

· 论 著 ·

miR-452 经 Hedgehog 信号通路抑制胃癌 HGC-27 细胞增殖和迁移的研究

王小剑¹, 谢先红¹, 罗驰¹, 王建东²

1. 成都市第七人民医院急诊科, 四川 成都 610021; 2. 四川省人民医院急救中心, 四川 成都 610072

摘要: **目的** 研究微小核糖核酸 452(miR-452)表达对胃癌 HGC-27 细胞增殖和迁移的影响及机制。**方法** 收集 2017 年 7 月至 2018 年 12 月收治的胃癌患者手术切除的胃癌组织及对应的癌旁组织各 50 例,Real-time PCR 方法测定胃癌患者胃癌、癌旁组织和外购的胃癌、正常胃黏膜细胞中 miR-452 表达变化。在胃癌 HGC-27 细胞中转染 miR-452 mimics;噻唑蓝(MTT)测定细胞增殖;Transwell 小室测定细胞侵袭和迁移;Western blot 测定 Hedgehog 信号通路关键蛋白[音猬因子(Shh)、胶质瘤相关癌基因(Gli)1]和肿瘤侵袭转移相关蛋白[基质金属蛋白酶(MMP)-2 和 MMP-9]的表达。观察 Hedgehog 信号通路激活剂 PM 处理后胃癌 HGC-27 细胞 miR-452 表达水平的变化及其对细胞增殖、侵袭和迁移能力的影响。**结果** 胃癌患者胃癌组织中 miR-452 表达水平低于癌旁组织($P < 0.05$),外购的胃癌细胞中 miR-452 表达水平低于正常胃黏膜细胞($P < 0.05$)。转染 miR-452 mimics 后的胃癌 HGC-27 细胞中 miR-452 表达水平升高,细胞增殖、侵袭和迁移能力均降低,细胞中 Shh、Gli1、MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达水平均下降(P 均 < 0.05)。Hedgehog 信号通路激活剂 PM 处理后胃癌 HGC-27 细胞 miR-452 表达上调,其增殖、侵袭和迁移能力均升高(P 均 < 0.05)。**结论** miR-452 在胃癌中低表达,而上调其表达可调控 Hedgehog 信号通路,降低胃癌细胞增殖和迁移能力。

关键词: 胃癌; 增殖; 迁移; 侵袭; 微小核糖核酸-452; Hedgehog 信号通路

中图分类号: R 735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2020)10-1331-05

miR-452 in inhibition on proliferation and migration of gastric cancer HGC-27 cells through Hedgehog signaling pathway

WANG Xiao-jian*, XIE Xian-hong, LUO Chi, WANG Jian-dong

* Department of Emergency, Chengdu Seventh People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610021, China

Corresponding author: WANG Jian-dong, E-mail: jiangdong1968@126.com

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of microRNA-452 (miR-452) expression on the proliferation and migration of gastric cancer cell HGC-27. **Methods** A total of 50 gastric patients who received operation at Chengdu Seventh People's Hospital from July 2017 to December 2018 were selected, and their resected gastric cancer tissues and corresponding adjacent tissues were collected. Real-time PCR was used to detect the expression of miR-452 in gastric cancer, adjacent tissues, purchased gastric cancer and normal gastric mucosa cells. miR-452 mimics were transfected into HGC-27 cells; Cell proliferation was measured by MTT; invasion and migration were measured by Transwell chamber. Western blot was used to detect the expression of key proteins in Hedgehog signaling pathway [sonic hedgehog (Shh), glioma-related oncogene (Gli) 1] and tumor invasion and metastasis-related proteins [matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9]. After deal with the Hedgehog signaling pathway activator PM, the expression changes of miR-452 in gastric cancer HGC-27 cells and its effect on cell proliferation, invasion and migration were observed. **Results** The expression level of miR-452 in gastric cancer tissues from patients was lower than that in adjacent tissues ($P < 0.05$), and the expression level of miR-452 in purchased gastric cancer cells was lower than that in normal gastric mucosa cells ($P < 0.05$). After transfection of miR-452 mimics, the expression level of miR-452 in HGC-27 cells was increased, the proliferation, invasion and migration ability of cells were decreased, and the protein expression levels of Shh, Gli1, MMP-2 and MMP-9 were decreased (all $P < 0.05$). The expression of miR-452 was up-regulated in HGC-27 cells treated with

Hedgehog signaling pathway activator PM, and its proliferation, invasion and migration abilities were increased (all $P < 0.05$). **Conclusion** The expression of miR-452 is low in gastric cancer, while the up-regulation of miR-452 expression can regulate Hedgehog signaling pathway and reduce the proliferation and migration of gastric cancer cells.

Key words: Gastric cancer; Proliferation; Migration; Invasion; microRNA-452; Hedgehog signal pathway

Fund program: Key Project of Scientific and Technological Programs in Sichuan Province (2018JY0219)

胃癌转移是胃癌患者死亡的重要原因。胃癌细胞从原位置脱落进入新的组织或器官,并通过快速增殖形成新病灶,这一系列过程受到体内多种因素的调控^[1]。研究显示,胃癌转移机制与胃癌组织中异常表达的基因有关,这些基因通过影响下游信号的转导而发挥生物学作用^[2-3]。微小核糖核酸(microRNA, miRNA)是一类非编码的 RNA,其在人体不同组织中的表达水平不同,miRNA 不仅参与细胞生长、组织修复、能量代谢等正常生理过程,还与多种疾病的进展有关^[4]。近年来的研究发现,miRNA 与肿瘤关系十分密切,其在肿瘤组织中的表达改变多与肿瘤患者的预后、淋巴结转移程度等相关^[5]。以前的研究报道显示,miR-452 参与肿瘤进展,miR-452 在甲状腺癌、结直肠癌等多种肿瘤中低表达,其可以作为一个肿瘤抑制因子降低肿瘤细胞侵袭和迁移能力^[6-7]。本实验初步探讨 miR-452 在胃癌中的表达及 miR-452 对胃癌细胞增殖、迁移、侵袭能力的影响和机制,以期为基因治疗胃癌提供思路。

1 材料与方法

1.1 材料 收集 2017 年 7 月至 2018 年 12 月成都市第七人民医院收治的胃癌患者手术切除的胃癌组织及对应的癌旁组织各 50 例,组织标本采集均经过患者及家属同意,组织标本在液氮中保存。胃癌 HGC-27 细胞、AGS 细胞、NCI-N87 细胞购自上海通蔚生物科技有限公司;正常胃黏膜 GES-1 细胞购自上海艾研生物科技有限公司;Hedgehog 信号通路激活剂 2,6,9-三取代嘌呤化合物(purmorphamine, PM)购自美国 Cayman;基质金属蛋白酶(MMP)-9 抗体、音猬因子(Shh)抗体购自上海瑞齐生物科技有限公司;Lipofectamin 2000 购自美国 invitrogen;miR-452 mimics 和 mimics control 由重庆威斯腾生物医药科技有限责任公司构建合成;MMP-2 抗体、胶质瘤相关基因(Gli)1 抗体购自美国 Abcam 公司。

1.2 Real-time PCR 方法测定胃癌组织和细胞中 miR-452 表达变化 收集胃癌组织、正常癌旁组织和胃癌 HGC-27、AGS、NCI-N87 细胞及正常胃黏膜 GES-1 细胞,用 Trizol 试剂提取组织和细胞中的总 RNA。取 2 μg 的 RNA,添加 4 μl 的 RT primer,最后加入

RNase free 至 20 μl ,于 70 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min。然后进行反转录,反转录体系为:1 μl 的 RT Enzyme Mix,10 μl 的 5 \times RT Buffer,4 μl 的 dNTP、15 μl 的 Nuclease-free Water、1 μl 的 RNasin,反转录条件为:42 $^{\circ}\text{C}$,60 min;72 $^{\circ}\text{C}$,10 min。Real-time PCR 体系为:1 μl 的 cDNA、1 μl 的 SYBR Green Mix、Forward 和 Reverse Primer 各 2 μl ,添加 RNase-free 水至 10 μl ,PCR 条件为:95 $^{\circ}\text{C}$,10 s;60 $^{\circ}\text{C}$,20 s;72 $^{\circ}\text{C}$,10 s。内参为 U6,以常规 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算。

引物序列: miR-452 Forward 5'-AGT CTA TAC AAG GGC AAG CTC TC-3',Reverse 5'-CCC AAT ACG ACC AAA TCC GTT-3'。U6 Forward 5'-CTC GCT TCG GCA GCA CA-3',Reverse 5'-AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT-3'。

1.3 HGC-27 细胞转染和分组 按照转染试剂 Lipofectamin 2000 说明书分别将 miR-452 mimics(miR-452 模拟物)和 mimics control(模拟物对照)转染到胃癌 HGC-27 细胞中,命名为 miR-452 组和 NC 组。把没有转染的胃癌 HGC-27 细胞命名为 Control 组。收集转染 48 h 以后的 NC 组和 miR-452 组及 Control 组细胞,用 Real-time PCR 方法测定 miR-452 表达变化,步骤同 1.2。

1.4 噻唑蓝(MTT)方法测定胃癌 HGC-27 细胞增殖情况 将胃癌 HGC-27 细胞接种到 96 孔板,每孔 100 μl 细胞悬液(细胞悬浮液密度为 6×10^4 个/ml),按照 Control 组、NC 组和 miR-452 组分组处理,细胞培养 24 h 以后,在每个孔中添加 10 μl 的 MTT,置于 5% CO_2 、37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 4 h。将培养液弃去,再添加 150 μl 的二甲基亚砷,室温震荡溶解紫色结晶。酶标仪测定各孔 570 nm 的光密度值(OD 值)。

1.5 Transwell 小室测定胃癌 HGC-27 细胞侵袭和迁移 将 Control 组、NC 组和 miR-452 组细胞用不含血清的细胞培养液稀释,吸取 200 μl 添加到 Transwell 小室的上室中,同时吸取 500 μl 的含血清细胞培养液添加到 Transwell 小室的下室中,培养 24 h 以后,取出小室,用棉签把没有穿膜的细胞擦掉。4% 多聚甲醛固定,0.1% 结晶紫染色。在显微镜下观察细胞迁移数目(随机选择 5 个视野,取均值)。细胞侵袭实验前用基质胶湿化小室,其余同上。

1.6 Western blot 测定胃癌 HGC-27 细胞中 Hedgehog 信号通路关键蛋白 (Shh、Gli1) 和肿瘤侵袭转移相关蛋白 (MMP-2 和 MMP-9) 的表达 Control、NC 和 miR-452 组细胞培养 24 h 以后,收集细胞,用 RIPA 试剂裂解细胞并提取总蛋白。采用 BCA 方法对蛋白进行定量检测。分别配制 10% 的分离胶以及 5% 的浓缩胶,每个泳道按照 40 μg 蛋白样品上样,浓缩胶中用 90 V 电压电泳,观察染料到达分离胶和浓缩胶的边缘以后,将电压调整到 120 V 继续电泳。取出分离胶,置于转移缓冲液中浸泡 30 min,用 0.2 μm 的 PVDF 膜进行半干转膜,转膜条件为 0.8 mA/cm², 80 min。将 PVDF 膜放在 5% 脱脂奶粉中,置于 4℃ 冰箱中封闭过夜。然后将 PVDF 膜置于二抗稀释液 (Shh、Gli1、MMP-2 和 MMP-9 抗体稀释倍数为 1:1 000、1:1 000、1:800 和 1:800) 中,在室温中孵育 2 h。最后将 PVDF 膜放在二抗稀释液 (二抗以 1:4 000 稀释) 中,在室温中反应 2 h。用 ECL 方法显色。β-actin 作为内参。用 Image J 分析条带的灰度值,分析 Shh、Gli1、MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达水平,以各目标蛋白与内参的比值为相对表达量。

1.7 Hedgehog 信号激活剂对胃癌 HGC-27 细胞 miR-452 表达及其增殖、侵袭和迁移的影响 取转染 miR-452 mimics 后的胃癌 HGC-27 细胞,以含有 14 μmol/L 的 Hedgehog 信号激活剂 PM 处理培养,记为 miR-452 + PM 组,培养 24 h 以后,MTT 测定增殖 (步骤同 1.4),Transwell 小室测定侵袭和迁移 (步骤同 1.5),Western blot 测定 Shh、Gli1、MMP-2 和 MMP-9 表达 (步骤同 1.6)。

1.8 统计学方法 用 SPSS 21.0 软件对数据进行分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组数据采用独立样本 *t* 检验,多组差异比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-452 在患者胃癌组织和胃癌细胞中的表达 癌旁组织和胃癌组织中 miR-452 表达水平分别为 1.00 ± 0.09、0.60 ± 0.05,胃癌组织中 miR-452 水平

低于癌旁组织 (*P* < 0.05)。胃癌 HGC-27 (0.35 ± 0.04)、AGS (0.72 ± 0.08)、NCI-N87 (0.51 ± 0.06) 细胞中 miR-452 水平低于正常胃黏膜 GES-1 (1.00 ± 0.11) 细胞 (*P* 均 < 0.05);胃癌 AGS、NCI-N87 细胞中 miR-452 水平高于胃癌 HGC-27 细胞 (*P* 均 < 0.05)。选用表达水平最低的胃癌 HGC-27 细胞做后续实验。

2.2 转染 miR-452 mimics 对胃癌 HGC-27 细胞增殖、侵袭、迁移能力和 MMP-2 和 MMP-9 蛋白水平的影响 转染后,与 NC 组比较,miR-452 组细胞中 miR-452 水平升高,OD 值、侵袭数目、迁移数目以及 MMP-2、MMP-9 蛋白水平均降低 (*P* 均 < 0.05),提示上调 miR-452 表达可降低胃癌 HGC-27 细胞的增殖、侵袭、迁移能力。见图 1 和表 1。

2.3 转染 miR-452 mimics 对胃癌 HGC-27 细胞中 Hedgehog 信号通路关键蛋白 (Shh、Gli1) 的影响 转染后 Western blot 检测结果示,与 NC 组比较,miR-452 组细胞中 Gli1、Shh 蛋白水平降低 (*P* 均 < 0.05),提示上调 miR-452 表达可降低胃癌 HGC-27 细胞中 Hedgehog 信号激活水平。见图 2 和表 2。

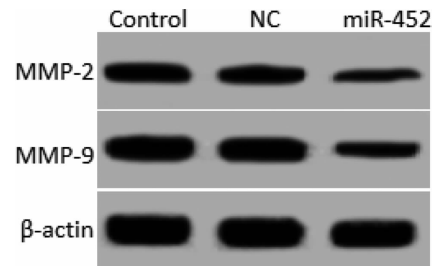


图 1 Western blot 检测 miR-452 mimics 转染后胃癌 HGC-27 细胞中 MMP-2、MMP-9 蛋白表达

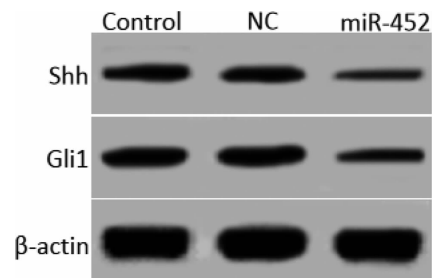


图 2 Western blot 检测 miR-452 mimics 转染后胃癌 HGC-27 细胞中 Shh、Gli1 蛋白表达

表 1 不同转染后胃癌 HGC-27 细胞中 miR-452 相对表达水平、OD 值、侵袭数目、迁移数目以及 MMP-2、MMP-9 蛋白相对表达水平比较 (*n* = 9, $\bar{x} \pm s$)

组别	miR-452 水平	OD 值 ^b	侵袭数目(个)	迁移数目(个)	MMP-2	MMP-9
Control 组	1.00 ± 0.08	0.45 ± 0.05	82.47 ± 6.39	124.87 ± 10.58	0.75 ± 0.07	0.85 ± 0.08
NC 组	0.97 ± 0.12	0.46 ± 0.03	83.91 ± 5.23	125.91 ± 11.24	0.76 ± 0.09	0.87 ± 0.07
miR-452 组	2.78 ± 0.23 ^a	0.24 ± 0.04 ^a	50.17 ± 3.26 ^a	76.32 ± 6.55 ^a	0.42 ± 0.04 ^a	0.49 ± 0.05 ^a
<i>F</i> 值	393.51	83.34	124.68	77.10	69.23	89.48
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与 NC 组比较,^a*P* < 0.05;^b 表示 MMT 法测定。

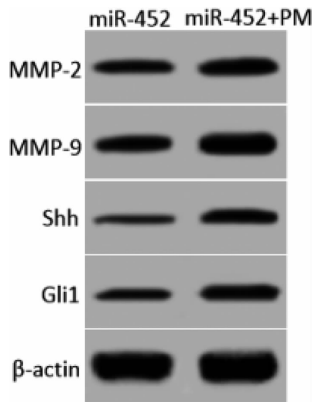


图3 Western blot 检测转染后是否用 PM 处理对胃癌 HGC-27 细胞中 Shh、Gli1、MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达的影响

表3 miR-452 + PM 组和 miR-452 组的胃癌 HGC-27 细胞 OD 值、侵袭数目、迁移数目和 MMP-2、MMP-9、Shh、Gli1 蛋白相对表达水平比较 ($n=9, \bar{x} \pm s$)

组别	OD 值 ^a	侵袭数目(个)	迁移数目(个)	MMP-2	MMP-9	Gli1	Shh
miR-452 组	0.25 ± 0.03	52.14 ± 4.61	77.24 ± 7.66	0.40 ± 0.05	0.47 ± 0.06	0.29 ± 0.04	0.24 ± 0.03
miR-452 + PM 组	0.43 ± 0.04	75.51 ± 6.35	114.82 ± 9.34	0.74 ± 0.07	0.83 ± 0.08	0.52 ± 0.06	0.54 ± 0.06
<i>t</i> 值	10.80	8.94	9.33	11.86	10.79	9.57	13.42
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:^a表示 MM 法测定。

2.4 Hedgehog 信号激活剂对胃癌 HGC-27 细胞 miR-452 表达及增殖、侵袭和迁移的影响 细胞转染及 Hedgehog 信号激活剂 PM 处理后,与 miR-452 组比较,miR-452 + PM 组胃癌 HGC-27 细胞 OD 值、侵袭数目、迁移数目和 MMP-2、MMP-9、Shh、Gli1 蛋白水平均升高(P 均 < 0.05),提示 Hedgehog 信号激活剂使胃癌 HGC-27 细胞 miR-452 表达上调、促进增殖、侵袭和迁移。见图 3 和表 3。

3 讨论

miRNA 在人体正常生理进程中发挥重要作用,其可以通过复杂的网络调控影响细胞的生长和分化^[8]。miRNA 参与人类疾病的发生,miRNA 在疾病中的表达改变可能是疾病进展的小分子标记物^[9-10]。研究显示,肿瘤的发生与多种 miRNA 表达变化有关,明确 miRNA 在肿瘤进展中的作用,人为干扰或重建 miRNA 的表达可能是肿瘤治疗的有效途径^[11]。miR-452 是近年来发现的与肿瘤有关的调控因子,其在乳腺癌、肺癌等肿瘤中具有抑制作用,上调 miR-452 表达可以抑制肿瘤的转移和恶性生长^[12-13]。本实验结果表明,miR-452 在患者胃癌组织和胃癌细胞中低表达,上调 miR-452 可以抑制胃癌细胞增殖,说明 miR-452 在胃癌进展中起抑制作用,这与上述研究结果类似。

癌细胞侵袭和迁移是肿瘤转移的重要原因,肿瘤细胞在侵袭和迁移的同时可以合成基质降解酶,这些

表2 不同转染后胃癌 HGC-27 细胞中 Shh、Gli1 蛋白相对表达水平比较 ($n=9, \bar{x} \pm s$)

组别	Gli1	Shh
Control 组	0.68 ± 0.07	0.56 ± 0.06
NC 组	0.66 ± 0.08	0.55 ± 0.05
miR-452 组	0.30 ± 0.03 ^a	0.26 ± 0.05 ^a
<i>F</i> 值	101.20	91.15
<i>P</i> 值	0.000	0.000

注:与 NC 组比较,^a $P < 0.05$ 。

基质降解酶能够将细胞外基质降解,为肿瘤的转移提供条件^[14]。研究显示,MMP 是基质降解酶中最为重要的一类蛋白酶,其含有多个成员,分别能够降解细胞外基质中的不同成份^[15]。MMP-2 及 MMP-9 是目前为止发现的与肿瘤转移关系最为密切的 MMP 家族成员,MMP-2、MMP-9 在肿瘤中表达上调,在肿瘤进展中发挥类似癌基因的作用^[16-18]。本实验结果表明,上调 miR-452 表达后的胃癌细胞侵袭、迁移能力下降,细胞中 MMP-2、MMP-9 蛋白水平降低,说明上调 miR-452 表达抑制胃癌细胞转移的潜能。

Hedgehog 是一个与胚胎发育关系密切的信号通路,也是细胞“命运”的重要调控因子^[19]。近年来的研究表明,多种疾病的发生和发展都与 Hedgehog 信号有关^[20-21]。最近的研究显示,Hedgehog 在肿瘤中过度激活,Hedgehog 激活可以促进肿瘤细胞的生长和转移^[22]。Shh、Gli1 是 Hedgehog 信号通路的关键蛋白,二者表达水平越高标志着 Hedgehog 信号通路激活水平也就越高^[23-24]。本实验表明,上调 miR-452 表达抑制胃癌细胞中 Hedgehog 信号激活,Hedgehog 信号激活剂可以逆转上调 miR-452 表达对胃癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响,这证实上调 miR-452 表达影响胃癌细胞增殖、侵袭和迁移的作用机制与抑制 Hedgehog 信号激活有关。

综上所述,上调 miR-452 表达可以降低胃癌细胞增殖、侵袭和迁移能力,作用机制与下调胃癌细胞中 Hedgehog 信号激活水平有关,miR-452 在胃癌进展中

可能发挥抑制作用,可为研究胃癌分子发生机制和基因治疗胃癌提供参考。今后可在多株胃癌细胞以及体内验证 miR-452 的作用机制。

参考文献

- [1] Ning YL, Qian KQ, Qi CJ. Role of vascular endothelial growth factor receptor in the pro-proliferation activity of CD40-CD40L in AGS gastric cancer cells[J]. *Asian Biomed*, 2010, 4(5):797-802.
- [2] Okuno T, Yashiro M, Masuda G, et al. Establishment of a new scirrhous gastric cancer cell line with FGFR2 overexpression, OCUM-14[J]. *Ann Surg Oncol*, 2019, 26(4):1093-1102.
- [3] Zhou H, Liu HY, Jiang M, et al. Targeting MicroRNA-21 suppresses gastric cancer cell proliferation and migration via PTEN/Akt signaling axis[J]. *Cell Transplant*, 2019, 28(3):306-317.
- [4] Dawidowska M, Jaksik R, Drobnia M, et al. Comprehensive investigation of miRNome identifies novel candidate miRNA-mRNA interactions implicated in T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Neoplasia*, 2019, 21(3):294-310.
- [5] Mansoori B, Mohammadi A, Ghasabi M, et al. miR-142-3p as tumor suppressor miRNA in the regulation of tumorigenicity, invasion and migration of human breast cancer by targeting Bach-1 expression[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6):9816-9825.
- [6] 黄仲根,徐波,沈飞. miR-452 靶向 PHLPP1 抑制结肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭[J]. *中国临床研究*, 2019, 32(3):340-345.
- [7] Zhai W, Li SY, Zhang J, et al. Sunitinib-suppressed miR-452-5p facilitates renal cancer cell invasion and metastasis through modulating SMAD4/SMAD7 signals[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1):1-15.
- [8] Guo S, Lin WN, Hu Y, et al. Ultrahigh-throughput droplet microfluidic device for single-cell miRNA detection with isothermal amplification[J]. *Lab Chip*, 2018, 18(13):1914-1920.
- [9] 谢琼,胡桂明,王洪涛. miRNA-223-3 p 调控 JAK2/STAT3 信号通路对胃癌细胞增殖、凋亡、迁移的影响[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2018, 53(5):629-634.
- [10] 丘创华,李卓成,卢章,等. 血浆 PTX3 对 STEMI 近期不良心血管事件的预测价值[J]. *热带医学杂志*, 2017, 17(3):405-408.
- [11] Kyuno D, Zhao K, Bauer N, et al. Therapeutic targeting cancer-initiating cell markers by exosome miRNA: efficacy and functional consequences exemplified for claudin7 and EpCAM[J]. *Transl Oncol*, 2019, 12(2):191-199.
- [12] He ZC, Xia Y, Liu B, et al. Down-regulation of miR-452 is associated with poor prognosis in the non-small-cell lung cancer[J]. *J Thorac Dis*, 2016, 8(5):894-900.
- [13] 胡清,钟山亮,季明华,等. MiR-452 逆转人乳腺癌 MCF-7/DOC 细胞对多西他赛耐药性及其机制研究[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2015, 22(3):161-164.
- [14] Baker TM, Waheed S, Syed V. RNA interference screening identifies clathrin-B and cofilin-1 as mediators of MT1-MMP in endometrial cancer[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 370(2):663-670.
- [15] 张燕萍,王敏,甘树杰. 组织 CD3⁺CD68⁺MMP-2 与 MMP-9 对患者腹主动脉瘤病情发生发展的影响[J]. *河北医学*, 2019, 25(4):551-554.
- [16] Chuang CH, Wang LY, Wong YM, et al. Anti-metastatic effects of isolinderalactone via the inhibition of MMP-2 and up regulation of NM23-H1 expression in human lung cancer A549 cells[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(4):4690-4696.
- [17] Conrad C, Götte M, Schlomann U, et al. ADAM8 expression in breast cancer derived brain metastases: Functional implications on MMP-9 expression and transendothelial migration in breast cancer cells[J]. *Int J Cancer*, 2018, 142(4):779-791.
- [18] Yang FH, Wen MM, Pan DY, et al. IL-33/ST2 axis regulates vasculogenic mimicry via ERK1/2-MMP-2/9 pathway in melanoma[J]. *Dermatology*, 2019, 235(3):225-233.
- [19] Lupu FI, Burnett JB, Eggenschwiler JT. Cell cycle-related kinase regulates mammalian eye development through positive and negative regulation of the Hedgehog pathway[J]. *Dev Biol*, 2018, 434(1):24-35.
- [20] Razumilava N, Shiota J, Mohamad Zaki NH, et al. Hedgehog signaling modulates interleukin-33-dependent extrahepatic bile duct cell proliferation in mice[J]. *Hepatol Commun*, 2018, 3(2):277-292.
- [21] Lin XN, Zhang YL, Pan YB, et al. Endometrial stem cell-derived granulocyte-colony stimulating factor attenuates endometrial fibrosis via sonic hedgehog transcriptional activator Gli2[J]. *Biol Reprod*, 2018, 98(4):480-490.
- [22] Hoyos Cadavid AM, Kaminagakura E, Rodrigues MFSD, et al. Immunohistochemical evaluation of Sonic Hedgehog signaling pathway proteins (Shh, Ptch1, Ptch2, Smo, Gli1, Gli2, and Gli3) in sporadic and syndromic odontogenic keratocysts[J]. *Clin Oral Investig*, 2019, 23(1):153-159.
- [23] Jia J, Martin TA, Ye L, et al. Fibroblast activation protein- α promotes the growth and migration of lung cancer cells via the PI3K and sonic hedgehog pathways[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(1):275-283.
- [24] Carpenter RL, Ray H. Safety and tolerability of sonic hedgehog pathway inhibitors in cancer[J]. *Drug Safety*, 2019, 42(2):263-279.

收稿日期:2020-02-11 修回日期:2020-03-02 编辑:王宇