

· 论 著 ·

乌司他丁抑制人乳腺癌细胞的侵袭和转移及其分子机制^{*}

王 宁¹, 崔晓江², 孙治君^{1△}

(1. 重庆医科大学附属第二医院三腺外科 400010; 2. 外科系, 女性癌症研究中心/
塞缪尔-奥斯钦综合癌症研究所/塞德斯-辛奈医学中心, 美国, 加利福尼亚州, 洛杉矶 90048)

摘 要:目的 通过测定不同浓度的乌司他丁(UTI)对体外乳腺癌细胞 MCF-7(雌激素受体阳性)和 MDA-MB-231(雌激素受体阴性)干预后细胞中乙酰肝素酶(Hpse)、1 型透明质酸酶(HYAL1)及细胞黏附分子 CD44v6 蛋白的表达情况,探讨其对癌细胞侵袭、转移抑制的分子机制。方法 将体外培养的 MCF-7 及 MDA-MB-231 细胞分别随机分为:(1)对照组;(2)UTI 低剂量干预组;(3)中剂量干预组;(4)高剂量干预组;(5)UTI 中剂量+泰索帝(TXT)组。蛋白质印迹法(Western blot)检测各组细胞 Hpse、HYAL1 和 CD44v6 蛋白的表达;Matrigel 穿膜侵袭实验检测细胞侵袭能力;Transwell 小室细胞跨膜实验测定细胞的迁移能力。结果 癌细胞中 Hpse、HYAL1 和 CD44v6 蛋白的表达随 UTI 浓度增加而降低,UTI 与 TXT 联合用药抑制作用更加显著($P<0.05$);乳腺癌 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞的侵袭和迁移能力显著下降,UTI 与 TXT 联合处理抑制作用更加明显($P<0.05$)。结论 UTI 抑制乳腺癌细胞的侵袭和转移可能与 Hpse、HYAL1、CD44v6 蛋白的表达降低有关。

关键词:乳腺癌;乙酰肝素酶;透明质酸葡萄糖胺酶;CD44v6;乌司他丁

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.29.003

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)29-3023-03

The molecular mechanism of ulinastatin as an inhibitor to the invasion and metastasis of human breast cancer cell^{*}

Wang Ning¹, Cui Xiaojiang², Sun Zhijun^{1△}

(1. Department of Thyroid and Breast Surgery, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University 400010, China;

2. Department of Surgery, Women's Cancer Program/Samuel Oschin Comprehensive Cancer Institute/

Cedars Sinai Medical Center, Los Angeles, CA, 90048 US)

Abstract: Objective To observe the effect of ulinastatin at different concentration on the expression of Heparanase(Hpse), Hyaluronidase-1 and CD44v6 and the invasion and metastasis of human breast cancer cell in vitro, and to explore its molecular mechanism. **Methods** The breast cancer cell line MCF-7 and MDA-MB-231 cultured in vitro were treated in randomly divided: 1. Control, 2. UTI at the low-dosage group, 3. medium-dosage group, 4. high-dosage group, 5. moderate dosage of UTI with Taxotere (TXT). The proliferation ability of cells was tested by MTT assay. Western blotting applications were used to measure the expression of Hpse, HYAL1 and CD44v6; The invasion ability of the cell lines were tested by Transwell chamber assay with Matrigel; The migration of the two cell lines were examined by Transwell chamber. **Results** The expression of Hpse, HYAL1 and CD44v6 was significantly decreased compared with the control group, and the effect of that received two medicament simultaneously was superior to that UTI alone($P<0.05$); compared with the control cells, UTI inhibited the invasion and migration of the breast cancer cell MCF-7 and MDA-MB-231, more significant joint UTI and TXT($P<0.05$). **Conclusion** UTI can inhibit the invasion and metastasis of the breast cancer cell, the mechanism may be associated with UTI reduced the expression of Hpse, HYAL1 and CD44V6.

Key words: breast neoplasms; heparanase; hyaluronog lucosaminidase; CD44v6; ulinastatin

乙酰肝素酶(Heparanase, Hpse)是一种内源性- β -D-葡萄糖苷酶,通过裂解硫酸肝素蛋白多糖(heparan sulfate proteoglycan, HSPG)中的硫酸乙酰肝素(heparan sulfat, HS)侧链降解细胞外基质(extracellular matrix, ECM)和基底膜(basilar membrane, BM),加快肿瘤细胞的侵袭和转移。透明质酸酶(hyaluronidase, Hyase)可以降解透明质酸(hyaluronic acid, HA)为寡聚透明质酸(OligoHA)。CD44 为 HA 细胞表面受体,透明质酸酶和分解的透明质酸片段可以通过 CD44 受体影响肿瘤细胞的增殖迁移和血管形成,在肿瘤发展及转移中起重要作用^[1]。乌司他丁(Ulinastatin, UTI)是一种蛋白酶抑制剂,有抑制各种酶活性的作用,常用于重症胰腺炎的治疗。本课题组前期研究显示乌司他丁能抑制肿瘤细胞增殖、侵袭和转移,促进细胞凋亡,同时可增强抗肿瘤药物的效果^[2-3]。CD44v6 是

CD44 的一种变异体,本实验主要通过测定乌司他丁对乙酰肝素酶、1 型透明质酸酶和 HA 受体 CD44v6 的表达影响探讨其抑制乳腺癌细胞侵袭及转移的分子机制。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料及试剂 乳腺癌 MCF-7(ER 阳性)及 MDA-MB-231(ER 阴性)2 个细胞系由重庆医科大学病理教研室免费提供。胎牛血清及 RPMI-1640 购自浙江省杭州四季青生物工程材料有限公司。Heparanase 兔抗人抗体购自美国 Santa 公司, Hyaluronidase-1 及 CD44v6 鼠抗人单克隆抗体均购自美国 Abcam 公司,辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 抗体购自北京博奥森公司。泰索帝(TXT)购自杭州赛诺菲安万特民生制药公司,乌司他丁购自广东天普生化医药股份有限公司,药物浓度分别配成 100×血浆峰浓度(peak plasma concen-

^{*} 基金项目:重庆市科技委员会科技攻关基金资助项目(CSTC,2008AC5082)。 [△] 通讯作者, Tel:1360812792; E-mail: ch. sunzj@yahoo.com.cn。

tration,PPC)备用。实验使用药物浓度参考文献:乌司他丁分别为 400、800、1 600 U/mL 3 个浓度组,泰索帝 3.7 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.2 细胞的培养及传代 2 个乳腺癌细胞系的细胞分别置于 25 cm^2 玻璃培养瓶培养,瓶内均加入 RPMI-1640 培养液 4 mL (包括 10% 胎牛血清),置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5.0% CO_2 培养箱中培养。细胞处对数生长期(细胞长满培养瓶底面积约 80% 以上)时传代培养。传代:弃培养液,PBS 液洗涤瓶底 2 次并弃液,加入 0.25% 的胰酶 1 mL 消化 1 min 后吸管吸掉胰酶,继续消化 2~3 min,加 1 mL RPMI-1640 液停止消化后吹打收集细胞,离心,分装培养瓶后各加入 RPMI-1640 培养液,置培养箱中继续培养。

1.3 细胞实验分组及给药 培养传代后处于对数生长期的 MCF-7 及 MDA-MB-231 细胞分别分为 5 组(具体细胞量根据实验需求)并最终调节加药浓度:空白对照组、UTI 低剂量组(400 U/mL)、UTI 中剂量组(800 U/mL)、UTI 高剂量组(1 600 U/mL)、UTI 联合 TXT 用药组(UTI 800 U/mL + TXT 3.7 $\mu\text{g/mL}$),空白对照组加入等体积的生理盐水,培养箱继续培养。

1.4 Western blot 检测细胞乙酰肝素酶、透明质酸酶 1 和 CD44v6 蛋白 将置于 25 cm^2 培养瓶培养的处于对数生长期的 2 个细胞系细胞各分 5 个实验组,分别以 UTI 400、800、1 600 U/mL 3 个组及 3.7 $\mu\text{g/mL}$ TXT+UTI 800 U/mL 组药物单独或联合处理,空白对照组加等量生理盐水,孵育细胞 24 h 后吸弃培养液,用 PBS 漂洗 2~3 次,加入 100 μL 细胞裂解液,冰上放置约 30 min,期间可混匀几次。升至 4 $^{\circ}\text{C}$,用细胞刮刮下细胞收集于 1.5 mL EP 管,以 12 000 r/min,离心 15 min。收集上清液,用 Bradford 法测定各组裂解液中蛋白质浓度,于-70 $^{\circ}\text{C}$ 储存备用。根据蛋白定量结果加入相应体积的总蛋白样品与 5 $\times$ 蛋白质凝胶电泳上样缓冲液,混合后于 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min,立即插入冰中待用。分别配置分离胶和浓缩胶。样品加至凝胶孔中行 SDS-PAGE 电泳。电泳结束后,用湿式转印法将 PAGE 胶上的蛋白转至 PVDF 膜上,转移膜置于封闭液中,室温、摇床上缓慢摇动状态下封闭 1 h,加入一抗(Heparanase 兔抗人抗体、Hyaluronidase-1 及 CD44v6 鼠抗人单克隆抗体,1:1 000 稀释),4 $^{\circ}\text{C}$ 反应过夜,洗膜,将二抗用 1 $\times$ TBST 缓冲液稀释 3 000 倍,加入二抗(辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 抗体)。室温、避光缓慢摇动 1 h,洗膜。最后用 DAB 显色,使用凝胶图像处理系统分析目标带净光密度值,统计并做记录。

1.5 Matrigel 侵袭实验检测细胞的侵袭 冰上用预冷的移液枪吸取 100 μL Matrigel 加入预冷的 300 μL 无血清培养基中,充分混匀,取稀释过的 Matrigel 25 μL 加入 24 孔板的 Transwell 上室,置于孵箱,37 $^{\circ}\text{C}$,30 min 使 Matrigel 聚合成胶。按计划每种细胞设置 5 组,每组设 6 个复孔。培养板 Transwell 上室中加入 100 μL 细胞悬液(4×10^4 个)同时加入无血清培养基 200 μL ;每个下室加入含有 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液 400 μL ,放入 37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 孵箱,培养 24 h。PBS 轻洗小室上室并用移液枪弃液,湿棉签轻擦去除小室上室的细胞和 Matrigel 胶;加入 500 μL 0.1% 结晶紫溶液,将小室膜浸没在其中,置于 37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 培养箱中孵育 30 min,加入 500 μL 33% 醋酸至浸没小室膜,低速振荡 10 min,充分溶解结晶紫。取出小室后将 24 孔板置于酶标仪上 570 nm 波长下测光密度值(OD 值),间接反映细胞数;此实验重复 3 次。

1.6 Transwell 细胞跨膜实验检测细胞的迁移 取处于对数

生长期的各处理组及对对照组细胞,用 PBS 液和无血清培养基洗涤细胞几次,消化细胞,用无血清 RPMI-1640 液制备细胞悬液,计数并调整细胞数为 $2\times 10^5/\text{mL}$;取细胞悬液 50 μL 加入上室,下室加入 500 μL 含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液,各组设置 6 个复孔。培养板于 37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 培养箱培养 24 h。取出小室并用移液枪吸干上室液体,棉签擦去上室未迁移的细胞,移至预先加好的 4% 多聚甲醛液中固定 30 min;吸干上室固定液移至 Gimsa 染色孔用 Gimsa 室温染色 30 min,PBS 液轻洗数次。小镊完整取聚碳酸酯膜后晾干使膜底面朝上,载玻片中性树胶封片。在光学显微镜高倍镜下($\times 40$ 物镜)观察并随机取 6 个视野计数,取平均值并统计结果。

1.7 统计学处理 利用 SPSS18.0 统计分析软件对数据进行分析,各组数据均用 $\bar{x}\pm s$ 表示。组间比较采用用方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 乳腺癌细胞 Heparanase、HYAL1、CD44v6 的蛋白表达 蛋白印迹结果数据统计如图 1、图 2 所示:各药物处理组 Heparanase、HYAL1、CD44v6 的蛋白表达水平较对照组显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$),组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。凝胶图扫描如图 3 显示,UTI 剂量与目标蛋白表达呈量效关系,UTI 与 TXT 联合用药作用则更加显著($P<0.05$)。

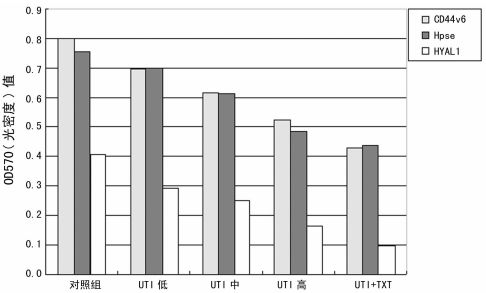


图 1 Heparanase、HYAL1、CD44v6 蛋白在 MCF-7 细胞中的表达水平

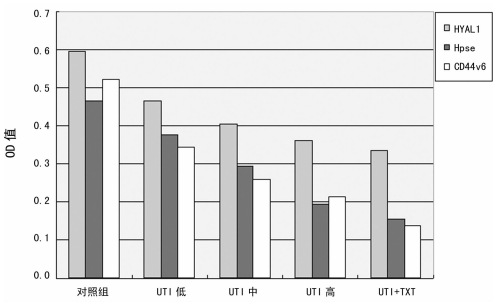
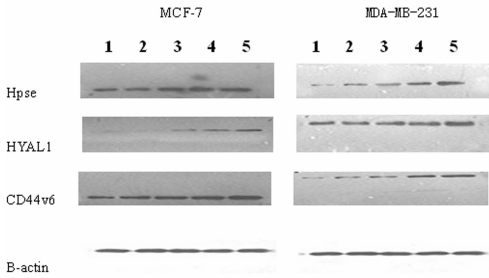


图 2 Heparanase、HYAL1、CD44v6 蛋白在 MDA-MB-231 细胞中的表达水平

2.2 乳腺癌细胞的侵袭能力 如图 4 所示,两种细胞药物处理 24 h 后侵袭能力显著降低,与空白对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$);加药组 UTI 中和 UTI 高组间比较差异无统计学意义($P>0.05$),其余各组两两比较差异均有统计学意义($P<0.05$),可以看出 UTI 对细胞侵袭抑制效果显著且 UTI 与 TXT 联合用药效果更佳(其中 MCF-7 细胞对照组侵袭 OD 均值为 1.059;联合用药后为 0.393;MDA-MB-231 对照组为 1.107,联合用药后为 0.469)。

2.3 乳腺癌细胞的迁移能力 乳腺癌 MCF-7 和 MDA-MB-231 两系细胞分别处理 24 h 后迁移情况如图 5 所示(迁移程度采用细胞计数方法统计);UTI 药物干预后两种乳腺癌细胞迁移能力显著下降,加药组与空白对照组细胞迁移数目差异有统计学意义($P<0.05$);加药组 UTI 中和和 UTI 高组间比较差异无统计学意义($P>0.05$),其余各组两两比较差异均有统计学意义($P<0.05$),UTI 对细胞迁移抑制作用显著且 UTI 与 TXT 联合用药效果更加显著(其中 MCF-7 细胞对照组迁移平均数 152 个,联合用药后迁移为 86 个;MDA-MB-231 对照组迁移 156 个,联合用药后为 93 个)。



1:TXT+UTI;2:UTI 高;3:UTI 中;4:UTI 低;5:空白对照组。

图 3 蛋白印迹凝胶扫描图像

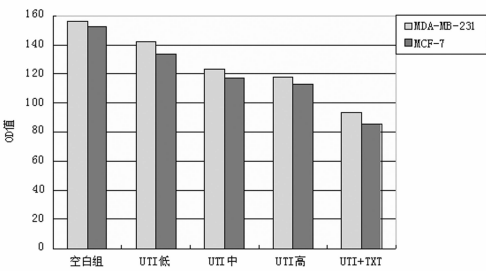


图 4 乳腺癌细胞侵袭能力(OD570)

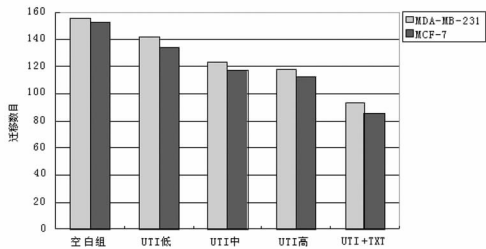


图 5 乳腺癌细胞迁移能力(OD570)

3 讨 论

细胞发生侵袭和转移首先必须破坏细胞外基质(ECM)和基底膜(BM)构成的屏障,其主要成分为结构蛋白和糖胺聚糖。近期研究发现乙酰肝素酶是哺乳动物体内惟一能降解细胞外基质中硫酸肝素蛋白多糖(HSPG)侧链-硫酸乙酰肝素(HS)的内切糖苷酶,其酶活性启动后有几方面作用:首先,Hpse 降解 HS,破坏 ECM 和 BM 屏障,促进肿瘤细胞侵袭转移;其次,HSPG 中大量储存的肝素结合型生长因子(VEGF、bFGF 等)被释放,从而促进乳腺癌的血管生成,促进转移;再次,HSPG 裂解产物抑制活化的 T 淋巴细胞使机体免疫功能降低;同时,尿激酶型纤溶酶原激活物(u-PA)和组织型纤溶酶原激活物(t-PA)被激活,激活纤溶酶后进而激活基质金属蛋白酶 9(MMP-9)^[4]。相关研究证明活化的 MMP-9、u-PA 等可以通过 Ras-

Raf-MEK-ERK 信号通路激活细胞外信号调节激酶,使之磷酸化进而调控肿瘤细胞内基因表达、促进细胞生长,本课题组前期研究发现 UTI 可使 MMP-9、u-PA 等表达降低^[2,5]。还有研究发现 Hpse 可以独立于酶活性之外发挥生物学功能,如:Hpse 通过细胞表面相应受体蛋白结合后促使 AKT、表皮生长因子受体(EGFR)的磷酸化作用,从而激活磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K/Akt) 信号转导途径,激活内皮细胞,促进肿瘤细胞的生长和侵袭转移过程^[4-7]。Zhang 等^[8]利用 siRNA 干扰沉默体外乳腺癌细胞 Hpse 基因的表达后发现癌细胞的侵袭、黏附能力显著降低,异体移植裸鼠模型实验也发现 Hpse 沉默表达显著降低了癌细胞的侵袭、转移能力。本实验发现 UTI 干预乳腺癌细胞后 Hpse 表达下降,细胞的侵袭、转移能力亦降低,提示可能与 UTI 抑制了 Hpse 蛋白表达有关。

透明质酸酶(HAase)和透明质酸(HA)是大部分哺乳类动物组织 ECM 的主要成分,HAase 的分型 HYAL1 在人类乳腺癌细胞过度表达,Tan 等^[9]发现通过质粒转染细胞后划痕试验及 ELISA 实验证明 HYAL1 在体外乳腺癌的表达上调可以促进癌细胞侵袭和血管形成,同时 HYAL1 高表达可以促进裸鼠乳腺异种移植肿瘤的生长和转移。HYAL1 可以特异水解 HA,将 HA 分解成多个寡聚糖,相关文献分析相对分子质量较大的寡聚糖通过几种方式促进肿瘤的侵袭和转移:(1)通过 MAPK 通路刺激细胞的生长;(2)破坏胶原纤维和糖蛋白的网状结构平衡使组织变形促进细胞黏附、迁移;(3)HA 与其受体 CD44 结合使酪氨酸激酶磷酸化产生细胞信号传导进而使细胞骨架变化增强肿瘤细胞的运动能力;小分子的寡聚糖则可以促进新生血管的形成从而为肿瘤的发展提供条件^[10-11]。本实验发现 UTI 使乳癌细胞 HYAL1 表达显著降低,实验细胞侵袭、转移能力的降低可能和 UTI 抑制了 HYAL1 的表达有关。

CD44 是一种细胞黏附分子,也是一种细胞表面跨膜糖蛋白,负责细胞之间及细胞与间质的连接。CD44v6 是其中一种变异型,有研究表明 CD44v6 在肿瘤细胞中表达丰富并与乳腺癌细胞的侵袭和转移有关^[12]。AKT 是一种丝氨酸蛋白激酶,活化的 AKT 是促进细胞增殖转移和抑制凋亡的 PI3K/AKT 信号通路的关键酶,透明质酸与 CD44v6 结合后促进 AKT 的磷酸化在癌细胞的生长转移过程中作用显著,近期研究表明 CD44v6 高表达和 AKT 磷酸化密切相关^[13-15]。本实验发现 UTI 可以显著抑制 CD44v6 蛋白的表达。

参考文献:

[1] Turley EA,Nobble PW,Bourguignon LY,et al. Signaling properties of hyaluronan receptors[J]. J Biol Chem,2002, 277(7):4589-4592.
[2] Sun ZJ,Yu T,Chen JS,et al. Effects of ulinastatin and cyclophosphamide on the growth of xenograft breast cancers,and expression of CXCR4 and MMP-9 in cancers[J]. J Inter Med Res,2010,38(3):967-976.
[3] Luo J,Sun X,Gao F,et al. Effects of ulinastatin and docetaxel on breast cancer invasion and expression of uPA, uPAR and ERK[J]. J Experi Clin Cancer Res,2011, 29 (1):71-73.
[4] Lyons JM,Schwimer JE,Anthony CT,et al. The role of VEGF pathways in human physiologic and pathologic angiogenesis[J]. J Surg Res,2010,159(4):517-527. (下转第 3029 页)

- agement, and pathogenesis[J]. *J Infus Nurs*, 2005, 28(2): 130-134.
- [2] Kitterman JA, Rudolph CD, Rudolph AM, et al. *Rudolph's pediatrics*[J]. Edzist Apleton Cang stamfor, 2003, 21(2): 140-143.
- [3] Morowtz MJ, Poroyko V, Caplan M, et al. Redefining the role of intestinal microbes in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis[J]. *Pediatrcs*, 2007, 125(4): 777-785.
- [4] Claud EC, Walker WA. Hypothesis: inappropriate colonization of the premature intestine can cause neonatal necrotizing enterocolitis[J]. *FASEB J*, 2001, 15(18): 1398-1403.
- [5] Suau A. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65(21): 4799-4807.
- [6] Walsh MC, Kliegman RM. Necrotizing enterocolitis: treatment based on staging criteria[J]. *Pediatr Clin N Am*, 1986, 33(1): 179-201.
- [7] Clayton TA. Pharmacometabonomic phenotyping and personalized drug treatment[J]. *Nature*, 2006, 440(7087): 1073-1077.
- [8] McCracken VJ, Lorenz RG. The gastrointestinal ecosystem; a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota[J]. *Cell Microbiol*, 2001, 3(1): 1-11.
- [9] Lin HC, Su BH, Chen AC, et al. Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants *Pediatrics*[J]. 2005, 115(1): 1-4.
- [10] Dani C, Biadaili R, Bertini G, et al. Probiotics feeding in prevention of urinary tract infection, bacterial sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants a prospective double-blind study[J]. *Biol Neonate*, 2002, 82(2): 103-108.
- [11] 宋朝敏, 王红, 吴斌. 益生菌与新生儿坏死性小肠结肠炎[J]. *中国微生态学杂志*, 2005, 17(6): 479-480.
- [12] 庄小原, 李联桥, 高璇璇, 等. 坏死性小肠结肠炎早产儿病因及微生态制剂预防作用[J]. *实用儿科临床杂志*, 2007, 22(18): 1392-1393.
- [13] Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora[J]. *Science*, 2005, 308(5728): 1635-1638.
- [14] Mshvildadze M, Neu J, Shuster J, et al. Intestinal microbial ecology in premature infants assessed with non-culture-based techniques[J]. *J Pediatr*, 2010, 156(1): 20-25.
- [15] Muyzer G, de Waal EC, Uitterlinden AG. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16s rRNA[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1993, 59(3): 695-700.

(收稿日期: 2012-03-09 修回日期: 2012-04-21)

(上接第 3025 页)

- [5] 陈建生, 孙治君, 于涛, 等. 乌司他丁和环磷酰胺对乳腺癌细胞增殖和侵袭及 mmp9 表达的影响[J]. *中国生物制品学*, 2009, 22(9): 865-868.
- [6] Rao G, Liu DX, Xing MZ, et al. Induction of heparanase-1 expression by mutant B-Raf kinase; role of GA binding protein in heparanase-1 promoter activation[J]. *Neoplasia*, 2010, 12(11): 946-956.
- [7] Fux L, Ilan N, Ralph D, et al. Heparanase; busy at the cell surface[J]. *NIH Public Access Author Manuscript*, 2009, 34(10): 511-519.
- [8] Zhang ZH, Chen Y, Zhao HJ, et al. Silencing of heparanase by siRNA inhibits tumor metastasis and angiogenesis of human breast cancer in vitro and in vivo[J]. *Cancer Biol Therapy*, 2007, 6(4): 587-595.
- [9] Tan JX, Wang XY, Su XL, et al. Upregulation of HYAL1 expression in breast cancer promoted tumor cell proliferation, migration, invasion and angiogenesis[J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): 836-838.
- [10] 杨俊伟. 透明质酸、透明质酸酶与泌尿系恶性肿瘤的研究进展[J]. *现代诊断与治疗*, 2011, 22(1): 25-28.
- [11] 李志强, 姜书传, 马玲, 等. 膀胱移行癌中 HYAL1、CD44v6 及 MVD 的临床意义[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2011, 16(5): 439-404.
- [12] Afify A, Purnell P, Nguyen L. Role of CD44s and CD44v6 on human breast cancer cell adhesion, migration, and invasion[J]. *Exp Mol Pathol*, 2009, 86(2): 95-100.
- [13] Ghatak S, Hascall VC, Markwald RR, et al. Stromal hyaluronan interaction with epithelial CD44 variants promotes prostate cancer invasiveness by augmenting expression and function of hepatocyte growth factor and androgen receptor[J]. *Biol Chem*, 2010, 285(26): 9821-9824.
- [14] Lilly YW, Bourguignon, Wong G, et al. Hyaluronan-CD44 interaction promotes c-Src-mediated twist signaling, microRNA-10b expression, and rhoA/RhoC up-regulation, leading to Rho-kinase-associated cytoskeleton activation and breast tumor cell invasion[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(47): 36721-36735.
- [15] Yu P, Zhou L, Ke W, et al. Clinical significance of pAKT and CD44v6 overexpression with breast cancer[J]. *Cancer Res Clin Oncol*, 2010, 136(8): 1283-1292.

(收稿日期: 2012-03-29 修回日期: 2012-05-09)