

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.33.003

## 结合黏附分子家族 A 表达水平与鼻咽癌细胞株放疗敏感性的关系研究\*

田允鸿, 曾 星, 邱慧芝, 史建军, 谢国丰, 黄东兰, 王红梅, 郑荣辉, 张伟军<sup>△</sup>

(广州医科大学附属肿瘤医院放疗科一区, 广州 510515)

**[摘要]** **目的** 研究结合黏附分子家族 A(JAMA)表达水平与鼻咽癌细胞株放疗敏感性的关系。**方法** 过表达或干扰 CNE2 和 HONE1 细胞株中 JAMA 的表达, 然后采用不同剂量 X 射线进行照射, 24 h 后检测细胞克隆形成能力及细胞凋亡变化, 了解 JAMA 在鼻咽癌放疗中的作用。通过 Western blot 检测 JAMA 不同表达水平细胞株放疗后的相关信号通路蛋白。**结果** JAMA 低表达细胞株对放疗更敏感; JAMA 低表达后, D<sub>0</sub> 值在 CNE2 细胞株中从  $3.26 \pm 0.78$  下降为  $1.92 \pm 0.23$ ; D<sub>q</sub> 值从  $46.51 \pm 4.27$  下降至  $32.12 \pm 3.19$ 。放疗诱导的凋亡在 JAMA 低表达细胞株中显著增加, JAMA 低表达后, 细胞凋亡率从  $6.9\% \pm 0.9\%$  上升至  $13.7\% \pm 1.3\%$ ; HONE1 细胞凋亡率从  $6.5\% \pm 1.1\%$  上升至  $12.3\% \pm 1.7\%$ ; JAMA 过表达细胞株中显著减少。**结论** JAMA 表达水平与鼻咽癌细胞株放疗敏感性密切相关, JAMA 能增加鼻咽癌细胞株放疗抵抗。

**[关键词]** 结合黏附分子家族 A; 鼻咽肿瘤; 放疗敏感性

**[中图分类号]** R739.6

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2016)33-4616-03

### Study on relation between junctional adhesion molecule family A expression level and radiosensitivity of nasopharyngeal carcinoma cell line\*

Tian Yunhong, Zeng Xing, Qiu Huizhi, Shi Jianjun, Xie Guofeng, Huang Donglan, Wang Hongmei, Zheng Ronghui, Zhang Weijun<sup>△</sup>

(First Wards, Department of Radiotherapy, Affiliated Tumor Hospital, Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China)

**[Abstract]** **Objective** The radiotherapy resistance is one of important causes for nasopharyngeal carcinoma(NPC) treatment failure. Junctional adhesion molecule A(JAMA)is closely correlated with the tumor poor prognosis. Thus this experiment is to investigate the relationship between JAMA expression and the radiosensitivity of NPC. **Methods** To overexpress or interfere the JAMA expression in CNE2 and HONE1 cell lines. Then different doses of X-ray were adopted to conduct irradiation. The cell clone formation capacity and cellular apoptosis change were detected after 24 h. The role of JAMA in the NPC radiotherapy was understood. The related signal pathway protein in cell lines with different JAMA expression was detected by Western blot. **Results** The cell lines with low JAMA expression were more sensitive to radiotherapy; After low JAMA expression, the D<sub>0</sub> value in the CNE2 cell line was decreased from  $3.26 \pm 0.78$  to  $1.92 \pm 0.23$ ; the D<sub>q</sub> value was decreased from  $46.51 \pm 4.27$  to  $32.12 \pm 3.19$ . The radiotherapy induced apoptosis was significantly increased in the cell lines with low JAMA expression, after low JAMA expressing, the cellular apoptosis was elevated from  $6.9\% \pm 0.9\%$  to  $13.7\% \pm 1.3\%$ ; the HONE1 cellular apoptosis was elevated from  $6.5\% \pm 1.1\%$  to  $12.3\% \pm 1.7\%$ ; JAMA overexpression cell lines were significantly decreased. The preliminary mechanism research results showed that JAMA played the effect via Akt signal pathway. **Conclusion** This research results verify that JAMA expression level is closely correlated with the radiosensitivity of NPC cell line; JAMA can increase the radiotherapy resistance of NPC cell lines, which provides a new feasible research direction for NPC enhancing radiosensitivity.

**[Key words]** junctional adhesion molecule A; nasopharyngeal neoplasms; radiosensitivity

鼻咽癌是发生于鼻咽黏膜的恶性肿瘤,其恶性程度较高,转移能力强,早期易发生淋巴结和远处转移,并具有相当高的病死率。据世界卫生组织统计,80%的鼻咽癌发生于中国,尤其高发于广东地区<sup>[1]</sup>。近年来分子生物学的发展和放疗技术的进步使鼻咽癌治疗效果得到了较大的提高,但鼻咽癌的治疗抵抗以及复发仍是影响患者生存的重大障碍<sup>[2]</sup>。因此,了解鼻咽癌治疗抵抗及复发机制,寻找可靠的治疗靶标有极其重要的意义。结合黏附分子家族 A(Junctional adhesion molecule A, JAMA)是位于细胞间的跨膜紧密连接蛋白,它在细胞的侵袭、血小板聚集和淋巴细胞黏附等方面起重要作用<sup>[3]</sup>。大量研究显示, JAMA 与乳腺癌患者的不良预后密切相关,并能促进细胞增殖及细胞株上皮间充质转化(epithelial-mesenchymal tran-

sitions, EMT)<sup>[4]</sup>。因此,本试验欲研究 JAMA 表达水平与鼻咽癌细胞株放疗敏感性的关系。

#### 1 材料与方法

**1.1 细胞培养** CNE2 和 HONE1 细胞株由南方医科大学肿瘤医院研究所保存。CNE2 和 HONE1 用含 10% 胎牛血清的 RM-PI 1640 培养, 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱贴壁培养处于对数生长期状态良好的细胞, 用 0.05% 胰酶消化传代, 取指数生长期细胞进行试验。

**1.2 过表达质粒构建** 具体构建步骤见文献[4], 简单步骤如下: (1) 从 CNE2 细胞株基因组中克隆得到完整的目的基因(JAMA CDS 区); (2) 按 TIANGEN 试剂盒 DP103 说明完成 pWPI 质粒提取, 并用 PacI 和 PmeI 双酶切 JAMA 及质粒; (3)

酶切后片段及质粒采用 T4 连接酶体系进行连接；(4)质粒转化及扩增并进行测序验证。

**1.3 过表达质粒或 siRNA 瞬时转染试验(24 孔板)** (1)转染前 1 d,胰酶消化细胞并计数,细胞铺板在不含抗生素,含血清的培养基中。使其能在转染日达到 80%~90%;(2)对于每孔细胞,使用 50  $\mu$ L 无血清 Opti-MEM<sup>®</sup> 培养基稀释 shRNA (shRNA 300~600 ng, shRNA CGU ACG CGG AAU ACU UCG A)<sup>[4]</sup>,轻轻混匀;(3)使用前将 Lipo2000 转染试剂轻轻混匀,每孔细胞用 50  $\mu$ L 无血清 Opti-MEM<sup>®</sup> 培养基稀释 1  $\mu$ L Lipo<sup>TM</sup>2000 转染试剂,室温孵育 5 min;(4)混合稀释的质粒和稀释的 Lipo<sup>TM</sup>2000,此时体积是 100  $\mu$ L,轻轻混匀,室温放置 20 min 以使 shRNA-Lipo<sup>TM</sup>2000 复合物形成;(5)将 24 孔板中的旧营养液吸出,用无血清培养基清洗 2 次。加入 0.5 mL 无血清 Opti-MEM<sup>®</sup> 培养基;(6)逐滴加入 100  $\mu$ L 质粒-Lipo<sup>TM</sup>2000 复合物到每孔中,边加边前后来回摇动培养板,轻轻混匀;(7)在 37  $^{\circ}$ C,5%CO<sub>2</sub> 中孵育 24~48 h 更换培养基。

**1.4 平板克隆形成试验** 收集贴壁培养细胞制成单细胞悬液,重悬于含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基中,然后计数,等比稀释成不同浓度的细胞。细胞按预定数量接种于 6 孔板:设 0、2、4、6 Gy 和 8 Gy 5 个剂量组,各剂量组设 3 个复孔。细胞接种后置于培养箱孵育 3 h 后按不同剂量组照射。静置培养 14 d 后,终止培养并以 PBS 缓冲液洗涤细胞 2 次,每孔加入 1.5 mL 甲醇固定细胞 10 min;PBS 清洗 2 次,每孔加入 1 mL 1%的结晶紫染色后,在显微镜下计算细胞大于 50 个克隆数。按公式计算:克隆形成率=生成的克隆数/接种细胞数 $\times$ 100%;存活分数(survival fraction,SF)=受照射细胞的克隆形成率/对照组细胞克隆形成率 $\times$ 100%。对所得的 SF 平均数进行分析,运用 GraphPad Prism 5.0 软件进行单击多靶模型曲线拟合,并根据单击多靶模型求出 D0、Dq 及 N 值。

**1.5 凋亡检测** Caspase-3 活性检测:胰酶消化贴壁细胞,离心收集细胞,小心吸除上清液,同时确保没有细胞被吸除,PBS 洗涤 1 次后收集细胞加入裂解液(2 $\times$ 10<sup>6</sup>/100  $\mu$ L),冰浴裂解 15 min。参照碧云天 Caspase-3 检测试剂盒说明进行进一步的检测。流式细胞仪检测凋亡:加入适量胰酶细胞消化液消化收集细胞。用 PBS 轻轻重悬细胞并计数。取 5 $\times$ 10<sup>4</sup> 重悬的细胞,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,加入 195  $\mu$ L Annexin V-FITC 结合液轻轻重悬细胞。然后再加入 5  $\mu$ L Annexin V-FITC,轻轻混匀。室温避光孵育 10 min。1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,加入 190  $\mu$ L Annexin V-FITC 结合液轻轻重悬

细胞。加入 10  $\mu$ L 碘化丙啶染色液轻轻混匀,冰浴避光放置。随即进行流式细胞仪检测。

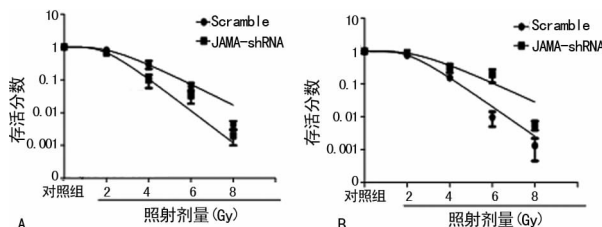
**1.6 细胞照射** 采用 Varian 2100C 直线加速器 6 MV X 线为放射源,固定源皮距照射,剂量率 300 MU/min,SSD=100 cm,PDD=80%,照射野 10 cm $\times$ 10 cm。

**1.7 Western blot 检测 Akt 信号通路** 细胞转染 JAMA-shRNA 和 Scramble 后培养 24 h,采用 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白(南京凯基),Bradford 法测定蛋白质浓度。制备好 SDS-PAGE 胶,每孔上样 30  $\mu$ g 蛋白,进行 SDS-PAGE 电泳。压缩胶电压设定为 60 V,30 min;分离胶电压设定为 120 V,1 h。电泳完毕,根据 Marker 指示切下目的蛋白所在位置凝胶(60 $\times$ 10<sup>3</sup>),然后转移至 PVDF 膜上。用 5%脱脂奶粉/TBST 封闭 PVDF 膜 1 h。封闭完毕,用 TBST 洗涤 3 次,每次 5 min。p-Akt 抗体和 Akt 一抗分别与靶蛋白结合。二抗与一抗结合:用 1%脱脂奶粉/TBST 稀释二抗(1:1 000),与 PVDF 膜孵育 1 h,室温轻摇。TBST 洗涤 3 次,每次 5 min。再用 TBS 洗涤 5 min。显影(ECL 法);ECL A 液 250  $\mu$ L+B 液 250  $\mu$ L,高灵敏度化学发光成像系统下成像拍照。用 Image J 对 Western blot 检测结果进行灰度分析。

**1.8 统计学处理** 采用 SPSS13.0 软件进行统计分析,计量资料用  $\bar{x}\pm s$  表示,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

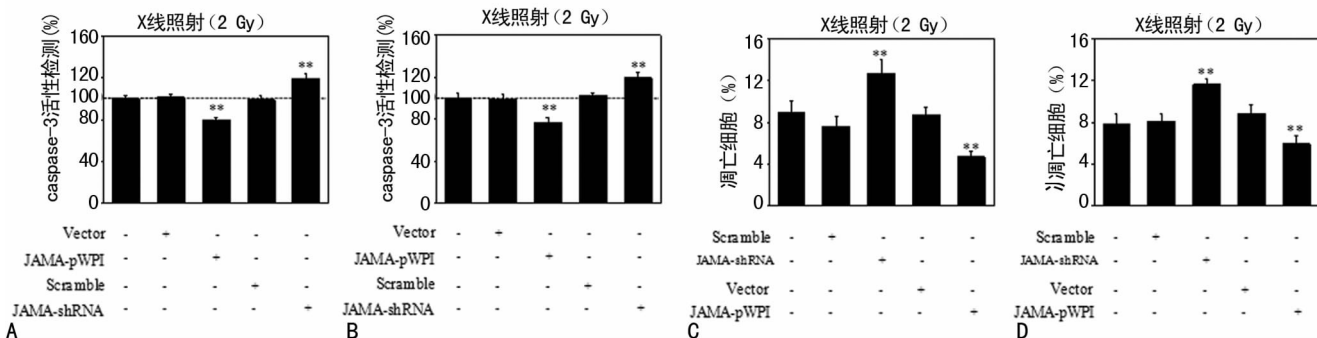
**2 结 果**

**2.1 平板克隆试验结果** 试验结果显示(图 1),JAMA 表达降低后,CNE2 细胞株 D0 值从 3.26 $\pm$ 0.78 下降为 1.92 $\pm$ 0.23;Dq 值从对照组的 46.51 $\pm$ 4.27 下降至 JAMA 低表达组的 32.12 $\pm$ 3.19;与 CNE2 结果相一致的是,HONE1 细胞株中 JAMA 表达降低后,反映细胞对放射损伤敏感度的参数 D0 从 6.30 $\pm$ 1.01 下降至 2.17 $\pm$ 0.19;反映细胞亚损伤修复能力大小的 Dq 值同样显著降低,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。



A:CNE2 细胞株;B:HONE1 细胞株。

图 1 克隆形成试验结果



A、B:Caspase-3 活性检测,细胞转染 JAMA-shRNA 和 JAMA-pWPI 质粒 24 h 后行 X 射线照射,24 h 后检测 CNE2(A)和 HONE1(B)细胞株中 Caspase-3 活性;C、D:流式细胞仪检测细胞株转染 JAMA-shRNA 和 JAMA-pWPI 质粒后,CNE2(C)和 HONE1(D)细胞株放疗后凋亡情况;\*: $P<0.05$ ,\*\*: $P<0.01$ 。

图 2 凋亡检测结果

**2.2 凋亡检测结果** 如图 2A 和 2B 结果显示,在 JAMA 低表达细胞株中 Caspase-3 活性显著升高,反之,在 JAMA 高表达细胞株中活性显著减低;CNE2 细胞株接受 2 Gy 射线照射后,Caspase-3 活性在 JAMA 低表达组上升了约 29%,JAMA 高表达组下降了约 31%;HONE1 接受 2 Gy 射线照射后,Caspase-3 活性在 JAMA 低表达组上升了约 17%,JAMA 过表达后 Caspase-3 活性显著降低约 20%。结果提示射线照射后,JAMA-shRNA 组鼻咽癌细胞株凋亡更明显。进一步采用流式细胞仪分析放疗后,JAMA 不同表达水平细胞株凋亡情况。如图 2C 和 2D 结果所示,JAMA 低表达组中,细胞凋亡显著增加;CNE2 细胞株接受 2 Gy 照射后,细胞凋亡从对照组的

8.9%±1.0% 上升至 JAMA 低表达组的 12.7%±1.3%;HONE1 接受 2 Gy 照射后,细胞凋亡从对照组的 7.8%±0.9% 上升至 11.6%±0.6%,过表达 JAMA 后,HONE1 细胞接受 2 Gy 放疗后细胞凋亡下降至 5.9%±0.8%。总之,JAMA 低表达组细胞接受射线照射后凋亡显著增加,反之,JAMA 过表达细胞株接受射线照射后细胞凋亡显著减少。

**2.3 Western blot 检测 Akt 信号通路** Western blot 检测结果显示,在 JAMA 低表达细胞株中,总 Akt 变化并不明显,p-Akt 蛋白表达量却显著减低(图 3A 和 B)。然而 ERK 信号通路在 JAMA 不同表达水平细胞株中,放疗后并没有显著差异(图 3C)。

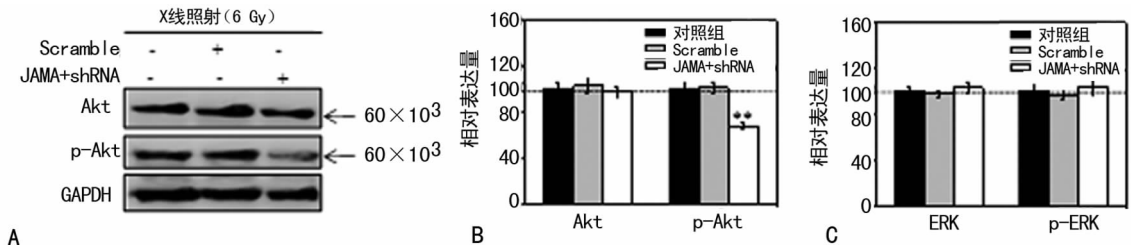


图 3 Western blot 检测相关信号通路  
A: Western blot 检测 CNE2 细胞株转染 JAMA-shRNA 并行射线照射后相关信号通路结果;B、C:使用 Image J 对 Western blot 检测结果进行灰度分析。\*:  $P < 0.01$ , 与 Scramble 组比较。

### 3 讨论

鼻咽癌是我国广东地区高发的恶性肿瘤,其远处转移率及病死率均较高。放疗是鼻咽癌最重要的治疗手段之一,尽管放疗手段有了较大的进步,但是放疗抵抗仍然是治疗失败的重要原因之一<sup>[1,5]</sup>。因此,研究鼻咽癌细胞放疗抵抗机制显得尤为重要。既往研究显示,JAMA 能影响乳腺癌及小肠内皮细胞功能,但是 JAMA 在鼻咽癌放疗敏感性方面的研究鲜有报道。笔者研究了 JAMA 表达水平与鼻咽癌细胞放疗敏感性的关系,发现 JAMA 与鼻咽癌细胞放疗敏感性密切相关,JAMA 能增加鼻咽癌放疗抵抗,这种作用是通过 Akt 信号通路起作用的。

JAMA 与多种肿瘤预后及治疗效果密切相关。Mcsherry 等<sup>[6]</sup>采用组织芯片技术发现 JAMA 高表达的乳腺癌患者预后相对较差,作者以高表达 JAMA 的乳腺癌细胞株 MCF-7 为研究对象,结果显示 JAMA 能增加  $\beta 1$  整合素表达而增加乳腺癌细胞的侵袭能力<sup>[7-8]</sup>。进一步研究结果显示,JAMA 与 HER2 共表达,降低 JAMA 表达能减少 HER2 和 ER 受体表达<sup>[9]</sup>。另外有研究证实 JAMA 能影响正常小肠内皮细胞增殖,影响与细胞黏附功能密切相关的 E-cadherin 等表达<sup>[10-11]</sup>。更重要的是有研究显示 JAMA 能诱导鼻咽癌 CNE2 和 HONE1 细胞株 EMT 的发生。来自 172 例鼻咽癌患者的组织标本显示,高表达 JAMA 与远处转移和不良预后密切相关<sup>[4]</sup>。总之,JAMA 高表达与患者不良预后密切相关。本研究结果证实,JAMA 能增加鼻咽癌细胞放疗抵抗,这可能是 JAMA 高表达患者预后不良的另一重要原因。

Akt 信号通路与许多肿瘤基因及多种信号受体相关,是肿瘤中经常被激活的通路,并在肿瘤发生机制研究及肿瘤治疗中扮演了重要角色<sup>[12]</sup>。大量研究显示 Akt 通路的激活在肿瘤细胞侵袭中起了重要作用<sup>[13]</sup>。既往研究显示,JAMA 蛋白能通过激活细胞中小分子 G 蛋白 Ras 超家族成员-1(Ras-proximate-1,Rap1)调节细胞对外界刺激的反应并影响与细胞黏附功能密切相关的 E-cadherin 蛋白表达<sup>[11]</sup>。Kortholt 等<sup>[13]</sup>研究了 Rap1 与 PI3K 信号通路的关系,结果证实 Rap1 能直接结合

至 PI3K 的 Ras 结合区域,增加 PIP3 表达水平<sup>[14]</sup>。Nava 等<sup>[10]</sup>证实 JAMA 能通过抑制 Akt/ $\beta$ -catenin 信号通路活性影响正常小肠内皮细胞增殖。总之,这些研究结果间接证实了 JAMA 可能通过 Akt 信号通路起作用。笔者通过试验发现,JAMA 能通过 Akt 信号通路增强鼻咽癌细胞的放疗抵抗。

综上所述,本试验证实了 JAMA 能增加鼻咽癌细胞株放疗抵抗,初步的机制研究结果显示,这种机制与 Akt 信号密切相关。尽管需要通过回复 Akt 以及过表达 JAMA 等方法,进一步研究其放疗增敏机制,但是这样的结果已经给了研究人员一个很重要的提示。这为鼻咽癌放疗抵抗机制的研究提供了一点基础,为鼻咽放疗增敏提供了新的可行的方向。

### 参考文献

- [1] Lee AW, Ma BB, Ng WT, et al. Management of nasopharyngeal carcinoma: current practice and future perspective [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(29): 3356-3364.
- [2] Suarez C, Rodrigo JP, Rinaldo A, et al. Current treatment options for recurrent nasopharyngeal cancer [J]. *Archiv Oto-Rhino-Laryngol*, 2010, 267(12): 1811-1824.
- [3] Kelly KR, Espitia CM, Zhao W, et al. Junctional adhesion molecule-A is overexpressed in advanced multiple myeloma and determines response to oncolytic reovirus [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(38): 41275-41289.
- [4] Tian Y, Tian Y, Zhang W, et al. Junctional adhesion molecule-A, an epithelial-mesenchymal transition inducer, correlates with metastasis and poor prognosis in human nasopharyngeal cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2015, 36(1): 41-48.
- [5] Chua ML, Wee JT, Hui EP, et al. Nasopharyngeal carcinoma [J]. *Lancet (London, England)*, 2015, 8(2): 1-13.
- [6] Mcsherry EA, McGee SF, Jirstrom K, et al. JAM-A expression positively correlates with poor prognosis in breast cancer patients [J]. *Int J Cancer*, (下转第 4621 页)

50%，这一点与临床肺癌易发生脑转移相符，而卵巢癌细胞为什么不容易通过血脑屏障，目前还不清楚。尾静脉注射途径与腹腔注射途径颅内转移差异无统计学意义，可能是样本量不够；同时也提示，采用这两种途径循环肿瘤细胞数量不是那么多，因而肺癌细胞株进入大脑的可能性也低。

血脑屏障是机体最重要的内部屏障之一，由脑毛细血管内皮细胞、基膜和胶质细胞足突共同组成<sup>[11]</sup>。血脑屏障的结构包括：毛细血管内皮细胞之间的紧密连接、毛细血管基膜、由星形胶质细胞终足围绕形成的毛细血管基膜外的胶质膜<sup>[12]</sup>。血脑屏障是维持脑内环境稳定的重要结构，它允许脑组织所需要的营养物质通过的同时而可有效阻挡有害物质的侵入<sup>[13]</sup>。由于脑毛细血管内皮的屏障功能，蛋白质、大分子药物以及各种染料不易透过血脑屏障；脑毛细血管内皮细胞间的紧密接合含有带负电荷的胶质，故带负电荷的物质不易通过血脑屏障<sup>[14]</sup>。是否卵巢癌 Skov3 细胞株整体带负电荷的分子多，从而被血脑屏障排斥在外，是笔者下一步研究的方向。腹腔注射途径，卵巢癌 Skov3 细胞株未发现肺内转移，可能是由于腹膜屏障也会在一定程度上阻挡 Skov3 细胞向腹腔外侵犯。

综上所述，一旦血脑屏障在某些因素影响下被破坏，卵巢癌脑转移的概率则大大增加。卵巢癌患者保持血脑屏障的完整性，对于减少卵巢癌脑转移起到非常重要的作用。至于卵巢癌细胞不容易通过血脑屏障，是其电荷屏障作用还是相关分子作用，有待于今后进一步探讨。

#### 参考文献

- [1] Mayer RJ, Berkow IR, Griffiths CT. Central nervous system involvement by ovarian carcinoma[J]. *Cancer*, 1978, 41(2):776-783.
- [2] Larson DM, Copeland LJ, Moser RP, et al. Central nervous system metastases in epithelial ovarian carcinoma [J]. *Obstet Gynecol*, 1986, 68(6):746-750.
- [3] Ross WM, Carmichael JA, Shelley WE. Advanced carcinoma of the ovary with central nervous system relapse[J]. *Gynecol Oncol*, 1988, 30(3):398-406.
- [4] Hardy JR, Harvey VJ. Cerebral metastases in patients

with ovarian cancer treated with chemotherapy[J]. *Gynecol Oncol*, 1989, 33(3):296-300.

- [5] Tasdemiroglu E, Kaya AH, Bek S, et al. Neurologic complications of cancer. part1: Central Nervous System Metastasis[J]. *Neurosurg Q*, 2004, 14(2):71.
- [6] Kastritis E, Efstathiou E, Gika D, et al. Brain metastases as isolated site of relapse in patients with epithelial ovarian cancer previously treated with platinum and paclitaxel-based chemotherapy[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2006, 16(3):994-999.
- [7] 李如军, 刁艺, 黄强, 等. 可移植性人脑胶质瘤组织裸小鼠脑内移植及其 MR 显像研究[J]. *癌症*, 2007, 26(9):937-941.
- [8] Johnston MR, Mullen JB, Pagura ME, et al. Validation of an orthotopic model of human lung cancer with regional and systemic metastases[J]. *Ann Thorac Surg*, 2001, 71(4):1120-1125.
- [9] Howard RB, Mullen JB, Pagura ME, et al. Characterization of a highly metastatic, orthotopic lung cancer model in the nude rat[J]. *Clin Exp Metastasis*, 1999, 17(2):157-162.
- [10] Cho KR. Ovarian cancer update: lessons from morphology, molecules, and mice[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2009, 133(11):1775-1781.
- [11] 张蓉, 刘丽影. 卵巢上皮细胞癌脑转移 3 例报道及文献复习[J]. *医学科研通讯*, 1994, 23(1):28.
- [12] 成令忠. 组织学与胚胎学[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 1996:101-105.
- [13] 吴旭东, 曹小定. 血脑屏障与脑缺血[J]. *国外脑血管病杂志*, 2000, 8(5):272-275.
- [14] 桑洁, 刘萍, 赵宝全. 血脑屏障分子组成研究进展[J]. *国际药理学研究杂志*, 2011, 38(3):201-205.

(收稿日期:2016-02-18 修回日期:2016-06-06)

(上接第 4618 页)

- 2009, 125(6):1343-1351.
- [7] McSherry EA, Brennan K, Hudson L, et al. Breast cancer cell migration is regulated through junctional adhesion molecule-A-mediated activation of Rap1 GTPase [J]. *BCR*, 2011, 13(2):R31.
- [8] Severson EA, Lee WY, Capaldo CT, et al. Junctional adhesion molecule A interacts with Afadin and PDZ-GEF2 to activate Rap1A, regulate beta1 integrin levels, and enhance cell migration[J]. *Mol Biol Cell*, 2009, 20(7):1916-1925.
- [9] Brennan K, McSherry EA, Hudson L, et al. Junctional adhesion molecule-A is co-expressed with HER2 in breast tumors and acts as a novel regulator of HER2 protein degradation and signaling[J]. *Oncogene*, 2013, 32(22):2799-2804.
- [10] Nava P, Capaldo CT, Koch S, et al. JAM-A regulates epi-

thelial proliferation through Akt/beta-catenin signalling [J]. *EMBO Rep*, 2011, 12(4):314-320.

- [11] Kooistra MR, Dube N, Bos JL. Rap1: a key regulator in cell-cell junction formation[J]. *J Cell Sci*, 2007, 120(Pt 1):17-22.
- [12] 肖高春, 童仕伦, 郑勇斌, 等. PI3K/AKT 及 MEK/ERK 信号通路在肿瘤血管内皮细胞迁移中的作用[J]. *重庆医学*, 2015, 44(11):1452-1456.
- [13] Fang J, Zhou SH, Fan J, et al. Roles of glucose transporter-1 and the phosphatidylinositol 3kinase/protein kinase B pathway in cancer radioresistance(review)[J]. *Mole Med Rep*, 2015, 11(3):1573-1581.
- [14] Kortholt A, Bolourani P, Rehmann H, et al. A Rap/phosphatidylinositol 3-kinase pathway controls pseudopod formation [J]. *Mol Biol Cell*, 2010, 21(6):936-945.

(收稿日期:2016-03-28 修回日期:2016-05-12)