

· 实验研究 ·

体外模拟低氧微环境对人胃癌细胞侵袭、迁移及 Ras/MAPK/NF- κ B 通路的影响

于鹏杰, 燕速

青海大学附属医院胃肠肿瘤外科, 青海 西宁 810000

摘要: **目的** 探讨体外低氧微环境对胃癌细胞侵袭、迁移及大鼠肉瘤蛋白(Ras)/丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/核因子 κ B(NF- κ B)通路的影响。**方法** 体外培养人胃癌细胞 MKN-45, 分别在含 0、0.5、1.0、1.5 mmol/L 氯化钴(CoCl_2)培养液中进行培养, CCK-8 法检测细胞增殖活力; 平板细胞克隆形成实验检测菌落形成; 划痕实验检测细胞转移能力; Transwell 小室系统检测细胞迁移、侵袭能力; 蛋白免疫印迹(Western blot)检测缺氧诱导因子(HIF)-1 α 蛋白和 Ras/MAPK/NF- κ B 通路有关蛋白的表达。**结果** 随着 0、0.5、1.0、1.5 mmol/L CoCl_2 处理剂量的递增, 胃癌 MKN-45 细胞的增殖抑制率递减(P 均 < 0.01); 细胞菌落数量递增($P < 0.01$); 细胞转移抑制率递减($P < 0.01$), 细胞迁移、侵袭数量递增(P 均 < 0.01); 其 HIF-1 α 、Ras、MAPK、NF- κ B 蛋白相对表达量递增(P 均 < 0.01)。上述变化均呈剂量依赖性, 不同浓度 CoCl_2 处理组与对照组比较差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。**结论** 低氧微环境能够抑制胃癌细胞的增殖, 降低其侵袭、迁移能力, 其机制可能与抑制 Ras/MAPK/NF- κ B 通路活性有关。

关键词: 胃癌; 低氧; 侵袭; 迁移; 大鼠肉瘤蛋白; 丝裂原活化蛋白激酶; 核因子 κ B; 缺氧诱导因子-1 α

中图分类号: R-33 R 735.2 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2019)07-0907-05

Effects of simulated hypoxic microenvironment on invasion, migration and Ras/MAPK/NF- κ B pathway of human gastric cancer cells in vitro

YU Peng-jie, YAN Su

Department of Gastrointestinal Oncology, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining, Qinghai 810000, China

Abstract: Objective To investigate the effects of hypoxic microenvironment on invasion and migration of gastric cancer cells and the pathway of rat sarcoma protein (Ras)/mitogen activated protein kinase (MAPK)/nuclear factor κ B (NF- κ B). **Methods** Human gastric cancer cells MKN-45 were cultured in vitro and cultured in the medium containing 0, 0.5, 1.0, 1.5 mmol/L cobalt chloride (CoCl_2), CCK-8 assay was used to detect cell proliferation; the plate cell clone formation assay was used to detect the colony formation; the scratch test was used to detect the cell transfer ability; Transwell cell system was used to detect cell migration and invasion; Western blot was used to detect the expression of HIF-1 α protein and Ras/MAPK/NF- κ B pathway related proteins. **Results** With the increasing dose of CoCl_2 (0, 0.5, 1.0, 1.5 mmol/L), the proliferation inhibition rate of gastric cancer MKN-45 cells decreased (all $P < 0.01$); the number of cell colonies increased ($P < 0.01$); the cell metastasis inhibition rate decreased ($P < 0.01$), the number of cell migration and invasion increased (all $P < 0.01$), and the relative expression of HIF-1 α , Ras, MAPK and NF- κ B protein increased (all $P < 0.01$). The above changes were dose-dependent, and the differences between the CoCl_2 treatment groups and the control group were statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion** Hypoxic microenvironment can inhibit the proliferation and decrease the invasion and migration abilities of gastric cancer cells, its mechanism may be related to inhibit the activity of Ras/MAPK/NF- κ B pathway.

Key words: Gastric cancer; Hypoxia; Invasion; Migration; Rat sarcoma protein; Mitogen activated protein kinase; Nuclear factor- κ B; Hypoxia inducible factor-1 α

Fund program: Scientific Research Guiding Project of Health Family Planning in Qinghai Province (2015-71)

胃癌属于胃黏膜恶性肿瘤, 发病率、死亡率均居消化道恶性肿瘤首位, 近年来其发病率逐渐升高^[1]。

关于胃癌发病机制的研究较多, 但目前尚未有统一结论。研究显示, 恶性肿瘤持续缺氧则增加肿瘤细胞的

增殖、转移率,影响患者预后^[2]。有研究显示,短时间低氧条件下会促进乳腺癌细胞增殖,同时增强其侵袭、转移能力^[3]。目前对于胃癌细胞在低氧条件下细胞情况的研究结果不一,部分研究显示低氧条件下可促进胃癌细胞侵袭、迁移,但是其具体机制目前尚不明确。有研究显示,大鼠肉瘤(rat sarcoma, Ras)蛋白可通过激活下游丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)/核因子(nuclear factor, NF)- κ B 信号通路,促进肝癌细胞的增殖,增强其侵袭力^[4]。然而在胃癌中 Ras/MAPK/NF- κ B 通路是否与细胞侵袭有关,目前尚不明确。本研究通过体外模拟低氧环境培养胃癌细胞 MKN-45,观察低氧对细胞增殖以及 Ras/MAPK/NF- κ B 通路的影响,以探讨胃癌的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验细胞 人胃癌细胞株 MKN-45 购于中国科学院上海细胞生物研究所,制成单细胞悬浮液,按 1×10^5 /ml 接种于含 10% 胎牛血清 DMEM 培养基中,置于 37 °C 5% CO₂ 的潮湿培养箱中培养,每 2~3 天更换细胞培养液,待细胞长满瓶底 80% 时,弃去培养液,加入胰蛋白酶消化处理后,进行传代培养和细胞冻存。

1.2 试剂与仪器 青霉素-链霉素双抗液、胎牛血清、DMEM 培养基均购于美国 Gibco 公司;二甲基亚砜,低氧诱导剂氯化钴(CoCl₂)购自美国 Sigma 公司;CKK-8 检测试剂盒、蛋白提取试剂盒、BCA 检测试剂盒、结晶紫染液均购自杭州碧云天公司;鼠抗人 Ras、MAPK、NF- κ B、缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)-1 α 、 β -actin 一抗以及山羊抗鼠辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记 IgG 二抗均购自美国 CST 公司;CO₂ 培养箱购于日本 Sanyo 公司;680 型酶标仪、垂直电泳仪购于美国 BioRad 公司;凝胶成像仪购于 Thermo fisher scientific 公司。

1.3 研究方法

1.3.1 细胞增殖实验 取对数期细胞添加 PBS 清洗后,加入 0.2% 胰酶溶液消化,添加培养液终止消化,制备单细胞悬液后接种细胞培养板,贴壁生长后更换新鲜培养液,并添加 0.5、1.0、1.5 mmol/L CoCl₂,同时以未添加 CoCl₂ 细胞培养液作为对照组,每组设置 6 个重复,放置 37 °C、5% CO₂ 培养箱内分别培养 24、48、72、96 h 后,添加 CCK-8 试剂室温孵育 4 h,震荡 0.5 h 后,置于酶标仪 490 nm 处测定光密度(OD)值,细胞抑制率(%) = $(OD_{\text{对照组}} - OD_{\text{实验组}}) / OD_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。

1.3.2 平板细胞克隆形成实验 取对数生长期的各组细胞,0.25% 胰蛋白酶消化制备单细胞悬液接种在 96 孔细胞培养板中,细胞密度调整为 1×10^4 个/ml,37 °C、5% CO₂ 培养 10~14 d,待长出肉眼可见克隆后,终止培养,PBS 清洗细胞后,添加甲醇溶液固定 20 min,采用结晶紫溶液染色 30 min 后,PBS 溶液、水洗干燥后拍照统计菌落数量。

1.3.3 划痕实验 收集细胞调整密度为 1×10^4 个/ml,接种在细胞培养板中,放置 37 °C 5% CO₂ 培养箱中培育 24 h 后更换新鲜培养基,移液枪枪头蘸取细胞培养液在培养基表面划长约 2 cm 的痕迹,培养 24 h 后置于显微镜下观察细胞转移变化。

1.3.4 Transwell 小室检测细胞迁移能力 收集对数期细胞,消化、分离后制备单细胞悬液,细胞密度调整 1×10^5 个/ml,添加不含胎牛血清培养基,接种 200 μ l 至 Transwell 上室内,下室内加入 600 μ l 完全培养液,置于 37 °C 5% CO₂ 培养箱内培养 24 h,结束后取出 Transwell 小室下层,PBS 清洗后用棉签将未迁移的细胞清理干净,加入甲醇室温下固定 30 min,添加结晶紫染液染色 20 min,PBS 清洗后于显微镜下进行计数。

1.3.5 Transwell 小室检测细胞侵袭能力 Transwell 小室聚碳酸酯膜的上室面包被 Matrigel、无血清培养基(两者比例为 1:5),晾干呈凝胶状态,细胞密度调整 1×10^5 个/ml,接种 200 μ l 单细胞悬液添加至 Transwell 小室上室内,下室内加入 600 μ l 完全培养液,培养、染色步骤与迁移实验相同,最后在显微镜下观察穿膜细胞数量。

1.3.6 蛋白免疫印迹(Western blot) 采用 RIPA 裂解液裂解细胞后,用蛋白抽提试剂盒提取细胞总蛋白质,BCA 法测定浓度,制 5% 浓缩胶与 12% 分离胶,蛋白上样量统一为 20 μ g,SDS-PAGE 电泳后分离蛋白,将蛋白凝胶转移至 PDVF 膜上,封闭后添加一抗(1:500)4 °C 孵育过夜,添加 HRP 标记二抗(1:5000)孵育 1 h,PBS 清洗后以 β -actin 蛋白表达作为内参,采用 Quantity One 软件评估 HIF-1 α 、Ras、MAPK、NF- κ B 蛋白相对表达量。

1.4 统计学分析 采用统计学软件 SPSS 22.0 进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 描述,多个时间点比较采用多因素重复测量方差分析,多组间单因素比较采用单因素方差分析,两两比较 SNK-*q* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞增殖测定结果 随着培养时间的延长,对

对照组和 0.5、1.0 mmol/L CoCl₂ 组细胞增殖抑制率递升(*P* 均 < 0.01), 1.5 mmol/L CoCl₂ 组细胞增殖抑制率先上升后下降(*P* < 0.05)。随着处理剂量的增加, 同一时间点的细胞增殖抑制率递降, 呈剂量依赖性(*P* 均 < 0.01); 在同一时间点, 各浓度 CoCl₂ 组细胞增殖抑制率均低于对照组(*P* 均 < 0.05)。见表 1。

2.2 菌落数量形成情况 随着处理剂量的增加, 菌落数量递升, 呈剂量依赖性(*P* < 0.01); 各浓度 CoCl₂ 组细胞菌落均高于对照组(*P* 均 < 0.05)。见表 2 和图 1。

2.3 细胞转移情况 随着处理剂量的增加, 细胞转移抑制率递降, 呈剂量依赖性(*P* < 0.01); 各浓度

CoCl₂ 组细胞转移抑制率均低于对照组(*P* 均 < 0.05)。见表 2 和图 2。

2.4 细胞侵袭、迁移情况 随着处理剂量的增加, 细胞迁移、侵袭数量数量递升, 呈剂量依赖性(*P* 均 < 0.01); 各浓度 CoCl₂ 组细胞迁移、侵袭数量均高于对照组(*P* 均 < 0.05)。见表 3 和图 3。

2.5 细胞中 HIF-1 α 和 Ras、MAPK、NF- κ B 蛋白表达 随着处理剂量的增加, 各 CoCl₂ 组 HIF-1 α 和 Ras、MAPK、NF- κ B 蛋白相对表达量递升, 具有剂量依赖性(*P* 均 < 0.01); 各浓度 CoCl₂ 组 HIF-1 α 和 Ras、MAPK、NF- κ B 蛋白相对表达量均高于对照组。见表 4 和图 4、图 5。

表 1 各组细胞增殖抑制率比较 (*n* = 6, $\bar{x} \pm s$)

组别	浓度 (mmol/L)	细胞增殖抑制率 (%)				<i>P</i> 值
		24 h	48 h	72 h	96 h	
对照组	0	7.23 ± 0.52	8.16 ± 0.17	10.25 ± 0.47	12.13 ± 1.65	< 0.01
CoCl ₂ 组	0.5	5.55 ± 0.37 ^a	6.24 ± 0.42 ^a	7.25 ± 0.36 ^a	8.41 ± 0.66 ^a	< 0.01
	1.0	4.34 ± 0.42 ^{ab}	5.19 ± 0.47 ^{ab}	6.73 ± 0.22 ^{ab}	7.17 ± 1.06 ^{ab}	< 0.01
	1.5	3.55 ± 0.26 ^{abc}	4.47 ± 0.36 ^{abc}	3.79 ± 0.23 ^{abc}	3.05 ± 0.55 ^{abc}	< 0.05
<i>P</i> 值		< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	

注: 与对照组相比, ^a*P* < 0.05; 与 0.5 mmol/L CoCl₂ 组相比, ^b*P* < 0.05; 与 1.0 mmol/L CoCl₂ 组相比, ^c*P* < 0.05。

表 2 各组菌落数量和细胞转移能力比较 (*n* = 6, $\bar{x} \pm s$)

组别	浓度 (mmol/L)	菌落数量 (个)	细胞转移抑制率 (%)
对照组	0	11.47 ± 4.06	46.73 ± 5.25
CoCl ₂ 组	0.5	18.12 ± 3.17 ^a	36.52 ± 3.78 ^a
	1.0	32.79 ± 2.51 ^{ab}	27.33 ± 3.59 ^{ab}
	1.5	41.91 ± 4.68 ^{abc}	10.63 ± 1.55 ^{abc}
<i>P</i> 值		< 0.01	< 0.01

注: 与对照组相比, ^a*P* < 0.05; 与 0.5 mmol/L CoCl₂ 组相比, ^b*P* < 0.05; 与 1.0 mmol/L CoCl₂ 组相比, ^c*P* < 0.05。

表 3 各组细胞侵袭、迁移情况比较 (*n* = 6, $\bar{x} \pm s$)

组别	浓度 (mmol/L)	迁移细胞数量 (个)	侵袭细胞数量 (个)
对照组	0	72.39 ± 19.26	27.31 ± 4.37
CoCl ₂ 组	0.5	89.71 ± 16.33 ^a	61.57 ± 8.29 ^a
	1	95.39 ± 17.48 ^{ab}	68.57 ± 5.28 ^{ab}
	1.5	127.43 ± 25.29 ^{abc}	75.62 ± 7.79 ^{abc}

注: 与对照组相比, ^a*P* < 0.05; 与 0.5 mmol/L CoCl₂ 组相比, ^b*P* < 0.05; 与 1.0 mmol/L CoCl₂ 组相比, ^c*P* < 0.05。

表 4 细胞 Ras、MAPK、NF- κ B 和 HIF-1 α 蛋白相对表达量比较 (*n* = 6, $\bar{x} \pm s$)

组别	浓度 (mmol/L)	Ras	MAPK	NK- κ B	HIF-1 α
对照组	0	0.28 ± 0.03	0.25 ± 0.04	0.23 ± 0.04	0.15 ± 0.03
CoCl ₂ 组	0.5	0.48 ± 0.06 ^a	0.41 ± 0.06 ^a	0.41 ± 0.04 ^a	0.36 ± 0.04 ^a
	1.0	0.72 ± 0.08 ^{ab}	0.76 ± 0.12 ^{ab}	0.56 ± 0.06 ^{ab}	0.62 ± 0.04 ^{ab}
	1.5	1.16 ± 0.29 ^{abc}	0.91 ± 0.05 ^{abc}	0.83 ± 0.12 ^{abc}	1.08 ± 0.05 ^{abc}
<i>P</i> 值		< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01

注: 与对照组相比, ^a*P* < 0.05; 与 0.5 mmol/L CoCl₂ 组相比, ^b*P* < 0.05; 与 1.0 mmol/L CoCl₂ 组相比, ^c*P* < 0.05。

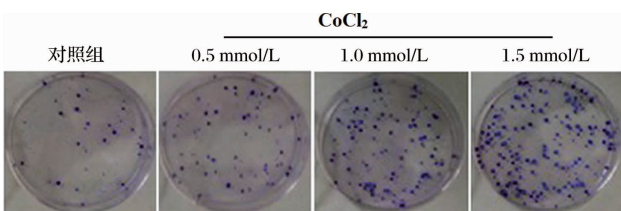


图 1 细胞克隆形成试验各组菌落数量形成情况

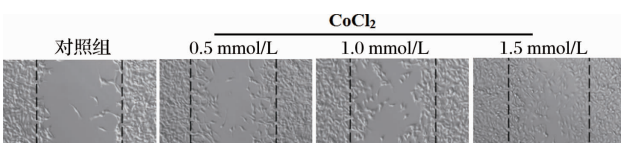


图 2 划痕实验各组细胞转移情况 (×100)

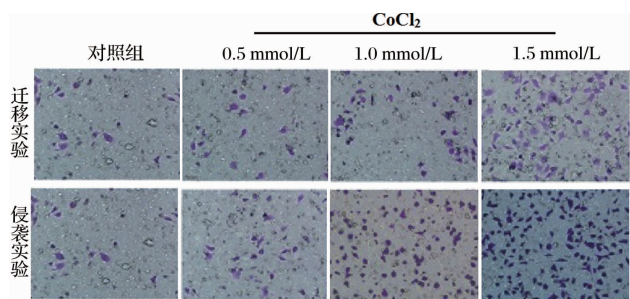


图 3 Transwell 小室实验各组细胞侵袭、迁移能力 (×100)

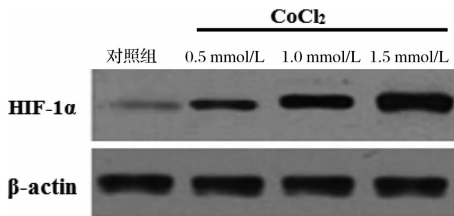


图 4 各组 HIF-1 α 蛋白表达免疫印迹图

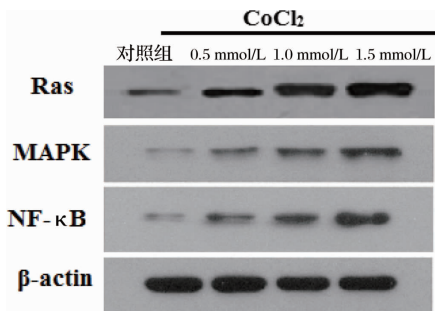


图 5 各组细胞 Ras、MAPK、NF- κ B 蛋白表达免疫印迹图

3 讨论

临床研究显示,在肿瘤实体组织中在距离血管 5 cm 外发现低氧细胞存在,且细胞内环境 pH 值为 7.05,偏弱酸性,说明低氧是实体肿瘤的普遍特征。研究显示在乳腺癌等肿瘤中存在缺氧环境^[5]。肿瘤细胞在进行大量增殖需分解糖提供能量,发生无氧糖酵解,导致细胞发生酸化,在此过程中较多基因转录、蛋白表达以及活性发生改变,进一步影响肿瘤相关蛋白如周期调控蛋白、转移蛋白等的表达,进而影响肿瘤的增殖、迁移^[6]。因此探讨低氧环境中肿瘤细胞的表观变化以及相关基因的表达对于研究胃癌的发生机制具有十分重要的意义。CoCl₂ 是体外培养肿瘤时常用低氧诱导剂,CoCl₂ 分子中的 Co²⁺ 可替代血红蛋白分子中卟啉环铁离子,造成血红蛋白无法与氧结合进而使细胞处于缺氧环境^[7]。有研究显示,在胃癌细胞培养液中给予 CoCl₂ 处理,随着处理剂量的升高,癌细胞增殖速度逐渐升高^[8]。与此一致,本研究表明,与对照组相比,CoCl₂ 各组细胞抑制率均降低、菌落数量升高,表明 CoCl₂ 处理后能够促进胃癌细胞迁移、侵袭进而影响细胞增殖。

HIF-1 α 是在低氧条件下诱导产生的 DNA 结合蛋白,主要分布于慢性缺氧细胞、肿瘤细胞中。临床研究显示,当机体处于缺氧条件时,HIF-1 α 能够维持机体正常生理功能,低氧环境下,HIF-1 α 被活化,调控下游目的基因的表达,发挥促进血管、红细胞的生成、细胞增殖等作用,以使肿瘤细胞适应低氧微环境^[9]。过往研究显示癌细胞中 HIF-1 α 表达升高可激活肿瘤定向迁移有关蛋白表达,进而促进肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移^[10]。本研究表明,与对照组

相比,CoCl₂ 各组细胞中 HIF-1 α 蛋白表达升高,表明 CoCl₂ 处理后能够诱导 HIF-1 α 蛋白,提示低氧环境模拟成功。

一定缺氧条件下可促进肿瘤细胞的侵袭、迁移,在肺癌研究中显示,随着氧处理浓度的降低,肺癌细胞侵袭、迁移能力逐渐增强,且促进癌细胞上皮间质转化(EMT)发生^[11-12]。本研究结果显示随着 CoCl₂ 处理浓度的增加,细胞转移抑制率逐渐降低,侵袭、迁移数量逐渐升高,表明低氧刺激后能促进胃癌细胞的侵袭、迁移能力。Ras 为 DNA 结合蛋白,在多种癌症中均发生突变,导致 Ras 蛋白活性增强,促进恶性肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移,因此是癌症治疗的靶点之一^[13]。Afshordel 等^[14] 研究显示 Ras 过度表达可抑制肿瘤细胞凋亡,而抑制其活性后可诱导细胞凋亡。Xian 等^[15] 研究证实 MAPK/NF- κ B 为 Ras 的下游通路,Ras 活化后激活 MAPK 酶,使 Ras 下游信号分子 Raf 转移至细胞膜发生磷酸化,进一步激活 MAPK,转移至细胞核内,激活 NF- κ B,放大 Ras 活性,进而放大炎症反应,促进癌症的发生。李文军等^[16] 研究显示抑制 MAPK/NF- κ B 可抑制骨肉瘤细胞迁移和侵袭,诱导其凋亡。郑小丹^[17] 研究显示激活 NF- κ B/MAPK 通路可诱导乳腺癌细胞 EMT、侵袭迁移。在低氧条件下脂多糖(LPS)通过激活 NF- κ B/MAPK 通路,诱导 HIF-1 α 表达,进而刺激 RAW 264.7 细胞增殖^[18]。以上研究均提示 NF- κ B/MAPK 通路促进肿瘤细胞的侵袭、迁移密切相关。本研究表明,随着处理剂量的增加,0.5、1.0、1.5 mmol/L CoCl₂ 组 Ras、MAPK、NF- κ B,蛋白表达量递升,且均高于对照组,提示 CoCl₂ 可通过激活 Ras/MAPK/NF- κ B 途径,促进胃癌细胞的侵袭、迁移。

综上所述,胃癌细胞在低氧环境中会促进肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移和上调 HIF-1 α 表达,其作用机制可能与激活 MAPK/ERK 信号通路有关。然而胃癌细胞侵袭、转移机制较复杂,仅以胃癌细胞系 MNK-45 作为研究对象进行探讨,低氧是否还通过其他信号通路发挥作用,有待后续深入研究。

参考文献

- [1] 左婷婷,郑荣寿,曾红梅,等. 中国胃癌流行病学现状[J]. 中国肿瘤临床,2017,44(1):52-58.
- [2] 张扬,范小乐. 外泌体在胃癌中的研究进展[J]. 医学研究生学报,2017,30(10):1096-1099.
- [3] 毛志成,吴密璐,赵君慧,等. 胃癌低氧微环境的研究进展[J]. 中外医学研究,2014,12(13):159-161.

疗提供新的途径。

参考文献

- [1] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008; GLOBOCAN 2008 [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(12):2893-2917.
- [2] Han RQ, Zheng RS, Zhang SW, et al. Trend analyses on the differences of lung cancer incidence between gender, area and average age in China during 1989-2008 [J]. *Chinese Journal of Lung Cancer*, 2013, 16(9):445-451.
- [3] Field JK, Oudkerk M, Pedersen JH, et al. Prospects for population screening and diagnosis of lung cancer [J]. *Lancet*, 2013, 382(9893):732-741.
- [4] Erpenbeck L, Schön MP. Deadly allies; the fatal interplay between platelets and metastasizing cancer cells [J]. *Blood*, 2010, 115(17):3427-3436.
- [5] Tomita M, Shimizu T, Hara M, et al. Prognostic impact of thrombocytosis in resectable non-small cell lung cancer [J]. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2008, 7(4):613-615.
- [6] Fuentes E, Palomo I, Rojas A. Cross-talk between platelet and tumor microenvironment; role of multiligand/RAGE axis in platelet activation [J]. *Blood Rev*, 2016, 30(3):213-221.
- [7] Kim KH, Park TY, Lee JY, et al. Prognostic significance of initial platelet counts and fibrinogen level in advanced non-small cell lung cancer [J]. *J Korean Med Sci*, 2014, 29(4):507-511.

- [8] Romero-López M, Trinh AL, Sobrino A, et al. Recapitulating the human tumor microenvironment; colon tumor-derived extracellular matrix promotes angiogenesis and tumor cell growth [J]. *Biomaterials*, 2017, 116:118-129.
- [9] Zhang Q, Deng S, Sun K, et al. MMP-2 and Notch signal pathway regulate migration of adipose-derived stem cells and chondrocytes in co-culture systems [J]. *Cell Prolif*, 2017, 50:e12385.
- [10] Shay G, Lynch CC, Fingleton B. Moving targets; Emerging roles for MMPs in cancer progression and metastasis [J]. *Matrix Biol*, 2015(44/46):200-206.
- [11] Ji H, Liu N, Yin Y, et al. Oxytocin inhibits ovarian cancer metastasis by repressing the expression of MMP-2 and VEGF [J]. *J Cancer*, 2018, 9(8):1379-1384.
- [12] Shi Y, Su C, Hu H, et al. Serum MMP-2 as a potential predictive marker for papillary thyroid carcinoma [J]. *PLoS One*, 2018, 13(6):e0198896.
- [13] Aroner SA, Rosner BA, Tamimi RM, et al. Plasma matrix metalloproteinase 2 levels and breast cancer risk [J]. *Cancer Epidemiol*, 2015, 39(3):321-327.
- [14] 裴惠临. 胃癌组织 Twist 与 MMP-2 的表达及临床病理意义 [J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2017, 38(1):31-35.
- [15] Radenkovic S, Konjevic G, Jurisic V, et al. Values of MMP-2 and MMP-9 in tumor tissue of basal-like breast cancer patients [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2014, 68(1):143-152.

收稿日期:2018-11-05 修回日期:2018-12-16 编辑:周永彬

(上接第 910 页)

- [4] 崔海鹏, 董建一, 李慧玲, 等. Ras/MAPK/ERK 通过协同 NF-κB 促进肝癌细胞中 cyclinD1 的表达 [J]. *实验动物科学*, 2014, 31(6):1-6, 10.
- [5] 徐峥, 陈武柱, 孙靖, 等. 低氧抑制乳腺癌细胞中信号素 3A 表达并调控成骨前体细胞分化 [J]. *肿瘤*, 2016, 36(12):1298-1306.
- [6] 秦承东, 任正刚, 汤钊猷. 缺氧微环境在肿瘤进展中的作用 [J]. *肿瘤*, 2016, 36(1):96-102.
- [7] 刘晓玲, 包韩乌云, 赵华路, 等. 在 CoCl₂ 模拟低氧条件下 HIF-1α 直接调控过氧化物酶体增殖物激活受体 γ2 (PPARγ2) 的表达 [J]. *基础医学与临床*, 2015, 35(5):585-589.
- [8] 张慧, 刘理礼, 王亚芳, 等. 缺氧在诱导胃癌细胞上皮间质转化及侵袭中的作用 [J]. *现代肿瘤医学*, 2013, 21(4):679-681.
- [9] 杨琳红, 张爱华, 范宗宪, 等. HIF-1α 基因干扰对低氧环境下人鼻黏膜上皮细胞 TGF-β1、VEGF、bFGF 表达的影响及其机制 [J]. *山东医药*, 2017, 57(44):42-45.
- [10] 景绍武, 王雅棣, 郑明民, 等. HIF-1α 对食管癌 Eca109 细胞体内内外侵袭转移的影响及其分子机制 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2012, 28(1):67-71.
- [11] 朱爱林. COPD 微环境对 A549 细胞增殖、迁移和侵袭的影响 [D]. 西安:第四军医大学, 2015.
- [12] 唐金明, 王文祥. 缺氧对肺癌细胞 BMPR-1A 的表达及其运动侵

袭能力的影响 [J]. *浙江临床医学*, 2016, 18(10):1784-1786.

- [13] Zhao K, Wei LB, Hui H, et al. Wogonin suppresses melanoma cell B16-F10 invasion and migration by inhibiting Ras-mediated pathways [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9):e106458.
- [14] Afshordel S, Kern B, Clasohm J, et al. Lovastatin and perillyl alcohol inhibit glioma cell invasion, migration, and proliferation-impact of Ras-/Rho-prenylation [J]. *Pharmacol Res*, 2015, 91:69-77.
- [15] Xian JR, Shao HY, Chen XC, et al. Nucleophosmin mutants promote adhesion, migration and invasion of human leukemia THP-1 cells through MMPs up-regulation via Ras/ERK MAPK signaling [J]. *Int J Biol Sci*, 2016, 12(2):144-155.
- [16] 李文军, 康红兵, 杨立, 等. 延龄草皂苷通过 NF-κB/MAPK 信号通路调控 MMPs 表达并抑制骨肉瘤 Saos-2 细胞的迁移和侵袭 [J]. *肿瘤*, 2016, 36(9):968-976.
- [17] 郑小丹. TNF-α 通过激活 NF-κB 和 MAPK 途径上调表达 Snai2 诱导 MCF-7 细胞发生 EMT 和侵袭迁移 [D]. 武汉:华中科技大学, 2013.
- [18] 符智慧, 徐凌, 黄姣, 等. LPS 通过 p38/MAPK 通路和 NF-κB 的活化诱导 RAW264.7 细胞 HIF-1α 的表达 [J]. *重庆医科大学学报*, 2016, 41(10):1033-1039.

收稿日期:2018-11-14 修回日期:2018-12-10 编辑:王海琴