

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.04.004

· 基础研究 ·

## *Bin1* 基因通过 NF- $\kappa$ B 途径抑制非小细胞肺癌 A549 细胞的迁移和侵袭能力

王佳丽, 张翔宇, 邓佳, 韩晓楠, 王雪晓, 贾云龙, 刘丽华(河北医科大学第四医院 生物治疗科, 河北 石家庄 050035)

**[摘要]** **目的:** 研究桥接整合因子1 (bridging intergrator-1, *Bin1*) 基因过表达对非小细胞肺癌细胞株 A549 细胞迁移和侵袭能力的影响, 并初步探讨其作用机制。 **方法:** 通过基因转染技术, 利用阳离子脂质体将含有人全长 *Bin1* 基因序列的真核表达质粒 CMV-MCS-GFP-SV40-Neomycin-*Bin1* 转染到 A549 细胞株, 分别设置空白对照组及空质粒转染组, 利用 RT-PCR 和 Western blotting 分别检测各处理组细胞中 *Bin1* 基因和蛋白表达水平。通过细胞划痕实验、Transwell 侵袭实验分别检测 *Bin1* 过表达对 A549 细胞迁移、侵袭能力的影响; Western blotting 实验检测 *Bin1* 过表达对 A549 细胞内 NF- $\kappa$ B 磷酸化水平和迁移相关蛋白 E-钙黏着蛋白、N-钙黏着蛋白、MMP-9 表达水平的影响。 **结果:** 与空白对照组和空质粒转染组相比, *Bin1* 转染组 A549 细胞中 *Bin1* 基因和蛋白表达水平均明显升高 ( $P < 0.05$ ); *Bin1* 转染组细胞迁移、侵袭能力均较空白质粒组和空白对照组明显下降 [穿膜细胞数: (50.50  $\pm$  3.15) vs (124.00  $\pm$  4.25), (130.00  $\pm$  4.37) 个; 均  $P < 0.05$ ]; 与空白转染组和空白对照组相比, *Bin1* 转染组细胞内 NF- $\kappa$ B 表达水平明显上调 ( $P < 0.05$ ) 而 p-NF- $\kappa$ B 表达明显下调 ( $P < 0.05$ ), N-钙黏着蛋白、MPP-9 明显下调 ( $P < 0.05$ ), E-钙黏着蛋白明显上调 ( $P < 0.05$ )。 **结论:** *Bin1* 过表达可以抑制 A549 细胞的迁移及侵袭能力, 其机制可能与 NF- $\kappa$ B 途径的失活及细胞迁移侵袭相关蛋白表达变化有关。

**[关键词]** 非小细胞肺癌; A549 细胞; 桥接整合因子 1 基因; 迁移; 侵袭; NF- $\kappa$ B

**[中图分类号]** R734.2; R730.54

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2016)04-0481-05

## *Bin1* gene inhibit migration and invasion abilities of non-small cell lung cancer A549 cell through NF- $\kappa$ B pathway

WANG Jiali, ZHANG Xiangyu, DENG Jia, HAN Xiaonan, WANG Xuexiao, JIA Yunlong, LIU Lihua (Department of Biotherapy, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shi jiazhuang 050035, Hebei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of bridging intergrator-1 (*Bin1*) gene over-expression on migration and invasion abilities of non-small cell lung cancer A549 line cell, and initially discuss mechanism of its action. **Methods:** Eukaryotic expression plasmid CMV-MCS-GFP-SV40-Neomycin-*Bin1* containing full length *Bin1* gene sequence was transfected into the A549 cell using cationic liposomes and gene transfection technology (as *Bin1* transfection group), as well as blank control and empty plasmid transfection groups were set up. Expressions of *Bin1* mRNA and protein in various treatment groups were detected with RT-PCR and Western blotting assays. Effects of *Bin1* over-expression on migration and invasion abilities of the A549 cell were examined by scarification and Transwell invasion tests respectively. Western blotting assay was used to detect effects of *Bin1* over-expression on NF- $\kappa$ B phosphorylation level and expressions of migration-related proteins, E-cadherin, N-cadherin and MMP-9, in the A549 cell. **Results:** Comparing with blank control and empty plasmid transfection groups, expressions of *Bin1* mRNA and protein in the A549 cell of *Bin1* transfection group increased significantly (all  $P < 0.05$ ). Cell abilities of migration and invasion in *Bin1* transfection group were significantly lower than those in empty plasmid transfection and blank control groups (number of penetrating cells: [50.50  $\pm$  3.15] vs [124.00  $\pm$  4.25], [130.00  $\pm$  4.37], all  $P < 0.05$ ). In the A549 cell of *Bin1* transfection group, expressions of NF- $\kappa$ B

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年科学基金资助项目(No. 81201607); 河北省杰出青年基金资助项目(No. H2014206320); 河北省高层次人才培养项目资助(No. A201401040)。Project supported by the Young Scientists Foudation of the National Natural Science Foudation of China(No. 81201607), the Outstanding Youth Foudation of Hebei Province(No. H2014206320), and the Training Foundation of High Level Talents of Hebei Province(No. A201401040)

**[作者简介]** 王佳丽(1990-), 女, 河北省沧州市人, 研究生, 主要从事肿瘤生物治疗的临床与基础研究, E-mail: wangjiali91@163.com

**[通信作者]** 刘丽华(LIU Lihua, corresponding author), E-mail: lihualiu567@hotmail.com

**[优先发表]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20160711.1027.008.html>

and E-cadherin obviously increased ( all  $P < 0.05$  ), and expressions of p-NF- $\kappa$ B, N-cadherin and MMP-9 significantly decreased ( all  $P < 0.05$  ), compared to empty plasmid transfection and blank control groups. **Conclusion:** Over-expression of *Bin1* could inhibit abilities of migration and invasion of the A549 cell, and its mechanism might be associated with inactivation of NF- $\kappa$ B pathway and expression changes of cell migration and invasion-related proteins.

[ **Key words** ] non-small cell lung cancer ( NSCLC ); A549 cell; bridging integrator-1 ( *Bin1* ) gene; migration; invasion; NF- $\kappa$ B

[ Chin J Cancer Biother, 2016, 23(4): 481-485. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.04.004 ]

肺癌是当今世界上严重威胁人类健康的恶性肿瘤之一,其发病率和病死率在多数国家呈上升趋势<sup>[1]</sup>。肺癌主要分为非小细胞肺癌( non-small cell lung cancer, NSCLC )和小细胞肺癌( small cell lung cancer, SCLC ),其中 80% ~ 85% 肺癌患者的病理类型为 NSCLC。近年来,尽管手术、放射治疗、化疗及靶向治疗等治疗手段取得很大进步,但是许多患者的病情仍然迅速进展和复发转移,整体生存率没有明显提高。肿瘤侵袭转移是肿瘤致死性的主要原因,而肿瘤细胞的迁移和侵袭是促进肿瘤转移的关键步骤。*Bin1* 是鲜有的具有抑癌功能的配体蛋白,它可以通过与 c-Myc 的 N 末端结合抑制肿瘤的发生发展<sup>[2]</sup>。*Bin1* 在多数肿瘤中表达量低甚至缺失<sup>[3,4]</sup>。本研究观察 NSCLC 细胞 A549 转染 *Bin1* 基因前后 A549 细胞迁移能力和侵袭能力的变化,探讨 *Bin1* 对 A549 细胞迁移及侵袭能力的影响及可能机制,旨在为进一步研究 *Bin1* 在 NSCLC 进展中的作用奠定实验基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

A549 细胞株由中国协和医学院基础研究所惠赠,本实验室冻存。F12K 培养基和胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司,小牛血清购自杭州四季青公司,TRIzol 及转染试剂 Lipofectamine™ 2000 购自美国 Invitrogen 公司,PCR 中所需试剂均购自北京全式金生物公司,引物由上海生工合成,质粒提取试剂盒购自天根生化试剂公司,真核表达重组质粒 CMV-MCS-GFP-SV40-Neomycin-*Bin1* 和空白对照质粒 CMV-MCS-GFP-SV40-Neomycin 均购自上海吉凯基因生物公司,ECL 化学发光试剂盒购自碧云天公司;鼠抗人 *Bin1* 单克隆抗体购自 Merck Millipore 公司,兔抗鼠 MMP-9 抗体购自 Abcam 公司,兔抗鼠 NF- $\kappa$ B、p-NF- $\kappa$ B 抗体购自 CST 公司,兔抗鼠 E-钙黏着蛋白、N-钙黏着蛋白抗体购自 Santa Cruz 公司,山羊抗兔二抗购自 Abcam 公司。实时定量 PCR 仪 ( Minicycler ) 购自 MJ Research 公司。

### 1.2 A549 细胞培养和细胞转染

用含 10% 小牛血清、0.1% 双抗的 F12K 培养基常规培养 A549 细胞,待细胞密度达到 70% ~ 80% 时,胰酶消化并收集细胞,用 6 ml F12K 培养基重悬,铺 6 孔板,继续培养 24 h,待细胞汇合至 80% 左右时分为 *Bin1* 转染组( *Bin*<sup>+</sup> 组,转染真核表达重组质粒 CMV-MCS-GFP-SV40-Neomycin-*Bin1* )、空载转染组( *Bin*<sup>-</sup> 组,转染空白对照质粒 CMV-MCS-GFP-SV40-Neomycin )及空白对照组( CON 组,不转染任何质粒),按照 Invitrogen 公司的 Lipofectamine™ 2000 转染试剂说明书进行操作。

### 1.3 RT-PCR、Western blotting 鉴定 *Bin1* 基因转染效果

转染 48 h 后,分别抽提 3 组细胞内 RNA,用 RT-PCR 检测细胞内 *Bin1* mRNA 表达情况,上游引物:5'-CAAGTCCCCATCTCAGCCAG-3'、下游引物:5'-GGATCACCAGCACCACATCA-3'、扩增片段为 296 bp。裂解细胞、提取总蛋白,Western blotting 检测 *Bin1* 蛋白的表达,其相对分子质量约 46 000。实验重复 3 次。

### 1.4 细胞划痕实验检测 *Bin1* 过表达对 A549 细胞迁移能力的影响

取对数期的 3 组 A549 细胞接种于 6 孔板,并在 6 孔板背面画 5 条平行线做标记,24 h 后用 200  $\mu$ l 移液器头在细胞中划 2 条垂直于背面平行线的直线,PBS 冲洗 2 次,加入 2 ml 含 1% 小牛血清的 F12K 培养基,于 0、12、24 h 在倒置显微镜下仔细观察 A549 细胞向致伤区域的迁移距离并拍照。每个实验均重复 3 次。

### 1.5 Transwell 侵袭实验检测 *Bin1* 过表达对 A549 细胞侵袭能力的影响

采用 8  $\mu$ m 孔径、6.5 mm 直径的 Transwell 小室,用 Matrigel 基质胶包被 transwell 小室的上室,上述三组各取  $2 \times 10^5$  细胞个转移至 Transwell 小室的上室。下室为含 10% FBS 的 F12K 培养基。常规培养 24 h 后取出小室,弃去上室液体,PBS 冲洗后,用棉签轻轻将上室中未侵袭的细胞擦去,并将膜用 4% 多聚甲醛固定,然后用结晶紫染色 15 min, PBS

冲洗,在高倍显微镜下拍照并随机选取 10 个视野计数,取均值。实验重复 3 次,每组各设 3 个复孔。

1.6 Western blotting 检测 *Bin1* 过表达对 A549 细胞内迁移相关蛋白及 NF- $\kappa$ B、p-NF- $\kappa$ B 表达的影响

提取 3 组 A549 细胞总蛋白,BCA 法定量,各取含 30  $\mu$ g 总蛋白的样品加入上样缓冲液中煮 10 min,10% SDS-PAGE 分离蛋白后转移蛋白至 PVDF 膜上,用 5% 脱脂奶粉室温封闭 PVDF 膜 2 h,TBST 洗膜,加一抗(兔抗鼠 MMP-9、NF- $\kappa$ B、p-NF- $\kappa$ B、E-钙黏着蛋白、N-钙黏着蛋白抗体)4  $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 洗膜 3 次,加二抗(山羊抗兔多抗)室温孵育 2 h, TBST 洗膜 3 次,曝光。Quantity One 4.6 软件分析图像,以 GAPDH 为内参,以各检测蛋白与 GAPDH 条带的灰度值之比表示蛋白的相对表达量。每个实验均重复 3 次。

1.7 统计分析

采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间均数比较采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 转染结果的鉴定

RT-PCR 和 Western blotting 检测结果(图 1)显示,与 *Bin1*<sup>-</sup> 组和 CON 组相比较,*Bin1*<sup>+</sup> 组细胞中 *Bin1* 基因表达明显上调(0.78  $\pm$  0.06 vs 0.23  $\pm$  0.03、0.21  $\pm$  0.01,  $P < 0.05$ ); *Bin1* 蛋白表达明显上调(0.37  $\pm$  0.04 vs 0.10  $\pm$  0.02、0.09  $\pm$  0.01,  $P < 0.05$ )。

2.2 *Bin1* 过表达抑制 A549 细胞的迁移

细胞划痕实验结果(图 2)显示,划痕 12 h [(25.3  $\pm$  2.6) vs (58.0  $\pm$  5.2), (60.21  $\pm$  4.2)  $\mu$ m] 及 24 h [(58.7  $\pm$  3.8) vs (92.3  $\pm$  4.3), (89.7  $\pm$  5.8)  $\mu$ m] 后,*Bin1*<sup>+</sup> 组细胞迁移距离明显比 *Bin1*<sup>-</sup> 组和 Con 组细胞短(均  $P < 0.05$ )。

2.3 *Bin1* 过表达抑制 A549 细胞的侵袭

细胞侵袭实验结果(图 3)显示,3 组细胞均能够穿过 Matrigel 滤膜,*Bin1*<sup>+</sup> 组穿膜细胞数显著低于 *Bin1*<sup>-</sup> 组和 CON 组[(50.50  $\pm$  3.15) vs (124.00  $\pm$  4.25), (130.00  $\pm$  4.37)个;均  $P < 0.05$ ],而 *Bin1*<sup>-</sup> 组与 CON 组穿膜细胞数差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

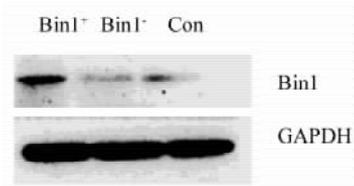


图 1 *Bin1* 表达质粒转染促进 A549 细胞内 *Bin1* 的表达  
Fig. 1 Transfection of *Bin1* expressing plasmid facilitating the expression of *Bin1* in A549 cells

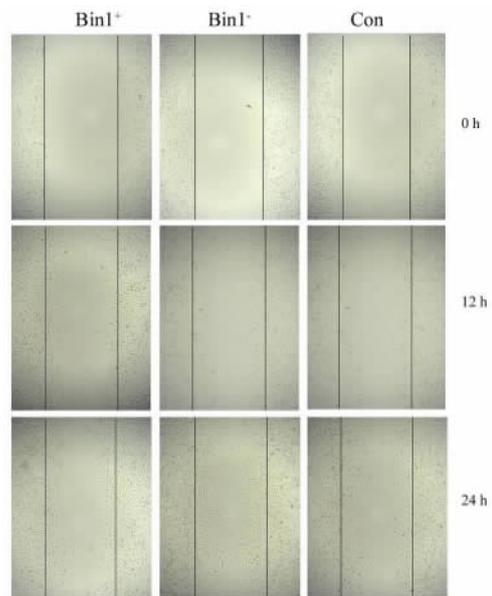


图 2 *Bin1* 过表达抑制 A549 细胞的迁移能力(×5)  
Fig. 2 *Bin1* overexpression inhibiting cell migration ability of A549 cells (×5)

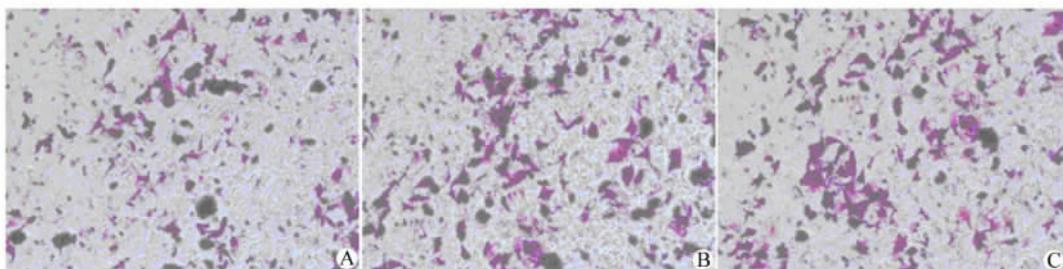


图 3 *Bin1* 过表达抑制 A549 细胞的侵袭能力(×20)  
Fig. 3 *Bin1* overexpression inhibiting the invasion ability of A549 cells(×20)  
A: *Bin1*<sup>+</sup> group; B: *Bin1*<sup>-</sup> group; C: Con group

2.4 *Bin1* 过表达降低 A549 细胞内 NF-κB 的磷酸化水平

Western blotting 检测结果(图4)显示, *Bin1*<sup>-</sup>组和 CON 组的 NF-κB、p-NF-κB 表达没有显著差异 ( $P > 0.05$ ); 与 *Bin1*<sup>-</sup>组和 CON 组相比, *Bin1*<sup>+</sup>组 NF-κB 表达明显上调 ( $P > 0.05$ ), 而 p-NF-κB 表达明显下调 ( $P > 0.05$ )。

2.5 *Bin1* 过表达对 A549 细胞内迁移侵袭相关蛋白表达的影响

Western blotting 检测结果(图5)显示, *Bin1*<sup>-</sup>组和 CON 组 A549 细胞中 E-钙黏着蛋白、N-钙黏着蛋白、MPP-9 的表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); *Bin1*<sup>+</sup>组与另两组相比, E-钙黏着蛋白的表达明显上调 ( $P < 0.05$ ), N-钙黏着蛋白和 MMP-9 蛋白的表达均显著下调 ( $P < 0.05$ )。

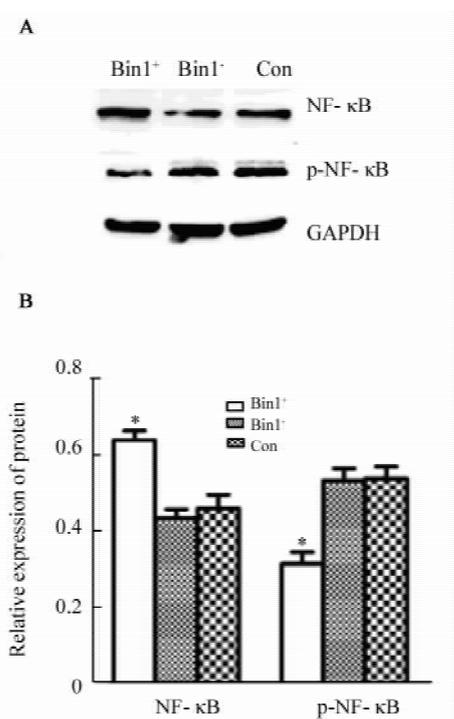


图4 *Bin1* 过表达下调 A549 细胞内 NF-κB 的磷酸化水平

Fig.4 *Bin1* overexpression downregulating phosphorylation level of NF-κB in A549 cells

A: The bands of proteins in Western blotting image;

B: Statistical histograms of proteins

\*  $P < 0.05$  vs *Bin1*<sup>-</sup> and Con groups

3 讨论

侵袭和转移是恶性肿瘤的主要生物学特性。转移性肺癌仍是癌症死亡的首要原因, 而且晚期患者的5年生存率低于5%。*Bin1* 是机体内具有抑癌功

能的配体蛋白, 它通过与 MYC 的 N 末端结合抑制其恶性转化功能。许多研究表明 *Bin1* 在多数肿瘤中表达缺失。Muller 等<sup>[5]</sup>通过小鼠移植瘤研究发现, *Bin1* 的缺失可以促进肿瘤细胞的转移从而促进肿瘤发生发展。

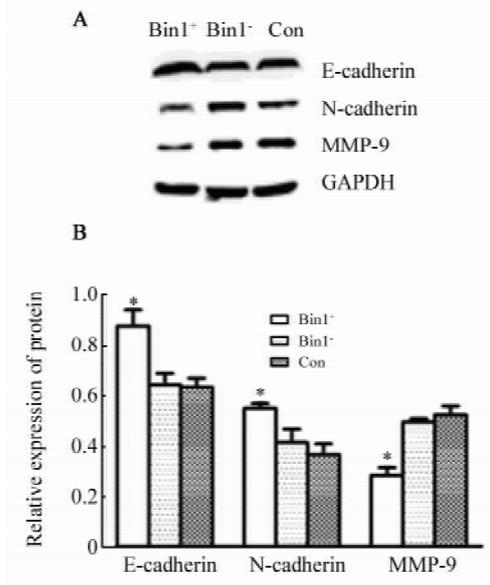


图5 *Bin1* 过表达对 E-钙黏着蛋白、N-钙黏着蛋白、MPP-9 蛋白表达的影响

Fig.5 Effect of *Bin1* overexpression on the expressions of E-cadherin, N-cadherin and MMP-9 proteins

A. The bands of proteins in Western blotting image;

B. Statistical histograms of proteins

\*  $P < 0.05$  vs *Bin1*<sup>-</sup> and Con groups

细胞迁移和侵袭在癌症转移过程中发挥了重要作用<sup>[6-7]</sup>。NF-κB 是机体内具有多种调控作用的转录因子, 参与了肿瘤细胞的分化、凋亡和迁移, 可以促进肿瘤的发展进程<sup>[8-9]</sup>。NF-κB 通常以无活性的方式存在于胞质中, 受到 LPS 等因子的刺激后磷酸化激活, 其通路的异常激活可以引起一系列抑癌基因的异常表达, 抑制肿瘤细胞的凋亡, 正常细胞的分化, 更重要的是它可以抑制肿瘤细胞的转移<sup>[10-12]</sup>。研究<sup>[13-14]</sup>发现, NF-κB 可以调节与肿瘤细胞迁移侵袭有关的 MMPs 的表达, 还可以通过上调 CXCR4 的表达调节肿瘤细胞的运动性, 促进肿瘤细胞的迁移侵袭。本研究发现, 过表达 *Bin1* 后 A549 细胞内 NF-κB 表达上调, p-NF-κB 表达下调, 推测 *Bin1* 可以通过去磷酸化抑制 NF-κB 的活性, 抑制其对下游信号的激活, 进而抑制肿瘤细胞的迁移侵袭能力。MMP-9 是 MMP 家族中的重要成员, 可以通过降解 IV、V 型胶原及层黏连蛋白等成分破坏肿瘤细胞基

底膜成分,在促进细胞的迁移和侵袭过程中发挥着重要作用<sup>[15-16]</sup>。N-钙黏着蛋白可以降低肿瘤细胞间的黏附性,促进细胞的迁移和侵袭<sup>[17-18]</sup>。E-钙黏着蛋白的下调促使肿瘤细胞间的稳定性下降,降低细胞间的连接能力,从而促使迁移和侵袭的发生<sup>[19-20]</sup>。本研究发现,过表达 *Bin1* 基因后,A549 细胞迁移,侵袭能力均降低;MMP-9 和 N-钙黏着蛋白表达下调,E-钙黏着蛋白表达上调,说明 *Bin1* 不仅可以通过抑制 MMP-9 和 N-钙黏着蛋白对细胞基底膜和细胞间黏附性的破坏能力,还可以通过上调 E-钙黏着蛋白维持肿瘤细胞间的稳定性,进而抑制 A549 细胞的迁移和侵袭能力。

本研究通过转染 *Bin1* 基因研究 *Bin1* 对非小细胞肺癌 A549 细胞迁移及侵袭能力的影响及相关机制,发现转染 *Bin1* 基因后可以通过抑制 NF- $\kappa$ B 途径及其他相关迁移因子阻抑 A549 细胞的迁移及侵袭能力,为深入探讨 *Bin1* 在 NSCLC 侵袭转移及治疗中的作用奠定了实验基础。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] CAI J, LI R, XU X, et al. URGCP promotes non-small cell lung cancer invasiveness by activating the NF- $\kappa$ B-MMP-9 pathway [ J ]. *Oncotarget*, 2015, 6( 34 ): 36489-36504. DOI: 10.18632/oncotarget.5351.
- [ 2 ] PYNDIAH S, SAKAMURO D. C-myc, PARP1 and BIN1 as targets of therapy of cancer cell resistance [ J ]. *Med Sci( Paris )*, 2013, 29( 2 ): 133-135. DOI: 10.1051/medsci/2013292006.
- [ 3 ] JIA Y L, WANG H Y, WANG Y, et al. Low expression of Bin1, along with high expression of IDO in tumor tissue and draining lymph nodes, are predictors of poor prognosis for esophageal squamous cell cancer patients [ J ]. *Int J Cancer*, 2015, 137( 5 ): 1095-1106. DOI: 10.1002/ijc.29481.
- [ 4 ] GE K, DUHADAWAY J, SAKAMURO D, et al. Losses of the tumor suppressor BIN1 in breast carcinoma are frequent and reflect deficits in programmed cell death capacity [ J ]. *Int J Cancer*, 2000, 85( 3 ):376-383.
- [ 5 ] MULLER A J, DUHADAWAY J B, DONOVER P S, et al. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase, an immunoregulatory target of the cancer suppression gene Bin1, potentiates cancer chemotherapy [ J ]. *Nat Med*, 2005, 11( 3 ): 312-319.
- [ 6 ] APPERT-COLLIN A, HUPERT P, CRÉMEI G, et al. Role of ErbB receptors in cancer cell migration and invasion [ J/OL ]. *Front Pharmacol*, 2015, 6: 283 [ 2015-12-12 ]. <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2015.00283/full>. DOI: 10.3389/fphar.2015.00283.
- [ 7 ] LAUFFENBURGER D A, HORWITZ A F. Cell migration: a physically intergrated molecular process [ J ]. *Cell*, 1996, 84( 3 ): 359-369.
- [ 8 ] PRABHU L, MUNDADE R, KORC M, et al. Critical role of NF- $\kappa$ B in pancreatic cancer [ J ]. *Oncotarget*, 2014, 5( 22 ): 10969-10975.
- [ 9 ] SHINODA K, KUBOKI S, SHIMIZU H, et al. Pin1 facilitates NF- $\kappa$ B activation and promotes tumour progression in human hepatocellular carcinoma [ J ]. *Br J Cancer*, 2015, 113( 9 ):1323-1331. DOI: 10.1038/bjc.2015.272.
- [ 10 ] ZHAO M J, GAO Y, WANG L L, et al. Overexpression of Integrin-linked kinase promotes lung cancer cell migration and invasion via NF- $\kappa$ B-mediated upregulation of matrix metalloproteinase-9 [ J ]. *Int J Med Sci*, 2013, 10( 8 ):995-1002. DOI: 10.7150/ijms.5963.
- [ 11 ] WOO J H, PARK J W, LEE S H, et al. Dykellie acid inhibits phorbol myristate acetate-induced matrix metalloproteinase-9 expression by inhibiting nuclear factor kappa B transcriptional activity [ J ]. *Cancer Res*, 2003, 63( 12 ):3430-3434.
- [ 12 ] YAMAMOTO Y, GAYNOR R B. Ikappa B kinases: key regulators of the NF-kappa B pathway [ J ]. *Trends Biochem Sci*, 2004, 29( 2 ):72-79.
- [ 13 ] ZHI Y, DUAN Y, ZHOU X, et al. NF- $\kappa$ B signaling pathway confers neuroblastoma cells migration and invasion ability via the regulation of CXCR4 [ J/OL ]. *Med Sci Monit*, 2014, 20:2746-2752 [ 2015-12-12 ]. <http://www.medscimonit.com/abstract/index/idArt/892597>. DOI: 10.12659/MSM.892597.
- [ 14 ] CHIU C T, CHEN J H, CHOU F P, et al. Hibiscus sabdariffa leaf extract inhibits human prostate cancer cell invasion via down-regulation of Akt/NF-kB/MMP-9 pathway [ J ]. *Nutrients*, 2015, 7( 7 ): 5065-5087. DOI: 10.3390/nu7075065.
- [ 15 ] FARAJI S N, MOJTAHEDI Z, GHALAMFARSA G, et al. N-myc downstream regulated gene 2 overexpression reduces matrix metalloproteinase-2 and -9 activities and cell invasion of A549 lung cancer cell line in vitro [ J ]. *Iran J Basic Med Sci*, 2015, 18( 8 ):773-779.
- [ 16 ] TOMIZAWA M, SHINOZAKI F, MOTOYOSHI Y, et al. Niclosamide suppresses migration of hepatocellular carcinoma cells and downregulates matrix metalloproteinase-9 expression [ J ]. *Oncol Lett*, 2015, 10( 6 ):3515-3518.
- [ 17 ] VERMA S, KESH K, GUPTA A, et al. An overview of matrix metalloproteinase 9 polymorphism and gastric cancer risk [ J ]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16( 17 ):7393-7400.
- [ 18 ] CHEN D, WU Z, LUO L J, et al. E-cadherin maintains the activity of neural stem cells and inhibits the migration [ J ]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8( 11 ):14247-14251.
- [ 19 ] HUMMEL S, VELTMAN K, CICHON C, et al. Differential targeting of the E-Cadherin/ $\beta$ -Catenin complex by gram-positive probiotic lactobacilli improves epithelial barrier function [ J ]. *Appl Environ Microbio*, 2012, 78( 4 ):1140-1147.
- [ 20 ] WASIL L R, SHAIR K H. Epstein-Barr virus LMP1 induces focal adhesions and epithelial cell migration through effects on integrin- $\alpha$ 5 and N-cadherin [ J/OL ]. *Oncogenesis*, 2015, 4:e171 [ 2015-12-12 ]. <http://www.nature.com/oncsis/journal/v4/n10/full/oncsis201531a.html>. DOI: 10.1038/oncsis.2015.31.

[ 收稿日期 ] 2016 - 02 - 26

[ 修回日期 ] 2016 - 05 - 04

[ 本文编辑 ] 黄静怡