

钙调素拮抗剂 EBB 抑制 MDA-MB-231 人乳腺癌细胞骨转移和增殖活动的作用

金科¹, 杨林², 朱剑梅¹, 赵丹¹

1. 四川省医学科学院 四川省人民医院城东病区肿瘤科, 四川 成都 610101;

2. 四川省医学科学院 四川省人民医院城东病区创伤外科, 四川 成都 610101

摘要: 目的 通过体外实验探讨钙调素(regucalcin)拮抗剂抑制 MDA-MB-231 人乳腺癌细胞骨转移和增殖活动的作用。方法 体外培养人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 细胞,取对数生长期的细胞,分为对照组、实验 1 组、实验 2 组[分别以 fenbieyi regucalcin 拮抗剂 O-(4-乙氧基)-丁基-小檗胺(EBB) 10 $\mu\text{mol/L}$ 、1 $\mu\text{mol/L}$ 进行处理]。采用 MTT 法检测肿瘤细胞增殖抑制作用;Transwell 细胞侵袭实验、细胞划痕实验检测肿瘤细胞侵袭,转移情况;流式细胞仪测定细胞周期;免疫印迹法测定骨转移相关蛋白(P38、JNK、AKT)表达情况。**结果** MTT 检测显示 EBB 能够抑制 MDA-MB-231 细胞的生长,且当剂量增加时这种抑制作用更加显著,MDA-MB-231 细胞的半数抑制浓度(IC50)为(13.22 \pm 2.10) $\mu\text{mol/L}$ 。实验 1 组与实验 2 组的细胞划痕愈合率为(67.03 \pm 3.63)%和(72.01 \pm 5.20)%,明显少于空白对照组的(92.22 \pm 5.39)% ($P < 0.01$)。与对照组比较,不同浓度的 EBB 均能有效抑制 MDA-MB-231 细胞的转移($P < 0.01$),其中实验 1 组的抑制效果明显优于实验 2 组($P < 0.01$)。实验 1 组与实验 2 组的 S 期比例明显高于对照组($P < 0.01$),G2/M 与 G0/G1 期比例明显低于对照组($P < 0.05$),实验 1 组与实验 2 组之间比较无统计学差异($P > 0.05$)。实验 1 组与实验 2 组的 JNK、AKT 蛋白相对表达量明显低于对照组($P < 0.05$, $P < 0.01$),三组 P38 蛋白相对表达量比较无统计学差异($P > 0.05$)。**结论** 钙调素拮抗剂 EBB 能明显抑制 MDA-MB-231 人乳腺癌细胞骨转移和增殖活动,调节细胞周期,也能抑制成骨相关蛋白的表达。

关键词: 钙调素; 拮抗剂; 人乳腺癌细胞; 骨转移; 细胞周期

中图分类号: R 737.9 R-33 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2019)02-0154-05

Inhibitory effects of regucalcin antagonist EBB on bone metastasis and proliferation of human breast cancer MDA-MB-231 cells in vitro

JIN Ke*, YANG Lin, ZHU Jian-mei, ZHAO Dan

* Department of Oncology, East Department of Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610101 China

Corresponding author: ZHAO Dan, E-mail: zhaodan4536@163.com

Abstract: Objective To investigate the inhibitory effects of regucalcin antagonist on bone metastasis and proliferation of human breast cancer cell line MDA-MB-231 cells in vitro. **Methods** Human breast cancer cell line MDA-MB-231 cells were cultured in vitro, and the cells in logarithmic growth phase were divided into control group, experiment group 1 and experiment group 2 [treated with 10 $\mu\text{mol/L}$ and 1 $\mu\text{mol/L}$ fenbieyi regucalcin antagonist O-(4-ethoxy)-butyl-berbamine (EBB), respectively]. MTT method was used to detect the inhibitory effect of tumor cell proliferation. Transwell cell invasion test and cell wound healing test were used to detect the invasion and metastasis of tumor cells. Flow cytometry was used to detect the cell cycle. Western blot method was used to detect the expressions of bone metastasis related proteins P38, JNK and AKT. **Results** MTT method showed that EBB can inhibit the growth of MDA-MB-231 cells, and this inhibitory effect was more significant when the dose of EBB increases. The 50% inhibiting concentration (IC50) of MDA-MB-231 cells was (13.22 \pm 2.10) $\mu\text{mol/L}$. Cell scratch healing rate in experiment group 1 [(67.03 \pm 3.63)%] and experiment group 2 [(72.01 \pm 5.20)%] were significantly lower than that in control group [(92.22 \pm 5.39)%] ($P < 0.01$). Compared with control group, EBB at different concentrations could effectively inhibit the metastasis of MDA-MB-

231 cells ($P < 0.01$) in which the inhibition effect in experiment group 1 was significantly better than that in experiment group 2 ($P < 0.01$). Compared with control group, the ratios of S-phase increased, and the ratios of G2/M-phase and G0/G1-phase decreased in experiment group 1 and experiment group 2 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), while there were no significant differences in them between experiment group 1 and experimental group 2 (all $P > 0.05$). The relative expressions of JNK and AKT proteins in experiment group 1 and experiment group 2 were significantly lower than those in control group ($P < 0.05$, $P < 0.01$), while there was no significant difference in the relative expression level of P38 protein among three groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Regucalcin antagonist EBB can significantly inhibit bone metastasis and proliferation of MDA-MB-231 human breast cancer cells, regulate cell cycle, and inhibit the expressions of osteogenic associated proteins.

Key words: Calmodulin; Antagonists; Human breast cancer cells; Bone metastasis; Cell cycle

Fund program: Scientific Research Project of Sichuan Provincial Commission Health and Family Planning (140082)

肿瘤细胞的转移是肿瘤侵袭转移与增殖活动的基础,有效抑制肿瘤细胞的转移能力是降低肿瘤侵袭和转移的关键^[1-2]。肿瘤与骨的微环境之间存在密切的作用关系,当肿瘤细胞发生转移,乳腺癌细胞就会分泌很多不同因子,改变骨以及附近的微环境,以此完成骨转移,使骨发生病理性变化^[3-4]。经研究发现,乳腺癌的增殖与骨转移过程中参与的基因不止一种,该过程分为多个步骤,如基底膜的降解与破坏、细胞骨架的重新构建等,特别是细胞因子可诱导癌细胞定向转移到特异性靶器官并在克隆性增殖,形成转移灶^[5-6]。许多全身激素如糖皮质激素、甲状旁腺激素(PTH)、钙调素(regucalcin)、生长激素、性激素、甲状腺激素等对骨形成均有影响^[7-8]。钙调素是钙离子信号系统的初级转导者,参与多种肿瘤细胞增殖活动,并形成多种细胞凋亡的途径^[9]。破骨细胞参与骨吸收的分子信号通路研究表明,丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路是影响人乳腺癌细胞骨转移功能的重要信号通路^[10-11],本文采用体外分析探讨了钙调素拮抗剂抑制 MDA-MB-231 人乳腺癌细胞骨转移和增殖活动的效果。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 人乳腺癌多药耐药细胞系 MDA-MB-231 由标本室保存,细胞株于含 10% 小牛血清 RPMI 1640 培养液中,并置于 37 °C、5% CO₂ 以及饱和湿度环境中培养。小牛血清购于天津 TBD 公司;钙调素拮抗剂 O-(4-乙氧基)-丁基-小檗胺(EBB)来自南开大学分子生物学研究所;MTT 检测试剂盒来自 USB 公司;凋亡检测试剂盒购自 BD 公司。4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染色试剂盒 P38、JNK、 β -actin、AKT 单克隆兔抗均购自 sigma 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 MTT 法检测 选择对数生长期 MDA-MB-231 细胞,将细胞浓度调整到 1×10^5 个/L,并接种到 96 孔板之上,每孔包含 2×10^4 个细胞,培养过夜后加

药,将实验分成空白对照组与两个实验组,EBB 以 10 μ mol/L(实验 1 组)、1 μ mol/L(实验 2 组)进行处理,每组做 3 个平行孔,终体积为 200 μ l,持续培养 72 h。在培养前结束前 4 h,将 20 μ l MTT(5 g/L)加入到每孔,在培养 4 h 后将上清舍弃,在每孔加入二甲基亚砜(DMSO)100 μ l 并混匀。酶标仪 546 nm 处测定吸光度(A)值,计算半数抑制浓度(IC50)值。

1.2.2 细胞周期检测 取 70.0% 生长周期的预冷乙醇固定的 MDA-MB-231 细胞样品,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗 2 次,每次 5 min,加入 100 μ l PBS 后混匀,同时加入等体积的碘化丙啶(PI)染液 4 °C 混合,每个样品取 3 个平行,过滤后上流式细胞仪检测细胞周期的变化,结果以各时相细胞百分率表示。

1.2.3 骨转移检测实验 在细胞划痕实验中,在 6 孔板每孔接种 5×10^4 个细胞,待细胞汇合达到 80% 时,吸尽培养基后用自制 Marker 笔划痕,PBS 洗 3 次,每次 5 min,加入含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养,在 0 h 与 24 h 将孔板取出,同一处观察点来观察愈合情况,反映细胞的迁移、转移能力计算公式为:划痕愈合率(%) = (0 h 划痕宽度 - 24 h 划痕宽度) / 0 h 划痕宽度 $\times 100\%$ 。

在细胞侵袭实验中,用 24 孔 Millicell 小室,将 ECM 基质胶按 1:6 的比例用无血清 RPMI 1640 培养液稀释后,取 35 μ l 均匀涂在 Transwell 小室底部膜上室面,紫外线照射过夜。将 2×10^5 个/ml 细胞悬液加入上室,将含 20% 胎牛血清 RPMI 1640 培养基 600 μ l 加入 24 孔板下室,每组做 3 个平行孔。培养 24 h 后取出上室,擦去膜上面未穿过膜的细胞,无水乙醇固定过膜的细胞,HE 染色。低倍镜下随机选取 5 个视野计数,以穿膜细胞的数量反映癌细胞体外侵袭能力。

1.2.4 免疫印迹检测 将 MDA-MB-231 细胞用含有 10 μ mol/L、1 μ mol/L EBB 的培养液孵育 24 h,倒掉液体培养基,PBS 洗两次,每次 5 min,胰酶消化细胞后收集在离心管中,500 ~ 1 000 rpm 离心 5 min。

PBS 重悬后离心,加入细胞裂解液 300 μ l,冰上裂解 30 min,12 000 rpm 离心 20 min,取上清保存。选择 SDS-PAGE 电泳及转膜,采用电化学发光(ELC)法染色,根据 β -actin 的条带与目的蛋白(P38、JNK、AKT)条带相对值判定目的蛋白的相对表达情况。

1.3 统计学方法 应用 SPSS 20.00 软件分析所得数据,通过 $\bar{x} \pm s$ 来描述计量资料,使用百分比来描述计数资料,通过 χ^2 分析、 t 检验进行对比。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞生长情况对比 MTT 检测显示 EBB 能够抑制 MDA-MB-231 细胞的生长,且当剂量增加时这种抑制作用就会更加显著,MDA-MB-231 细胞的 IC50 为 $(13.22 \pm 2.10) \mu\text{mol/L}$ 。

2.2 细胞周期情况对比 实验 1 组与实验 2 组的 S 期比例明显高于对照组($P < 0.01$),G2/M 与 G0/G1 期比例明显低于对照组($P < 0.05$),实验 1 组与实验 2 组之间比较无统计学差异($P > 0.05$)。见表 1。

2.3 细胞转移情况对比 实验 1 组与实验 2 组的细胞划痕愈合率明显低于空白对照组($P < 0.01$)。见表 2。

2.4 细胞侵袭情况对比 不同浓度的 EBB 均能有效抑制 MDA-MB-231 细胞的侵袭能力($P < 0.01$),其中实验 1 组的抑制效果明显优于实验 2 组($P < 0.01$)。见表 2、图 1。

2.5 骨转移相关蛋白检测情况对比 实验 1 组与实验 2 组的 JNK、AKT 蛋白相对表达量低于对照组($P < 0.05, P < 0.01$),三组 P38 蛋白相对表达量比较无统计学差异($P > 0.05$)。见表 3、图 2。

3 讨论

骨转移在乳腺癌患者中比较常见,并可引起局部骨溶解^[12]。现代研究表明骨重建这一过程会受到极为严密的调控,包括成骨细胞骨形成、破骨细胞骨吸收。乳腺癌骨转移会破坏骨平衡,并造成骨质流失或骨生成不平衡,增加乳腺癌患者的死亡率。乳腺癌骨转移的具体原因还不明确,是一个多基因调控的多步骤的,涉及到一系列分子事件的紊乱^[13-14]。

细胞增殖能力变换是肿瘤发生转移的一个必要因素,MTT 法检测反映了细胞的恶性增殖能力^[15]。本研究 MTT 检测显示 EBB 能够抑制 MDA-MB-231 细胞的生长,而且当剂量增加时这种抑制作用更加显著,MDA-MB-231 的 IC50 为 $(13.22 \pm 2.10) \mu\text{mol/L}$ 。

表 1 钙调素拮抗剂 EBB 对 MDA-MB-231 人乳腺癌细胞周期的影响 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	例数	G0/G1	G2/M	S
空白对照组	3	65.33 \pm 4.87	28.56 \pm 6.29	23.49 \pm 1.94
实验 1 组	3	49.29 \pm 6.22*	14.98 \pm 5.24*	34.20 \pm 2.88#
实验 2 组	3	53.20 \pm 5.98*	15.00 \pm 5.14*	38.02 \pm 3.01#
F 值		6.413	5.912	24.180
P 值		0.032	0.038	0.001

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,# $P < 0.01$ 。

表 2 钙调素拮抗剂 EBB 对 MDA-MB-231 人乳腺癌细胞转移和侵袭的影响 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	例数	划痕愈合率	细胞侵袭比例
空白对照组	3	92.22 \pm 5.39	67.20 \pm 1.58
实验 1 组	3	67.03 \pm 3.63*	18.34 \pm 1.77*
实验 2 组	3	72.01 \pm 5.20*	26.22 \pm 2.11**
F 值		23.122	341.280
P 值		0.000	0.000

注:与空白对照组比较,* $P < 0.01$;与实验 1 组比较,# $P < 0.01$ 。

表 3 钙调素拮抗剂 EBB 对 MDA-MB-231 人乳腺癌细胞骨转移相关蛋白相对表达量的影响 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	例数	JNK	AKT	P38
空白对照组	3	0.82 \pm 0.12	0.92 \pm 0.12	0.83 \pm 0.20
实验 1 组	3	0.52 \pm 0.12*	0.45 \pm 0.11#	0.85 \pm 0.23
实验 2 组	3	0.42 \pm 0.14*	0.41 \pm 0.11#	0.87 \pm 0.21
F 值		7.284	18.754	0.026
P 值		0.013	0.000	0.974

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,# $P < 0.01$ 。

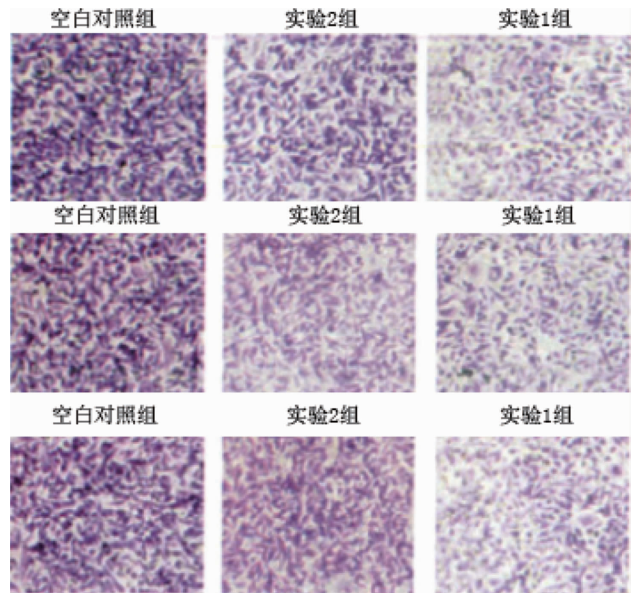


图 1 抑制 MDA-MB-231 细胞转移 Transwell 实验结果

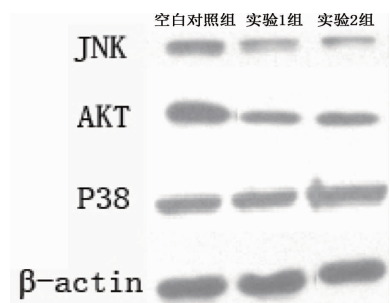


图 2 各组骨转移相关蛋白 WB 实验电泳图

相关研究也表明钙调素拮抗剂 EBB 能显著抑制 MDA-MB-231 细胞克隆形成能力。细胞转移是肿瘤细胞转移的基本过程,转移性的肿瘤细胞通常具有较强的运动性^[16]。Transwell 侵袭实验与细胞划痕是肿瘤体外转移性研究中的经典方法之一,主要用于观察细胞通过降解细胞外基质与细胞增殖情况而进行的转移侵袭行为^[17]。本研究显示不同浓度的 EBB 均能有效抑制 MDA-MB-231 细胞的转移能力,其中实验 1 组的抑制效果明显优于实验 2 组;实验 1 组与实验 2 组的细胞划痕愈合率明显少于空白对照组,表明钙调素拮抗剂 EBB 对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞转移侵袭能力有显著抑制作用。

细胞增殖、凋亡是细胞周期依赖性的,其调控机制同样会对细胞周期进行制约^[18]。有研究表明对肿瘤细胞细胞周期蛋白(cyclins)的表达进行抑制,能够选择性地对肿瘤组织中的周期蛋白依赖性激酶(CDKs)活性加以抑制,从而阻止肿瘤细胞发生异常增殖^[19]。本研究显示实验 1 组与实验 2 组的 S 期比例明显高于对照组,G2/M 与 G0/G1 期比例明显低于对照组,实验 1 组与实验 2 组之间对比无差异,表明钙调素拮抗剂 EBB 能有效调节乳腺癌细胞周期。相关研究发现,EBB 能够对实体瘤转移与肿瘤增殖起到抑制作用,且对耐药性进行逆转^[14]。乳腺癌骨转移多数为破骨细胞性质,且乳腺癌对成骨细胞活性有着抑制作用,或是对破骨细胞活性加以诱导^[20]。有研究表明骨组织局部调节因子对骨形成具有重要作用,转化生长因子(TGF)、骨形态发生蛋白(BMPs)、白细胞介素-1(IL-1)、胰岛素样生长因子(IGFs)等都能够对骨形成起到明显作用。

MAPK 信号通路与 AKT 信号通路是影响破骨细胞骨吸收功能的重要信号通路^[21-22]。本研究显示实验 1 组与实验 2 组的 JNK、AKT 蛋白相对表达量明显低于对照组,三组 P38 蛋白相对表达量对比无差异,表明 EBB 抑制破骨细胞分化成熟可能是通过 AKT/MAPK 信号通路实现。EBB 是一个 MAPK 信号通路的有力抑制剂,EBB 在乳腺癌上皮-间质转换(EMT)进程中有重要的作用。

总之,钙调素拮抗剂 EBB 能明显抑制 MDA-MB-231 人乳腺癌细胞骨转移和增殖活动,调节细胞周期,也能抑制成骨相关蛋白的表达。

参考文献

[1] Qin S, Ingle JN, Liu M, et al. Calmodulin-like protein 3 is an estrogen receptor alpha coregulator for gene expression and drug response

in a SNP, estrogen, and SERM-dependent fashion[J]. *Breast Cancer Res*, 2017, 19(1):95.

- [2] Wong VKW, Zeng W, Chen J, et al. Tetrandrine, an activator of autophagy, induces autophagic cell death via PKC- α inhibition and mTOR-dependent mechanisms[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8:351.
- [3] 刘娜, 石海刚, 张维, 等. 炎症微环境作用下经典及非经典 Wnt 通路平衡对牙周膜干细胞成骨分化的调控作用[J]. *中华口腔医学杂志*, 2016, 51(11):673-679.
- [4] Tsai YF, Tseng LM, Hsu CY, et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)-TrkB signaling modulates cancer-endothelial cells interaction and affects the outcomes of triple negative breast cancer[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6):e0178173.
- [5] Zhao H, Zhang L, Zhang Y, et al. Calmodulin promotes matrix metalloproteinase 9 production and cell migration by inhibiting the ubiquitination and degradation of TBC1D3 oncoprotein in human breast cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(22):36383-36398.
- [6] Chiang S, Snuderl M, Kojiro-Sanada S, et al. Primitive neuroectodermal tumors of the female genital tract: amorphologic, immunohistochemical, and molecular study of 19 cases[J]. *Am J Surg Pathol*, 2017, 41(6):761-772.
- [7] Choi HS, Kim DA, Chung H, et al. Screening of breast cancer stem cell inhibitors using a protein kinase inhibitor library[J]. *Cancer Cell Int*, 2017, 17:25.
- [8] Li Z, Zhang Y, Hedman AC, et al. Calmodulin lobes facilitate dimerization and activation of estrogen receptor- α [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(11):4614-4622.
- [9] Fancy RM, Kim H, Zhou T, et al. Calmodulin binding to death receptor 5-mediated death-inducing signaling complex in breast cancer cells[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(8):2285-2294.
- [10] Al-Bahlani SM, Al-Bulushi KH, Al-Alawi ZM, et al. Cisplatin induces apoptosis through the endoplasmic reticulum-mediated, calpain 1 pathway in triple-negative breast cancer cells[J]. *Clin Breast Cancer*, 2017, 17(3):e103-e112.
- [11] Bayraktar R, Pichler M, Kanlikilicer P, et al. MicroRNA 603 acts as a tumor suppressor and inhibits triple-negative breast cancer tumorigenesis by targeting elongation factor 2 kinase[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(7):11641-11658.
- [12] 黄侠, 赵明. 钙调素依赖性蛋白激酶 II 和兰尼碱受体 2 与内质网钙渗漏关系的研究进展[J]. *中国医药*, 2015, 10(10):1559-1562.
- [13] Agamasu C, Ghanam RH, Xu F, et al. The interplay between calmodulin and membrane interactions with the pleckstrin homology domain of Akt[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(1):251-263.
- [14] Fancy RM, Wang L, Schmid T, et al. Characterization of the interactions between calmodulin and deathreceptor 5 in triple-negative and estrogen receptor-positive breast cancer cells[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(24):12862-12870.
- [15] Lee DH, Asare BK, Rajnarayanan RV. Discovery at the interface: toward novel anti-proliferative agents targeting human estrogen receptor/S100 interactions[J]. *Cell Cycle*, 2016, 15(20):2806-2818.

- lia Biol(Praha), 2014, 60(2):57-67.
- [3] Akalay I, Tan TZ, Kumar P, et al. Targeting WNT1-inducible signaling pathway protein 2 alters human breast cancer cell susceptibility to specific lysis through regulation of KLF-4 and miR-7 expression [J]. *Oncogene*, 2015, 34(17):2261-2271.
- [4] Le PN, McDermott JD, Jimeno A. Targeting the Wnt pathway in human cancers; therapeutic targeting with a focus on OMP-54F28 [J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 146:1-11.
- [5] Bozorgmehr B, Adita J, Prachi Y, et al. Wnt gene cluster in ventral ectoderm patterning of *Drosophila* embryo [J]. *Indian J Genet*, 2015, 75(1):23-29.
- [6] Arend RC, Londoño-Joshi AI, Straughn JM Jr, et al. The Wnt/ β -catenin pathway in ovarian cancer: a review [J]. *Gynecol Oncol*, 2013, 131(3):772-779.
- [7] 张世蕪, 张旭. Wnt 信号通路在肿瘤调控方面的研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2017, 33(1):14-18.
- [8] Anastas JN, Moon RT. WNT signalling pathways as therapeutic targets in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(1):11-26.
- [9] 秦月明, 梁文红. Wnt 非经典通路中 Wnt5a 的研究现状 [J]. *现代医药卫生*, 2016, 32(5):725-728.
- [10] Oishi I, Suzuki H, Onishi N, et al. The receptor tyrosine kinase Ror2 is involved in non-canonical Wnt5a/JNK signalling pathway [J]. *Genes Cells*, 2003, 8(7):645-654.
- [11] McDonald SL, Silver A. The opposing roles of Wnt-5a in cancer [J]. *Br J Cancer*, 2009, 101(2):209-214.
- [12] Bauer M, Bénard J, Gaasterland T, et al. WNT5A encodes two isoforms with distinct functions in cancers [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11):e80526.
- [13] Wang Y, Wei J, Zhang S, et al. Overexpression of Wnt7 α protein predicts poor survival in patients with colorectal carcinoma [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(11):8781-8787.
- [14] Hayashi K, Burghardt RC, Bazer FW, et al. WNTs in the ovine uterus: potential regulation of periimplantation ovine conceptus development [J]. *Endocrinology*, 2007, 148(7):3496-3506.
- [15] Yoshioka S, King ML, Ran S, et al. WNT7A regulates tumor growth and progression in ovarian cancer through the WNT/ β -catenin pathway [J]. *Mol Cancer Res*, 2012, 10(3):469-482.
- [16] MacLean JA 2nd, King ML, Okuda H, et al. WNT7A regulation by miR-15b in ovarian cancer [J]. *PLoS One*, 2016, 11(5):e0156109.
- [17] Domeke S, Sinha R, Levine DA, et al. Evaluating cell lines as tumour models by comparison of genomic profiles [J]. *Nat Commun*, 2013, 4:2126.
- [18] Seagle BL, Dandapani M, Yeh JY, et al. Wnt signaling and survival of women with high-grade serous ovarian cancer: a brief report [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2016, 26(6):1078-1080.
- [19] Prakash R, Rajesh R. Regulation of non-canonical Wnt signaling pathway in stem cells development and carcinogenesis [J]. *Prakash and Rajesh, IJPSR*, 2015, 6(1):85-90.
- [20] Anastas JN, Moon RT. WNT signalling pathways as therapeutic targets in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(1):11-26.

收稿日期:2018-07-21 修回日期:2018-08-08 编辑:王宇

(上接第 157 页)

- [16] 张兴华, 张杰, 罗鹏程, 等. 钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II δ 通过 Wnt/ β -连环素通路调节前列腺癌细胞增殖和侵袭 [J]. *中华实验外科杂志*, 2016, 33(4):1048-1051.
- [17] Nguyen CH, Brenner S, Huttary N, et al. 12S-HETE increases intracellular Ca^{2+} in lymph-endothelial cells disrupting their barrier function in vitro; stabilization by clinical drugs impairing calcium supply [J]. *Cancer Lett*, 2016, 380(1):174-183.
- [18] Yoshimura T, Hamada T, Hijioka H, et al. PCP4/PEP19 promotes migration, invasion and adhesion in human breast cancer MCF-7 and T47D cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(31):49065-49074.
- [19] 冉江华, 郑克谱, 李望, 等. 钙调素依赖蛋白激酶家族 II 表达调控对大鼠肝细胞 BRL-3A 凋亡的影响 [J]. *中华器官移植杂志*, 2017, 38(4):239-243.
- [20] Amith SR, Wilkinson JM, Fliegel L. Na^+/H^+ exchanger NHE1 regulation modulates metastatic potential and epithelial-mesenchymal transition of triple-negative breast cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(16):21091-21113.
- [21] 王媛媛, 张玉超, 陈吉翠, 等. 利拉鲁肽通过激活 CAMKK2/AMPK 通路促进骨骼肌 FNDC5 的表达 [J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(3):475-480.
- [22] Marcelo KL, Ribar T, Means CR, et al. Research rResource: roles for calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 2 (CaMKK2) in systems metabolism [J]. *Mol Endocrinol*, 2016, 30(5):557-572.

收稿日期:2018-07-25 修回日期:2018-08-25 编辑:王国品