

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.02.013

· 基础研究 ·

基质金属蛋白酶-3 促进骨肉瘤 MG-63 细胞的增殖、侵袭及其可能的机制

江摩, 郑燕科, 余家明, 徐鹏安, 汤善华(解放军第 184 医院 骨科, 江西 鹰潭 335000)

[摘要] **目的:** 研究基质金属蛋白酶-3(matrix metalloproteinase-3, MMP-3)对骨肉瘤细胞增殖、侵袭的影响,并初步探讨 MMP-3 促进骨肉瘤侵袭和转移的机制。**方法:** 收集 2013 年 1 月 1 日至 2013 年 11 月 1 日期间解放军第 184 医院骨科收治的骨肉瘤患者 40 例和健康人 40 名的血液标本,ELISA 法检测其中 MMP-3 含量,并采用 SPSS 软件分析 MMP-3 含量与骨肉瘤 Enneking 分期的相关性。RT-PCR 分别检测不同骨肉瘤细胞株 U2-OS、HOS-143b、MG-63 中 MMP-3 的表达。MTT 法、Transwell 侵袭实验观察 50、100、200 ng/ml MMP-3 刺激或转入 MMP-3- shRNA 慢病毒(MOI = 50、100、200)对 MG-63 细胞增殖和侵袭的影响,Western blotting 方法检测 MMP-3 过表达或沉默对 MG-63 细胞中侵袭、转移相关的蛋白 p-AKT、核蛋白 NF-κB 表达的影响。**结果:** 骨肉瘤患者血清中 MMP-3 的含量高于正常人($F = 186.4, P = 0.000$);且 MMP-3 含量与骨肉瘤 Enneking 分期成正相关($r = 0.736, P = 0.043$)。与其他 3 株细胞相比, MG-63 细胞株中 MMP-3 表达最高($t = 5.12, P < 0.05$)。MMP-3 刺激导致 MG-63 细胞内 MMP-3 过表达, p-AKT 和核内 NF-κB 表达升高,并促进 MG-63 细胞的增殖和侵袭;转入 MMP-3- shRNA 慢病毒导致 MMP-3 表达沉默, p-AKT 和核内 NF-κB 表达降低,抑制 MG-63 细胞的增殖和侵袭。**结论:** MMP-3 可能通过增加 AKT 磷酸化水平和促进 NF-κB 核转位来促进骨肉瘤细胞的增殖和侵袭。

[关键词] 基质金属蛋白酶-3;骨肉瘤;MG-63 细胞;侵袭;增殖;AKT 磷酸化;NF-κB 核转位

[中图分类号] R738.1;R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)02-0214-06

Matrix metalloproteinase-3 promotes the proliferation and invasion of osteosarcoma MG-63 cells and its possible mechanism

Jiang Mo, Zhen Yanke, Yu Jiaming, Xu Peng'an, Tang Shanhua (Department of Orthopedic, No. 184 Hospital of PLA, Yingtan 335000, Jiangxi, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the influence and the mechanism of matrix metalloproteinase-3 (MMP-3) on invasion and metastasis of osteosarcoma. **Methods:** 40 cases of patients with osteosarcoma in No. 184 Hospital of PLA from January 1, 2013 to November 1, 2013 and 40 cases of healthy people were collected, and the serum of the patients with osteosarcoma and the healthy people were collected and the content of MMP-3 was detected with ELISA. And, the correlation between MMP-3 and the pathogenesis of osteosarcoma was also analyzed by SPSS. The mRNA levels of MMP-3 were detected by the method of RT-PCR in different osteosarcoma cell lines such as U2-OS, HOS-143b, MG-63 cell lines. The proliferation of MG-63 after given different concentration of MMP-3 or knockdown MMP-3 was detected using MTT assay. And the invasion ability was detected by Transwell. Finally, the MMP-3 promotes the invasion and metastasis related proteins of osteosarcoma such as p-AKT, NF-κB were detected by Western blotting. **Results:** MMP-3 was highly expression in the serum of the patients with osteosarcoma ($F = 186.4, P = 0.000$), and there was a strong positive correlation between MMP-3 expression and Enneking stage in osteosarcoma ($r = 0.736, P = 0.043$). MMP-3 was highly expression in the cell lines of MG-63 ($P < 0.05$). The overexpression of MMP-3 stimulated by MMP-3 cultivation increased the expression of p-AKT and the intranuclear NF-κB, then promoted the proliferation and invasion ability of MG-63 cells ($P < 0.05$); In contrast, MMP-3- shRNA transfection knockdown the MMP-3, result in reduction of the expression of p-AKT and the intranuclear NF-κB, then suppressed the proliferation and invasion ability of MG-63 cells ($P < 0.05$). **Conclusion:**

[基金项目] 江西省科技计划资助项目(No. 20121BBG70038)。Project supported by the Science and Technology Project of Jiangxi Province (No. 20121BBG70038)

[作者简介] 江摩(1982-),江西省余干县人,硕士,主要从事骨肿瘤基础及临床研究,E-mail:jiangmoqq123@163.com

[通信作者] 郑燕科(Zheng Yanke, corresponding author),E-mail:zhengyanke@126.com

MMP-3 promotes the invasion and metastasis of osteosarcoma may via increasing the phosphorylation of AKT and promoting the translocation of NF- κ B1.

[**Keywords**] matrix metalloproteinase-3; osteosarcoma; MG-63 cell; invasion; proliferation; phosphorylation of AKT; translocation of NF- κ B

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(2): 214-219]

骨肉瘤是骨恶性肿瘤中最多见的一种,常发生于 20 岁以下的青少年或儿童,在小儿骨恶性肿瘤中最多见,约占小儿肿瘤的 5%^[1]。基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 是一组锌与钙离子依赖性的肽链内切酶,参与许多生理病理过程,如胚胎发育、形态形成、再生与组织愈合、关节炎、癌症以及心血管疾病等^[2-4]。在骨肉瘤的发生发展过程中, MMP-3 常过度表达,并通过对细胞外基质和基底膜中不同成分的降解导致骨肉瘤细胞逐步侵袭,最终向肺等部位侵袭转移^[5]。MMP 参与机体生物学功能与 NF- κ B 的活化转位^[6-8,12-13] 和 AKT 磷酸化^[7-9] 密切相关。本研究通过 MMP-3 对于骨肉瘤细胞迁移、侵袭以及增殖影响的体外研究,观察 MMP-3 对骨肉瘤侵袭转移的影响,并初步探索 MMP-3 促进骨肉瘤侵袭转移的机制。

1 材料与方法

1.1 标本来源

选取 2013 年 1 月 1 日至 2013 年 11 月 1 日解放军第 184 医院骨科收治的骨肉瘤患者 40 例,其中男 18 例、女 22 例,年龄 19 ~ 23 岁,平均年龄 (20.23 ± 1.23) 岁。Enneking 分期: I 期 8 例, IIa 期 9 例, IIb 期 11 例, III 期 12 例。选取同期我院健康体检者 40 名,作为对照组。男、女各 20 例,年龄 19-23 岁,平均年龄 (21.46 ± 2.43) 岁。两组研究对象在性别比、年龄范围、年龄方面差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 且研究对象无其他病理因素。根据医学伦理学原则,本研究通过医院伦理委员会审查,研究对象均签署知情同意书。

1.2 主要试剂及仪器

MMP-3 与 18sRNA 引物购自上海捷瑞生物引物设计公司。U2-OS、HOS-143b、MG-63 骨肉瘤细胞株来源于 ATCC。MMP-3 ELISA 试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司, BCA 试剂盒购于江苏碧云天生物研究所。MMP-3-shRNA 慢病毒和对照载体 GFP 购于上海生博生物医药科技有限公司, 抗 MMP-3、NF- κ B1 抗体购自 CST 公司, NF- κ B1 细胞核蛋白提取试剂盒购自 Thermo 公司, RNA 提取试剂盒购于北京北京索莱宝科技有限公司。实时定量

PCR 仪购自 Applied Biosystems 公司, 电子显微镜购自尼康公司。

1.3 标本采集与保存

受试骨肉瘤患者及对照组健康体检者在取血前 12 h 禁食, 于清晨空腹抽取静脉血, 装在有肝素抗凝的离心管中, 混匀, 3 600 × *g* 离心 10 min, 收集血清保存于 -80℃。采用 ELISA 检测 MMP-3 含量: 将不同浓度的标准品各 0.1 ml 依次加入一排 7 孔中, 加入稀释的待检测样品 0.1 ml, 置于 37℃ 孵育 90 min。将抗体工作液按每孔 0.1 ml 依次加入, 置于 37℃ 孵育 60 min, 用 PBS 洗涤 3 次; 将 ABC 工作液按每孔 0.1 ml 依次加入, 置于 37℃ 孵育 30 min, 用 PBS 洗涤 5 次; 按每孔 90 μl 依次加入 TMB 显色液, 置于 37℃ 避光反应 15 ~ 20 min; 加入 TMB 终止液, 酶标仪在波长 450 nm 处测定光密度。

1.4 细胞培养与慢病毒载体转染

骨肉瘤细胞 U2-OS、HOS-143b 和 MG-63 培养于含 10% FBS 的 HDMEM 高糖培养基中, 置于 37℃、5% CO₂ 细胞培养箱内培养。取对数期细胞, 换无血清培养基培养 6 h 后, 转入 MMP-3-shRNA 慢病毒和对照载体 GFP, 继续培养 6 h, 弃培养基, 加入含 10% FBS 的 HDMEM 高糖培养基继续培养 48 h。

1.5 RT-PCR 检测 MMP-3 mRNA 在 3 种骨肉瘤细胞株内的表达

取对数生长期骨肉瘤细胞 U2-OS、HOS-143b 和 MG-63, 按照 RNA 提取试剂盒操作说明提取 RNA。按照 RT-PCR 试剂盒说明操作, 反应条件: 94℃ 变性 5 min, 94℃ 30 s, 58℃ 45 s, 72℃ 30 s, 共 40 个循环; 循环结束后, 72℃ 延伸 10 min。所用引物序列: MMP-3 上游引物为 5'-agtttgetcagcctatcc-3', 下游引物为 3'-tttgggtggaatgtatgt-5'; 18sRNA 上游引物为 5'-agtccctgcccttgacaca-3', 下游引物为 3'-gatcgcgagggctcactaac-5'。采用 Image J 软件分析 MMP-3 的 mRNA 亮度值, 并以 18sRNA 的 mRNA 亮度值作为参照, 计算 MMP-3 mRNA 表达的相对值。

1.6 MMP-3 刺激与 MMP-3-shRNA 慢病毒干扰

MMP-3 刺激: 向 MG-63 细胞培养体系中加入 MMP-3 (50、100、200 ng/ml), 继续培养 48 h, 收集细胞用于后续实验。

MMP-3-shRNA 慢病毒干扰: MG-63 细胞用无血清培养基饥饿处理 6 h, 分别转入 MMP-3-shRNA 慢病毒(MOI = 50、100、200), 继续培养 6 h, 更换新鲜培养基, 继续培养 48 h, 收集细胞用于后续实验。

1.7 MTT 法检测 MMP-3 刺激和 MMP-3-shRNA 慢病毒干扰对 MG-63 细胞增殖的影响

取经 MMP-3(50、100、200 ng/ml)处理的 MG-63 细胞, 每孔加入 20 μ l 0.5% 的 MTT 溶液, 培养 4 h。然后, 每孔加入 150 μ l DMSO, 振荡 10 min, 使结晶物充分溶解。用酶联免疫检测仪检测波长 570 nm 处各孔的光密度(*D*)值。做 *D* 值与细胞数的标准曲线, 根据标准曲线计算每孔细胞数。实验重复 3 次。

取经 MMP-3-shRNA 慢病毒干扰(MOI = 50、100、200)的 MG-63 细胞, 行 MTT 实验, 步骤同上。

1.8 Transwell 侵袭实验检测 MMP-3 表达对 MG-63 细胞侵袭能力的影响

将 50 mg/L Matrigel 胶预冷为液态, 在冰上将无血清培养基与 Matrigel 胶 1:8 混合稀释, 混匀后按每孔 20 μ l 加入 Transwell 小室中, 在室温条件下风干 5 h。在 Transwell 培养板(24 孔、孔径 8.0 μ m)中, 每孔加入 100 μ l 无血清培养基水化基底膜, 在 37 $^{\circ}$ C 温箱中放置 30 min。取 MMP-3 刺激的 MG-63 细胞、MMP-3 慢病毒干扰后的细胞和正常细胞, 调整细胞密度为 2.5×10^5 个/ml, 各取 200 μ l 分别加入小室内, 底部培养室内加入 500 μ l 含 20% FBS 的高糖完全培养基, 在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下培养 12 h。弃去小室内液体, 用棉棒擦掉小室底部内面细胞, 将小室浸入 95% 乙醇固定 5 min, 加入 4 g/L 结晶紫 200 μ l 染色 10 min。计算每个视野细胞平均数(细胞平均数 = 100 小格内细胞个数/稀释倍数)。实验重复 3 次。

1.9 Western blotting 检测 MMP-3 刺激和 MMP-3-shRNA 转染对 MG-63 细胞 MMP-3 表达的影响

取经 MMP-3 刺激和 MMP-3-shRNA 转染的 MG-63 细胞, 分别采用 BCA 试剂盒对样品中的总蛋白进行定量, 每个样品取 60 μ g 蛋白用 Western blotting 方法分别检测不同浓度 MMP-3 刺激和不同剂量 shRNA 干扰后 MG-63 细胞中 MMP-3 和 p-AKT 表达。用自动显影仪显影, 并用 Image J 软件分析条带灰度。每组实验重复 3 次。

1.10 MG-63 细胞核蛋白的提取及 MMP-3 水平对 NF- κ B1 蛋白表达的影响

MG-63 细胞经 100 ng/ml MMP-3 刺激 48 h 或转染 MMP-3-shRNA(MOI = 50)后收集贴壁细胞, 500 \times g 离心 5 min, 用 PBS 悬浮细胞并转移至 EP 管

中, 离心后吸去上清液, 加入 100 μ l 冰冷 CER1 试剂, 混匀 15 s, 使细胞充分悬浮, 置冰上孵育 10 min, 加入 5.5 μ l 冰冷 CER2 试剂, 涡旋混匀 5 s, 16 000 \times g 离心 5 min, 立即将弃上清, 向沉淀中加入 50 μ l 冰冷 NER 试剂, 混匀 15 s, 样品置冰上, 每 10 min 涡旋混匀 15 s, 共 40 min, 最后离心取得上清液即为胞核蛋白。核蛋白样品采用 Western blotting 检测细胞核 NF- κ B1 的表达。实验重复 3 次。

1.11 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计软件, 数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验或单因素方差分析, 相关性分析采用 spearman 等级相关分析, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MMP-3 在不同人群血清中和不同骨肉瘤细胞株中的表达

ELISA 法检测(图 1A)显示, I 期、II a 期、II b 期和 III 期骨肉瘤患者血清中 MMP-3 含量均高于健康人血清中的 MMP-3 含量[(156.4 \pm 8.54)、(215.63 \pm 15.68)、(273.63 \pm 35.52)、(463.15 \pm 34.48) vs (52.14 \pm 3.57) ng/ml; $F = 186.4$, $P = 0.000$], 且血清 MMP-3 含量与骨肉瘤 Enneking 分期成正相关($r = 0.736$, $P = 0.043$)。

在 U2-OS、HOS-143b、MG-63 三种骨肉瘤细胞株中, MG-63 骨肉瘤细胞株是分化程度最低、恶性程度最高的细胞株。RT-PCR 结果(图 1B)显示, MMP-3 在三株骨肉瘤细胞中均有表达, 在 MG-63 细胞中的表达水平显著高于 U2-OS 和 HOS-143b 细胞(1.65 \pm 0.24 vs 1.24 \pm 0.25、0.67 \pm 0.22, 均 $P < 0.05$), 因此选择 MG-63 细胞进行后续实验。

2.2 MMP-3 刺激促进 MG-63 细胞 MMP-3 的表达和增殖、侵袭能力

Western blotting 检测结果(图 2A)显示, 加入不同浓度 MMP-3 培养 48 h 后, MG-63 细胞内 MMP-3 表达均上调(均 $P < 0.05$); 同时, MTT 检测结果显示, 加入 50 [(22 500 \pm 1 200) 个细胞, $t = 3.12$, $P < 0.05$]、100 [(27 360 \pm 980) 个细胞, $t = 3.58$, $P < 0.05$]、200 ng/ml [(20 960 \pm 1 320) 个, $t = 2.77$, $P < 0.05$] 的 MMP-3 刺激 48 h 后, 活细胞数量均显著高于对照组的(15 236 \pm 3 120) 个细胞。

Transwell 侵袭实验结果(图 2B)显示, 对照组细胞穿膜数为(457 \pm 39) 个, 显著低于 MMP-3 50 ng/ml 组 [(662 \pm 65) 个, $t = 2.33$, $P < 0.05$]、100 ng/ml 组 [(750 \pm 62) 个, $t = 4.56$, $P < 0.05$] 和 200

ng/ml 组[(680 ± 77)个, $t = 4.17$ 、 $P < 0.05$]。

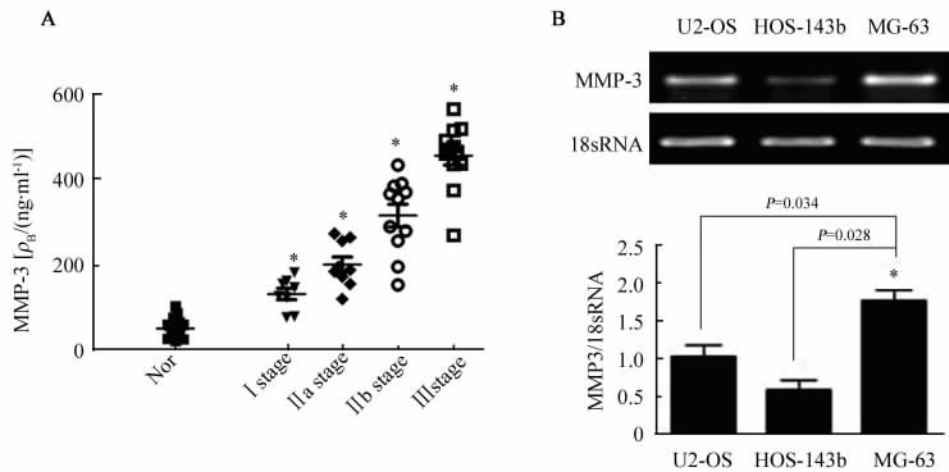


图1 MMP-3在健康人血清、骨肉瘤患者血清和不同骨肉瘤细胞株中的表达情况

Fig. 1 Expression of MMP-3 in the serum of normal people and patients with osteosarcoma and different osteosarcoma cell lines

A: The levels of MMP-3 in normal people and different stages of patients with osteosarcoma were tested by ELISA method

* $P < 0.05$ vs Nor group; B: The expression of MMP-3 in different osteosarcoma cell lines was analyzed

by RT-PCR. * $P < 0.05$ vs MG-63 ($n = 6$)

2.3 敲除 MMP-3 降低 MG-63 细胞 MMP-3 表达和增殖、侵袭能力

Western blotting 检测结果(图 3A)显示,用不同 MOI 的 MMP-3-shRNA 感染后, MG-63 细胞内 MMP-3 表达均降低(均 $P < 0.01$);同时, MTT 检测结果显示, MMP-3-shRNA 以 MOI = 50 [(7 500 ± 1 100)个, $t = 2.12$ 、 $P = 0.038$]、100 [(6 260 ± 990)个细胞, $t = 2.58$ 、 $P = 0.026$]、200 [(5 920 ± 1 020)个细胞, $t = 3.74$ 、 $P = 0.015$]感染 MG-63 细胞后,活细胞数均高于对照组的(10 050 ± 120)个细胞。

Transwell 侵袭实验结果(图 3B)显示,对照组细胞穿膜数为(457 ± 39)个细胞,显著高于 MOI = 50 组 [(225 ± 19)个细胞, $t = 5.14$ 、 $P = 0.006$]、MOI = 100 组 [(183 ± 27)个细胞, $t = 4.15$ 、 $P = 0.004$]和 MOI = 200 组 [(127 ± 24)个细胞, $t = 4.22$ 、 $P = 0.000$]。

2.4 MMP-3 促进 MG-63 细胞内 P-AKT 表达和核 NF-κB1 蛋白转位

经 100 ng/ml MMP-3 刺激 48 h 后, MG-63 细胞内 p-AKTb 表达显著高于对照组(1.89 ± 0.23 vs 0.92 ± 0.08, $P = 0.038$)(图 4A),核蛋白 NF-κB1 也显著高于对照组(0.96 ± 0.05 vs 0.53 ± 0.26, $P = 0.026$)(图 4B);沉默 MMP-3 后, MG-63 细胞内 p-AKTb 表达较对照组显著降低(0.51 ± 0.08 vs 0.92 ± 0.08, $P = 0.032$)(图 4C),核蛋白 NF-κB1

也显著低对照组(0.58 ± 0.01 vs 1.58 ± 0.26, $P = 0.043$)(图 4D)。

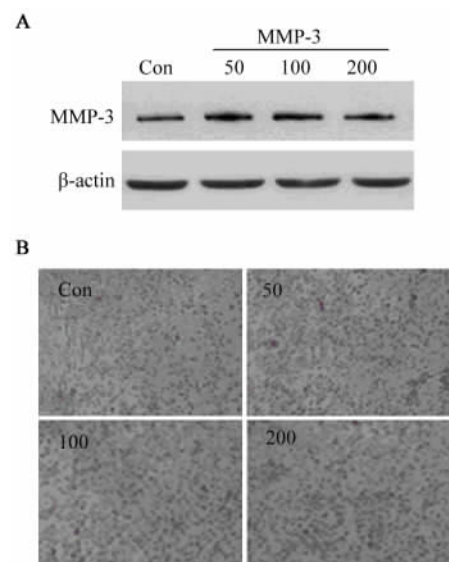


图2 MMP-3 刺激促进 MG-63 细胞 MMP-3 表达和增殖、侵袭能力

Fig. 2 MMP-3 promoted the MMP-3 expression, proliferation and invasion of MG-63 cells

A: Expression of MMP-3 in MG-63 cells after treated with MMP-3 in different concentrations (50, 100, 200 ng/ml) for 48 h. * $P < 0.05$ vs control group ($n = 3$);

B: Representative images of cell invasion (crystal violet staining, × 200)

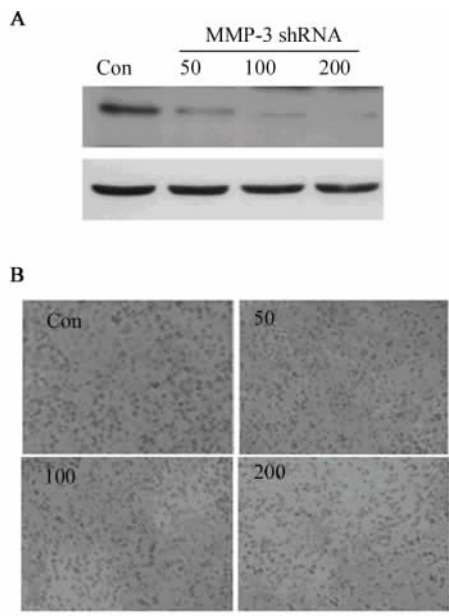


图3 MMP-3 沉默抑制 MG-63 细胞 MMP-3 表达和增殖、侵袭能力

Fig. 3 MMP-3 silencing inhibited the MMP-3 expression, proliferation and invasion of MG-63 cells

A: Expression of MMP-3 in MG-63 cells transiently transfected with Ad-MMP-3 shRNA;
 B: Representative images of cell invasion (crystal violet staining, ×200)

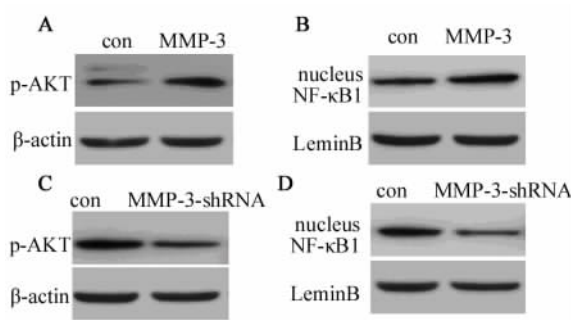


图4 MMP-3 表达对 AKT 磷酸化和 NF-κB1 蛋白转位的影响
 Fig. 4 Effect of MMP-3 expression on the phosphorylations level of AKT and NF-κB1 translocation

A: The phosphorylations level of AKT in MG-63 cells after treated with 100 ng/ml MMP-3 for 48 h;
 B: MMP-3 promoted the nuclear expression of NF-κB1 protein;
 C: Expression of p-AKT in MG-63 cells transiently transfected with Ad-MMP-3 shRNA;D: Depletion of MMP-3 inhibited the nuclear expression of NF-κB1 protein

3 讨论

骨肉瘤是常发生于青少年的恶性骨肿瘤,而青

少年血运因子(IGF-1、VEGF、MMP 和 EGF 等)表达丰富,导致骨肉瘤生长和转移较快、恶性程度高、预后差^[10]。本研究发现,在骨肉瘤患者血清中 MMP-3 含量高于健康人($P < 0.05$),且血清 MMP-3 含量与骨肉瘤 Enneking 分期成正相关。为验证 MMP-3 和骨肉瘤发生发展的关系,本研究采用 RT-PCR 检测到 MMP-3 在 U2-OS、HOS-143b、MG-63 骨肉瘤细胞中均有表达,且在分化程度最低、恶性程度最高的 MG-63 细胞表达最高,故选择 MG-63 细胞作为实验细胞。有报道^[6-8] MMP 能促进肿瘤细胞迁移侵袭。本研究也发现, MMP-3 刺激 MG-63 细胞能使其增殖加快、侵袭力增强;反之,敲除 MMP-3 后 MG-63 细胞增殖减慢、侵袭力降低。

MMP 能促进肿瘤细胞侵袭与其上游基因 NF-κB 活化转位相关^[6-8,12-13], NF-κB 活化转位能促进肿瘤细胞增殖与迁移^[14-17]。研究^[18]发现, PI3K-AKT 信号通路能被 MMP-3 激活,而 PI3K-AKT 信号的持续激活能使肿瘤细胞无限增殖。PI3K-AKT 信号的持续激活又能促使核因子-κB 激酶抑制剂(inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase, IKK)激活,介导核因子 κB 抑制蛋白 IκBα 磷酸化和降解,从而激活 NF-κB^[11,19-21],这是 NF-κB 依赖的基因转录的重要调节因素^[7-9]。本研究发现,过表达 MMP-3 能增加 AKT 磷酸化水平,促进 NF-κB 核转位;而沉默 MMP-3 能降低 AKT 磷酸化水平,抑制 NF-κB 核转位。推测 MMP-3 可能是通过 AKT/NF-κB 通路参与调控骨肉瘤细胞的增殖以及侵袭、转移。

综上所述,骨肉瘤患者血清中 MMP-3 含量高于健康人,其可能通过 AKT/NF-κB 途径影响 MG-63 细胞的增殖和侵袭,从而参与调控骨肉瘤发生发展。因此, MMP-3 是骨肉瘤的潜在治疗靶点之一。

[参 考 文 献]

- [1] Kupeli S, Varan A, Akyuz C, et al. Maxillofacial osteosarcoma successfully treated with surgery and adjuvant chemotherapy in a child [J]. Bratisl Lek Listy, 2012, 113(11): 661-663.
- [2] Zhu M, Tang D, Wu Q, et al. Activation of beta-catenin signaling in articular chondrocytes leads to osteoarthritis-like phenotype in adult beta-catenin conditional activation mice [J]. J Bone Miner Res, 2009, 24(1): 12-21.
- [3] Meng L, Yu B. Oxygen-and glucose-deprived culture promotes cell proliferation and invasion of vascular smooth muscle cells [J]. Int J Mol Med, 2011, 28(5): 777-783.
- [4] Yang N, Hui L, Wang Y, et al. SOX2 promotes the migration and invasion of laryngeal cancer cells by induction of MMP-2 via the PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. Oncol Rep, 2014, 31(6): 2651-2659.

- [5] Wang XF, Wang J. Icaritin suppresses the proliferation of human osteosarcoma cells in vitro by increasing apoptosis and decreasing MMP expression [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2014, 35(4): 531-539.
- [6] Li Z, Guo Y, Jiang H, et al. Differential regulation of MMPs by E2F1, Sp1 and NF-kappa B controls the small cell lung cancer invasive phenotype [J/OL]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 276. [2014-10-30]. <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/14/276>.
- [7] Chu SC, Hsieh YS, Hsu LS, et al. Rubus idaeus L inhibits invasion potential of human A549 lung cancer cells by suppression epithelial-to-mesenchymal transition and AKT pathway in vitro and reduces tumor growth in vivo [J]. *Integr Cancer Ther*, 2013, 13(3): 259-273.
- [8] Li C, Li F, Zhao K, et al. LFG-500 inhibits the invasion of cancer cells via down-regulation of PI3K/AKT/NF-κB signaling pathway [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(3): e91332.
- [9] Shrimali D, Shanmugam MK, Kumar AP, et al. Targeted abrogation of diverse signal transduction cascades by emodin for the treatment of inflammatory disorders and cancer [J]. *Cancer Lett*, 2013, 341(2): 139-149.
- [10] 包俊杰, 麦威, 于宏伟, 等. 骨肉瘤组织 SRp20 蛋白表达及其临床意义的初步研究 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2012, 19(7): 518-521.
- [11] 隋华, 付晓伶, 潘树芳, 等. PI3K/AKT/NF-κB 通路调控 ABCB1/P-gp 介导的人结肠癌细胞多药耐药的研究 [J]. *中国癌症杂志*, 2014, 24(2): 106-111.
- [12] 严建平, 李亚清, 钟晖, 等. 慢病毒介导的解整合素-金属蛋白酶 17RNA 干扰对气道上皮细胞 MMP-9 表达及 NF-κB 活性的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2014, 30(4): 559-565.
- [13] 陈章荣, 吴新华, 罗开良, 等. PDTC 对大鼠心肌梗死后 NF-κB 与 MMP-2 表达及心肌胶原重塑的影响 [J]. *重庆医学*, 2013, 42(25): 3004-3007.
- [14] Zhao Z, Wu MS, Zou C, et al. Downregulation of MCT1 inhibits tumor growth, metastasis and enhances chemotherapeutic efficacy in osteosarcoma through regulation of the NF-κB pathway [J]. *Cancer Lett*, 2014, 342(1): 150-158.
- [15] Tan MY, Mu XY, Liu B, et al. SUMO-specific protease 2 suppresses cell migration and invasion through inhibiting the expression of MMP13 in bladder cancer cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32(3): 542-548.
- [16] Gavert N, Shvab A, Sheffer M, et al. c-Kit is suppressed in human colon cancer tissue and contributes to L1-mediated metastasis [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(18): 5754-5763.
- [17] Liu W, Zhou J, Geng G, et al. Synthesis and in vitro characterization of ionone-based compounds as dual inhibitors of the androgen receptor and NF-κB [J]. *Invest New Drugs*, 2014, 32(2): 227-234.
- [18] Pelletier J, Graff J, Ruggero D, et al. Targeting the eIF4F translation initiation complex: A critical nexus for cancer development [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(2): 250-263.
- [19] Durand D, Carniglia L, Caruso C, et al. Reduced cAMP, AKT activation and p65-c-Rel dimerization: mechanisms involved in the protective effects of mGluR3 agonists in cultured astrocytes [J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(7): e22235.
- [20] Singh M, Singh R, Bhui K, et al. Tea polyphenols induce apoptosis through mitochondrial pathway and by inhibiting nuclear factor-kappaB and AKT activation in human cervical cancer cells [J]. *Oncol Res*, 2011, 19(6): 245-257.
- [21] Zhu X, Zhou F, Qin D, et al. Human immunodeficiency virus type 1 induces lytic cycle replication of Kaposi's-sarcoma-associated herpesvirus: Role of Ras/c-Raf/MEK1/2, PI3K/AKT, and NF-κB signaling pathways [J]. *J Mol Biol*, 2011, 410(5): 1035-1051.

[收稿日期] 2014 - 12 - 05

[修回日期] 2015 - 03 - 07

[本文编辑] 黄静怡

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中须写成斜体的外文字符

在科技文稿中出现许多外文字符,它们有的是正体、有的是斜体。正体和斜体外文字符各有其特定含义和用法,切不可混淆使用。现根据有关标准和规则,把生物医学文稿中须要写成斜体的外文字符归纳为以下几类:

(1) 生物学中拉丁学名的属名和种名(包括亚属、亚种、变种)应斜体,例如大肠杆菌 *Escherichia coli*、幽门螺杆菌 *Helicobacter pylori* 等。(2) 各种基因的缩写符号应斜体(基因表达产物缩写符号应写成正体),例如人脆性 X 智力低下基因 1 的符号为 *FMRI*、原癌基因 *RAF1*(人)、病毒癌基因 *v-raf-1*(鼠)、抑癌基因 *p53*(鼠)等。(3) 限制性内切核酸酶缩写符号中前 3 个字母应斜体,例如 *Hind* III、*Bam*HI、*Sal*I 等。(4) 各种统计学符号应斜体,例如样本数 *n*、均数 \bar{x} 、样本差 *s*、*t* 检验、*F* 检验、概率 *P*、相关系数 *r* 等。(5) 各种物理量的量符号应斜体(*pH* 用正体除外),例如长度 *l*、面积 *A*(或 *S*)、体积 *V*、质量 *m*、时间 *t*、压力 *p*、相对分子质量 *M_r*、物质的量浓度 *c_B* 等。(6) 化学中表示旋光性、分子构型、构象、取代基等符号应斜体,例如左旋 *L*-、右旋 *D*-、邻位 *o*-、对位 *p*-、反式 *trans*-、顺式 *cis*- 等。(7) 数学中用字母表示的变数和一般函数应斜体。(8) 英文中使用的某些拉丁词应斜体,例如 *vs*、*in situ*、*in vivo*、*in vitro* 等。

(本刊编辑部)