据之间的比较用 *LSD-t* 方法检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 转染后细胞中 ILK 表达检测结果:结果见表 1、图 1 中所示,对照组、si-NC 组、ILK siRNA 组 ILK mRNA 水平依次为 1.02 ± 0.08 、 0.99 ± 0.11 、 0.45 ± 0.04 ,蛋白水平依次为 0.45 ± 0.05 、 0.46 ± 0.07 、 0.18 ± 0.03 。si-NC 组 ILK mRNA 水平及 ILK 蛋白水平同对照组比较,差异无统计学意义 ($t_{\text{mRNA}} = 0.382$, $P_{\text{mRNA}} = 0.722$, $t_{\text{蛋白}} = 0.201$, $P_{\text{蛋白}} = 0.850$)。ILK siRNA 组 ILK mRNA 水平及 ILK 蛋白水平较对照组和 si-NC 组明显下降 ($t_{\text{mRNA}} = 11.038$ 、 7.991 , $P_{\text{mRNA}} = 0.000$ 、 0.001 , $t_{\text{蛋白}} = 8.020$ 、 6.368 , $P_{\text{蛋白}} = 0.001$ 、 0.003)。

表 1 转染后的口腔鳞癌 SCC-25 细胞中 ILK mRNA 和蛋白水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	ILK mRNA	ILK 蛋白
对照组	1.02 ± 0.08	0.45 ± 0.05
si-NC 组	0.99 ± 0.11	0.46 ± 0.07
ILK siRNA 组	$0.45 \pm 0.04^{*#}$	$0.18 \pm 0.03^{*#}$
<i>F</i>	46.075	27.361
<i>P</i>	0.000	0.000

与对照组比较, $^{*}P < 0.05$; 与 si-NC 组比较, $^{*}P < 0.05$

2. 细胞增殖检测结果:对照组、si-NC 组、ILK siRNA 组细胞存活率依次为: $99.94\% \pm 7.35\%$ 、 $100.01\% \pm 6.98\%$ 、 $52.64\% \pm 2.06\%$ ($F = 62.829$, $P = 0.000$)。si-NC 组细胞存活率与对照组比较,差异无统计学意义 ($t_{\text{存活率}} = 0.012$, $P_{\text{存活率}} = 0.991$)。ILK siRNA 组细胞存活率明显低于对照组和 si-NC 组,差异有统计学意义 ($t_{\text{存活率}} = 10.733$ 、 11.274 , $P_{\text{存活率}} = 0.000$ 、 0.000)。

3. 细胞侵袭迁移检测结果:结果见图 2 中所示,对照组、si-NC 组、ILK siRNA 组细胞迁移率依次为

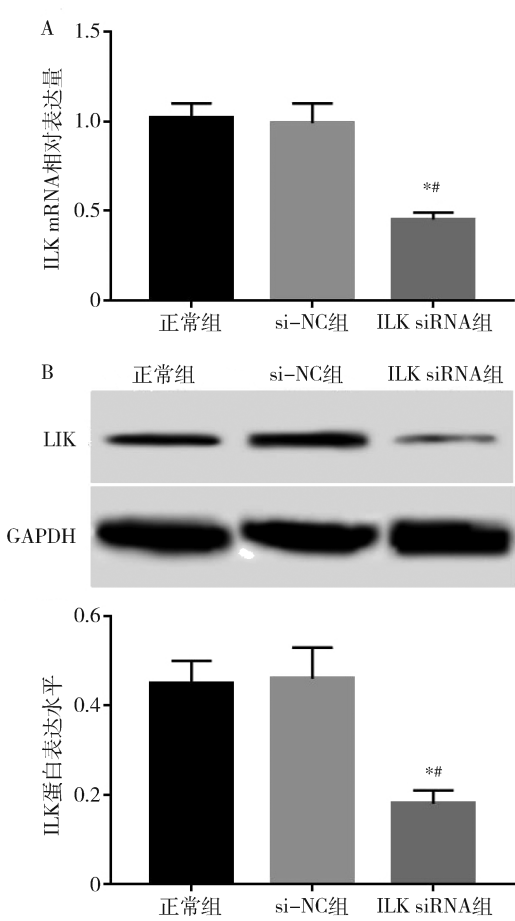


图 1 转染后细胞中 ILK 表达

A. ILK mRNA 水平; B. Western blot 法检测 ILK 蛋白水平; 与对照组比较, $^{*}P < 0.05$; 与 si-NC 组比较, $^{*}P < 0.05$

$45.32\% \pm 5.25\%$ 、 $46.02\% \pm 4.10\%$ 、 $16.87\% \pm 3.72\%$, 侵袭细胞数目依次为 136.69 ± 12.54 、 138.25 ± 11.05 、 62.38 ± 8.64 。si-NC 组细胞迁移率、侵袭细胞数目与对照组比较差异无统计学意义 ($t_{\text{迁移率}} = 0.182$, $P_{\text{迁移率}} = 0.864$, $t_{\text{侵袭数目}} = 0.162$, $P_{\text{侵袭数目}} = 0.879$)。ILK siRNA 组口腔鳞癌细胞的迁移率和侵袭细胞的数目都低于对照组和 si-NC 组 ($t_{\text{迁移率}} = 7.658$ 、 9.120 , $P_{\text{迁移率}} = 0.002$ 、 0.001 , $t_{\text{侵袭数目}} = 8.452$ 、 9.369 , $P_{\text{侵袭数目}} = 0.001$ 、 0.001)。

4. 细胞中 MMP-2、MMP-9 表达检测结果:结果见图 3 中所示,对照组、si-NC 组、ILK siRNA 组 MMP-2 水平依次为 0.25 ± 0.05 、 0.26 ± 0.04 、 0.08 ± 0.01 , MMP-9 水平依次为 0.43 ± 0.08 、 0.42 ± 0.09 、 0.09 ± 0.02 。si-NC 组 MMP-2、MMP-9 与对照组比较差异无统计学意义 ($t_{\text{MMP-2}} = 0.271$, $P_{\text{MMP-2}} = 0.800$, $t_{\text{MMP-9}} = 0.144$, $P_{\text{MMP-9}} = 0.893$)。ILK siRNA 组 MMP-2、MMP-9 明显低于对照组和 si-NC 组,

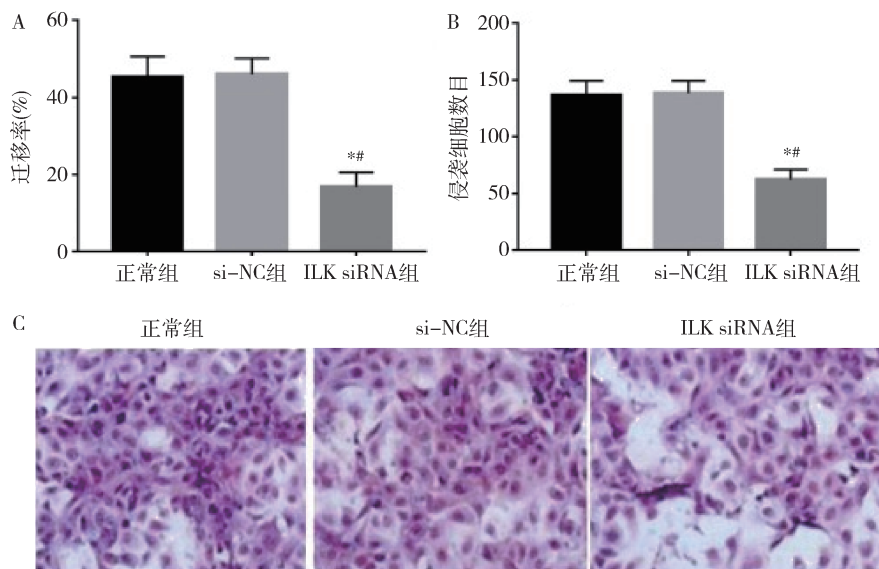


图2 细胞迁移和侵袭结果(×40)

A. 细胞迁移率; B. 侵袭细胞数目; C. Transwell 结果图; 与对照组比较, $^{*}P < 0.05$; 与 si-NC 组比较, $^{*}P < 0.05$

差异有统计学意义 ($t_{MMP-2} = 5.775, 7.562, P_{MMP-2} = 0.005, 0.002, t_{MMP-9} = 7.141, 6.200, P_{MMP-9} = 0.002, 0.003$)。ILK 表达下调能够抑制口腔鳞癌 SCC-25 细胞中 MMP-2、MMP-9 的表达。

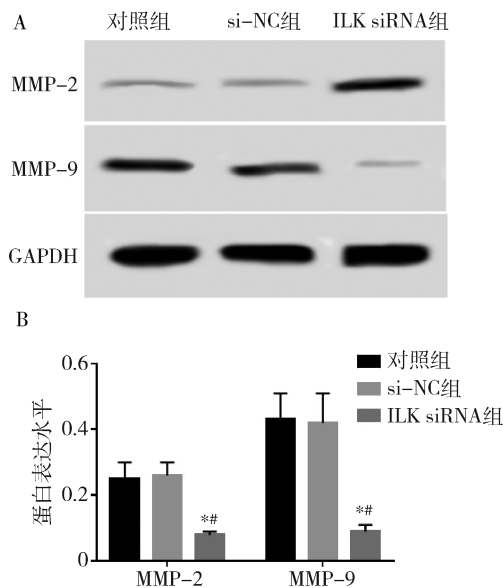


图3 MMP-2、MMP-9 表达水平

A. Western blot 法检测下调 ILK 抑制细胞中 MMP-2、MMP-9 蛋白表达; B. MMP-2、MMP-9 蛋白定量统计结果; 与对照组比较, $^{*}P < 0.05$; 与 si-NC 组比较, $^{*}P < 0.05$

讨 论

ILK 是一种较为保守的细胞内信号相关蛋白,其主要通过调控丝氨酸/苏氨酸活性影响细胞的生长过

程,参与肿瘤的发生和发展^[5,6]。安阳等^[7]通过检测 89 例肝细胞肝癌患者癌组织及 65 例正常肝组织中 ILK 表达发现,ILK 在肝癌中的表达水平升高。朱向阳等^[8]研究表明,宫颈癌组织中 ILK 的阳性率高达 86%,而正常的宫颈组织中 ILK 的阳性率仅有 23%。魏寅生^[9]通过 RT-PCR 和 Western blot 法分别检测膀胱癌组织和癌旁组织中 ILK mRNA 和蛋白表达水平发现,ILK 在膀胱癌中表达上调,而干扰 ILK 表达后,膀胱癌细胞 T24 凋亡增多,增殖、迁移、侵袭及黏附能力均下降。Que 等^[10]研究表明,下调 ILK 表达后,舌鳞癌细胞凋亡增加,同时细胞中上皮间质相关蛋白表达也发生改变,以上的研究报道提示 ILK 在癌症组织中表达上调,并且能够调控癌细胞的生长过程。本研究结果显示,干扰 ILK 表达后的口腔鳞癌细胞增殖受到抑制,侵袭能力下降,迁移能力也明显下降,这与之前的研究报道相符合,说明在口腔鳞癌细胞中干扰 ILK 同样能够抑制肿瘤生长和转移,对口腔鳞癌没有发现特异性。

相关调控机制研究表明,ILK 参与调控癌细胞生长、转移、侵袭等功能有多种途径,如管永昱等研究表明,ILK 在口腔鳞状细胞癌中高表达,可能通过促进肿瘤血管生成,促进肿瘤细胞浸润和转移^[11]。动物实验表明,沉默 ILK 后能够有效抑制人舌鳞癌细胞在体内的转移和增殖能力,其作用机制可能是通过抑制与 EMT 相关蛋白表达、调控 ILK/Akt/GSK3 β /Snail 通路^[12]。癌细胞的侵袭和转移是癌症转移的基础,

是一个极为复杂的过程,受到多种基因和蛋白的共同调控作用。癌细胞通过分泌降解外基质的蛋白酶,进入淋巴管和微血管循环,进而转移到正常的组织和器官中,引起癌症的转移^[13-16]。赵明静等^[17]研究证实,ILK 过表达可通过调控 NF- κ B 途径介导 MMP-9 表达上调,从而促进肺癌细胞侵袭和迁移。基质金属蛋白酶家族在细胞外基质降解过程中具有重要作用,其至少含有 26 个家族成员,其中 MMP-2、MMP-9 是降解 IV 型胶原酶的主要蛋白酶,而在细胞外基质中 IV 型胶原酶含量最多^[18,19]。宋清源等^[20]研究表明,沉默 MMP-2 后,卵巢癌细胞 OVCAR-3 的侵袭细胞数目从 140 减少至 99,迁移距离从 187 μ m 减少至 120 μ m。薄惠等^[21]发现黄芩素处理后的口腔鳞状细胞癌细胞中 MMP-2 蛋白水平降低,细胞的转移能力也下降。本研究结果显示,干扰 ILK 表达下调口腔鳞癌细胞中 MMP-2 和 MMP-9 蛋白水平,证实下调 ILK 可以通过下调 MMP-2 和 MMP-9 发挥抗口腔鳞癌细胞迁移和侵袭的作用。

以上研究表明,沉默 ILK 可能通过下调细胞中 MMP-2 和 MMP-9 的表达,发挥抗口腔鳞癌细胞侵袭及迁移的作用,并且可以在体外降低口腔鳞癌细胞的增殖活性。这为靶向 ILK 治疗口腔鳞癌提供了理论基础。本研究只在体外进行了细胞实验,存在一定的局限性,后续会在体内进行更为深入的探讨。

参考文献

- 1 Wu Y, Zhang L, Zhang L, *et al.* Long non-coding RNA HOTAIR promotes tumor cell invasion and metastasis by recruiting EZH2 and repressing E-cadherin in oral squamous cell carcinoma[J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(6): 2586-2594
- 2 Qi F, Cai P, Liu X, *et al.* Adenovirus-mediated P311 inhibits TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition in NRK-52E cells via TGF- β 1-Smad-ILK pathway[J]. *Biosci Trends*, 2015, 9(5): 299-306
- 3 Xiong D, Liou Y, Shu J, *et al.* Down-regulating ribonuclease inhibitor enhances metastasis of bladder cancer cells through regulating epithelial-mesenchymal transition and ILK signaling pathway[J]. *Exp Mole Pathol*, 2014, 96(3): 411-421
- 4 Younes MN, Yigitbasi OG, Yazici YD, *et al.* Effects of the integrin-linked kinase inhibitor QLT0267 on squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2007, 133(1): 15-23
- 5 Fukuda K, Bledzka K, Yang J, *et al.* Molecular basis of kindlin-2 binding to integrin-linked kinase pseudokinase for regulating cell adhesion[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(41): 28363-28375
- 6 Han KS, Li N, Raven PA, *et al.* Targeting integrin-linked kinase suppresses invasion and metastasis through downregulation of

- epithelial-to-mesenchymal transition in renal cell carcinoma[J]. *Mol Cancer Therapeut*, 2015, 14(4): 1024-1034
- 7 安阳, 邱宝安, 赵文超. 肝细胞癌组织中 ILK 和 MMP-10 的表达及意义[J]. *临床军医杂志*, 2013, 41(8): 794-796
- 8 朱向阳, 王香花. ILK 在宫颈癌组织中的表达及宫颈癌细胞侵袭能力的影响[J]. *中国妇幼保健研究*, 2016, 27(1): 87-89
- 9 魏寅生. 膀胱尿路上皮癌 ILK 基因表达及沉默 ILK 基因的相关研究[D]. 长沙: 中南大学, 2013
- 10 Que L, Zhao D, Tang XF, *et al.* Effects of lentivirus-mediated shRNA targeting integrin-linked kinase on oral squamous cell carcinoma in vitro and in vivo[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(1): 89-98
- 11 管永昱. 整合素连接激酶和一氧化氮合酶在口腔鳞状细胞癌中的表达及意义[J]. *口腔医学研究*, 2016, 32(5): 527-530
- 12 幸宇, 邓世雄, 齐进, 等. RNA 干扰 Tb 人舌癌细胞整合素连接激酶基因表达可抑制移植瘤生长[J]. *基础医学与临床*, 2015, 35(3): 289-294
- 13 Paquette B, Theriault H, Wagner JR. Role of interleukin-1 β in radiation-enhancement of MDA-MB-231 breast cancer cell invasion[J]. *Radiat Res*, 2013, 180(3): 292-298
- 14 孙静, 任丽莉, 张晓玉, 等. 支架蛋白 RACK1 小干扰 RNA 抑制卵巢癌细胞 CAOV3 的增殖、迁移和侵袭[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(2): 263-266
- 15 Mikami S, Mizuno R, Kosaka T, *et al.* Expression of TNF- α and CD44 is implicated in poor prognosis, cancer cell invasion, metastasis and resistance to the sunitinib treatment in clear cell renal cell carcinomas[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(7): 1504-1514
- 16 Paul NR, Allen JL, Chapman A, *et al.* α 5 β 1 integrin recycling promotes Arp2/3-independent cancer cell invasion via the formin FHOD3[J]. *J Cell Biol*, 2015, 210(6): 1013-1031
- 17 赵明静, 高英, 王玲玲, 等. 整合素连接激酶在肺癌细胞中过度表达并通过核因子- κ B 途径介导基质金属蛋白酶-9 上调促进肺癌细胞迁移和侵袭[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2014, 37(2): 98
- 18 Chen JS, Huang X, Wang Q, *et al.* Sonic hedgehog signaling pathway induces cell migration and invasion through focal adhesion kinase/AKT signaling-mediated activation of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in liver cancer[J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(1): 10-19
- 19 Dayer C, Stamenkovic I. Recruitment of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) to the fibroblast cell surface by lysyl hydroxylase 3 (LH3) triggers transforming growth factor- β (TGF- β) activation and fibroblast differentiation[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(22): 13763-13778
- 20 宋清源, 生秀杰, 周冬梅, 等. RNA 干扰沉默基质金属蛋白酶 2 基因对卵巢癌 OVCAR-3 细胞诱导体外血管形成能力的影响[J]. *肿瘤研究与临床*, 2013, 24(12): 793-796
- 21 薄惠, 张强, 黄琰. 竞争型 MMP-2 抑制剂黄芩素对口腔鳞状癌细胞生长和转移作用的影响[J]. *中药药理与临床*, 2015, 31(5): 58-61

(收稿日期: 2018-04-28)

(修回日期: 2018-06-22)