

## 肠胃清抗结肠癌侵袭转移机制初步探讨

王国娟<sup>1</sup>, 余文燕<sup>2\*</sup>, 范忠泽<sup>3\*</sup>

- (1. 江西中医药大学附属医院, 南昌 330006;
2. 江西中医药大学中医基础理论分化发展研究中心, 南昌 330004;
3. 上海中医药大学附属普陀医院, 上海 200062)

**[摘要]** **目的:** 肠胃清抗结肠癌侵袭转移的分子机制研究。**方法:** 以人结肠癌细胞株 LoVo 为研究对象, 实验分为空白组, 肠胃清低、中、高剂量组(0.98, 1.97, 3.93 g·L<sup>-1</sup>), 奥沙利铂组(9.23 mg·L<sup>-1</sup>), 联合组(肠胃清中剂量联合奥沙利铂组); 药物作用于结肠癌 LoVo 细胞后, 采用 RT-qPCR 法, Western blot 法检测肠胃清对侵袭转移相关的 E 钙黏蛋白(E-cadherin)及 Wnt/ $\beta$ -链蛋白( $\beta$ -catenin)信号通路因子  $\beta$ -catenin, (基质金属蛋白酶-7) MMP-7 mRNA 及蛋白的影响。**结果:** 与空白组比较, 肠胃清低、中、高剂量组、奥沙利铂组及联合组均升高 LoVo 细胞 E-cadherin mRNA 的表达( $P < 0.01$ ), 均能降低  $\beta$ -catenin 及 MMP-7 mRNA 的表达( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 联合组作用更强; 与空白组比较, 肠胃清低、中、高剂量组、奥沙利铂组及联合组均升高 LoVo 细胞 E-cadherin 蛋白的表达( $P < 0.05$ ), 均能降低  $\beta$ -catenin 及 MMP-7 蛋白的表达( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 联合组作用更强。**结论:** 肠胃清可以增加 E-cadherin 的表达量, 增强细胞间的黏附能力, 同时肠胃清可抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路活性, 降低  $\beta$ -catenin, MMP-7 的表达, 与奥沙利铂有协同作用。

**[关键词]** 肠胃清; 结肠癌; 侵袭转移

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)03-0142-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015030142

### Primary Research on Mechanism of Changweiqing in Treating Colon Cancer Invasion and Metastasis

WANG Guo-juan<sup>1</sup>, YU Wen-yan<sup>2\*</sup>, FAN Zhong-ze<sup>3\*</sup> (1. Department of Oncology, the Hospital Affiliated to Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang 330006, China; 2. Research Center for Differentiation and Development of Basic theory of TCM, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China; 3. Department of Oncology, the Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, Shanghai 200062, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the molecular mechanisms of Changweiqing in treating colon cancer invasion and metastasis. **Method:** The experiment included the blank group, the low-, medium-, high-dose Changweiqing groups (0.98, 1.97, 3.93 g·L<sup>-1</sup>), the oxaliplatin group (9.23 mg·L<sup>-1</sup>), and the combination group (1.97 g·L<sup>-1</sup> Changweiqing plus 9.23 mg·L<sup>-1</sup> oxaliplatin). The colon cancer LoVo cells were used in this study. The mRNA and protein of E-cadherin, Wnt/beta chain protein signaling pathway factor  $\beta$ -catenin and matrix metalloproteinase-7 (MMP-7) were detected by RT-qPCR and Western blot assay. **Result:** Compared to the blank group, the mRNA, protein expression of E-cadherin increased, the mRNA expression of  $\beta$ -catenin and MMP-7 decreased in LoVo cells at all doses of Changweiqing groups, oxaliplatin group and combined group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Meanwhile, the results were better in the combination group. **Conclusion:** Changweiqing has synergetic effect with oxaliplatin by increasing the expression of E-cadherin and enhancing the adhesion between cells, inhibiting Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway activity, decreasing the expression of  $\beta$ -catenin and MMP-7.

**[Key words]** Changweiqing; colon cancer; invasion and metastasis

**[收稿日期]** 20140710(004)

**[基金项目]** 上海市科技创新行动计划中药现代化项目(09DZ197550);江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ14601)

**[第一作者]** 王国娟, 博士, 主治医师, 从事中药对肿瘤的基础与临床研究, Tel:0791-86362661, E-mail:wgj171911@126.com

**[通讯作者]** \*余文燕, 博士, 主治医师, 从事中药对肿瘤的基础与临床研究, Tel:0791-86802730, E-mail:herion09@126.com;

\*范忠泽, 博士, 主任医师, 从事中药对肿瘤的基础与临床研究, Tel:021-83654321, E-mail:fbwz@163.com

随着生活水平的提高、生活习惯的改变及生存环境的变化,大肠癌的发病有逐年增高的趋势,目前其病死率在美国位居恶性肿瘤死亡率的第3位,在我国位居恶性肿瘤死亡率的第5位<sup>[1]</sup>。中药复方肠胃清是导师范忠泽教授临床经验方,由黄芪、党参、生白术、猪苓、薏苡仁、八月扎、野葡萄藤、红藤等药组成。该方有益气补脾、燥湿理气解毒之功效,主要用于胃癌、大肠癌的治疗,具有改善病人临床症状、提高生活质量的效果;与化疗合用可起到减毒增效的作用。前期研究中发现肠胃清对结肠癌增殖、凋亡、侵袭转移、耐药均有影响。肠胃清口服液可以通过抑制结肠癌细胞的黏附、运动、浸润能力,抑制肿瘤的侵袭转移<sup>[2]</sup>;肠胃清药物血清可以有效地抑制肿瘤细胞黏附能力,抑制 LS-174T 癌细胞移动,还通过抑制结肠癌细胞的黏附、运动、浸润能力,减少基质金属蛋白(MMPs)的分泌等途径抑制肿瘤的转移<sup>[3]</sup>;肠胃清口服液可抑制化疗对多药耐药基因1(MDR1) mRNA 水平的升高作用<sup>[4]</sup>,可增强化疗药物的抑瘤效果<sup>[5]</sup>,对奥沙利铂耐药<sup>[6]</sup>结肠癌原位肿瘤的生长具有一定的抑制增效作用。近来研究发现肠胃清抑制结肠癌侵袭的分子机制与减少缺氧诱导因子1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ ),内皮生长因子(VEGF)的表达及抑制 MMP-2, MMP-9 的表达相关<sup>[7]</sup>,肠胃清对结肠癌的侵袭转移在体内外均有抑制作用<sup>[8]</sup>,本文旨在探讨其分子机制,为临床研究提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 细胞株** 人结肠癌细胞株 LoVo,购于中国科学院细胞库。

**1.2 药物及试剂** 奥沙利铂(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号 H20000337),95%乙醇(分析纯,上海市实验仪器总厂),碘化啉啉 PI(美国 Amresco 公司),RNase A(美国 Promega 公司,批号 73H7012),甲醇(分析纯,江苏恒瑞医药股份有限公司),乙二醇双乙胺醚-N,N'-四乙酸(EDTA)(美国 Sigma 公司,批号 07072)。

**1.3 仪器** IX71 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司),CELL240 型二氧化碳恒温培养箱(德国贺利氏公司),101-2 型干燥箱(上海市实验仪器总厂),酶标仪(美国 Bio-Rad 公司)。

## 2 方法

**2.1 肠胃清的制备** 肠胃清浸膏粉,由黄芪 30 g,党参 15 g,生白术 15 g,猪苓 24 g,薏苡仁 30 g,八月扎 24 g,野葡萄藤 30 g,红藤 30 g 组成,由上海中医药大学中药学院煎煮、200 目过滤,浓缩、风干、制

粉<sup>[9]</sup>,1 g 浸膏粉含 6.06 g 生药。将肠胃清浸膏粉高浓度溶解在 F12 培养液中,充分混匀后 4 ℃ 过夜,3 000 r·min<sup>-1</sup>,离心 10 min,用 0.22  $\mu$ m 滤器过滤后稀释配制不同浓度的肠胃清溶液作为体外用药。

**2.2 奥沙利铂给药剂量设定** 本实验用 MTT 法根据结肠癌 LoVo 细胞对奥沙利铂敏感性制出抑制曲线,根据抑制率,采用 SPSS 软件计算出肠胃清对 LoVo 细胞的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)为 36.92  $\times 10^{-3}$  g·L<sup>-1</sup>,以其 1/4 的质量浓度即 9.23  $\times 10^{-3}$  g·L<sup>-1</sup>为奥沙利铂体外给药剂量。

**2.3 肠胃清给药剂量的确定及分组** 给药根据结肠癌 LoVo 细胞对肠胃清的敏感度制出抑制率曲线,根据抑制率,计算出肠胃清对 LoVo 细胞的 IC<sub>50</sub> 药物质量浓度为 3.93 g·L<sup>-1</sup>,以肠胃清对 LoVo 细胞的 IC<sub>50</sub> 药物质量浓度即 3.93 g·L<sup>-1</sup>为肠胃清高剂量组,其一半即 1.965 g·L<sup>-1</sup>为肠胃清中剂量组,0.982 5 g·L<sup>-1</sup>为肠胃清低剂量组给药,同时设空白组即不给药仅用 F12 培养液培养组,奥沙利铂组(9.23  $\times 10^{-3}$  g·L<sup>-1</sup>),肠胃清中剂量(1.965 g·L<sup>-1</sup>)与奥沙利铂(9.23  $\times 10^{-3}$  g·L<sup>-1</sup>)联用即一定量 F12 培养液(含 10% 胎牛血清)中加入中浓度肠胃清溶液和沙利铂溶液,最后配制成每升中含肠胃清 1.965 g、奥沙利铂 0.009 23 g 的溶液为联合组,以观察肠胃清与奥沙利铂疗效的关系,所有组别培养液中胎牛血清含 10%。所有组别在 LoVo 细胞贴壁后无胎牛血清 F12 培养液培养 24 h 后给药。

**2.4 Western blot 蛋白印迹法** 按照碧云天细胞核蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒说明书提取胞浆、细胞核蛋白,配置 BCA 工作液(WR),根据 BCA 试剂说明书,以试剂 A-试剂 B 50:1 的比例混合配置 BCA 工作液,每孔添加 200  $\mu$ L 的 BCA 工作液,检测蛋白浓度。制备 10% 分离胶、5% 堆积胶,裂解液、蛋白样品、Loading Buffer,总量 25  $\mu$ L,沸水煮 10 min,使蛋白变性,离心,上样,180 V 电压电泳 1.5 ~ 2 h,15 V 电压、45 min,半干转膜,5% 的脱脂奶粉封闭液封闭膜,摇床缓慢摇 2 h。封闭过的膜加入目的及内参蛋白一抗,抗原抗体结合(一抗配制 1:500 ~ 1 000,以 5% 脱脂奶粉为溶剂),4 ℃ 摇床缓慢摇动过夜;第 2 天,回收一抗,保存于 4 ℃ 冰箱,用 TTBS 洗膜 3 次,每次 10 min,加入 HRP 标记的二级抗体以结合一级抗体及 HRP 标记的抗生物素抗体(二抗配制 1:1 万,以 5% 脱脂奶粉为溶剂),室温摇床缓慢摇动 2 h,去除二抗液体,用 TTBS 洗膜 4 次,每次 10 min,在暗室中,将荧光底物 A 和 B 两种试剂等体积充分

混合进行 X 射线显影,凝胶成像仪拍照,以目的蛋白的灰度值/相应内参蛋白的灰度值作为比较量进行比较。

**2.5 RT-qPCR 法检测 mRNA 表达水平** 基因 E-cadherin,  $\beta$ -catenin, MMP-7, GAPDH 的标记引物、探针由上海闪晶生物公司合成, E-cadherin 引物, 上游 5'-CATCGCTTACACCATCCTCAG-3', 下游 5'-CGTAGGGAAACTCTCTCGGTC-3';  $\beta$ -catenin, 上游 5'-GCCGACACCAAGAAGCAGA-3', 下游 5'-CGAATCAATCCAACAGTAGCCT-3'; MMP-7, Prime-F 5'-TG-GTCACCTACAGGATCGTATCA-3', 下游 5'-TGTCAG-CAGTTCCCCATACAAC-3'; GAPDH, 上游 5'-CCA-CTCCTCCACCTTTGAC, 下游 5'-ACCCTGTTGCTG-TAGCCA。按照 Takara RNA 提取试剂盒说明书提取 LoVo 细胞 RNA, 将提纯、测定浓度的 mRNA, 按照 Takara 公司的逆转录试剂盒步骤逆转 cDNA, 实

验结果采用  $\Delta Ct$  表示, 采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法比较目的基因相对于对照基因的表达倍数, 计算公式如下:

$$\Delta Ct \text{ 值} = \text{目的基因的 } \Delta Ct \text{ 值} - \text{内参基因的 } \Delta Ct \text{ 值};$$

$$\Delta\Delta Ct \text{ 值} = \text{观测基因的 } \Delta Ct \text{ 值} - \text{对照基因的 } \Delta Ct \text{ 值}$$

**2.6 统计学处理** 采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计学处理, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较则采用单因素方差分析进行统计, 两组间差异比较采用 *t* 检验, 以  $P < 0.05$  为有统计学意义。

**3 结果**

**3.1 对 E-cadherin,  $\beta$ -catenin, MMP-7 mRNA 表达的影响** 给药 48 h 后, 以空白组为参照, 比较给药各组与其  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。与空白组比较, 肠胃清低、中、高剂量组、奥沙利铂组及联合组均增高 E-cadherin mRNA 的表达 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 各给药组均降低  $\beta$ -catenin, MMP-7 mRNA 的表达 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 联合组尤为明显 ( $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 肠胃清对 LoVo 细胞 E-cadherin,  $\beta$ -catenin, MMP-7 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 1 Effects of E-cadherin,  $\beta$ -catenin and MMP-7 in LoVo cell with Changweiqing ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

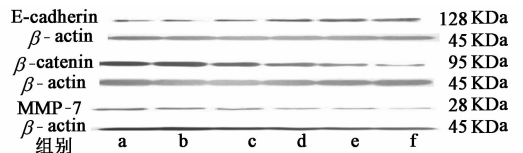
| 组别         | 剂量/g·L <sup>-1</sup>           | E-cadherin/ $2^{-\Delta\Delta Ct}$ | $\beta$ -catenin/ $2^{-\Delta\Delta Ct}$ | MMP-7/ $2^{-\Delta\Delta Ct}$ |
|------------|--------------------------------|------------------------------------|--|-------------------------------|
| 空白         | -                              | 1.00 ± 0.00                        | 1.00 ± 0.00                              | 1.00 ± 0.00                   |
| 肠胃清        | 0.98                           | 1.19 ± 0.01 <sup>1)</sup>          | 0.76 ± 0.04 <sup>1)</sup>                | 0.96 ± 0.01 <sup>1)</sup>     |
|            | 1.97                           | 1.62 ± 0.02 <sup>1)</sup>          | 0.61 ± 0.03 <sup>1)</sup>                | 0.69 ± 0.03 <sup>1)</sup>     |
|            | 3.93                           | 1.91 ± 0.01 <sup>2)</sup>          | 0.17 ± 0.00 <sup>2)</sup>                | 0.42 ± 0.04 <sup>2)</sup>     |
| 奥沙利铂       | 9.23 × 10 <sup>-3</sup>        | 2.23 ± 0.21 <sup>2)</sup>          | 0.13 ± 0.01 <sup>2)</sup>                | 0.33 ± 0.01 <sup>2)</sup>     |
| 肠胃清 + 奥沙利铂 | 1.97 + 9.23 × 10 <sup>-3</sup> | 3.92 ± 0.33 <sup>2)</sup>          | 0.10 ± 0.00 <sup>2)</sup>                | 0.15 ± 0.00 <sup>2)</sup>     |

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05, ^{2)}$  $P < 0.01$ (表 2 同)。

**3.2 对 E-cadherin,  $\beta$ -catenin, MMP-7 蛋白表达的影响** 给药 48 h 后, 以 E-cadherin 的灰度值/其相对内参  $\beta$ -actin 的灰度值为比较量进行比较, 与空白组比较, 肠胃清低、中、高剂量组、奥沙利铂组及联合组均增高 E-cadherin 蛋白的表达 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 各给药组均降低  $\beta$ -catenin, MMP-7 蛋白的表达 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 联合组尤为明显 ( $P < 0.01$ ), 与 mRNA 的结果一致。见图 1, 表 2。

**4 讨论**

Wnt 细胞信号通路是调控细胞生长、发育和分化的关键通路, 是一种对控制胚胎发育有重要作用、进化上保守的信号转导途径, 在许多动物机体中都有很重要的作用<sup>[10]</sup>。Wnt 通路在细胞内主要由以下几种蛋白构成: Wnt 家族分泌蛋白 (Wnt), 特异性受体卷曲蛋白 (Frizzled, Frz), 糖原合成酶激酶 3 (glycogen synthase kinase-3, GSK3), 散乱蛋白 (Dishevelled, Dsh),  $\beta$ -catenin, APC 蛋白, 轴蛋白或



a. 空白组; b. 肠胃清 0.98 g·L<sup>-1</sup> 组; c. 肠胃清 1.97 g·L<sup>-1</sup> 组; d. 肠胃清 3.93 g·L<sup>-1</sup> 组; e. 奥沙利铂 9.23 × 10<sup>-3</sup> g·L<sup>-1</sup> 组; f. 联合组

图 1 肠胃清对 LoVo 细胞 E-cadherin,  $\beta$ -catenin, MMP-7 蛋白表达的影响

Fig. 1 Effects of E-cadherin, beta-catenin, MMP-7 protein expression in LoVo cell with Changweiqing

转导蛋白 (Axin or Conductin) 及 TCF (T cell factor) / LEF (lymphoid enhancer factor) 家族转录调节因子<sup>[11]</sup>。在多种人类肿瘤中发现 Wnt 信号途径的成分突变, 如 APC, Axin,  $\beta$ -catenin 等。这些突变的最终结果是 Wnt 靶基因的组成性激活及细胞增生的失控<sup>[12]</sup>。 $\beta$ -catenin 结构或功能变化是肿瘤发生中 Wnt 途径异常激活的中心,  $\beta$ -catenin 的异常引起其

表 2 肠胃清对 LoVo 细胞 E-cadherin,β-catenin,MMP-7 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 2 Effects of E-cadherin, β-catenin and MMP-7 protein in LoVo cell with Changweiqing( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 组别         | 剂量/g·L <sup>-1</sup>           | E-cadherin/β-actin        | β-catenin/β-actin         | MMP-7/β-actin             |
|------------|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 空白         | -                              | 0.19 ± 0.01               | 0.94 ± 0.02               | 0.44 ± 0.02               |
| 肠胃清        | 0.98                           | 0.24 ± 0.03 <sup>1)</sup> | 0.89 ± 0.04 <sup>1)</sup> | 0.36 ± 0.01               |
|            | 1.97                           | 0.38 ± 0.02 <sup>1)</sup> | 0.72 ± 0.01 <sup>1)</sup> | 0.31 ± 0.01 <sup>1)</sup> |
|            | 3.93                           | 0.59 ± 0.05 <sup>2)</sup> | 0.55 ± 0.2 <sup>2)</sup>  | 0.24 ± 0.01 <sup>1)</sup> |
| 奥沙利铂       | 9.23 × 10 <sup>-3</sup>        | 0.69 ± 0.02 <sup>2)</sup> | 0.44 ± 0.01 <sup>2)</sup> | 0.22 ± 0.01 <sup>1)</sup> |
| 肠胃清 + 奥沙利铂 | 1.97 + 9.23 × 10 <sup>-3</sup> | 0.77 ± 0.01 <sup>2)</sup> | 0.36 ± 0.00 <sup>2)</sup> | 0.17 ± 0.01 <sup>2)</sup> |

下游靶基因的异常激活,诱发细胞癌变<sup>[13]</sup>。  
β-catenin除与 E-cadherin 合作参与细胞间黏附外,  
也是经典 Wnt 通路的关键因子<sup>[14]</sup>。MMP-7 则是  
Wnt 通路的下游靶基因产物之一,其可直接破坏 E-  
cadherin-catenin 复合体的胞外结构,使其失去黏附  
功能<sup>[15]</sup>。

研究结果发现肠胃清可以促进 LoVo 细胞 E-  
cadherin 表达,联合奥沙利铂作用更强,Western Blot  
实验结果与其一致;肠胃清可以降低 LoVo 细胞 β-  
catenin 表达,联合奥沙利铂更为明显,核内蛋白表达  
与基因一致;肠胃清对 MMP-7 的影响与 β-catenin  
相似。结果表明肠胃清可以增加 E-cadherin 的表达  
量,增强细胞间的黏附能力,同时肠胃清降低 Wnt/  
β-catenin 信号通路活性,下调 β-catenin, MMP-7 的  
表达,E-cadherin-catenin 复合体的胞外结构受损降  
低,其黏附功能增强,结肠癌 LoVo 细胞的侵袭转移  
能力降低,此作用在肠胃清与奥沙利铂联合得以增  
强,这与前期肠胃清对结肠癌的侵袭转移在体内外  
均有抑制作用的研究一致,此可能是肠胃清抗结肠  
癌侵袭转移的机制之一,这种作用是直接还是间接  
的作用有待进一步研究。

[参考文献]

[ 1 ] 李祖国,刘腾飞,谢卫兵,等. 环氧化酶 2 基因异常表达与大肠癌转移的关系[J]. 南方医科大学学报, 2006,26(10):1408-1411.

[ 2 ] 许建华,范忠泽,孙珏,等. 肠胃清口服液抑制结肠癌细胞 LS-174T 侵袭转移的体外研究[J]. 中国中西医结合消化杂志,2005,13(6):357-359.

[ 3 ] 许建华,范忠泽,孙珏,等. 肠胃清抗结肠癌转移的机制研究[J]. 中国中医药科技,2006,13(3):148-150.

[ 4 ] 许建华,范忠泽,孙珏,等. 肠胃清治疗晚期胃癌及对外周血 MDR1mRNA 的影响[J]. 上海中医药杂志,

2007,41(5):40-42.

[ 5 ] 许建华,李朝衡,朱美华,等. 肠胃清口服液抗肿瘤作用研究[J]. 中药药理与临床,2004,20(4):42-43.

[ 6 ] 张勇,许建华,范忠泽,等. 健脾解毒方对奥沙利铂抑制人结肠癌裸鼠原位肿瘤生长的增效作用[J]. 辽宁中医杂志,2010,37(4):742-745.

[ 7 ] Li J,Fan Z Z,Sun J,et al. *In vitro* antimetastatic effect of Changweiqing (肠胃清) through ant-invasion of hypoxic colorectal carcinomal LoVo cells [J]. Chin J Integr Med,2011,17(7):517-524.

[ 8 ] 王国娟,孙珏,余文燕,等. 肠胃清对结肠癌侵袭转移影响的实验研究[J]. 中成药,2013,35(9):1836-1841.

[ 9 ] 金旻逸,丁越,张彤,等. 肠胃清颗粒提取工艺研究[J]. 亚太传统医药,2011,7(2):20-23.

[ 10 ] Hendriks B, Reichmann E. Wnt signaling: a complex issue[J]. Biol Res,2002,35(2):277-286.

[ 11 ] Tai Pale J, Beachy P A. The Hedgehog and Wnt signaling pathways in cancer [J]. Nature, 2001, 411 (6835):349-354.

[ 12 ] Brott B K, Sokol S Y. Regulation of Wnt/LRP signaling by distinct domains of Dickkopf proteins [J]. Mol Cell Bio,2012,22(17):6100-6110.

[ 13 ] Giles R H, van Es J H, Clevers H. Caught up in a Wnt storm: Wnt signaling in cancer [J]. Biochim Biophys Acta,2003,1653(1):1-24.

[ 14 ] Barker N, Clevers H. Mining the Wnt pathway for cancer therapeutics [J]. Nat Rev Drug Discov, 2006, 5 (12): 997-1014.

[ 15 ] Bourbonloulia D, Stetler-Stevenson W G. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): Positive and negative regulators in tumor cell adhesion [J]. Semin Cancer Biol, 2010, 20 (3):161-168.

[责任编辑 周冰冰]