

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.02.010

· 基础研究 ·

## 顺铂耐药促进卵巢癌 OVCAR-3 细胞的增殖、侵袭和迁移

王丹, 惠宁(第二军医大学附属长海医院 妇产科, 上海 200433)

[摘要] 目的: 观察人卵巢癌顺铂(cisplatin, CDDP)敏感细胞株 OVCAR-3 和耐药细胞株 OVCAR-3/CDDP 生物学行为的差异, 并探讨其可能的机制。方法: 取对数生长期的 OVCAR-3 和 OVCAR-3/CDDP 细胞, 软琼脂克隆形成实验检测细胞的增殖能力; Transwell 小室、失巢凋亡实验和裸鼠皮下移植瘤实验分别检测细胞体外和体内的侵袭、迁移能力; 免疫组织化学实验检测移植瘤组织中 MMP-2 和 MMP-9 的表达。结果: 与 OVCAR-3 细胞比较, OVCAR-3/CDDP 细胞克隆形成能力显著增加  $[ (0.66 \pm 0.09)\% \text{ vs } (0.31 \pm 0.07)\%, P < 0.05 ]$ 。Transwell 小室实验发现, OVCAR-3/CDDP 细胞较 OVCAR-3 细胞侵袭和迁移能力均明显增强  $[ (233.1 \pm 8.5) \text{ vs } (167.4 \pm 5.9), P < 0.01; (143.6 \pm 9.1) \text{ vs } (95.8 \pm 6.2), P < 0.01 ]$ ; OVCAR-3/CDDP 细胞较 OVCAR-3 细胞更易聚集, 细胞凋亡指数下降  $[ (7.78 \pm 1.32)\% \text{ vs } (15.41 \pm 1.26)\%, P < 0.01 ]$ 。OVCAR-3/CDDP 细胞移植瘤组织中 MMP-2、MMP-9 的表达高于 OVCAR-3 细胞。结论: 顺铂耐药 OVCAR-3/CDDP 细胞的增殖、抗失巢凋亡、侵袭和迁移能力显著增强, 其机制可能与 MMP-2 和 MMP-9 表达升高有关。

[关键词] 卵巢癌; 耐药; 增殖; 失巢凋亡; 侵袭; 迁移

[中图分类号] R737.1; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2011)02-0170-05

## Cisplatin-resistance increases proliferation, invasion and migration of ovarian cancer OVCAR-3 cells

WANG Dan, HUI Ning (Department of Gynecology and Obstetrics, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the differences in biological behavior between cisplatin-sensitive (OVCAR-3 cells) and cisplatin-resistant human ovarian cancer cells (OVCAR-3/CDDP cells), and to explore the possible mechanisms. **Methods:** OVCAR-3 and OVCAR-3/CDDP cells in logarithmic phase were collected, their proliferation were assessed by soft agar colony formation assay, their *in vitro* and *in vivo* invasion and migration abilities were measured by Transwell chamber assay, anoikis assay and subcutaneous transplanted-tumor formation assay in nude mice, and the expressions of MMP-2 and MMP-9 in transplanted tumor tissues were examined by immunohistochemical assay. **Results:** Colony formation rate of OVCAR-3/CDDP cells was significantly increased compared with OVCAR-3 cells  $[ (0.66\% \pm 0.09\%) \text{ vs } (0.31\% \pm 0.07\%), P < 0.05 ]$ . Compared with OVCAR-3 cells, OVCAR-3/CDDP cells had significantly higher migration capability  $[ (233.1 \pm 8.5) \text{ vs } (167.4 \pm 5.9), P < 0.01 ]$  and invasive capability  $[ (143.6 \pm 9.1) \text{ vs } (95.8 \pm 6.2), P < 0.01 ]$ . OVCAR-3/CDDP cells tended to aggregate and their apoptosis index was decreased compared with that OVCAR-3 cells  $[ (7.78 \pm 1.32)\% \text{ vs } (15.41 \pm 1.26)\%, P < 0.01 ]$ . The expressions of MMP-2 and MMP-9 in transplanted tumor tissues of OVCAR-3/CDDP cell group were up-regulated compared with those of OVCAR-3 cell group  $(P < 0.05)$ . **Conclusion:** The proliferation, anti-anoikis, invasion and migration abilities of cisplatin-resistant OVCAR-3/CDDP cells are greatly increased, which might be related with the up-regulation of MMP-2 and MMP-9.

[Key words] ovarian cancer; drug resistance; proliferation anoikis; invasion; migration

[Chin J Cancer Biother, 2011, 18(2): 170-174]

[基金项目] 全军医学科学技术研究“十一五”面上课题(No. MB2151)。Project supported by Medical Science Research Program of the “11th Five-Year” Plan of PLA (No. MB2151)

[作者简介] 王丹(1976-),女,山东省蓬莱市人,主治医师,主要从事妇科肿瘤治疗的基础和临床研究。E-mail:wangdanown@163.com

[通讯作者] 惠宁(HUI Ning, corresponding author),E-mail:huin1956@yahoo.com.cn

卵巢癌是女性生殖器三大恶性肿瘤之一,肿瘤细胞减灭术加铂类为基础的联合化疗是卵巢癌公认的初治方案,但 70%~80% 达到完全缓解的卵巢癌患者会出现肿瘤复发<sup>[1]</sup>,肿瘤细胞耐药是卵巢癌复发的主要原因<sup>[2]</sup>。因此对耐药性卵巢癌的治疗成为改善患者预后、提高生存率的一个重要因素。建立多药耐药(multidrug resistance,MDR)细胞系并观察其特性的改变是研究耐药肿瘤细胞生物学行为的重要手段,对指导临床选择合理的化疗方案和化疗药物具有重要意义。本课题组以往采用顺铂(cisplatin,CDDP)浓度梯度递增法成功建立了对 CDDP 耐药的人卵巢癌 OVCAR-3 细胞株(OVCAR-3/CD-DP)<sup>[3]</sup>。本研究将进一步观察卵巢癌 CDDP 敏感株 OVCAR-3 和耐药株 OVCAR-3/CDDP 生物学行为的差异,并探讨这种差异可能的机制,为有效治疗耐药卵巢癌提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株和主要试剂

人卵巢癌细胞株 OVCAR-3 购自中科院上海生命科学院细胞所(ATCC HTB-161),对 CDDP 耐药的细胞株 OVCAR-3/CDDP 由本实验室前期筛选培养获得<sup>[3]</sup>。两种细胞均用含 10% FCS(购自 PAA 公司)的 RPMI 1640 培养基,置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养。CDDP 购自山东齐鲁制药厂,多聚-HEMA 基质胶(2-hydroxyethyl methacrylate)、胰蛋白酶、碘化丙啶(PI)购自 Amresco 公司,Matrigel 基质蛋白胶购自 BD 公司,-20℃ 保存。Transwell 小室购自 Corning 公司,聚碳酸酯膜微孔直径为 8 μm。基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、羊抗人多克隆抗体和过氧化物酶标记的卵白素生物素(SP)染色试剂盒均购于美国 Santa Cruz 公司。

BALB/c 裸鼠购自上海斯莱克实验动物有限责任公司[实验动物合格证号 SCXK(沪)2007-0005],4~6 周龄,体重 10~12 g,随机分组,每组 15 只,饲养于第二军医大学动物实验中心 SPF 饲养室。

### 1.2 克隆形成实验检测卵巢癌细胞的增殖

取对数生长期的 OVCAR-3、OVCAR-3/CDDP 细胞,胰酶消化后加入 6 孔板中。每孔加入 2 ml 含 0.6% 软琼脂、10% FBS 的 RPMI 1640 培养基,凝固后再加入 2 ml 含  $3 \times 10^3$  个细胞及 0.3% 软琼脂的含血清培养液,放入 37℃、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度的培养箱中培养 21 d。将含有 50 个以上细胞的集落判定为 1 个克隆,每个孔随机选 5 个视野( $\times 100$  倍),计算细胞克隆形成数。克隆形成率(%) = 克隆数/

接种细胞数  $\times 100\%$ 。实验重复 3 次。

### 1.3 Transwell 法检测卵巢癌细胞侵袭和迁移

将亲本细胞 OVCAR-3 和耐药细胞 OVCAR-3/CDDP 培养至 70%~80% 后,胰酶消化收集细胞,用无血清培养液制备单细胞悬液,调整两组细胞密度为  $1 \times 10^6$  个/ml。

1.3.1 细胞侵袭实验 在 Transwell 小室微孔滤膜内表面先包被 Matrigel 基质胶(30 μl/孔),按  $2 \times 10^5$  个细胞(200 μl)/孔加入 Transwell 上室,24 孔板下室加入 600 μl 含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液。在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度的细胞培养箱中孵育 24 h 后,取出 Transwell 小室。用 PBS 轻洗小室滤膜两侧,轻拭去小室滤膜内表面的细胞及人工基底膜。将小室微孔滤膜用 4% 多聚甲醛固定 10 min,结晶紫细胞染色。200 倍光学显微镜下观察穿膜细胞数,每张膜取上、下、左、右、中心选 5 个视野,计算滤膜下室面的细胞数。每组细胞各设 3 个复孔,实验共重复 3 次。

1.3.2 细胞迁移实验 与细胞侵袭实验操作大部分相同,不同的是 Transwell 小室内表面不需铺 Matrigel 胶,且小室在细胞培养箱中的孵育时间为 6 h。

### 1.4 流式细胞术检测卵巢癌细胞抗凋亡

将多聚-HEMA 基质胶溶于无水乙醇,制备成 10 g/L 的多聚-HEMA 溶液。将培养瓶用 PBS 液洗 3 遍,然后加入 2 ml 多聚-HEMA 溶液包被瓶底,无菌状态下风干备用。每瓶接种  $1 \times 10^5$  个 OVCAR-3 或 OVCAR-3/CDDP 细胞,培养箱培养 24 h 后,离心收集细胞,70% 乙醇固定过夜。PI 染色后,流式细胞仪检测细胞凋亡。每组重复 5 次。

### 1.5 裸鼠卵巢癌移植瘤模型的建立

收集对数生长期 OVCAR-3 或 OVCAR-3/CDDP 细胞,无血清 RPMI 1640 液洗 2 遍,制成  $1 \times 10^7$ /ml 细胞悬液,吸取 0.2 ml( $2 \times 10^6$  个细胞)细胞悬液,分别接种于裸鼠左右侧腋窝皮下。接种后将裸鼠饲养于层流柜中,定期观察肿瘤生长、体质量变化及 EAE 评分。每组细胞分别接种 15 只 BALB/c 裸鼠,观察 8 周后,分离肿瘤送病理检查。

### 1.6 免疫组织化学法检测移植瘤组织中 MMP-2 和 MMP-9 的表达

移植瘤组织标本常规固定、脱水、透明、浸蜡、石蜡切片、脱蜡、抗原修复后,依次加入一抗(MMP-2 和 MMP-9 抗体)、二抗(Anti-IgG-HRP),稀释度均为 1:100,分别进行 H-E 和免疫组化染色,然后中性树脂封片。MMP-2、MMP-9 结果的判定:显微镜下每张切片中计算视野中阳性细胞的平均百分比,阳性

细胞数占 5% ~ 25% 为( + ), 26% ~ 50% 为( ++ ), 51% ~ 75% 为( +++ ), 大于 75% 为( ++++ )。

### 1.7 统计学处理

实验结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 13.0 软件分析, 组间差异比较采用 *t* 检验, 等级资料的统计学比较用秩和检验,  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 OVCAR-3/CDDP 细胞的增殖能力明显增强

克隆形成实验检测 OVCAR-3 和 CDDP 耐药株 OVCAR-3/CDDP 的增殖能力, 结果发现: 在克隆培养 21 d 时, OVCAR-3 细胞克隆形成数为(  $9.32 \pm 1.43$  )个, 克隆形成率为(  $0.31 \pm 0.07$  )%; OVCAR-3/CDDP 细胞克隆形成数为(  $18.54 \pm 3.17$  )个, 克隆形成率为(  $0.66 \pm 0.09$  )%。两者比较, 耐药 OVCAR-3/CDDP 细胞的克隆形成率显著增加(  $P < 0.05$  )。由此说明, CDDP 耐药细胞的增殖能力比亲本细胞明显增强。

### 2.2 OVCAR-3/CDDP 细胞的侵袭和迁移能力明显增强

肿瘤的转移包括肿瘤侵袭生长和细胞脱落进入循环、与脉管内皮或组织基质黏附、通过组织间隙变形移动、降解破坏细胞间质和定植生长等过程。本研究侵袭实验中, OVCAR-3/CDDP 细胞破坏 Matrigel 基质胶, 进入微孔膜内的细胞数明显多于 OVCAR-3 细胞[ (  $143.6 \pm 9.1$  ) vs (  $95.8 \pm 6.2$  ) ,  $P < 0.01$  ] ( 图 1A、B ); 在迁移实验中, OVCAR-3/CDDP 细胞经变形运动通过微孔进入膜内的细胞数明显多于 OVCAR-3 细胞[ (  $233.1 \pm 8.5$  ) vs (  $167.4 \pm 5.9$  ) ,  $P < 0.01$  ] ( 图 1C、D )。结果说明, 卵巢癌 OVCAR-3/CDDP 细胞的迁移和侵袭能力比 OVCAR-3 细胞株明显增强。

### 2.3 OVCAR-3/CDDP 细胞抗失巢凋亡能力显著增强

在肿瘤转移过程中, 实体肿瘤细胞从组织上脱落进入血液或淋巴液等脉管内, 失去了基质的支持, 这些细胞将会诱发程序性死亡, 称为失巢凋亡<sup>[4-5]</sup>。多聚-HEMA 是一种阴离子聚合物, 铺在培养瓶底可使细胞无法贴壁生长, 悬浮状态的细胞由于与细胞外基质和其他细胞脱离接触而诱发失巢凋亡<sup>[6-7]</sup>。体外模拟失巢环境, 结果发现, 悬浮培养的 OVCAR-3 细胞散在分布较均匀, 较少形成细胞团; 悬浮培养的 OVCAR-3/CDDP 细胞容易聚集, 形成较多且相对较致密的细胞团块。悬浮培养 24 h 后, OVCAR-3/CDDP 细胞凋亡指数较 OVCAR-3 细胞明显下降[ (  $7.78 \pm 1.32$  )% vs (  $15.41 \pm 1.26$  )% ,  $P < 0.01$  ,

图 2 ]。结果提示, CDDP 耐药细胞株的抗失巢凋亡能力显著增强。

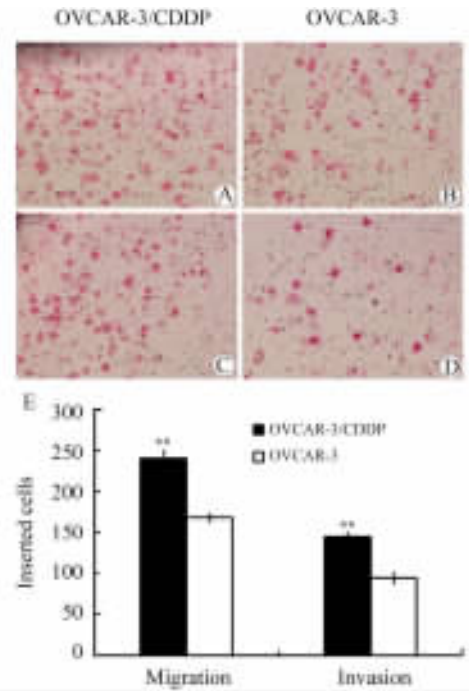


图 1 OVCAR-3/CDDP 和 OVCAR-3 细胞迁移和侵袭能力的比较( ×200 )

Fig. 1 Migration and invasion abilities of OVCAR-3 and OVCAR-3/CDDP cells( ×200 )

A, B: Migration assay; C, D: Invasion assay; E: Migration and invasion were quantified \*\*  $P < 0.01$  vs OVCAR-3 cells

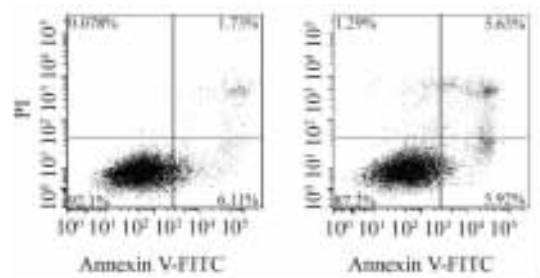


图 2 OVCAR-3/CDDP 细胞抗失巢凋亡能力增强  
Fig. 2 Anti-apoptosis ability of OVCAR-3/CDDP cells was increased

### 2.4 OVCAR-3/CDDP 细胞移植瘤具有更强的侵袭生长倾向性

在裸鼠左右腋窝皮下分别接种 OVCAR-3/CDP 或 OVCAR-3 细胞后 8 周, 肉眼观察, OVCAR-3 细胞和 OVCAR-3/CDDP 细胞成瘤率均 100%。OVCAR-3/CDDP 组最早在接种 4 周就可于皮下触及直径约 3 ~ 5mm 质地较硬的结节, 观察至第 5 周

时,两组裸鼠腋窝皮下均可触及大小不等的结节。至第8周结束,剥离肿瘤组织块,可见耐药 OVCAR-3/CDDP 细胞组瘤块呈出芽状生长状态(图 3B),而 OVCAR-3 细胞组呈单一瘤块而无周边子瘤(图 3A)。由此说明,耐药 OVCAR-3/CDDP 细胞移植瘤的侵袭生长倾向性明显增强。

两组荷瘤裸鼠均出现活动减少、反应迟钝、眼睛分泌物增多、皮肤粗糙、精神萎靡、进食减少和消瘦等衰竭现象,耐药 OVCAR-3/CDDP 细胞组荷瘤裸鼠这种衰竭现象相对更加明显。

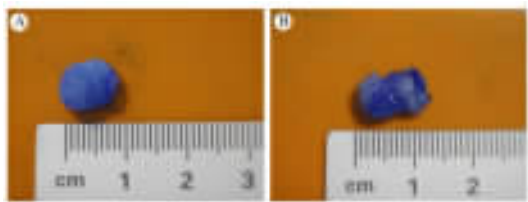


图 3 CDDP 耐药促进 OVCAR-3 细胞的成瘤性和侵袭生长

Fig. 3 CDDP resistant promoted tumor formation and metastasis of OVCAR-3 cells

A: Tumor implanted by OVCAR-3 cells; B: Tumor implanted by CDDP-resistant OVCAR-3/CDDP cells

#### 2.5 OVCAR-3/CDDP 移植瘤组织中 MMP-2 和 MMP-9 表达增加

比较两种细胞成瘤后移植瘤组织内 MMP-2 和 MMP-9 的表达情况,结果(图 4)发现,与 CDDP 敏感细胞株 OVCAR-3 相比,在 CDDP 耐药细胞株 OVCAR-3/CDDP 形成的肿瘤组织中 MMP-2(“++” vs “+”)和 MMP-9(“+++” vs “+”)的表达明显上调。由此提示, MMP-2 和 MMP-9 表达的上调可能与 OVCAR-3/CDDP 细胞的高转移能力相关。

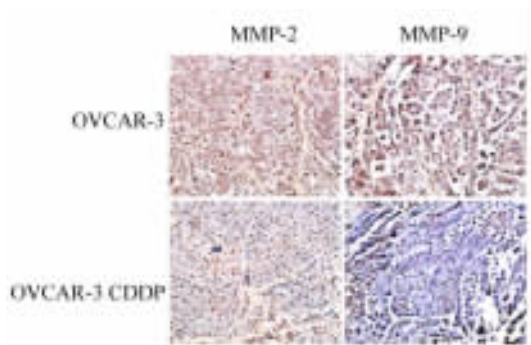


图 4 OVCAR-3/CDDP 移植瘤组织中 MMP-2 和 MMP-9 表达的增加(S-P, ×400)

Fig. 4 Increased expressions of MMP-2 and MMP-9 in OVCAR-3/CDDP cell-transplanted tumor tissues(S-P, ×400)

### 3 讨论

卵巢癌发病率在妇科恶性肿瘤中已上升至第二位,死亡率居于首位,5 年生存率徘徊在 30% ~ 50% 之间<sup>[8-9]</sup>。化疗耐药和远处转移是影响卵巢癌患者生存和预后的关键因素。既往对卵巢癌多药耐药和侵袭转移的研究多是分开进行的,但两者可能存在某种关联,探讨两者之间的内在联系无疑对肿瘤治疗具有重要的指导意义。

软琼脂培养集落形成实验模拟肿瘤细胞在体内的三维生长环境,常用于检测肿瘤细胞的成瘤能力。本实验中,OVCAR-3/CDDP 细胞在软琼脂上形成的集落较 OVCAR-3 细胞增多,说明耐药 OVCAR-3/CDDP 细胞的增殖能力有所增强。

抗失巢凋亡能力是肿瘤细胞通过循环系统扩散和转移的先决条件。肿瘤细胞抗失巢凋亡为脱落的肿瘤细胞定植于转移部位争取了时间。本实验发现,耐药细胞株 OVCAR-3/CDDP 具有更强的抗失巢凋亡能力,更容易存活下来,这也是 OVCAR-3/CDDP 细胞在裸鼠皮下成瘤的重要因素。此外,Transwell 实验结果提示,耐药 OVCAR-3/CDDP 细胞的侵袭、转移能力较亲本 OVCAR-3 细胞明显增强,耐药有利于破坏肿瘤细胞周围的间质成分及各种物理屏障,促进肿瘤细胞转移,最终形成肿瘤转移。

肿瘤的浸润与转移是一个复杂、多步骤的过程,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解是其中重要阶段,也是卵巢癌浸润和转移的重要途径<sup>[10-11]</sup>。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)是锌离子依赖的蛋白水解酶,可有效降解细胞外基质,与肿瘤细胞浸润、转移中突破屏障能力的增强有关。MMP-2 和 MMP-9 是 MMP 家族的重要成员,其高表达与卵巢癌的增殖、侵袭、转移和血管形成关系最为密切<sup>[12-15]</sup>。本研究发现,耐药 OVCAR-3/CDDP 细胞多呈出芽生长状态,而亲本 OVCAR-3 细胞则多呈单发状态,这种差异提示耐药 OVCAR-3/CDDP 细胞有更强的侵袭特性,易扩散蔓延。免疫组化结果发现,耐药 OVCAR-3/CDDP 细胞移植瘤组织中 MMP-2 和 MMP-9 的水平均显著上升,提示化疗耐药后,细胞通过上调 MMP-2 和 MMP-9 的表达,增强了肿瘤细胞的侵袭能力。这与临床上卵巢癌复发患者化疗效果较差,化疗效果不好的卵巢癌患者易转移的现象一致。

综上所述,与 OVCAR-3 细胞比较,OVCAR-3/CDDP 细胞的生物学行为已发生改变,主要表现在后者集落生成能力、侵袭和转移能力及成瘤能力均

明显增强,结果也提示了肿瘤细胞耐药和转移也许不是一个孤立的事件,两者之间可能存在着联系。已有证据支持了肿瘤多药耐药与侵袭与转移有关的观点,甚至一些新的治疗靶点已被提出<sup>[16-20]</sup>。但也有研究显示<sup>[21-22]</sup>两者之间并无关联。因此,肿瘤多药耐药和侵袭转移之间的关系还有待进一步的研究。此外,MMP-2和MMP-9有望成为卵巢癌诊断和基因治疗的新靶点,为卵巢癌耐药逆转和增敏治疗开辟一条新途径。

### [ 参考文献 ]

- [ 1 ] Lin H, Changchien CC. Management of relapsed / refractory epithelial ovarian cancer: Current standards and novel approaches [ J ]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2007, 46( 4 ): 379-388.
- [ 2 ] Ozols RF, Bundy BN, Greer BE, et al. Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: A gynecologic oncology group study [ J ]. J Clin Oncol, 2003, 21( 17 ): 319-342.
- [ 3 ] 王丹, 惠宁, 吴东. 促性腺激素释放激素类似物逆转卵巢癌细胞对顺铂的耐药性 [ J ]. 第二军医大学学报, 2008, 29( 4 ): 395-398.
- [ 4 ] Frisch SM, Francis H. Disruption of epithelial cell-matrix interactions induces apoptosis [ J ]. J Cell Biol, 1994, 124( 4 ): 619-626.
- [ 5 ] Frisch SM, Screaton RA. Anoikis mechanisms [ J ]. Curr Opin Cell Biol, 2001, 13( 5 ): 555-562.
- [ 6 ] Rak J, Mitsuhashi Y, Erdos V, et al. Massive programmed cell death in intestinal epithelial cells induced by three-dimensional growth conditions: Suppression by expression of a mutant c-H-ras oncogene [ J ]. J Cell Biol, 1995, 131( 6 Pt 1 ): 1587-1598.
- [ 7 ] Zhu Z, Sanchez-Sweetman O, Huang X, et al. Anoikis and metastatic potential of cloudman S91 melanoma cells [ J ]. Cancer Res, 2001, 61( 4 ): 1707-1716.
- [ 8 ] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2009 [ J ]. CA Cancer J Clin, 2009, 59( 4 ): 225-249.
- [ 9 ] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics, 2002 [ J ]. CA Cancer J Clin, 2005, 55( 2 ): 74-108.
- [ 10 ] Stack MS, Ellerbroek SM, Fishman DA. The role of proteolytic enzymes in the pathology of epithelial ovarian carcinoma [ J ]. Int J Oncol, 1998, 12( 3 ): 569-576.
- [ 11 ] Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression [ J ]. Nat Rev Cancer, 2002, 2( 3 ): 161-174.
- [ 12 ] Lutgendorf SK, Lamkin DM, Jennings NB, et al. Biobehavioral influences on matrix metalloproteinase expression in ovarian carcinoma [ J ]. Clin Cancer Res, 2008, 14( 21 ): 6839-6846.
- [ 13 ] Stettner R, Bogusiewica M, Rechberger T. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in ovarian cancer progression-diagnostic and therapeutic implications [ J ]. Ginekol Pol, 2009, 80( 1 ): 47-53.
- [ 14 ] Kenny HA, Lengyel E. MMP-2 functions as an early response protein in ovarian cancer metastasis [ J ]. Cell Cycle, 2009, 8( 5 ): 683-688.
- [ 15 ] Alshenawy HA. Immunohistochemical expression of epidermal growth factor receptor, E-cadherin, and matrixproteinase-9 in ovarian epithelial cancer and relation to patient deaths [ J ]. Ann Diagn Pathol, 2010, 14( 6 ): 387-395.
- [ 16 ] Davidson B, Reich R, Trope CG, et al. New determinates of disease progression and outcome in metastatic ovarian carcinoma [ J ]. Histol Histopathol, 2010, 25( 12 ): 1591-1609.
- [ 17 ] De Larco JE, Wueatz BR, Manivel JC, et al. Progression and enhancement of metastatic potential after exposure of tumor cells to chemotherapeutic agents [ J ]. Cancer Res, 2001, 1( 7 ): 2857-2861.
- [ 18 ] Yang JM, Xu Z, Wu H, et al. Overexpression of extracellular matrix metalloproteinase inducer in multidrug resistant cancer cells [ J ]. Mol Cancer Res, 2003, 1( 6 ): 420-427.
- [ 19 ] Nair S, Vadlamudi RK. Emerging significance of ER-coregulator PELP1 /MNAR in cancer [ J ]. Histol Histopathol, 2007, 22( 1 ): 91-96.
- [ 20 ] Chen H, Hao J, Wang L, et al. Coexpression of invasive markers ( uPA, CD44 ) and multiple drug-resistance proteins ( MDR1, MRP2 ) is correlated with epithelial ovarian cancer progression [ J ]. Br J Cancer, 2009, 101( 3 ): 432-440.
- [ 21 ] Dlncaici M, Steward WP, Gescher AJ. Use of cancer chemopreventive phytochemicals as antineoplastic agents [ J ]. Lancet Oncol, 2005, 6( 11 ): 899-904.
- [ 22 ] Kimura K, Nakano T, Park YB, et al. Establishment of human osteosarcoma cell lines with high metastatic potential to lungs and their utilities for therapeutic studies on metastatic osteosarcoma [ J ]. Clin Exp Metastasis, 2002, 19( 6 ): 477-485.

[ 收稿日期 ] 2011-02-20

[ 修回日期 ] 2011-03-30

[ 本文编辑 ] 王莹

《中国肿瘤生物治疗杂志》欢迎投稿、欢迎订阅