

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.11.006

· 基础研究(专题) ·

## 活化T细胞核因子5对人胃癌MGC803细胞增殖及凋亡能力的影响

郭隽馥, 于爽, 王悦, 徐畅, 陆娜, 周圆(辽宁中医药大学 教学实验中心, 辽宁 沈阳 110847)

**[摘要]** **目的:**探讨活化T细胞核因子5(nuclear factor 5 of activated T cells, NFAT5)对人胃癌MGC803细胞增殖及凋亡能力的影响及其可能的机制。**方法:**设计并合成3条靶向NFAT5基因的siRNA (siRNA2567、siRNA2714和siRNA4562)及1条与NFAT5基因无同源性的阴性对照siRNA (NC-siRNA), 脂质体介导转染人胃癌MGC803细胞后, 采用Real-time PCR检测分析细胞中NFAT5 mRNA表达水平的变化, 进而筛选出有效抑制NFAT5基因表达的siRNA (NFAT5-siRNA)。NFAT5-siRNA转染MGC803细胞48 h后, 进一步采用Real-time PCR和Western blotting验证并检测细胞中NFAT5和S100A4 mRNA及蛋白表达水平的变化, 流式细胞术和CCK-8法分析抑制NFAT5表达对细胞增殖及凋亡的影响。**结果:**转染siRNA2567对NFAT5 mRNA的表达抑制最为明显( $P<0.01$ ), siRNA2567被验证为NFAT5-siRNA。转染NFAT5-siRNA 48 h后, NFAT5和S100A4 mRNA及蛋白的表达水平均明显降低( $P<0.05$ );与NC-siRNA组相比较, NFAT5-siRNA组MGC803细胞的增殖率在72 h和96 h均显著降低( $P<0.01$ ); NFAT5基因沉默48 h后, MGC803细胞的凋亡率由(2.7±0.2)%上升至(7.9±0.2)%( $P<0.01$ )。**结论:** NFAT5-siRNA能有效沉默人胃癌MGC803细胞中NFAT5基因表达, 在抑制细胞增殖率的同时能够有效促进细胞凋亡, 该作用可能通过调控S100A4表达实现。

**[关键词]** 胃癌; MGC803细胞; NFAT5基因; S100A4基因; 增殖; 凋亡

**[中图分类号]** R730.51; R735.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)11-1119-06

## Effects of nuclear factor 5 of activated T cells on proliferation and apoptosis of human gastric cancer MGC803 cells

GUO Junfu, YU Shuang, WANG Yue, XU Chang, LU Na, ZHOU Yuan (Teaching and Experimental Center, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, Liaoning, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects of nuclear factor 5 of activated T cells (NFAT5) on proliferation and apoptosis of human gastric cancer MGC803 cells and to explore the possible mechanisms. **Methods:** Three siRNAs targeting NFAT5 gene (siRNA2567, siRNA2714 and siRNA4562) and one negative control siRNA were designed and chemically synthesized before transfected into human gastric cancer cell line MGC803 by liposome. Real-time PCR was used to detect the changes of NFAT5 mRNA expression in MGC803 cells to further pick out the siRNA that most effectively inhibit the expression of NFAT5. Further, Real-time PCR and Western blotting assay were carried out to test mRNA and protein levels of NFAT5 and S100A4 in cells 48 h after NFAT5-siRNA transfection. Then, CCK-8 assay and FCM assay were used to detect the influence of silencing NFAT5 on cell proliferation and apoptosis, respectively. **Results:** siRNA2567 was the most effective siRNA that significantly inhibited the expression of NFAT5 mRNA ( $P<0.01$ ), and thus was validated as NFAT5-siRNA. Real-time PCR and Western blotting assay confirmed that both mRNA and protein levels of NFAT5 and S100A4 were down-regulated in cells 48 h after NFAT5-siRNA transfection. Compared with NC-siRNA group, the proliferation ability of MGC803 cells in the NFAT5-siRNA group was significantly down-regulated at 72 h and 96 h ( $P<0.01$ ). And FCM assay showed that compared with NC-siRNA group, cell apoptosis rate of NFAT5-siRNA group was significantly increased from (2.7±0.2)% to (7.9±0.2)%, ( $P<0.01$ ) 48 h after NFAT5-siRNA transfection. **Conclusion:** NFAT5-siRNA transfection can silence NFAT5 gene expression in gastric cancer MGC803 cells effectively. NFAT5 may inhibit proliferation and promote cell apoptosis of gastric cancer cells possibly through regulating S100A4 expression.

**[Key words]** gastric cancer; MGC803 cell; NFAT5 gene; S100A4 gene; proliferation; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(11): 1119-1124. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.11.006]

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (No. 81803855); 辽宁省教委高等学校科研基金资助项目 (No. L201614)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81803855), and the Scientific Research Foundation of Education Commission of Liaoning Provincial (No. L201614)

**[作者简介]** 郭隽馥 (1983-), 女, 博士, 高级实验师, 主要从事肿瘤分子遗传学的基础研究

**[通信作者]** 郭隽馥 (GUO Junfu, corresponding author), E-mail: guojunfu@aliyun.com

胃癌是消化系统最常见的恶性肿瘤。尽管在过去的几十年中胃癌的总体发病率有所下降,但在全球范围内其发病率和病死率仍不可小觑,分别位居各种恶性肿瘤的第5位和第3位<sup>[1]</sup>。我国是胃癌的高发国家,发病率及病死率均高于世界平均水平。然而,胃癌的发生发展乃至侵袭转移是一个多因素参与的复杂过程,且分子机制不十分清楚。因此,深入研究胃癌发生发展的分子机制,具有重要的科学意义和潜在的应用价值。活化T细胞核因子(nuclear factor of activated T cells, NFAT)最初是作为一种与人T细胞IL-2启动子结合的转录因子而被发现<sup>[2]</sup>,在多种免疫细胞中均有表达。随后有研究<sup>[3]</sup>发现,NFAT在多种哺乳动物组织细胞中普遍表达,是具有多向调节功能的转录因子,在细胞分化、生长过程中起重要作用。NFAT5又称TonEBP,是NFAT家族的5个成员之一。与其余4个成员(NFAT1-4)不同,NFAT5仅保留了与钙调亚型同源的区域,没有钙调蛋白磷酸酯酶(calcineurin, CN)结合区,因而对Ca<sup>2+</sup>、CN均不敏感,主要受渗透性应激和整合素(integrin)的调控<sup>[4-5]</sup>。也有研究<sup>[6]</sup>表明,整合素能够增强肿瘤细胞的运动及侵袭能力。鉴于NFAT5与整合素的关系,深入研究其对肿瘤发生进展的作用及其分子机制具有重要意义。S100A4是钙离子结合蛋白S100家族的成员之一,在多种肿瘤组织中均呈高表达且与肿瘤转移、术后复发及患者预后不良密切相关<sup>[7]</sup>。本课题组<sup>[8]</sup>前期研究发现,S100A4能够通过调控GDF15(Growth differentiation factor 15)表达水平,进而影响胃癌MGC803细胞的干样特性。本研究设计

并合成了3条靶向NFAT5基因的siRNA,从中筛选能够有效沉默NFAT5基因的NFAT5-siRNA,并进一步检测NFAT5基因沉默对人胃癌MGC803细胞增殖及凋亡的影响,以期为胃癌的预防和诊治提供可靠的实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞系与主要试剂

人胃癌MGC803细胞株购于中国科学院典型培养物保藏委员会。DMEM培养基、PBS和胰酶购于Hyclone公司,胎牛血清购于上海依科赛生物科技公司,jetPRIME转染试剂购于Polyplus公司,Real-time PCR试剂盒和TRIzol试剂购于TaKaRa公司,兔抗人 $\beta$ -actin蛋白抗体购于Santa Cruz公司,兔抗人S100A4蛋白抗体购于美国Abcam公司,兔抗人NFAT5蛋白抗体购于美国NovusBi公司,山羊抗兔二抗购于中杉金桥生物技术公司,Cell Counting Kit-8(CCK-8)试剂和Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒购于南京凯基生物科技发展有限公司。

### 1.2 NFAT5-siRNA的设计与合成

siRNA目的片段的选取及合成:根据GenBank数据库提供的人NFAT5全长基因设计RNAi靶区,包括3个siRNA序列,根据靶序列其对应的cDNA起始点位置命名为siRNA2567、siRNA2714和siRNA4562,另外设计一条siRNA阴性对照(siRNA negative control, siRNANC)序列,Blast查询验证,排除与其他基因同源。siRNA寡核苷酸序列见表1。

表1 siRNA寡核苷酸序列

Tab.1 siRNA oligo sequences

Gene	Sense(5'-3')	antisense(5'-3')
siRNANC	UUCUCCGAACGUGUCACGUTT	ACGUGACACGUUCGGAGAATT
siRNA2567	GCAGCAGGCUACACAGUUUTT	AAACUGUGUAGCCUGCUGCTT
siRNA2714	GCAGCAGAUUUCAUCAAUUTT	AUUUGAUGAAAUCUGCUGCTT
siRNA4562	GCAAGUAACUCUCUUCUUATT	UAAGAAGAGAGUUACUUGCTT

### 1.3 细胞转染

人胃癌MGC803细胞株培养于含10%胎牛血清、100 U/ml青霉素和链霉素的DMEM培养液中,37℃、5% CO<sub>2</sub>饱和湿度培养,常规消化传代,选取处于指数生长期细胞进行实验。转染前1 d,取生长状态良好的指数生长期MGC803细胞,常规胰酶消化,将其接种到6孔细胞培养板中培养12~24 h后(汇合度达50%~70%),弃完全培养基,PBS洗涤1次,加入2 ml无抗DMEM培养基培养。向200  $\mu$ l jetPRIME缓冲液中加入5  $\mu$ l siRNA,

轻轻吹打混匀,再向其中加入5  $\mu$ l jetPRIME转染试剂,涡旋10~15 s,室温孵育10 min,即siRNA转染液。将siRNA转染液加入已换成无抗DMEM培养基的6孔板中,混匀,继续培养4~6 h后,更换为新的无抗DMEM培养基培养。24 h后更换为含10% FBS的完全DMEM培养基。最后成功转染siRNANC、siRNA2567、siRNA2714和siRNA4562至MGC803细胞。转染48 h后筛选的有效NFAT5-siRNA序列,并提取总RNA,逆转录成cDNA后备用。

#### 1.4 Real-time PCR 检测各组细胞内 *NFAT5* 和 *S100A4* mRNA 的表达水平

以 *GAPDH* 为内参, Real-time PCR 检测各组细胞内 *NFAT5* 和 *S100A4* mRNA 的表达水平, 反应条件为 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火 34 s, 进行 45 个循环, 每个样品设置 3 个复孔, 在 ABI7500 实时定量 PCR 系统上进行, 收集反应荧光信号, 进一步做产物熔解曲线分析, 检测产物的特异性。数据采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  值进行表达。实验重复 3 次。引物序列见表 2。

表 2 Real-time PCR 引物序列  
Tab.2 Primer Sequences for Real-time PCR

Gene	Primer sequences	Length (bp)
<i>NFAT5</i>	F: 5'-CCTAATGCCCTGATGACTCC-3'	125
	R: 5'-AGGTGGGAAGATGATGGTGA-3'	
<i>S100A4</i>	F: 5'-CCCTGGATGTGATGGTGT-3'	160
	R: 5'-GTTGTCCCTGTTGCTGTC-3'	
<i>GAPDH</i>	F: 5'-ATCATCAGCAATGCCTCC-3'	160
	R: 5'-CATCACGCCACAGTTTCC-3'	

#### 1.5 Western blotting 检测 MGC803 细胞中 *NFAT5* 和 *S100A4* mRNA 及蛋白表达水平

实验分为 NC-siRNA 组及 *NFAT5*-siRNA 组。转染 *NFAT5*-siRNA 48 h 后, 用预冷的 PBS 冲洗各组细胞 3 次, 再加入细胞裂解液提取各组细胞总蛋白。用 SDS-PAGE 分离蛋白后, 将蛋白转移至 PVDF 膜上, 再用 5% 脱脂奶粉-TBST 室温摇床封闭 1 h, 加入一抗 (*NFAT5* 抗体 (1:1 000)、*S100A4* 抗体 (1:500)、 $\beta$ -actin 抗体 (1:200)), 于 4 °C 摇床孵育过夜, 用 TBST 洗涤 3 次, 每次摇床振摇 10 min, 然后加入辣根过氧化物酶标记的二抗 (1:2 000), 于 37 °C 下孵育 1 h, 用 TBST 洗涤 3 次, 每次摇床振摇 10 min。TBST 洗涤 3 次, 各 5 min, ECL 试剂盒检测。用 ImageJ 对蛋白质条带进行定量分析。实验重复 3 次。

#### 1.6 CCK-8 实验检测沉默 *NFAT5* 表达对 MGC803 细胞增殖的影响

实验分为 CK (空白对照) 组、NC-siRNA 组及 *NFAT5*-siRNA 组。取生长状态良好的指数生长期细胞, 常规胰酶消化, 将细胞密度调整为  $3\sim 5 \times 10^4$  个/ml, 接种于 96 孔培养板中, 每孔加入 100  $\mu$ l 细胞悬液, 每组设立 3 个复孔。12~24 h 后 (汇合度 50%~70%) NC-siRNA 组和 *NFAT5*-siRNA 组进行转染, CK 组仅按照转染方法更换培养液。分别在转染 24、48、72 和 96 h 后, 每孔加入 10  $\mu$ l CCK-8 溶液, 在细胞培养箱内继续孵育 1 h, 酶标仪测定 450 nm 波长光密度 (*D*) 值, 绘制生长曲线。实验重复 3 次。

#### 1.7 流式细胞术检测抑制 *NFAT5* 表达对 MGC803 细胞凋亡的影响

取生长状态良好的指数生长期细胞, 常规胰酶消化, 接种于 6 孔培养板中, 12~24 h 后 (汇合度 50%~70%) NC-siRNA 组和 *NFAT5*-siRNA 组进行转染, CK 组仅按照转染方法更换培养液。细胞转染 72 h 后, 常规胰酶消化各组细胞, 收集细胞。PBS 轻洗细胞 1 次, 加入 195  $\mu$ l Binding Buffer 重悬细胞。细胞悬液中加入 5  $\mu$ l Annexin V-FITC 试剂, 混匀后 4 °C 避光孵育 20 min。1 000 $\times$ g 离心 5 min, 弃上清。加入 190  $\mu$ l Binding Buffer 重悬细胞。细胞悬液中加入 10  $\mu$ l PI 轻轻混匀, 4 °C 避光孵育 5 min, 1 h 内送检分析。UR 和 UL 计为细胞凋亡率。实验重复 3 次。

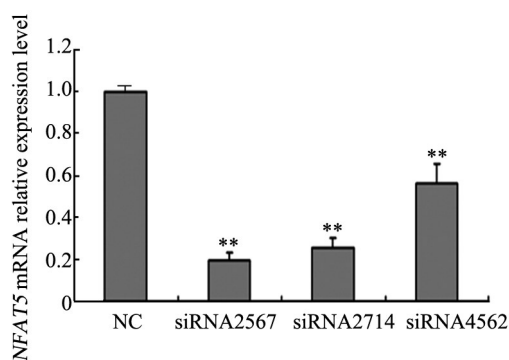
#### 1.8 统计学处理

采用 SPSS 25.0 统计学软件和 GraphPad Prism 5.0 作图软件, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 通过相关性和线性回归分析。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 筛选和确定 *NFAT5*-siRNA 有效序列

Real-time PCR 检测结果 (图 1) 显示, 分别转染 3 条不同 siRNA (siRNA2567、siRNA2714 和 siRNA4526) 48 h 后, MGC803 细胞中 *NFAT5* mRNA 的表达水平均显著下调 ( $P < 0.01$ ), 其中 siRNA2567 转染 48 h 对 *NFAT5* mRNA 的抑制最为明显, 故确定 siRNA2567 为最有效的 *NFAT5*-siRNA 进行后续试验。



\*\* $P < 0.01$  vs NC group

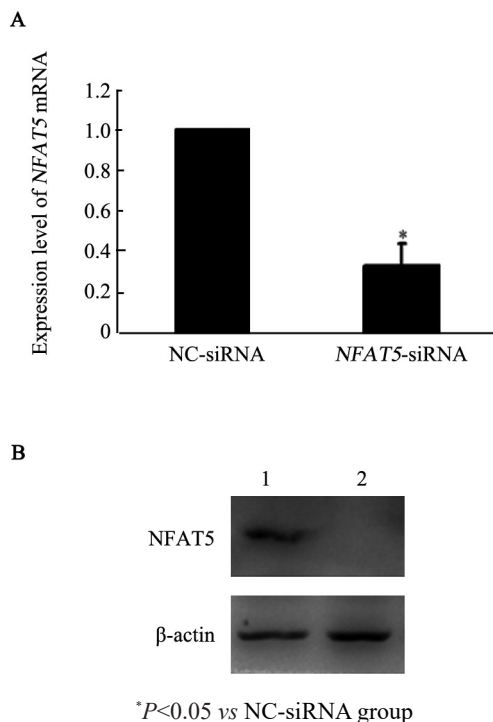
图 1 各组 MGC803 细胞中 *NFAT5* mRNA 的表达情况  
Fig. 1 Expression of *NFAT5* mRNA in MGC803 cells of each group

### 2.2 *NFAT5*-siRNA 能够有效抑制 MGC803 细胞中 *NFAT5* 蛋白表达

Western blotting 法结果 (图 2B) 显示, *NFAT5*-siR-



NA 转染 48 h 后 MGC803 细胞中 NFAT5 蛋白表达水平明显降低 ( $P < 0.05$ ), 与 Real-time PCR 检测结果 (图 2A) 相似。



1: Transfection of NC-siRNA; 2: Transfection of NFAT5-siRNA  
图 2 NFAT5-siRNA 转染对 MGC803 细胞中 NFAT5 mRNA (A) 和蛋白 (B) 表达的影响

Fig. 2 Effect of NFAT5-siRNA transfection on expression of NFAT5 mRNA (A) and protein (B) in MGC803 cells

### 2.3 沉默 NFAT5 可降低 MGC803 细胞中 S100A4 mRNA 和蛋白的表达

Real-time PCR 检测结果 (图 3A) 显示, NFAT5-siRNA 转染 MGC803 细胞 48 h 后 S100A4 mRNA 的表达水平明显下调 ( $P < 0.01$ )。Western blotting 检测结果 (图 3B) 显示, 沉默 NFAT5 后 S100A4 蛋白表达水平也明显降低 ( $P < 0.01$ )。表明 S100A4 是 NFAT5 的一个重要下游基因。

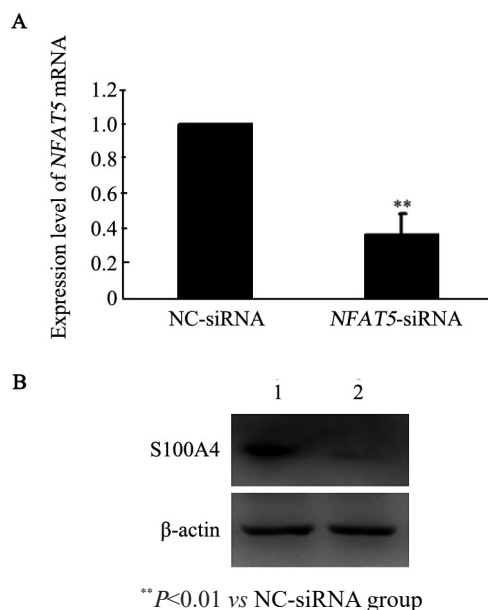
### 2.4 沉默 NFAT5 基因抑制 MGC803 细胞的增殖能力

CCK-8 检测结果 (图 4) 显示, NFAT5-siRNA 组 MGC803 细胞的增殖能力在 72、96 h 较空白对照 (CK) 组和阴性对照 (NC) 组显著降低 ( $P < 0.01$ )。表明 NFAT5 基因沉默能够有效抑制 MGC803 细胞的增殖能力。

### 2.5 沉默 NFAT5 基因促进 MGC803 细胞凋亡

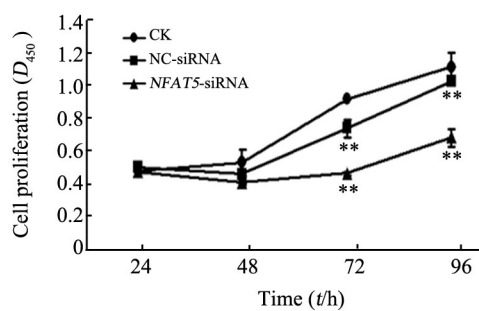
流式细胞术检测结果 (图 5) 显示, 转染 72 h 后, NFAT5-siRNA 组与 CK 组和 NC-siRNA 组比较, 胃癌 MGC803 细胞的凋亡率明显增加 [ $(7.9 \pm 0.2)\%$  vs  $(1.9 \pm 0.1)\%$ 、 $(2.7 \pm 0.2)\%$ ,  $P < 0.01$ ], 表明沉默 NFAT5

能够促进人胃癌 MGC803 细胞的凋亡。



1: Transfection of NC-siRNA; 2: Transfection of NFAT5-siRNA  
图 3 NFAT5-siRNA 转染对 MGC803 细胞中 S100A4 mRNA (A) 和蛋白 (B) 表达的影响

Fig. 3 Effect of NFAT5-siRNA transfection on S100A4 mRNA (A) and protein (B) expression in MGC803 cells



\*\* $P < 0.01$  vs CK or NC-siRNA group

图 4 NFAT5 对 MGC803 细胞增值能力的影响

Fig. 4 Effect of NFAT5 on the proliferation of MGC803 cells

## 3 讨论

NFAT 作为一类在哺乳动物组织细胞中广泛表达且具有转录活性的蛋白质, 参与调控多种细胞的发育和活化过程中重要基因的表达<sup>[10]</sup>。有研究<sup>[11]</sup>显示, NFAT 家族在调节肿瘤细胞转化生长及肿瘤血管生成、肿瘤转移等方面也发挥着重要作用, 与肿瘤形成和浸润转移密切相关。RABINOVITZL 等<sup>[12]</sup>研究发现, NFAT 参与调节乳腺癌的侵袭性转移, 在侵袭性人类乳腺癌细胞系以及患有侵袭性乳腺癌的患者组织中均观察到 NFAT1 及 NFAT5 的高表达。

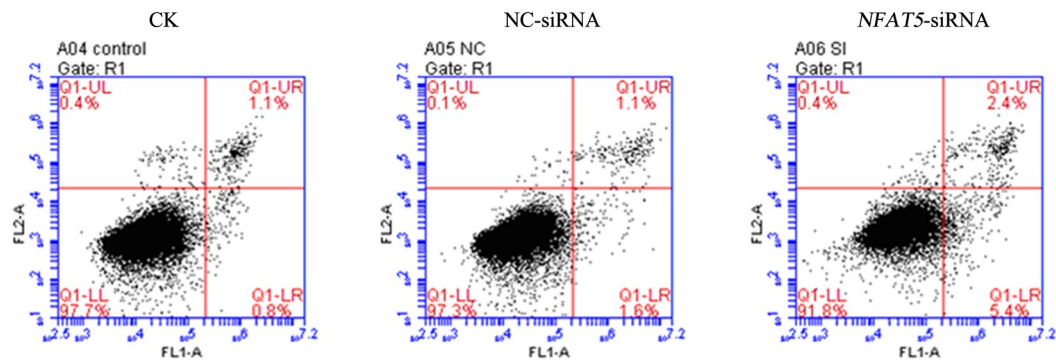


图5 转染72 h后MGC803细胞的凋亡情况

Fig.5 Apoptosis of MGC803 cells 72 h after transfection

KÜPER 等<sup>[13]</sup>采用小干扰RNA沉默人肾癌细胞CaKi-1中NFAT5表达后,S100A4表达显著下调,细胞的增殖和迁移能力减弱。有研究<sup>[14-15]</sup>通过染色质免疫共沉淀实验证实,在乳腺癌和结肠癌细胞中NFAT5与S100A4启动子区域存在体内结合,NFAT5能够在转录水平上正向调控S100A4基因表达从而促进细胞的增殖能力。研究<sup>[16-17]</sup>发现,抑制S100A4基因表达后,胃癌细胞凋亡增加、增殖力降低,裸鼠实验证实,抑制S100A4表达能明显抑制肿瘤生长。上述研究显示,NFAT5可能通过调控S100A4表达进而影响胃癌细胞的增殖和凋亡等多种生物学特性。

本研究中,CCK-8法细胞增殖检测和流式细胞术检测细胞凋亡的实验结果显示,与对照组相比较,转染NFAT5-siRNA的MGC803细胞中S100A4表达水平显著降低,同时细胞的增殖力明显减弱,凋亡率显著增加。表明在人胃癌MGC803细胞中NFAT5能够抑制细胞的凋亡并促进其增殖,这一过程可能是通过调控S100A4表达水平来实现的。

综上所述,转染小干扰RNA能够有效沉默NFAT5基因表达,影响人胃癌MGC803细胞的增殖及凋亡等细胞生物学特性。通过此种方法特异性地干预NFAT5基因表达,有望为胃癌的治疗提供新靶点和新思路。

#### [参考文献]

- [1] 张风宾, 乔静雪, 王英南, 等. PD-1/PD-L1在胃癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2018, 25(2): 170-176. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.02.011.
- [2] SHAW J P, UTZ P J, DURAND D B, et al. Identification of a putative regulator of early T cell activation genes. Science. 1988. 241: 202-205[J]. J Immunol, 2010, 185(9): 4972-4975. DOI:10.1126/science.3260404.
- [3] PUSCHECK E E, AWONUGA A O, YANG Y, et al. Molecular biology of the stress response in the early embryo and its stem cells[J]. Adv Exp Med Biol, 2015, 843(2): 127-128. DOI: 10.1007/978-1-4939-2480-64.
- [4] AL-ATTAR R, ZHANG Y, STOREY K B. Osmolyte regulation by TonEBP/NFAT5 during anoxia-recovery and dehydration-rehydration stresses in the freeze-tolerant wood frog (*Rana sylvatica*) [J/OL]. Peer J, 2017, 5: e2797 [2018-03-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5251939/>. DOI:10.7717/peerj.2797.
- [5] SHOU J, JING J, XIE J, et al. Nuclear factor of activated T cells in cancer development and treatment[J]. Cancer Lett, 2015, 361(2): 174-184. DOI:10.1016/j.canlet.2015.03.005
- [6] WANG S, ZHANG Y, LIN Y. Effect of IL-8 on integrin  $\alpha\beta 3$  expression and cell motility via PI3K, Akt, and NF- $\kappa$ B-dependent pathway in human breast cells[J]. Clin Oncol, 2012, 30(2): 158-163. DOI: 10.1200/jco.2012.30.
- [7] MISHRA S K, SIDDIQUE H R, SALEEM M. S100A4 calcium-binding protein is key player in tumor progression and metastasis: preclinical and clinical evidence[J]. Cancer Metastasis Rev, 2012, 31(1/2): 163-172. DOI:10.1007/s10555-011-9338-4.
- [8] GUO J, BIAN Y, WANG Y, et al. S100A4 influences cancer stem cell-like properties of MGC803 gastric cancer cells by regulating GDF15 expression[J]. Int J Oncol, 2016, 49(2): 559-568. DOI: 10.3892/ijo.2016.3556.
- [9] AMARA S, ALOTAIBI D, TIRIVEEDHI V. NFAT5/STAT3 interaction mediates synergism of high salt with IL-17 towards induction of VEGF-A expression in breast cancer cells[J]. Oncol Lett, 2016, 12(2): 933-943. DOI:10.3892/ol.2016.4713.
- [10] 武多娇, 储以微. 免疫细胞的脂肪酸代谢与肿瘤免疫[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(10): 1045-1050. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.10.001.
- [11] FOLDYNOVÁ - TRANTÍRKOVÁ S, SEKYROVÁ P, TMEJOVÁ K, et al. Breast cancer-specific mutations in CK1epsilon inhibit Wnt/beta-catenin and activate the Wnt/Rac1/JNK and NFAT pathways to decrease cell adhesion and promote cell migration[J]. Breast Cancer Res, 2010, 12(3): R30-36. DOI:10.1186/bcr2581.
- [12] RABINOVITZ I, MERCURIO A M. The integrin  $\alpha 6\beta 4$  functions in carcinoma cell migration on laminin-1 by mediating the formation and stabilization of actin-containing motility structures[J]. J Cell Biol, 1997, 139(7): 1873-1884. DOI:10.1083/jcb.139.7.1873.
- [13] KÜPER C, BECK FX, NEUHOFER W. NFAT5-mediated expression of S100A4 contributes to proliferation and migration of renal

- carcinoma cells[J]. *Front Physiol*, 2014, 5(6): 293-299. DOI: 10.3389/fphys.2014.00293.
- [14] 周欣亮, 赵日昃, 韩晶, 等. miR-141-3p 在胃癌组织和患者血浆中的表达及其临床意义[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(10): 1112-1117. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.10.012.
- [15] CHEN M, O'CONNOR K L. Integrin  $\alpha 6 \beta 4$  promotes expression of autotaxin/ENPP2 autocrine motility factor in breast carcinoma cells [J]. *Oncogene*, 2005, 24(32): 5125-5130. DOI: 10.1038 / sj. onc. 1208729.
- [16] 廖煜, 任宁川, 房殿亮, 等. S100A4 协同 HIF-1 通过 WNT/ $\beta$ -catenin 通路调控胃癌细胞 SGC-7901 的迁移和侵袭[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(9): 955-959. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X. 2017.09.005.
- [17] HUA J, CHEN D, FU H, et al. Short hairpin RNA-mediated inhibition of S100A4 promotes apoptosis and suppresses proliferation of BGC823 gastric cancer cells in vitro and in vivo[J]. *Cancer Lett*, 2010, 292(1): 41-47. DOI:10.1016/j.canlet.2009.11.007.
- [收稿日期] 2018-07-19 [修回日期] 2018-10-18  
[本文编辑] 王映红