

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.04.015

人脑胶质瘤组织高表达 nNav1.5 促进肿瘤细胞的迁移和侵袭

邢德广^{1,2}, 王军¹, 欧绍武¹, 王运杰¹, 丁大领^{1,3}, 马二猛¹ (1. 中国医科大学附属第一医院 神经外科, 辽宁 沈阳 110001; 2. 山东大学第二医院 神经外科, 山东 济南 250033; 3. 郑州大学第一附属医院 神经外科, 河南 郑州 450052)

[摘要] **目的:** 观察电压-门控钠离子通道(voltage-gated sodium channel, VGSC)亚型 nNav1.5 在人脑胶质瘤组织中的表达, 并探讨其对脑胶质瘤 U251 细胞迁移及侵袭的影响。**方法:** 收集中国医科大学附属第一医院神经外科于 2011 年 10 月至 2012 年 10 月手术切除并经病理证实的脑胶质瘤组织标本 68 例, 应用免疫组织化学 S-P 法检测脑胶质瘤组织中 nNav1.5 的表达。设计并化学合成 nNav1.5 基因特异性小干扰 RNA(nNav1.5-siRNA), 用脂质体介导转染胶质瘤 U251 细胞, 应用 Real-time PCR 和 Western blotting 法分别检测 U251 细胞中 nNav1.5 mRNA 和蛋白的表达水平, 并采用细胞划痕实验和 Transwell 侵袭实验检测 U251 细胞迁移和侵袭能力的变化。**结果:** nNav1.5 在人脑胶质瘤组织中表达的阳性率显著高于正常组织(72.6% vs 23.0%, $P < 0.01$), 并且其在高级别胶质瘤(WHO III ~ IV 级)组织中的阳性率明显高于低级别胶质瘤(WHO I ~ II 级)组织(85.8% vs 52.9%, $P < 0.01$)。nNav1.5-siRNA 转染可显著抑制 U251 细胞中 nNav1.5 mRNA 和蛋白的表达($P < 0.01$); 转染后 U251 细胞的迁移距离明显小于未转染细胞[(0.019 ± 0.015) vs (0.223 ± 0.031) mm, $P < 0.01$], 且其侵袭指数明显低于未转染细胞[(2.99 ± 0.15)% vs (6.77 ± 0.26)%], $P < 0.01$ 。**结论:** nNav1.5 在人脑胶质瘤组织中高表达, 干扰 nNav1.5 表达可显著抑制胶质瘤细胞的迁移和侵袭能力, nNav1.5 是胶质瘤恶性侵袭的调控因子并有望成为胶质瘤的新标志物和治疗靶点。

[关键词] 电压-门控钠离子通道; 幼稚型钠离子 1.5; 胶质瘤; RNA 干扰; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R737.41; R730.23

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)04-0444-06

Nav1.5 is highly expressed in human glioma and promotes glioma cell migration and invasion

Xing Deguang^{1,2}, Wang Jun¹, Ou Shaowu¹, Wang Yunjie¹, Ding Daling^{1,3}, Ma Ermeng¹ (1. Department of Neurosurgery, China Medical University-Affiliated First Hospital, Shenyang 110001, Liaoning, China; 2. Department of Neurosurgery, Second Hospital of Shandong University, Ji'nan 250003, Shandong, China; 3. Department of Neurosurgery, Zhengzhou University-Affiliated First Hospital, Zhengzhou 450052, He'nan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of voltage-gated sodium channels (VGSCs) alpha subunit, neonatal Nav1.5 (nNav1.5), in association with human glioma cell migration and invasion. **Methods:** Biopsy tumor specimens were collected from 68 patients who were diagnosed with glioma in China Medical University Hospital. Human glioma U251 cells were transfected transiently with an expression vector encoding nNav1.5. The mRNA abundance and protein content of nNav1.5 in both biopsy specimens and transfected U251 cells were assessed by real-time PCR and Western blotting respectively. The metastasis and invasion capacities of transfected U251 cells were assessed by wound healing assay and transwell invasion assay, respectively. **Results:** Neonatal Nav1.5 was positive in 72.6% of human glioma tissue specimens but only in 23.0% of normal tissue specimens ($P < 0.01$). The expression of nNav1.5 was positively associated with the severity of glioma; 85.8% of WHO grade III-IV gliomas were nNav1.5-positive and 52.9% of WHO grade I-II gliomas were nNav1.5-positive ($P < 0.01$). Neonatal Nav1.5 silencing resulted in robust decreases in nNav1.5

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 31100770)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 31100770)

[作者简介] 邢德广(1983-),男,山东省淄博市人,博士生,主要从事离子通道和神经系统肿瘤的研究, E-mail: xideguang_2003@163.com

[通信作者] 王军(Wang Jun, corresponding author), E-mail: woaishou@126.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.3872/j.issn.1007-385X.2014.04.015.html>

mRNA and protein in U251 cells and significant inhibition of U251 migration and invasion. **Conclusion:** Neonatal Nav1.5 is highly expressed in human glioma where it promotes glioma cell invasion and migration. Our findings suggest that nNav1.5 may serve as a novel diagnostic marker and/or therapeutic target for human glioma.

[**Key words**] voltage-gated sodium channel(VGSC); nNav1.5; glioma; RNA interference; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2014, 21(4): 444-449]

胶质瘤是颅内最常见的恶性肿瘤,肿瘤的侵袭和转移是影响瘤患者预后的关键因素,所以抑制肿瘤侵袭转移已成为生物治疗的研究热点^[1]。研究发现,离子通道基因的异常表达与肿瘤的发生、发展有关^[2]。目前越来越多的研究报道,电压-门控钠离子通道(voltage-gated sodium channel, VGSC)的 α 亚基在多种癌细胞和组织中异常表达,并促进癌细胞的侵袭转移^[3]。前期研究发现,人脑成胶质细胞瘤细胞系(NB-1)中存在着 Na^+ 通道 Nav1.5 的一种新型幼稚型变构体^[4,5],即 nNav1.5 (neonatal Nav1.5),它被认为是胚胎性基因或癌基因的再表达,并且已在淋巴瘤和乳腺癌中得到证实^[6,7]。为探讨 nNav1.5 在胶质瘤侵袭中的作用,本研究使用 RNA 干扰技术,沉默胶质瘤 U251 细胞中 nNav1.5 表达,观察细胞迁移和侵袭的变化,对深入了解 VGSC 在胶质瘤细胞中的作用及研究胶质瘤的侵袭机制具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 标本来源

收集中国医科大学附属第一医院神经外科于 2011 年 10 月至 2012 年 10 月手术切除并经病理证实的脑胶质瘤组织标本 68 例,所有病例均经病理诊断确诊,其中男性 37 例、女性 31 例,年龄 23 ~ 67 岁,中位年龄 44 岁,全部患者术前均未行任何放、化疗。根据 WHO 中枢神经系统肿瘤分类(2007 年),将肿瘤标本分为低级别组(WHO I ~ II 级)25 例、高级别组(WHO III ~ IV 级)43 例,其中 WHO I 级 4 例、II 级 21 例、III 级 23 例、IV 级 20 例。对照组 12 例为同期因脑外伤行手术内减压切除的脑挫伤组织标本。上述标本的获取均取得受试者或其家属的知情同意并签署知情同意书。

1.2 细胞株及主要试剂

人胶质瘤细胞株 U251 购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心,培养于含有 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养液中,置于 37 °C、5% CO_2 的饱和湿度培养箱中传代培养,待细胞进入对数生长期后用于实验。DMEM 培养液、FBS 购自美国 HyClone 公司,兔抗人 Nav1.5 多克隆抗体购自英国

Abcam 公司, nNav1.5 的 siRNA 由上海 Sigma 生物有限公司设计合成,转染试剂盒 Lipofectamine™ 2 000 购自美国 Invitrogen 公司, SYBR Premix Ex Taq™(Perfect Real Time)试剂盒、反转录试剂盒 Prime Script™ RT Reagent Kit(Perfect Real Time)、nNav1.5 引物均购自日本 TaKaRa 公司, Transwell 小室购自 Corning 公司, Matrigel 胶购自 BD 公司,免疫组织化学染色超敏试剂盒(S-P 法)及 DAB 显色剂均购自福州迈新公司。

1.3 免疫组织化学法检测人脑胶质瘤组织中 Nav1.5 蛋白的表达

标本组织经 4% 多聚甲醛溶液固定,石蜡包埋制成 4 μm 切片,脱蜡、水化、柠檬酸热修复抗原,内源性过氧化物酶阻断剂室温孵育,10% 山羊血清封闭,加兔抗人 Nav1.5 多克隆抗体(1:250)4 °C 孵育过夜,生物素标记的羊抗兔 IgG 二抗室温孵育,二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木精复染,脱水、透明封片,镜下观察。结果判定:在高倍镜下,随机选取 5 个视野,计数 200 个肿瘤细胞,按阳性细胞数占同类细胞数的百分比评分。用 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.4 nNav1.5-siRNA 转染 U251 细胞

设计 siRNA 序列见表 1,阴性参照 siRNA-NC 顺序和人类基因无同源性,实验分组:Blank 组(空白对照组)、Lipo 2 000 组(脂质体组)、siRNA-NC 组(阴性对照组)、nNav1.5-siRNA 组(实验转染组),按 Lipofectamine™ 2 000 试剂说明书进行转染:取对数生长期 U251 细胞以每孔 1×10^6 个细胞接种于 6 孔板,细胞同步化培养 24 h 后,用 DMEM 培养液将 siRNA 150 pmol、Lipofectamine™ 2000 脂质体 5 μl 分别稀释至 250 μl ,将稀释后的 nNav1.5-siRNA 和脂质体等体积混匀,将脂质体/nNav1.5-siRNA 复合物加入培养板中,轻晃培养板使脂质体均匀分布,6 h 后换液。

1.5 Real-time PCR 检测 U251 细胞中 nNav1.5 mRNA 的表达

收集转染 24 h 的各组细胞,TRIzol 法提取总 RNA,按试剂盒说明逆转录合成 cDNA,扩增目的基因 nNav1.5 和内参照基因 β -actin 的引物序列见表 2,反应条件:95 °C 5 min,95 °C 1 min,58 °C 1 min,

72 °C 1 min,40 个循环,扩增反应后计算机分析 Ct 值,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各样本 *nNav1.5* mRNA 相对表达水平。

表 1 siRNA 引物序列信息
Tab. 1 Primer sequences of siRNA

Item	Primer sequences
siRNA (F)	5'-GAGAUGACCUUCAAGAUCAdTdT-3'
siRNA (R)	5'-UGAUCUUGAAGGUCAUCUCdTT-3'
siRNA-NC (F)	5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3'
siRNA-NC (R)	5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'

表 2 检测 *nNav1.5* mRNA 在胶质瘤 U251 细胞中表达的引物序列

Tab. 2 Primers used for determination of *nNav1.5* mRNA expressed in U251 cells

Gene	Primer sequences	Product size
<i>nNav1.5</i> (F)	5'-ACCTTGTGGTCTCTGAATCTC-3'	282 bp
<i>nNav1.5</i> (R)	5'-GAGGCACCTTCTCCGTCT-3'	
β -actin (F)	5'-TCACCCACATGTGCCATC-TACGA-3'	295 bp
β -actin (R)	5'-CAGCGAACCCTCATTGC-CAATGG-3'	

1.6 Western blotting 检测 U251 细胞中 *nNav1.5* 蛋白的表达

收集转染 48 h 的各组细胞,裂解、匀浆,离心后收集上清液,BCA 法测定蛋白浓度后,行 6% SDS-PAGE,转膜,5% 脱脂牛奶封闭,加入兔抗人 *Nav1.5* 多克隆抗体(1:500)于 4 °C 孵育过夜,漂洗后加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗 IgG(1:1 000)摇床室温孵育 2 h,曝光显影,Quanlity One 软件分析 *nNav1.5* 蛋白的表达。

1.7 细胞划痕实验和 Matrigel 侵袭实验检测 U251 细胞迁移和侵袭的能力

1.7.1 细胞划痕实验 取对数生长期 U251 细胞,以每孔 1×10^6 个细胞接种于 6 孔板,常规培养 24 h 后,用 10 μ l 吸液枪头尖(Tip 头)沿着培养板底部划“—”字形划痕,PBS 清洗后拍照记录,在划痕每侧边缘均匀选取 10 个点,取其中线代表划痕边缘,在带有标尺的倒置显微镜下测量细胞划痕间距并记录(0 h);行转染 24 h 后,同法在每侧边缘均匀选取 10 个点后取其中线代表划痕边缘,记录间距(24 h)。细胞迁移距离 = 间距(0 h) - 间距(24 h)。

1.7.2 Transwell 侵袭实验 在 Transwell 下室加入 400 μ l 按 1:1 混合的条件培养基和完全培养基,收集转染 6 h 后的 U251 细胞,调整细胞密度为 1×10^6 /ml,每孔 100 μ l 接种到上室中,每组 3 复孔,常规培养 24 h 后,用湿棉签擦去 Transwell 上室内壁和微孔膜上层的附着细胞,95% 乙醇固定,4 g/L 锥虫蓝溶液染色,倒置显微镜下随机计数 10 个视野侵入滤膜的细胞数,取平均值并计算侵袭指数。

1.8 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 17.0 统计软件分析,多组间比较采用单因素方差分析,两组均数比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 人脑胶质瘤组织中高表达 *nNav1.5* 蛋白

人脑胶质瘤组织免疫组化检测结果如图 1 所示,*nNav1.5* 蛋白在脑胶质瘤和正常对照组织主要在细胞核中表达,*nNav1.5* 在人脑胶质瘤组织中的表达率显著高于正常组织(72.6% vs 23.0%, $P < 0.01$),并且其在高级别胶质瘤(WHO III ~ IV 级)组织中的表达率明显高于低级别胶质瘤(WHO I ~ II 级)组织(85.8% vs 52.9%, $P < 0.01$)。

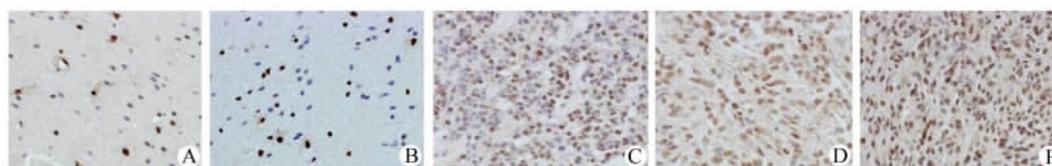


图 1 免疫组织化学法检测正常组织(A)和不同级别胶质瘤(B-E)中 *nNav1.5* 蛋白的表达(S-P, $\times 400$)

Fig. 1 Expression of *nNav1.5* protein in normal brain tissues(A) and gliomas tissues of different grades(B-E) detected by immunohistochemistry(S-P, $\times 400$)

A: Normal; B: WHO I grade; C: WHO II grade; D: WHO III grade; E: WHO IV grade

2.2 siRNA 转染抑制胶质瘤 U251 细胞中 *nNav1.5* mRNA 的表达

Real-time PCR 检测结果如图 2 所示, *nNav1.5* mRNA 的相对表达水平, *nNav1.5*-siRNA 组 (0.418 ± 0.044) 明显低于 Blank 组 (0.978 ± 0.043)、Lipo 2 000 组 (0.989 ± 0.067) 和 siRNA-NC 组 (0.968 ± 0.071)。siRNA 组与 Blank 组比较, *nNav1.5* 的 mRNA 相对表达水平下降 57.3%, 差异有显著统计学意义 ($P < 0.01$); Lipo 2 000 组、siRNA-NC 组分别和 Blank 组比较, 差异无统计学意义。

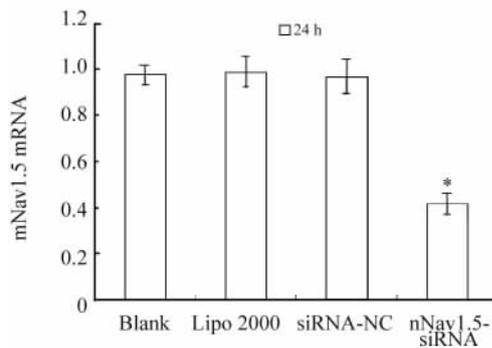


图 2 *nNav1.5*-siRNA 转染后 U251 细胞中 *nNav1.5* mRNA 的表达水平

Fig. 2 Relative expression of *nNav1.5* mRNA in U251 cells after *nNav1.5*-siRNA transfection

* $P < 0.05$ vs Blank group

2.3 siRNA 转染抑制 U251 细胞中 *nNav1.5* 蛋白的表达

Western blotting 结果(图 3)显示, *nNav1.5* 蛋白的相对表达量, *nNav1.5*-siRNA 组 (0.19 ± 0.33) 明显低于 Lipo 2 000 组 (0.53 ± 0.41)、siRNA-NC 组 (0.52 ± 0.39) 和 Blank 组 (0.55 ± 0.39)。 *nNav1.5*-siRNA 组和 Blank 组比较, *nNav1.5* 的蛋白表达量下降 65.5%, 差异有显著统计学意义 ($P < 0.01$); Lipo 2 000 组和 siRNA-NC 组分别和 Blank 组比较, 差异无统计学意义。

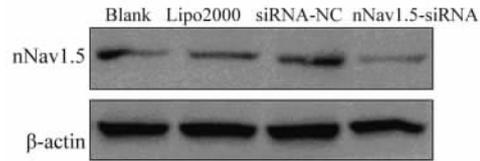


图 3 Western blotting 检测 *nNav1.5*-siRNA 转染 U251 细胞后 *nNav1.5* 蛋白的表达水平

Fig. 3 Expression of *nNav1.5* protein in U251 cells after *nNav1.5*-siRNA transfection detected by Western blotting

2.4 siRNA 转染降低 U251 细胞的迁移能力

细胞划痕实验结果如图 4 所示, 24 h 细胞的迁移距离, *nNav1.5*-siRNA 组 (0.019 ± 0.015) mm 明显小于空白组 (0.223 ± 0.031) mm、Lipo 2 000 组 (0.217 ± 0.013) mm 和 siRNA-NC 组 (0.190 ± 0.027) mm。 *nNav1.5*-siRNA 组与 Blank 组比较, 迁移距离降低 91.5%, 差异有显著统计学意义 ($P < 0.01$); Lipo 2 000 组、siRNA-NC 组分别和 Blank 组比较, 差异无统计学意义。

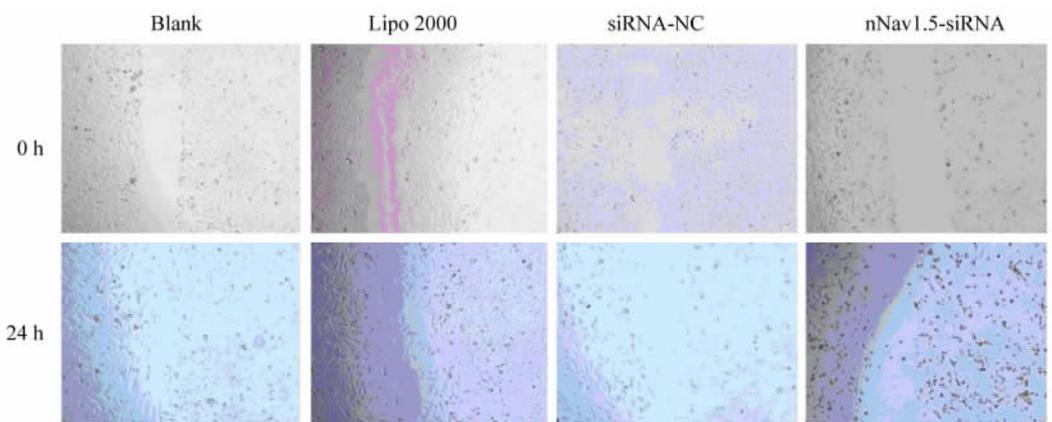


图 4 *nNav1.5*-siRNA 转染后 U251 细胞后迁移力的变化 ($\times 40$)

Fig. 4 Change of metastasis of U251 cells after *nNav1.5*-siRNA transfection ($\times 40$)

2.5 siRNA 转染抑制 U251 细胞的侵袭能力

Transwell 小室侵袭实验结果如图 5 所示, U251

细胞的侵袭指数, *nNav1.5*-siRNA 组 (2.99 ± 0.15)% 明显低于 Blank 组 (6.77 ± 0.26)%、Lipo

2 000组(6.77 ± 0.28)% 和 siRNA-NC 组(6.60 ± 0.33)%。nNav1.5-siRNA 组与 Blank 组比较, 细胞侵袭力降低 55.8%, 差异有显著统计学意义($P <$

0.01); Lipo 2 000 组、siRNA-NC 组分别和 Blank 组比较, 差异无统计学意义。

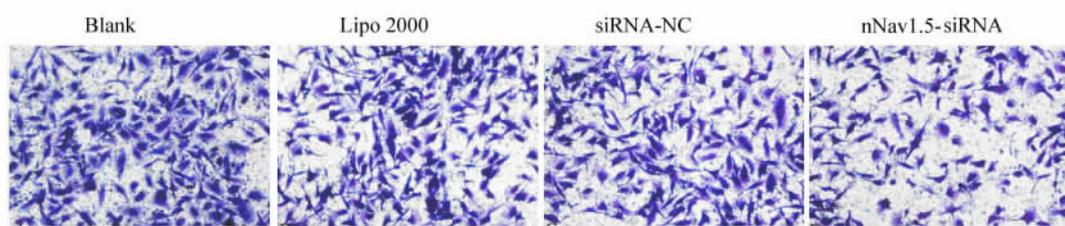


图 5 nNav1.5-siRNA 转染后 U251 细胞侵袭力的变化($\times 100$)

Fig. 5 Change of invasion of U251 cells after nNav1.5-siRNA transfection($\times 100$)

3 讨论

胶质瘤是脑部最常见的恶性肿瘤, 其发病率占颅内肿瘤的 35% ~ 60%, 具有浸润性生长、易复发的特性, 手术难以完全根除或难以手术, 目前的治疗效果不理想, 因此, 寻找新的治疗方法迫在眉睫^[8]。研究表明, VGSC 的活性参与肿瘤细胞的很多生物学行为, 包括肿瘤细胞的直接扩散、横向运动性、趋电性、侵袭性以及细胞膜的分泌活性^[5,9], 其中 VGSC α 亚基可增强多种癌细胞的转移能力^[7,10-19]。

在乳腺癌、前列腺癌和肺癌细胞株中, Na^+ 通道阻滞剂河豚毒素(TTX)抑制细胞侵袭性^[6-7,13-15,19], 所以 VGSC 可能参与肿瘤的转移过程。用 siRNA 沉默 *SCN5A* 基因后, 乳腺癌 MDA-MB-231 细胞在体外的侵袭能力明显降低^[7]。此外, 在针对 *SCN5A* 基因幼稚型剪接变异体的实验中发现, 沉默 *SCN5A* 基因可降低 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力, 这表明在乳腺癌中 *SCN5A* 基因幼稚型变构体, 即 nNav1.5, 其可能是在依赖 VGSC 增强转移能力中起主导作用的亚基^[7]。同样用 siRNA 沉默基因 *SCN8A*(编码亚型 Nav1.6) 和 *SCN9A*(编码亚型 Nav1.7) 表达后, 可降低前列腺癌 PC-3 细胞侵袭能力和内吞噬能力^[20]。在宫颈癌中的研究发现, Nav1.6 的特异性毒素 CN2 可抑制肿瘤细胞的侵袭性^[12]。因此, 在不同的癌细胞中由不同的 α 亚基促进细胞的转移侵袭能力。在对结肠癌侵袭性研究中发现, *SCN5A* 基因是一个关键的调控点^[21]。这表明 VGSC, 特别是 Nav1.5, 可能在调节侵袭的信号机制的初期起着重要作用。下游基因本体类别包括 Wnt 信号转导, 细胞迁移, 外胚层发育, 生物刺激, 类固醇代谢过程, 细胞周期调控等, 这些数据表明, Nav1.5

可直接调节肿瘤细胞的侵袭性^[22]。目前, 国内外对 nNav1.5 在胶质瘤侵袭中作用的研究报道较少。

本研究检测到 nNav1.5 在胶质瘤组织中的表达水平显著升高, 并且在细胞分化程度较低的高级别胶质瘤(III ~ IV 级) 中的表达水平也明显高于其在细胞分化程度较高的低级别胶质瘤(I ~ II 级) 中的表达水平, 表明 nNav1.5 的表达水平和胶质瘤的恶性程度呈正相关性。 Na^+ 通道是细胞活动的动力泵, 在维持细胞分裂等生理活动中起着重要作用, 肿瘤细胞在恶性增殖的过程中必然伴随着细胞核分裂的增加, 而 nNav1.5 在胶质瘤细胞核的高表达, 提示 nNav1.5 可能在胶质瘤细胞的分裂和恶性增殖等过程中起到重要作用。因此我们推测, 在胶质瘤中由 *SCN5A* 编码的新变构体 nNav1.5 是癌基因, 对肿瘤的发生、发展有促进作用。进一步采用 RNA 干扰(RNA interference, RNAi) 技术, 沉默胶质瘤细胞 nNav1.5 基因 *SCN5A* 后, 观察到 nNav1.5 mRNA 及蛋白的表达水平明显下调, 表明实验所用 RNAi 序列特异性地抑制了 nNav1.5 的表达。在后续的实验中发现, siRNA 干扰 nNav1.5 表达后, U251 细胞的侵袭力明显下降, 说明 nNav1.5 在胶质瘤细胞中扮演着促进肿瘤细胞侵袭的角色, 这与已报道的 nNav1.5 在其它肿瘤中的生物学特性一致^[7,23]。为了排除转染介质脂质体对 nNav1.5 表达的影响和对 U251 细胞侵袭的影响, 本实验特设脂质体组, 发现 LipofectamineTM 2 000 对 nNav1.5 的表达和对 U251 细胞的侵袭力无影响。

本研究显示, 特异性下调 nNav1.5 表达后胶质瘤细胞的侵袭能力下降, 这提示 nNav1.5 在胶质瘤的发生、发展过程中起着促进作用, 将可能成为调控脑胶质瘤侵袭的新靶点, 为脑胶质瘤的治疗开辟新

的途径,但是 VGSC 在肿瘤生物学活性中的具体调控机制尚不清楚。

[参 考 文 献]

- [1] 施立海,李建,赵继宗. 人脑胶质瘤高表达 Snail 促进肿瘤细胞的侵袭 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2011, 18(1): 80-83.
- [2] Monk M, Holding C. Human embryonic genes re-expressed in cancer cells [J]. *Oncogene*, 2001, 20(56): 8085-8091.
- [3] Brackenbury WJ. Voltage-gated sodium channels and metastatic disease [J]. *Channels (Austin)*, 2012, 6(5): 352-361.
- [4] Wang J, Ou SW, Wang YJ, et al. New variants of Nav1.5/SCN5A encode Na⁺ channels in the brain [J]. *J Neurogenet*, 2008, 22(1): 57-75.
- [5] Ou SW, Kameyama A, Hao LY, et al. Tetrodotoxin-resistant Na⁺ channels in human neuroblastoma cells are encoded by new variants of Nav1.5/SCN5A [J]. *Eur J Neurosci*, 2005, 22(4): 793-801.
- [6] Fraser SP, Diss JK, Lloyd L, et al. T-lymphocyte invasiveness: Control by voltage-gated Na⁺ channel activity [J]. *FEBS Letters*, 2004, 569(1/3): 191-194.
- [7] Brackenbury WJ, Chioni AM, Diss JK, et al. The neonatal splice variant of Nav1.5 potentiates in vitro metastatic behaviour of MDA-MB-231 human breast cancer cells [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2007, 101(2): 149-160.
- [8] 仇波,吴鹏飞,王勇,等. TRAIL 联合紫杉醇对人脑胶质瘤 U87 细胞的抑制效应及其可能的机制 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2013,1(18): 80-83.
- [9] Onganer PU, Djamgoz MB. Small-cell lung cancer (human): Potentiation of endocytic membrane activity by voltage-gated Na⁺ channel expression in vitro [J]. *J Membr Biol*, 2005, 204(2): 67-75.
- [10] 潘惠艳,赵群,詹阳,等. 电压门控钠离子通道表达对宫颈癌细胞增殖、侵袭转移作用的研究 [J]. 中国肿瘤临床, 2012, 39(4): 189-193.
- [11] Diaz D, Delgadillo DM, Hernandez-Gallegos E, et al. Functional expression of voltage-gated sodium channels in primary cultures of human cervical cancer [J]. *J Cell Physiol*, 2007, 210(2): 469-478.
- [12] Hernandez-Plata E, Ortiz CS, Marquina-Castillo B, et al. Over expression of Na^(v)1.6 channels is associated with the invasion capacity of human cervical cancer [J]. *Int J Cancer*, 2012, 130(9): 2013-2023.
- [13] Roger S, Besson P, Le Guennec JY. Involvement of a novel fast inward sodium current in the invasion capacity of a breast cancer cell line [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1616(2):107-111.
- [14] Carrithers MD, Chatterjee G, Carrithers LM, et al. Regulation of podosome formation in macrophages by a novel splice variant of the sodium channel SCN8A [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(12): 8114-8126.
- [15] Laniado ME, Lalani EN, Fraser SP, et al. Expression and functional analysis of voltage-activated Na⁺ channels in human prostate cancer cell lines and their contribution to invasion in vitro [J]. *Am J Pathol*, 1997, 150(4): 1213-1221.
- [16] Gillet L, Roger S, Besson P, et al. Voltage-gated sodium channel activity promotes cysteine cathepsin-dependent invasiveness and colony growth of human cancer cells [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(13): 8680-8691.
- [17] Jansson KH, Lynch JE, Lepori-Bui N, et al. Overexpression of the VSSC-associated CAM, beta-2, enhances LNCaP cell metastasis associated behavior [J]. *Prostate*, 2012, 72(10): 1080-1092.
- [18] Brackenbury WJ, Djamgoz MB. Activity-dependent regulation of voltage-gated Na⁺ channel expression in Mat-LyLu rat prostate cancer cell line [J]. *J Physiol*, 2006, 573(Pt 2):343-356.
- [19] Onganer PU, Djamgoz MB. Epidermal growth factor potentiates in vitro metastatic behaviour of human prostate cancer PC-3M cells: Involvement of voltage-gated sodium channel [J]. *Mol Cancer*, 2007, 6(1): 76.
- [20] Nakajima T, Kubota N, Tsutsumi T, et al. Eicosapentaenoic acid inhibits voltage-gated sodium channels and invasiveness in prostate cancer cells [J]. *Br J Pharmacol*, 2009, 156(3): 420-431.
- [21] House CD, Vaske CJ, Schwartz AM, et al. Voltage-gated Na⁺ channel SCN5A is a key regulator of a gene transcriptional network that controls colon cancer invasion [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(17): 6957-6967.
- [22] Brisson L, Gillet L, Calaghan S, et al. Na^(V)1.5 enhances breast cancer cell invasiveness by increasing NHE1-dependent H⁽⁺⁾ efflux in caveolae [J]. *Oncogene*, 2011, 30(17): 2070-2076.
- [23] Chioni AM, Shao D, Grose R, et al. Protein kinase A and regulation of neonatal Nav1.5 expression in human breast cancer cells: Activity-dependent positive feedback and cellular migration [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(2): 346-358.

[收稿日期] 2014 - 03 - 01

[修回日期] 2014 - 06 - 30

[本文编辑] 阮芳铭

《 中国肿瘤生物治疗杂志 》 欢迎投稿、欢迎订阅