

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.09.011

· 临床研究 ·

## lncRNA LINC00969 抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖、迁移和侵袭

林晖, 黄小靖, 李嵩(福州市第一医院 普外科, 福州 350009)

**[摘要]** **目的:** 探讨 lncRNA LINC00969 在乳腺癌细胞增殖和迁移中的作用及其相应机制。**方法:** qPCR 检测 LINC00969 在 42 例乳腺癌组织和对应癌旁组织(标本收集自 2017 年 9 月至 2019 年 12 月福州市第一医院普外科手术患者), 以及正常乳腺细胞 MCF-10A 和 5 种乳腺癌细胞 MCF-7、BT-20、MAD-MB-231、ZR-75-1、SKBR3 中的表达。以过表达 LINC00969 质粒和空载体 Vector 转染乳腺癌 MCF-7 细胞, 以 qPCR 验证转染效率; 以 CCK-8 法、平板克隆和 EDU 实验检测细胞增殖水平, 流式细胞术检测细胞周期, Western blotting 实验检测细胞中 PCNA、CyclinD1 和 MMP2、MMP9 水平, 划痕修复实验和 Transwell 实验检测细胞的迁移和侵袭。**结果:** 与癌旁组织比较, 乳腺癌组织中 LINC00969 表达显著降低( $P < 0.05$ ); 与乳腺细胞 MCF-10A 比较, 5 种乳腺癌细胞中 LINC00969 表达均显著降低( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 而以 MCF-7 细胞中最低; 过表达 LINC00969 使 MCF-7 细胞的增殖、集落形成和 DNA 合成能力均受到显著抑制( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 使 MCF-7 细胞周期明显阻滞于 G1 期, 使细胞的划痕愈合和侵袭能力明显降低( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。过表达 LINC00969 使 MCF-7 细胞中 PCNA、CyclinD1、MMP2 和 MMP9 的表达受到明显抑制(均  $P < 0.05$ )。**结论:** LINC00969 在乳腺癌中低表达, 上调 LINC00969 表达可以抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖、迁移和侵袭, 其机制可能涉及细胞周期与迁移相关蛋白表达的异常。

**[关键词]** lncRNA LINC00969; 乳腺癌; MCF-7 细胞; 增殖; 细胞周期; 迁移; 侵袭**[中图分类号]** R737.3; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)09-1030-06

## lncRNA LINC00969 inhibits breast cancer cell proliferation and migration

LIN Hui, HUANG Xiaojing, LI Song (Department of General surgery, Fuzhou first Hospital, Fuzhou 350009)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of long non-coding LINC00969 on proliferation and invasion of breast cancer cell. **Methods:** Real-time Quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was used to detect differential expression of LINC00969 in five breast cancer cell lines (MCF-7, BT-20, MAD-MB-231, ZR-75-1, and SKBR3), normal breast cells MCF-10A, and in 42 cases breast cancer tissues and adjacent tissues. TMCF-7 cells were transfected with LINC00969 plasmid and empty vector vector vector. The transfection efficiency was verified by qPCR. CCK-8, plate cloning and edu assay were used to detect cell proliferation. Flow cytometry was used to detect cell cycle. Western blotting was used to detect PCNA, CyclinD1, MMP2 and MMP9. Scratch repair test and Transwell test were used to detect cell migration and invasion. **Results:** Compared with the adjacent tissues, LINC00969 expression in breast cancer tissues was significantly decreased ( $P < 0.05$ ); compared with breast cancer cells MCF-10A, LINC00969 expression in five breast cancer cells was significantly decreased ( $P < 0.05$ ), and the lowest was in MCF-7 cells; overexpression of LINC00969 significantly inhibited the proliferation, colony formation and DNA synthesis of MCF-7 cells (all  $P < 0.05$ ), making MCF-7 cell cycle clear. The ability of wound healing, migration and invasion of the cells were significantly reduced ( $P < 0.05$ ). Overexpression of LINC00969 significantly inhibited the expression of PCNA, cyclinD1, MMP2 and MMP9 (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** LINC00969 is low expressed in breast cancer. Overexpression of LINC00969 can inhibit proliferation and migration of breast cancer cell, the mechanism may be related to the abnormal expression of cell cycle and migration related proteins.

**[Key words]** lncRNA LINC00969; breast cancer; MCF-7 cell; proliferation; cell cycle; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(9): 1030-1035. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.09.011]

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤, 其病死率在我国呈逐年上升趋势<sup>[1]</sup>。目前对于乳腺癌的治疗主要是手术治疗、放化疗和分子治疗等, 但治疗后对于肿瘤的复发和转移仍然无法有效控制。研究表明, 人类的大部分基因都可以转录, 但其中只有约 2% 的基因具有编码蛋白质的能力<sup>[2]</sup>, 其余不能编码蛋白质的称作非编码 RNA。而非编码 RNA 又被分为长链

**[基金项目]** 福建省自然科学基金资助项目(No.2019J01540)。Project supported by the Natural Science Foundation of Fujian Province(No. 2019j01540)

**[作者简介]** 林晖(1969-), 男, 学士, 主任医师, 主要从事消化道肿瘤的基础和临床研究 E-mail: scfdc04@126.com

**[通信作者]** 黄小靖(HUANG Xiaojing, corresponding author), 主任医师, 主要从事消化道肿瘤的基础和临床研究 E-mail: hxjnp@163.com

非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNAs)和微小RNA。lncRNA是长度大于200核苷酸的非编码RNA,迄今为止已发现有多种lncRNAs与乳腺癌的发展转移密切相关<sup>[3-4]</sup>。GUPTA等<sup>[3]</sup>研究表明,原发性乳腺癌组织中lncRNA HOTAIR的含量显著高于癌旁组织;后续研究<sup>[5]</sup>发现HOTAIR能够促进乳腺癌转移。lncRNA MALAT1最初被鉴定并证实与非小细胞肺癌患者的转移相关<sup>[6]</sup>。深入研究<sup>[7]</sup>发现, MALAT1在包括乳腺癌在内的多种癌症中显著表达,并与肿瘤进展和转移密切相关。与HOTAIR和MALAT1相似,多种经典肿瘤相关lncRNA均被证实可成为乳腺癌治疗的潜在临床靶点,如H19、SRA和GAS5等<sup>[8]</sup>。LINC00969是一种新发现的lncRNA,本课题拟探讨乳腺癌组织及乳腺癌细胞株中LINC00969的表达水平及其对乳腺癌发生发展的影响,以期为提高乳腺癌的早期诊断水平和临床疗效提供潜在的标志物。

## 1 材料与方法

### 1.1 组织样本、细胞与主要试剂

收集我院2017年9月至2019年12月收治的乳腺癌切除术患者的乳腺癌组织和癌旁组织(距病灶边缘>2cm),共计42例。所有样本收集后立即液氮冻存。本研究所有患者均签署知情同意书,实验方案通过我院伦理委员会批准。正常乳腺细胞MCF-10A及乳腺癌细胞MCF-7、BT-20、MAD-MB-231、ZR-75-1、SKBR3购自美国ATCC细胞库。RPMI 1640培养液、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、0.25% Trypsin、0.02% EDTA均购自美国Gibco公司, Lipofectamine 2000、TRIzol、Transwell、ECL发光试剂盒均购自美国Thermo公司,增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、细胞周期蛋白D1(cyclinD1)、基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase 2, MMP-2)、基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)、GAPDH的一抗和二抗IgG均购自美国Cell Signaling公司, 2×SG fast qPCR试剂盒、cDNA逆转录试剂盒、细胞周期试剂盒, CCK-8试剂盒、EDU试剂盒、引物序列等其余试剂均购自上海生物工程股份有限公司。

### 1.2 细胞培养及转染

常规复苏正常乳腺细胞MCF-10A以及乳腺癌细胞MCF-7、BT-20、MAD-MB-231、ZR-75-1、SKBR3细胞,细胞均在90% RPMI 1640+10% FBS的培养基中常规培养、换液、消化及传代。选择对数生长期的MCF-7细胞均匀接种至6孔板中,待细胞贴壁至80%左右时,利用Lipofectamine 2000根据试剂盒操作说

明书将过表达LINC00969质粒及对应的空载质粒(为阴性对照Vector)以50 nmol/L的终浓度转染到乳腺癌细胞MCF-7中,转染过程中均用无血清RPMI 1640培养液,转染后6 h更换含10% RPMI 1640正常培养液培养,结束转染48 h后用于后续实验。

### 1.3 实时荧光定量PCR(qPCR)检测乳腺癌组织和细胞中LINC00969的表达水平

取对数生长期的MCF-10A、MCF-7、BT-20、MAD-MB-231、ZR-75-1、SKBR3细胞,约 $1 \times 10^5$ 个/孔均匀接种至6孔板中培养24 h,通过TRIzol试剂从细胞中提取总RNA,逆转录成cDNA。以cDNA为模板进行,扩增,引物序列:内参GAPDH引物序列为5'-GGCTGCCCGAAGACATCAT-3'、5'-CGGACACATTGGGGGTAG-3', LINC00969引物序列为5'-UAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUU-3'、5'-CACUGAUUCAAUGGUGCUAUU-3'。使用Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR仪检测LINC00969的表达水平。PCR程序如下:95 °C变性5 min, 95 °C变性10 s, 60 °C退火20 s, 72 °C延伸20 s(共40个循环)。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式计算相对表达量,选择LINC00969表达量最低的MCF-7细胞株进行后续实验。

选择42例乳腺癌组织和对应癌旁组织按照上述方法检测LINC00969的表达水平。

### 1.4 CCK-8实验检测转染前后癌细胞的增殖水平

利用CCK-8实验检测细胞增殖。将转染后24 h的MCF-7细胞以每孔4 000个细胞接种在96孔板上,以转染空载体细胞为对照组(Vector),每种处理均设3个重复孔。细胞在培养24、48和72 h后,每孔加入10  $\mu$ l CCK-8溶液并在37 °C孵育1 h,用酶标仪测定450 nm处的光密度(D)值。所有实验均重复3次。

### 1.5 平板克隆形成实验检测癌细胞集落形成能力

将转染24h后的MCF-7细胞消化后约200个/孔均匀接种至6孔板中,分组及设置复孔同上,在细胞培养箱中培养14 d左右观察是否可见克隆,同时拍照且计数克隆数。实验重复3次。

### 1.6 EdU实验检测癌细胞DNA合成能力

转染后MCF-7细胞约4 000个/孔均匀接种至96孔板中,分组同上。按EdU试剂盒配制染色液和进行实验操作,结束后置于显微镜下观察。

### 1.7 流式细胞术检测癌细胞周期

取对数生长期转染后MCF-7细胞, $1 \times 10^5$ 个/孔均匀接种至6孔板中,分组同上。常规消化离心后用预冷PBS洗涤重悬细胞,用70%乙醇4 °C固定过夜,次日再次离心,每管细胞加入配制好的碘化吡啶液染色并重悬细胞,室温避光孵育30 min,后用流式细胞仪检测细胞周期。实验重复3次。

### 1.8 细胞划痕愈合实验检测细胞的迁移能力

将MCF-7细胞接种在6孔板中,转染72 h后当细胞覆盖达到80%时使用200  $\mu$ l移液管尖端轻轻刮擦穿过孔中心的单层。每孔用培养基短暂洗涤2次后除去脱落的细胞。加入新鲜培养基,细胞再放入培养箱培养,显微镜上观察和拍照0及72 h的细胞划痕愈合情况。

### 1.9 Transwell实验检测细胞侵袭和迁移能力

细胞迁移实验:分为过表达LINC00969组及Vector对照组,取对数生长期的转染后MCF-7细胞,以 $5 \times 10^4$ 个/孔均匀接种至24孔板中Transwell小室的上室,37  $^{\circ}$ C培养箱孵育24 h,用棉签去除上室中的细胞,用0.2%的结晶紫对穿过膜的细胞进行染色,然后计算染色细胞数目。每个实验重复3次。

细胞侵袭实验:在小室中预先铺好稀释好的基质胶50  $\mu$ l,在细胞培养箱培养1 h使基质胶凝固。取对数生长期的转染后MCF-7细胞,以 $5 \times 10^4$ 个/孔均匀接种至24孔板中transwell小室的上室,细胞培养箱培养24 h,后续步骤同细胞迁移实验。

### 1.10 Western blotting(WB)检测细胞中相关蛋白的表达水平

将细胞转染72 h后,用RIPA裂解缓冲液提取细胞裂解产物,BCA蛋白质测定试剂盒测定蛋白浓度。高温变性后,以SDS-PAGE分离蛋白并转移到PVDF膜中,用5%脱脂奶粉封闭2 h,然后在4  $^{\circ}$ C下与

兔多克隆抗体PCNA、CyclinD1、MMP2、MMP9和GAPDH(均1:1 000稀释)孵育过夜。然后与二抗IgG(1:5 000稀释)在室温下孵育2 h。使用ECL化学发光液显色,凝胶成像仪蛋白成像,Image J软件进行蛋白半定量分析。

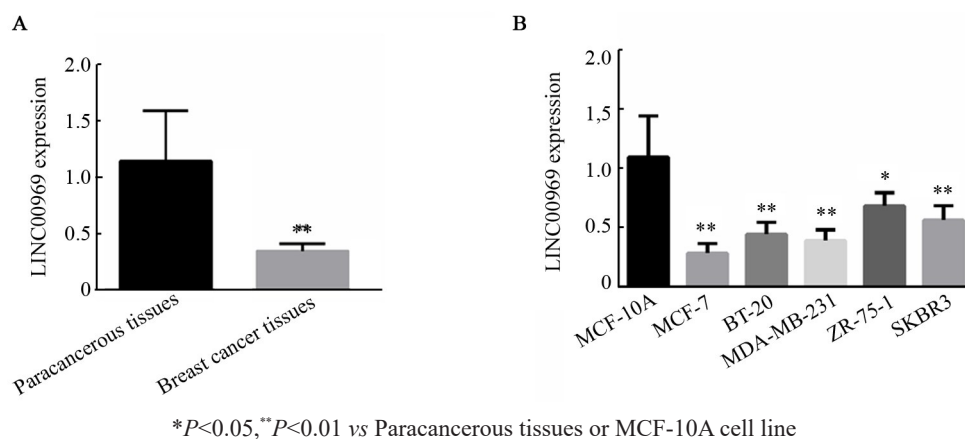
### 1.11 统计学处理

采用SPSS20.0统计软件进行分析,以正态分布的定量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,分别用*t*检验和方差分析进行两组和多组间比较。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 乳腺癌组织和细胞中LINC00969均呈低表达

qPCR检测42例乳腺癌组织和对应癌旁组织,以及乳腺细胞MCF-10A以及5种乳腺癌细胞MCF-7、BT-20、MAD-MB-231、ZR-75-1、SKBR3中LINC00969表达。结果发现,与癌旁组织比较,乳腺癌组织中LINC00969表达显著降低(图1A,  $1.14 \pm 0.45$  vs  $0.34 \pm 0.07$ ,  $P < 0.01$ );此外,与正常乳腺细胞MCF-10A比较,5种乳腺癌细胞中LINC00969表达均显著降低(图1B,  $1.09 \pm 0.35$  vs  $0.28 \pm 0.08$ ,  $0.44 \pm 0.10$ ,  $0.39 \pm 0.09$ ,  $0.68 \pm 0.11$ ,  $0.56 \pm 0.12$ ,  $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),其中以MCF-7细胞中LINC00969表达最低,故后续实验选用MCF-7细胞。



A: LINC00969 expression in breast cancer and adjacent tissues; B: LINC00969 expression in breast cancer cell lines

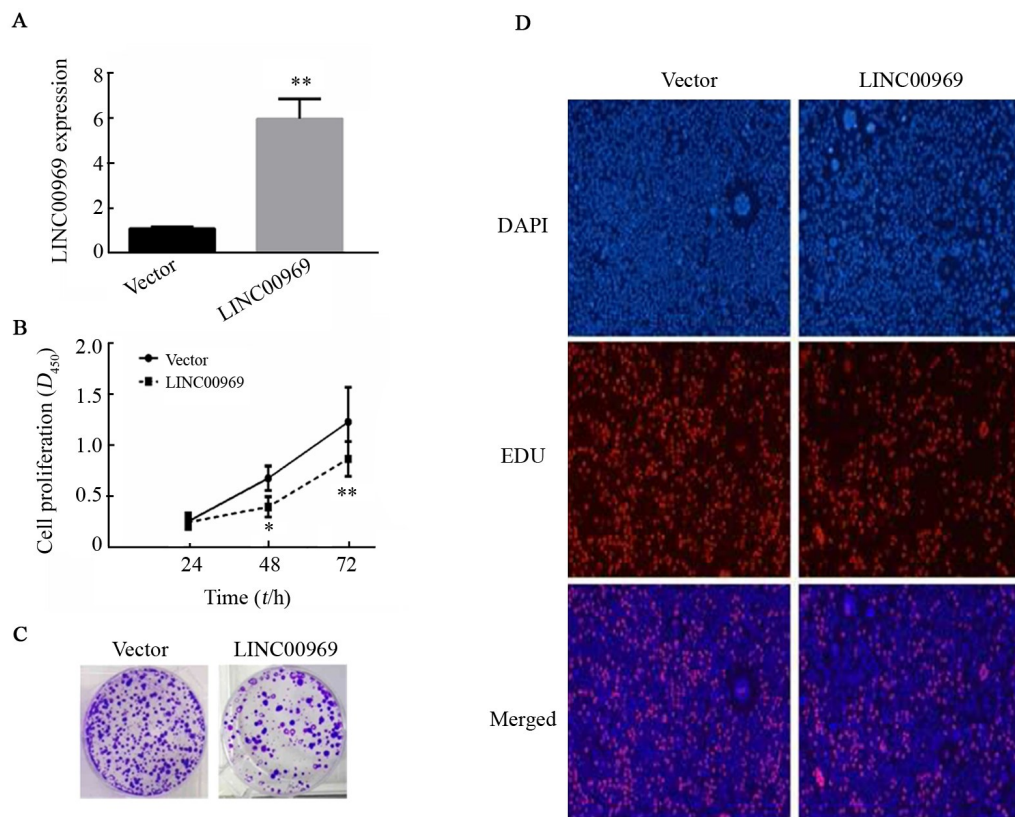
图1 乳腺癌组织和细胞中LINC00969表达

Fig.1 LINC00969 expression in breast cancer tissues and cell lines

### 2.2 过表达LINC00969明显抑制MCF-7细胞的增殖

qPCR检测转染效率,结果发现,转染LINC00969过表达质粒组MCF细胞中LINC00969表达显著高于vector组(图2A,  $1.09 \pm 0.09$  vs  $5.98 \pm 0.88$ ,  $P < 0.01$ )。CCK-8实验检测两组细胞增殖活性,结果发现,过表达LINC00969组中培养48、72 h的细胞增殖活性显

著低于Vector组(图2B,  $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。平板克隆实验检测结果发现,与Vector组比较,过表达LINC00969组细胞克隆数明显减少[( $36 \pm 7$ ) vs ( $97 \pm 11$ )个,  $P < 0.01$ ,图2C]。EDU实验结果也发现,过表达LINC00969组细胞的DNA合成能力受到显著抑制[( $863 \pm 54$ ) vs ( $721 \pm 45$ ),  $P < 0.05$ ,图2D]。



\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs Vector group

A: qPCR was used to detect the overexpression efficiency of LINC00969 in MCF-7 cells; B: CCK-8 was used to detect the cell proliferation viability in MCF-7 cells; C: Plate clone formation assay was used to detect clone formation viability; D: EDU assay was used to detect the DNA synthesis viability ( $\times 100$ )

图2 过表达LINC00969对乳腺癌MCF-7细胞增殖的影响

Fig.2 Effect of LINC00969 overexpression on proliferation of breast cancer MCF-7 cells

### 2.3 过表达LINC00969明显阻滞细胞周期于G1期

细胞流式仪检测细胞周期结果发现,LINC00969组细胞周期在G1期占比显著高于Vector组,S期占比显著低于Vector组(图3A,  $P < 0.05$ ); WB检测结果发现,LINC00969组PCNA和Cyclin D1蛋白表达显著低于Vector组(图3B,  $P < 0.01$ )。

### 2.4 过表达LINC00969明显抑制MCF-7细胞的迁移和侵袭

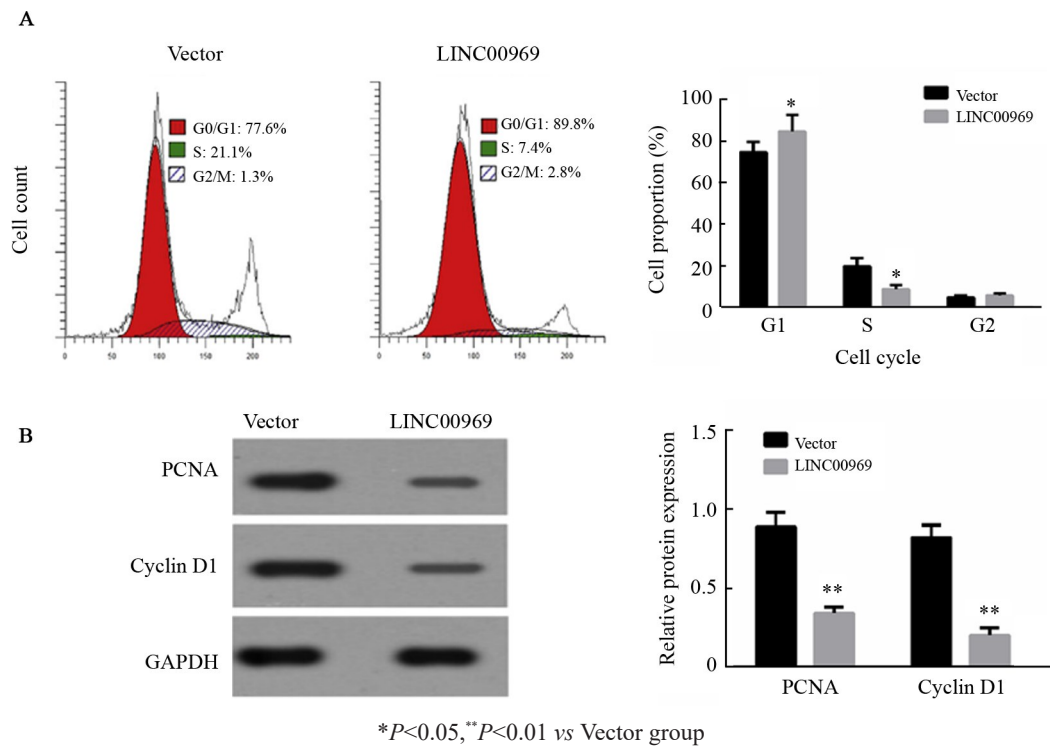
划痕修复实验结果发现,过表达LINC00969组72 h划痕宽度大于Vector组[( $0.34 \pm 0.09$ ) vs ( $0.13 \pm 0.05$ ) mm,  $P < 0.01$ ,图4A); Transwell实验检测结果发现,LINC00969组迁移和侵袭细胞数显著低于Vector组(图4B、C,均  $P < 0.01$ ); WB检测结果发现过表达LINC00969组细胞中MMP-2和MMP-9蛋白表达显著低于Vector组(图4D,均  $P < 0.01$ )。

## 3 讨论

本研究发现,乳腺癌组织中LINC00969表达显著低于癌旁组织,在乳腺癌细胞MCF-7中LINC00969表达显著低于正常乳腺细胞MCF-10A。

这些结果表明,LINC00969可能与乳腺癌的发生发展有关。研究<sup>[8]</sup>表明,lncRNA可以通过“海绵样”吸附作用竞争性结合至靶标miRNA。YU等<sup>[9]</sup>证明,与脊髓损伤患者相比,LINC00969在椎间盘退行性改变患者的髓核组织和髓核细胞中高表达,在体外可促进髓核细胞凋亡。本研究结果显示,过表达LINC00969可明显地抑制MCF-7细胞的增殖、侵袭和迁移能力。由此可见,过表达LINC00969在乳腺癌发生发展中扮演着抑癌基因的作用。

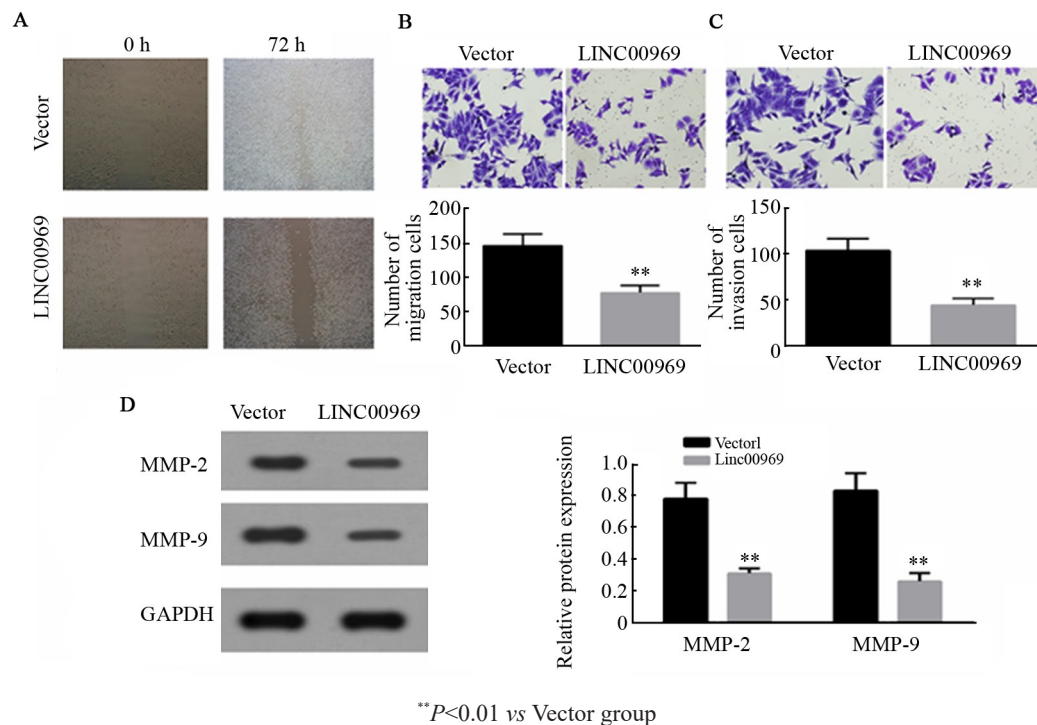
许多lncRNA都参与着乳腺癌细胞的周期调控,PCNA和CyclinD1是细胞周期相关的蛋白。WANG等<sup>[10]</sup>研究表明,lncRNA RMST通过抑制细胞增殖、侵袭和迁移,促进细胞凋亡和调节细胞周期,在乳腺癌中发挥抑癌作用。梅虹等<sup>[11]</sup>研究表明,过表达LINC01001后,G0/G1期细胞数增加至22.56%,S期细胞数降低至28.59%,提示LINC01001可能会对MCF-7细胞细胞周期的进展产生抑制作用。本研究结果表明,LINC00969可以有效地将乳腺癌细胞MCF-7阻滞在DNA复制期之前。



A: Cell cycle was detected by the flow cytometry; B: Expression of PCNA and Cyclin D1 was detected by WB

图3 过表达LINC00969对MCF-7细胞周期及其相关蛋白表达的影响

Fig.3 Effect of LINC00969 overexpression on cell cycle and its related proteins in MCF-7 cells



A: Scratch repair test used to detect the metastasis ability of the two groups ( $\times 100$ ); B: Transwell test for cell migration ability ( $\times 200$ );

C: Transwell test for cell invasion ability ( $\times 200$ ); D: WB detection for MMP-2 and MMP-9 protein expression in MCF-7 cells

图4 过表达LINC00969对MCF-7细胞迁移和侵袭的影响

Fig.4 Effects of LINC00969 over-expression on migration and invasion of MCF-7 cells

MMPs是一类蛋白质水解酶,它可以切割细胞外基质并且参与信号转导,MMPs活化后能降解胶原、释放肽类和生长因子,它在肿瘤的生长及转移和血

管生成中发挥着重要作用<sup>[12-13]</sup>。MENDES等<sup>[14]</sup>研究发现,MMP-2和MMP-9在乳腺癌小鼠脑转移中显著高表达,它们可能参与了乳腺癌向脑转移的过程。

有研究<sup>[15]</sup>也表明, MMP2 或 MMP9 可能对乳腺癌的分期或预后发挥着作用, 其在乳腺癌组织中高表达, 当其下降时则表明其预后好转。本研究结果显示, 过表达 LINC00969 组中 MCF-7 细胞的 MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达显著低于 Vector 组, 表明 LINC00969 可以抑制乳腺癌细胞的转移能力与 MMP-2、-9 表达下调有关。本研究接下来将会针对 LINC00969 在乳腺癌中的作用机制进行进一步研究。

综上所述, LINC00969 在乳腺癌组织和细胞中呈低表达, 过表达 LINC00969 可以抑制乳腺癌 MCF-7 细胞增殖、阻滞细胞周期及细胞的迁移、侵袭。由此提示, LINC00969 可以作为乳腺癌潜在的生物标志物。

#### [参考文献]

- [1] JIA M, ZHENG R, ZHANG S, et al. Female breast cancer incidence and mortality in 2011, China[J]. *J Thorac Dis*, 2015, 7(7): 1221-1226. DOI:10.3978/j.issn.2072-1439.2015.05.15.
- [2] LI Z, HOU P, FAN D, et al. The degradation of EZH2 mediated by lncRNA ANCR attenuated the invasion and metastasis of breast cancer[J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(1): 59-71. DOI: 10.1038/cdd.2016.95.
- [3] GUPTA RA, SHAH N, KEVIN C. et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis[J]. *Nature*, 2010, 463(7291): 1071-1076. DOI:10.1038/nature08975.
- [4] KRISTINA PS, THOMASSEN M, TAN Q, et al. Long non-coding RNA HOTAIR is an independent prognostic marker of metastasis in estrogen receptor-positive primary breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2013, 142(3):529-536. DOI:10.1007/s10549-013-2776-7.
- [5] JI P, DIEDERICH S, WANG W, et al. MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin 4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer[J]. *Oncogene*, 2003, 22(39):8031-8041. DOI:10.1038/sj.onc.1206928.
- [6] ZHANG L, YAN X, YU S, et al. LINC00365-SCGB2A1 axis inhibits the viability of breast cancer through targeting NF- $\kappa$ B signaling [J]. *Oncol Lett*, 2020, 19(1):753-762. DOI:10.3892/ol.2019.11166.
- [7] ZHENG G X, DO B T, WEBSTER D E, et al. Dicer-microRNA-Myc circuit promotes transcription of hundreds of long noncoding RNAs[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2014, 21(7):585-590. DOI:10.1038/nsmb.2842.
- [8] ZHOU G, LI C, FENG J, et al. lncRNA UCA1 is a novel regulator in cardiomyocyte hypertrophy through targeting the miR-184/HOXA9 axis[J]. *Cardiorenal Med*, 2018, 8(2): 130-139. DOI: 10.1159/000487204
- [9] YU L, HAO Y, XU C, et al. LINC00969 promotes the degeneration of intervertebral disk by sponging miR-335-3p and regulating NLRP3 inflammasome activation[J]. *IUNMB Life*, 2019, 71(5): 611-618. DOI:10.1002/iub.1989.
- [10] WANG L, LIU D, WU X, et al. Long non-coding RNA (lncRNA) RMST in triple-negative breast cancer (TNBC): Expression analysis and biological roles research[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(10): 6603-6612. DOI:10.1002/jcp.26311.
- [11] 梅虹, 李常恩, 杨梁, 等. 长链非编码RNA LINC01001 在乳腺癌中的表达及其对 MCF-7 细胞增殖的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(2): 158-162. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2018.02.009.
- [12] MASSON V, BALLINA LR, MUNAUT C. Contribution of host MMP-2 and MMP-9 to promote tumor vascularization and invasion of malignant keratinocytes[J]. *FASEB J*, 2005, 19(2):234-236. DOI: 10.1096/fj.04-2140fje.
- [13] YURDANUR S, GUZIN G, DEMIRAGB AY, et al. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 expression in invasive ductal carcinoma of the breast[J]. *Pathol Res Pract*, 2011, 207(12): 747-753. DOI:10.1016/j.prp.2011.09.010.
- [14] MENDES O, Kim HT, Stoica G, et al. Expression of MMP2, MMP9 and MMP3 in breast cancer brain metastasis in a rat model [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2005, 22(3): 237-246. DOI: 10.1007/s10585-005-8115-6.
- [15] SOMIARI SB, SOMIARI RI, HECKMAN CM, et al. Circulating MMP2 and MMP9 in breast cancer—Potential role in classification of patients into low risk, high risk, benign disease and breast cancer categories[J]. *Int J Cancer*, 2006, 119(6): 1403-1411. DOI: 10.1002/ijc.21989.

[收稿日期] 2020-03-12

[修回日期] 2020-08-09

[本文编辑] 韩丹