

短发夹 RNA 干扰 CXCR4 表达对卵巢癌 SKOV3 细胞凋亡及侵袭能力的影响^{*}

赖靖¹, 眭聃^{2*}, 杨英捷³

(1. 贵州医科大学, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学附属医院, 贵州 贵阳 550004; 3. 贵州省肿瘤医院, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 探讨短发夹 RNA (shRNA) 干扰趋化因子受体 4 (CXCR4) 表达对卵巢癌细胞株 SKOV3 侵袭能力及细胞凋亡的影响。方法: 将带有绿色荧光蛋白的慢病毒载体转染卵巢癌细胞株 SKOV3, 设计特异 shRNA 将其连入慢病毒载体; 测序及荧光显微镜下观察绿色荧光验证慢病毒载体构建并转染, 利用 RT-qPCR 检测转染后细胞株中 CXCR4 的 mRNA 表达, Western blot 检测转染后细胞株中 CXCR4、促凋亡蛋白 *Bax*、*B* 细胞白血病-2 基因 (*Bcl-2*)、*Bcl-xl* 及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (*Caspase-3*) 的蛋白表达; Annexin V/PE 双染色流式细胞术检测 SKOV3 细胞凋亡率, Transwell 小室检测转染后卵巢癌细胞株 SKOV3 的侵袭力。结果: 测序结果及微下见绿色荧光蛋白表达, 证实成功构建慢病毒载体并转染卵巢癌细胞株 SKOV3, 成功将特异 shCXCR4 连入载体; shCXCR4 组 mRNA 及蛋白表达水平明显低于 NC 组 ($P < 0.05$); 干扰细胞中 CXCR4 的表达能提高 SKOV3 细胞中 *Bax* 及 *Cleaved caspase-3* 蛋白的表达量, 降低 *Bcl-xl* 与 *Bcl-2* 的蛋白表达, 干扰后, SKOV3 细胞凋亡率, shCXCR4 组细胞凋亡率较 CON 组和 NC 组明显增高 ($P < 0.05$); 穿膜的细胞数明显减少, 抑制率为 58.94%, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。结论: 慢病毒干扰载体 pLVshCXCR4-EGFP (2A)-Puro 转染卵巢癌细胞株 SKOV3, 可以下调细胞株中 CXCR4 的表达, 并能促进卵巢癌细胞的凋亡, 并能有效地降低卵巢癌细胞的侵袭能力。

[关键词] 卵巢肿瘤; 趋化因子受体 4; RNA 干扰; 细胞凋亡; 侵袭能力

[中图分类号] R711.75; R737.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2016)06-0653-07

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2016.06.008

Influence of Lentivirus-Mediated shRNA-CXCR4 on Ovarian Cancer Cell Apoptosis and Invasion

LAI Jing¹, ZI Dan², YANG Yingjie³

(1. Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 3. Guizhou Tumor Hospital, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the influence of CXCR4-targeted short hairpin RNA on invasion ability and apoptosis of ovarian cancer line SKOV3. **Methods:** CXCR4-shRNA lentivirus with Green fluorescent protein was transfected into ovarian cancer cell line SKOV3. RT-qPCR and western blot were employed to measure the expression of CXCR4 RNA and protein expression of CXCR4, *Bax*, *Bcl-2*, *Bcl-xl* and *Caspase-3*. Apoptosis rate of SKOV3 cell was detected through Annexin V/PE double staining flow cytometry. Transwell chamber was employed to estimate the invasiveness for SKOV3. **Results:** Transfected pLVshCXCR4-EGFP (2A)-Puro. 2. CXCR4 RNA expression level and protein in ShCXCR4 group was (0.40 ± 0.13) and (0.45 ± 0.23), respectively lower than that in NC group (1.109 ± 0.21 , $P < 0.05$). Interference of CXCR4 expression in cells can increase *Bax* and *Cleaved caspase-3* protein expression in SKOV3 cells, reduced the *Bcl-xl* and the *Bcl-2* protein expression.

* [基金项目] 贵州省科技厅联合基金[黔科合 LG(2011)032 号]

** 通信作者 E-mail: 2816497455@qq.com

网络出版时间: 2016-06-16 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20160616.1715.044.html>

Flow cytometry instrument was adopted to detect cell apoptosis rate, shCXCR4 group was significantly higher than that of NC group and CON group, difference was statistically significant ($P < 0.05$); in invasion test, cell number of ShCXCR4 group was obviously lower than that in NC group and CON group, inhibition rate of shCXCR4 group was 58.94%, difference was statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusion:** CXCR4 RNA interference mediated with pLVshCXCR4-EGFP (2A)-Puro could effectively downregulate the expression of CXCR4 RNA, and promote the cancer cell apoptosis as well as decrease the invasion ability of cancer cells.

[**Key words**] ovarian cancer; chemokine receptor 4; RNA interference; apoptosis; invasion

卵巢癌是妇科发病率较高的恶性肿瘤之一,居妇科肿瘤病死率的首位,一直威胁着妇女的生命健康^[1]。由于卵巢位居盆腔深部使得卵巢癌初期症状不明显,且缺乏早期诊断依据,易造成浸润转移,这也是卵巢癌病死率较高的首要原因。趋化因子(Chemokine)是一类具备趋化活性的细胞因子,能被肿瘤细胞所分泌,增进肿瘤细胞的侵袭和转移^[2-5]。趋化因子12(chemokine ligand 12, CXCL12),也称基质细胞衍生因子(stromal cell derived factor-1, SDF-1)与趋化因子受体4(chemokine CXC motif receptor 4, CXCR4)构成 CXCR4/SDF-1 生物轴,介导细胞内信号的转导。有研究证实, CXCR4 在卵巢癌细胞中高表达^[6],并且在卵巢癌的浸润中有着重要的作用。RNA 干扰(RNA interference, RNAi)是目前分子生物领域兴起的一项干扰技术,能够特异的降解相应基因的 mRNA,使细胞的目的基因缺失或使其表达量下调^[7]; *Bcl-2* (B-cell-leukemia/Lymphoma-2)与 *Bax* (Bcl-2 Associated X Protein)基因是目前已知的在凋亡过程中功能相互对立的一组调控基因^[8-9],而半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(*caspase-3*)是凋亡过程中最关键的凋亡执行蛋白酶,因此,3 者的关系已成为进来研究细胞凋亡的热点。本研究期望能够通过 RNAi 技术下调 CXCR4 的表达,探讨短发夹 RNA(short hairpin RNA, shRNA)干扰 CXCR4 的表达对卵巢癌细胞株 SKOV3 侵袭能力以及细胞凋亡的影响,以期对卵巢癌的治疗找到一个新的靶点。

1 材料和方法

1.1 细胞株与慢病毒载体

人卵巢癌细胞株 SKOV3 购于北京北纳生物科技有限公司;慢病毒载体 pLVshRNA-EGFP (2A) Puro,含 U6 启动子及绿色荧光蛋白基因,购自北京

英盛茂业生物有限公司。

1.2 主要试剂

RPMI-1640 购自 Gibco 公司,胰酶购自 Hyclone 公司,胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司,PBS、青霉素/链霉素购自北京鼎盛茂业生物有限公司,限制性内切酶 *EcoR* I、*Bam*H I、T4 DNA Ligase、琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒、蛋白裂解液、SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒、一步法 WB (HRP)快速二抗试剂盒(鼠)购自北京康为世纪生物有限公司, Polyfect-v 转染试剂购自北京英盛茂业生物有限公司,去内毒素质粒抽提试剂盒购自美国 OMEGA 公司,封闭蛋白干粉购自博士德公司, TRIZOL 试剂购自 Invitrogen 公司, SYBR Green qPCR Mix 购自 TOYOBO 公司, Bax 鼠抗人多克隆抗体、Bcl-2 鼠抗人多克隆抗体、Bcl-xl 鼠抗人多克隆抗体、cleaved caspase-3 兔抗人多克隆抗体购于美国 cell signaling Technology 公司,含有基质胶的 Transwell 小室购自美国 Corning 公司,引物合成及基因测序由北京鼎盛茂业生物有限公司完成。

1.3 实验分组

实验分为 3 组: CON 组(空白组)转染 pLVshRNA-EGFP (2A) Puro 的卵巢癌细胞株 SKOV3, NC 组(阴性组)转染无义序列的 pLVshCXCR4-EGFP (2A) Puro 的卵巢癌细胞株 SKOV3 和 shCXCR4 组(实验组)转染 pLVshCXCR4-EGFP (2A) Puro 卵巢癌细胞株 SKOV3。

1.4 实验方法

1.4.1 CXCR4 特异性干扰序列 Genebank 检测 CXCR4 (序列号 NM_003467) 基因序列, The RNAi Consortium 网站设计干扰序列 4 条(其中 1 条为阴性序列, 3 条为特异性干扰序列,)经美国国立生物技术信息中心数据库进行序列检索,检测基因序列无同源性后交由北京鼎盛茂业生物有限公司合成(表 1)。

表 1 Oligo 序列
Tab. 1 Oligo sequence

Oligo	5' - 3'
shCXCR4 - 1-F	TTCCTGTCCTGCTATTGCATTACTCGAGTAATGCAATAGCAGGACAGGATTTTTTC
shCXCR4 - 1-R	TCGAGAAAATCCTGTCCTGCTATTGCATTACTCGAGTAATGCAATAGCAGGACAGGAA
shCXCR4 - 2-F	CCGGCATCATCTTCTTAACTGGCATCTCGAGATGCCAGTTAAGAAGATGATGTTTTTG
shCXCR4 - 2-R	AATTCAAAAACATCATCTTCTTAACTGGCATCTCGAGATGCCAGTTAAGAAGATGATG
shCXCR4 - 3-F	CCGGGCTGCCTTACTACATTGGGATCTCGAGATCCCAATGTAGTAAGGCAGCTTTTTG
shCXCR4 - 3-R	AATTCAAAAAGCTGCCTTACTACATTGGGATCTCGAGATCCCAATGTAGTAAGGCAGC
shCXCR4 - N-F	CCGGCTTTGTCATCACGCTCCTCTTCGAGAAGGGAAGCGTGATGACAAAGTTTTTG
shCXCR4 - N-R	AATTCAAAACTTTGTCACATCGCTTCCTTCTCGGAGGAGGAAGCGTGATGACAAAG

1.4.2 构建 pLVshCXCR4-EGFP(2A) Puro 载体、病毒的包装及滴度测定 将合成的 CXCR4 干扰序列互补双链退火,慢病毒载体 pLVshRNA-EGFP(2A)Puro 进行 *Bam*H I、*Eco*R I 双酶切,将退火的双链连入酶切的载体,转化 DH5 α 感受态细菌,挑取克隆送测序。测序无误后进行病毒包装及滴度的测定。

1.4.3 细胞培养 卵巢癌细胞株 SKOV3 于 RPMI-1640 培养基中常规培养,细胞呈贴壁生长,2 ~ 3 d 换液传代,取对数生长期细胞用于实验。

1.4.4 CXCR4 mRNA 表达 取对数生长期的 SKOV3 细胞,细胞密度为 1×10^{10} /L 进行转染。病毒滴度为 1×10^9 TU/L,按 $MOI = \text{病毒滴度} \times \text{需加入的体积}/\text{细胞浓度}$,在 3 组细胞中分别加入 50 μ L 病毒液,常规培养 6 h 后再次加入培养基。转染前先计数细胞数,转染 24 h 后,利用荧光显微镜观察细胞内 GFP 表达,GFP 阳性细胞表达绿色荧光,计数 GFP 阳性细胞,选取转染效率高的一组 CXCR4 阳性序列进行下一步实验。转染 24 h 后以 TRIZOL 法提取总 RNA 进行逆转录,并进行定量 PCR 反应。待测基因引物序列 CXCR4 F 为 GGTCTATGT-TGGCGTCTGGAT, R 为 TGAGGATGACTGTGGTCT-TGAG β -actin F 为 CATTGCCGACAGGATGCAG, R 为 CTCGTCATACTCCTGCTTGCTG。

1.4.5 CXCR4、Bax、BCL-xl、Bcl-2 及 cleaved caspase-3 蛋白表达 将转染后的 3 组细胞常规培养 24 h 后收集细胞,BCA 试剂盒对细胞裂解进行蛋白定量,并测定总蛋白浓度,以 30 μ L/泳道上样,按常规方法进行 Western blot 检测。

1.4.6 SiRNA 对 SKOV3 细胞凋亡的影响 消化收集各组细胞,细胞浓度约为 1×10^7 个/L,用 PBS 重悬细胞,吹打均匀后加入 AnnexinV 溶液混匀,室温避光孵育 10 ~ 15 min,离心,PBS 洗涤细胞,重悬

细胞,加入 PE 染色细胞,4 $^{\circ}$ C 下避光孵育 20 min,流式细胞仪分析凋亡率。

1.4.7 Transwell 小室检测细胞侵袭能力 将 Transwell 小室放入培养板中,在上室加入 300 μ L 预温的无血清培养基,室温下静置 15 ~ 30 min,使基质胶再水化,20 min 后吸去培养液。病毒转染细胞后常规培养 24 h,撤去培养基中的血清使细胞饥饿 12 h,调整细胞密度至 1×10^8 个/L,不超过 5×10^8 个/L,上室加入细胞悬液,下室加入含有趋化因子及血清的培养基,常规培养 24 h 后,弃去培养液,PBS 清洗滤膜表面,固定细胞,倒置 Transwell 小室,自然风干后细胞染色计数。

1.5 统计学方法

全部数据经软件 SPSS 11.5 进行统计学分析,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,数据比较用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 pLVshCXCR4-EGFP(2A)puro 载体测序

将插入干扰序列的载体送测序,测序结果与设计的靶序列完全相符(图 1),表明靶向沉默基因 shCXCR4 表达载体构建成功。

2.2 pLVshCXCR4-EGFP(2A)puro 转染 SKOV3

载体 pLVshCXCR4-EGFP(2A)puro 携带绿色荧光表达基因,在荧光显微镜下观察到绿色荧光表达。选取转染效率较高的 shCXCR4-3 组(图 2)及 NC 组进行下一步实验。

2.3 特异性 CXCR4shRNA 对 SKOV3 细胞 CXCR4mRNA 表达的抑制作用

RT-qPCR 和 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析 SKOV3 中 CXCR4 的 mRNA 相对表达量,shCXCR4 组较 NC 组的 mRNA 的表达量降低,差异有统计学意义($P = 0.02$); NC 组与 CON 组比较,差异无统计学意义(图 3)。

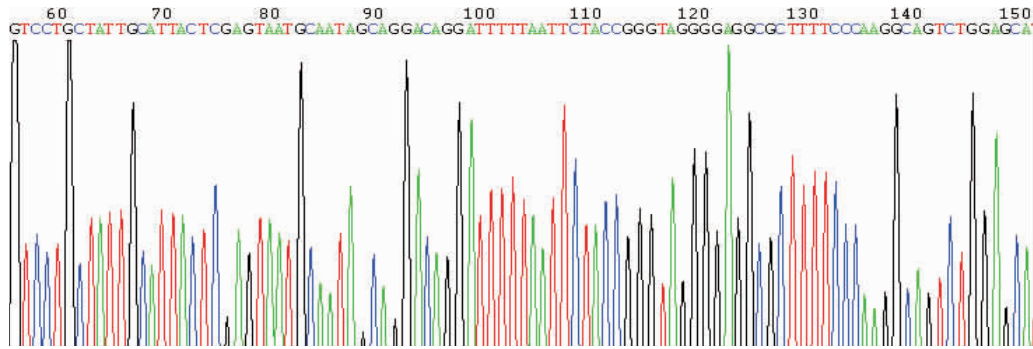
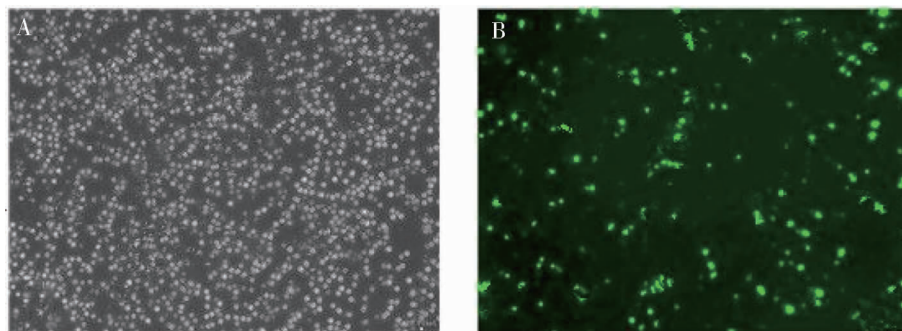


图 1 构建的 shCXCR4 表达载体测序结果

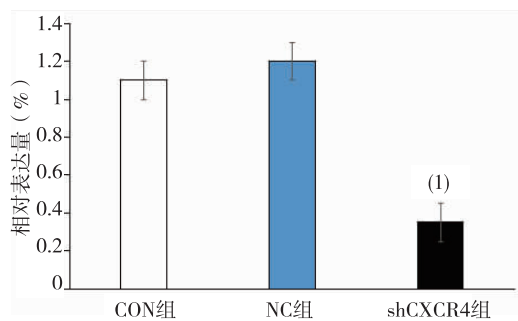
Fig. 1 Expression medium sequencing of constructed shCXCR4



注:A 为转染前倒置显微镜下 SKOV3 细胞,B 为转染 24 h 后荧光显微镜下 SKOV3 细胞

图 2 慢病毒干扰载体转染 SKOV3 细胞 (10 ×)

Fig. 2 Transfection of SKOV3 cells with lentivirus vector



(1) 与 NC 组相比, $P < 0.05$

图 3 CXCR4 shRNA 对卵巢癌 SKOV3 细胞 CXCR4 mRNA 表达的影响

Fig. 3 Influence of CXCR4 shRNA on expression of ovarian cancer SKOV3 cell CXCR4 mRNA

2.4 特异性 CXCR4shRNA 对 SKOV3 细胞 CXCR4、Bax、Bcl-xl、Bcl-2 及 cleaved caspase-3 蛋白表达的影响

与 NC 组比较, shCXCR4 组 CXCR4 蛋白表达水平明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$);

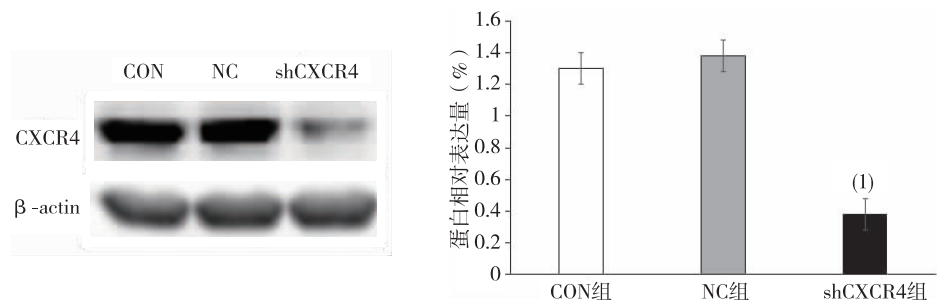
CON 组与 NC 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 4; 与 NC 组比较, Bax、cleaved caspase-3 蛋白表达升高, 而 Bcl-2、Bcl-xl 蛋白表达水平降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 5。

2.5 下调 CXCR4 对 SKOV3 细胞凋亡的影响

通过 AnnexinV 和 PE 双重标记后上流式检测结果显示, shCXCR4 组转染后凋亡率 ($13.53 \pm 2.69\%$) 较 CON 组 ($4.97 \pm 1.71\%$) 和 NC 组 ($4.63 \pm 1.10\%$) 明显增多, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 CON 组及 NC 组的细胞凋亡率分布无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 6。

2.6 干扰 CXCR4 表达对卵巢癌细胞侵袭能力的影响

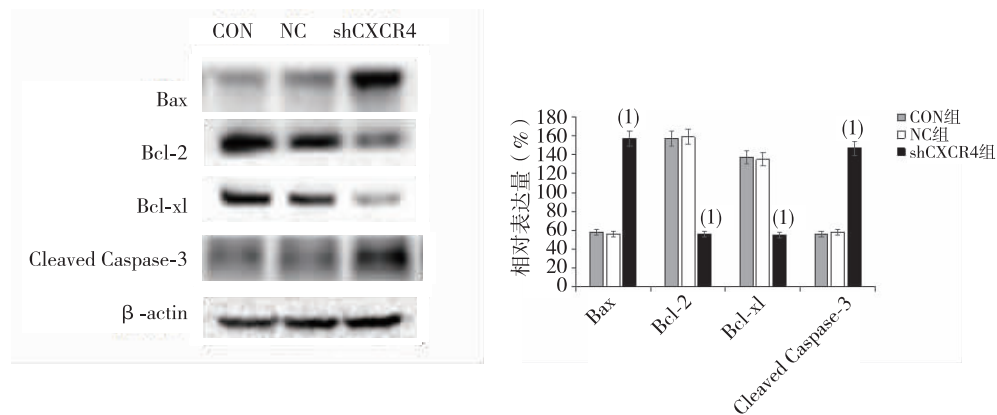
Transwell 小室检测干扰 CXCR4 表达后, 细胞的穿膜数, shCXCR4 组每视野为 (22.184 ± 2.185), 抑制率为 58.94% , 抑制率明显高出 NC 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); NC 组 (57.133 ± 3.214) 抑制率为 -5.78% , 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), shCXCR4 组 SKOV3 细胞的穿膜数较 NC 组明显降低 ($P < 0.05$), 见图 7。



⁽¹⁾ 与 NC 组比较, $P < 0.05$

图 4 CXCR4 shRNA 对卵巢癌 SKOV3 细胞 CXCR4 蛋白表达的影响

Fig. 4 Influence of CXCR4 shRNA on protein expression of ovarian cancer SKOV3 cell CXCR4 mRNA



⁽¹⁾ 与 NC 组比较, $P < 0.05$

图 5 Bax 与 Bcl-2、Bcl-xl 及 cleaved caspase-3 的蛋白表达水平

Fig. 5 Downregulated CXCR4, expression of SKOV3 cell strains *Bax* 与 *Bcl-2*, *Bcl-xl* and *cleaved caspase-3*

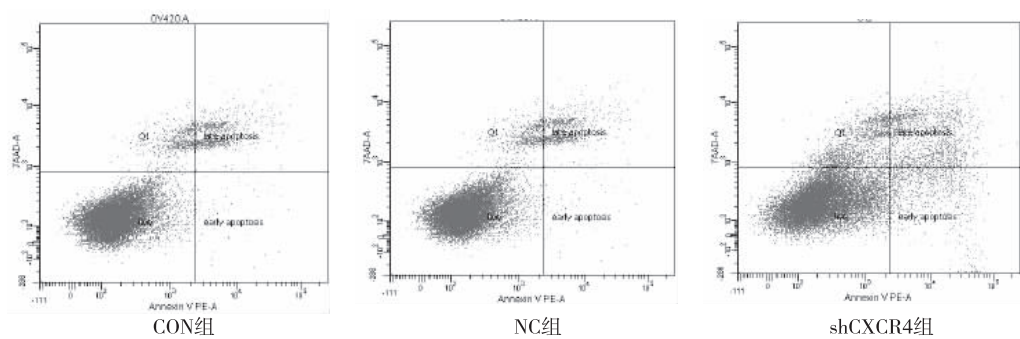


图 6 SKOV3 细胞凋亡率(AnnexinV 和 PE 双标流式细胞仪)

Fig. 6 Apoptosis rate of SKOV3

3 讨论

卵巢癌是女性生殖系统肿瘤,发病率较高,占女性恶性肿瘤的五分之一,因其易发生浸润及远处转移,致死率位居妇科肿瘤的首位,5 年存活率低

于 50%^[10]。趋化因子能够增加内皮细胞的聚集,下调免疫监视,调整肿瘤细胞的外形从而使肿瘤细胞躲避免疫监视,增进自身的发展,以此获取远处转移能力^[11];CXCR4 能产生趋化性,并伴随着细胞重排、肌动蛋白聚合、极化、形成伪足和黏附作用,影响肿瘤的发生和发展^[12],CXCR4 在多种恶

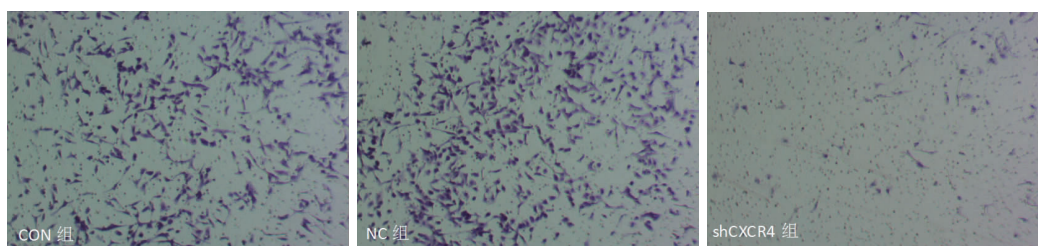


图7 干扰 CXCR4 表达后 SKOV3 细胞的穿膜数 (Transwell 小室)

Fig. 7 Transwell of interfered expression of CXCR4

性肿瘤中被检测出,且存在高表达,被证实与肿瘤的浸润转移密切相关^[13]。研究发现,正常卵巢组织及卵巢良性肿瘤中较少或无 CXCR4 表达,而在卵巢上皮性囊腺癌及其转移灶中存在 CXCR4 的高表达,且在卵巢癌转移灶中表达趋势明显高于原发灶^[14];并且与卵巢癌淋巴结的转移存在正相关^[15-16]。本研究采用卵巢癌细胞株 SKOV3 进行实验,证实了在卵巢癌细胞株 SKOV3 上存在 CXCR4 的高表达,并且该表达能够被特异性干扰片段下调。这与蒋玉萍等^[17]采用 CXCR4 阻断剂在体外能够阻断其表达相一致,这表明,在卵巢癌细胞上高表达的 CXCR4 能够被特异性 SiRNA 及 CXCR4 拮抗剂下调。

细胞凋亡是由基因控制的细胞自主的有序性死亡,细胞凋亡与胚胎发育、自身免疫耐受、肿瘤发生、病毒感染等生理、病理过程密切相关。细胞凋亡可通过流式细胞仪、DNA 凝胶电泳等多种方法检测。在细胞凋亡过程中,*Bcl* 家族成员起着至关重要的作用。其分为 2 大类,一类是抗凋亡的主要有 *Bcl-2*,*Bcl-xl*,另一类是促细胞死亡的,主要包括 *Bax*,*Bcl-XS* 等,*Bcl-2* 与 *Bax* 是目前研究较深入的凋亡调控基因,*Bcl-2* 是凋亡抑制基因,其活性增高,可抑制细胞凋亡,延长细胞生命^[18]。*Bax* 是一种促凋亡基因,抑制细胞增值,因此通过这两种基因表达的检测,能反映出细胞的凋亡^[19]。本实验通过流式细胞仪检测细胞凋亡结果显示,在下调 CXCR4 的表达后,shCXCR4 组的细胞凋亡率 (13.53 ± 2.69)% 明显高于 NC 组 (4.63 ± 1.10)% 及 CON 组 (4.97 ± 1.71)%,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),而在 WB 检测 *Bax*、*Bcl-xl*、*Bcl-2* 及 *cleaved caspase-3* 蛋白表达的结果中得出,在 shCXCR4 组抗凋亡基因 *Bcl-2* 及 *Bcl-xl* 的蛋白表达较 CON 组及 NC 组明显减少,而 *Bax* 在 shCXCR4 的表达则反之;凋亡是一个发生在由 *caspase* 家族成员介导的蛋白酶级联反应过程,即 *caspase* 在凋亡信号的

作用下,启动型 *caspase* 先通过结合特异辅因子而激活,发挥水解蛋白的作用,从而激活下游效应型 *caspase*,一旦效应 *caspase* 被激活,便大范围的水解细胞内靶物质,从而降解细胞内蛋白,最终使细胞不可逆走向死亡^[20],而 *caspase-3* 就位于级联反应的下游,执行剪切细胞结构蛋白的作用,直接使细胞发生死亡;在本实验中,下调 CXCR4 后,*cleaved caspase-3* 被激活,降解肿瘤细胞内蛋白,促使细胞凋亡的发生。Katkooi^[21]的研究显示,在实验中利用 CXCR4 的拮抗剂下调 CXCR4 后,能够诱导乳腺癌细胞及直肠癌细胞的凋亡,并能有效地降低其增殖与迁移能力;在 Hamdan^[22]对尤文氏肉瘤的研究中,利用 AMD3100 拮抗 CXCR4 的表达能够引起骨髓细胞的凋亡的同时能够减少肿瘤血管的灌注;我们的结果与其他的研究结果相同,下调 CXCR4 可诱导细胞的凋亡。

CXCR4 在卵巢癌中的作用还与其促进肿瘤细胞的转移和侵袭能力有关^[23]。细胞外基质是肿瘤转移的重要屏障,其主要由基底膜和细胞间质组成。CXCR4 可以诱导动员细胞内钙离子,活化细胞外信号调节激酶 (ERK-1/2),使 MMP-9 分泌增加,IV 型胶原酶纤维被降解,破坏基底膜并诱导新生血管的形成,肿瘤局部的微环境被重新建立,使肿瘤细胞更易获得转移性^[24]。本研究在实验中下调了卵巢癌细胞上 CXCR4 的表达,在此基础上又进行了侵袭能力的检验,shCXCR4 组细胞穿膜数 (22.184 ± 2.185),与 CON 组 (54.018 ± 2.368) 及 NC 组 (57.133 ± 3.214) 相比明显减少,差异有统计学意义 ($P < 0.01$);由此可得出,肿瘤细胞上 CXCR4 的表达降低后其侵袭能力较未干扰前有了明显降低,这与之前关于下调 CXCR4 降低肿瘤细胞侵袭能力的研究结论相符。

卵巢癌是妇科高发的恶性肿瘤之一,治疗后易复发的特点是临床治疗的一个难点。本研究表明,利用特异性 shRNA 能够对 CXCR4 进行有效干扰,

这或许能成为卵巢癌治疗的一个新的理论依据。

4 参考文献

- [1] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics[J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2012(1):10–29.
- [2] Muralidhar GG, Barbolina MV. Chemokine receptors in epithelial ovarian cancer[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2013(1):361–376.
- [3] Singh AK, Arya RK, Trivedi AK, et al. Chemokine receptor trio: CXCR3, CXCR4 and CXCR7 crosstalk via CXCL11 and CXCL12. [J]. Cytokine & Growth Factor Reviews, 2013(1):41–49.
- [4] Döring Y, Pawig L, Weber C, et al. The CXCL12/CXCR4 chemokine ligand/receptor axis in cardiovascular disease[J]. Frontiers in Physiology, 2014(5):212–212.
- [5] Coke C, Johnson A, Jones K, et al. Abstract 4989: Cannabinoid receptor 2 and C-X-C chemokine receptor 4 interact to abrogate CXCL12-mediated cellular response [J]. Cancer Research, 2015(1):75.
- [6] Hall JM, Korach KS. Endocrine disrupting chemicals promote the growth of ovarian cancer cells via the ER-CXCL12-CXCR4 signaling axis[J]. Molecular Carcinogenesis, 2013(9):715–725.
- [7] Prados J, Melguizo C, Roldan H, et al. RNA Interference in the treatment of colon cancer [J]. BioDrugs, 2013(4):317–327.
- [8] Souers AJ, Levenson JD, Boghaert ER, et al. Apotent and selective BCL-2 inhibitor achieves antitumor activity while sparing platelets. [J]. Nature Medicine, 2013(2):202–208.
- [9] Tsai CJ, Liu S, Hung CL, et al. BAX-induced apoptosis can be initiated through a conformational selection mechanism. [J]. Structure, 2015(1):139–148.
- [10] Ray P, Lewin SA, Mihalko LA, et al. Noninvasive imaging reveals inhibition of ovarian cancer by targeting CXCL12-CXCR4[J]. Neoplasia (New York, NY), 2011(12):1152.
- [11] 吴凤, 涂亚庭, 陈思远. 趋化因子及其受体在肿瘤生长中的作用及抗肿瘤治疗的展望[J]. 实用医院临床杂志, 2013(1):18–21.
- [12] 马亚南, 王宝红, 许晓群, 等. 趋化因子受体 4 与肿瘤[J]. 国际肿瘤学杂志, 2014(1):190–193.
- [13] Nikzaban M, Hakhamaneshi MS, Fakhari S, et al. The chemokine receptor CXCR4 is associated with the staging of gastric cancer[J]. Advanced Biomedical Research, 2014(1):16.
- [14] Salomonsson E, Stacer AC, Ehrlich A, et al. Imaging CXCL12-CXCR4 signaling in ovarian cancer therapy[J]. PloS One, 2013(1):e51500.
- [15] Tahara T, Arisawa T, Shibata T, et al. Risk prediction of gastric cancer by analysis of aberrant DNA methylation in non-neoplastic gastric epithelium[J]. Digestion, 2007(1):54–61.
- [16] Ling X, Spaeth E, Chen Y, et al. The CXCR4 antagonist AMD3465 regulates oncogenic signaling and invasiveness in vitro and prevents breast cancer growth and metastasis in vivo[J]. PloS one, 2013(3):e58426.
- [17] 蒋玉萍, 吴小华, 邢邯英, 等. 趋化因子 CXCL12 及其受体 CXCR4 对卵巢上皮性癌细胞增殖, 迁移和侵袭能力的影响[J]. 中华妇产科杂志, 2007(6):403–407.
- [18] Wang H, Zhang Z, Wei X, et al. Small-molecule inhibitor of Bcl-2 (TW-37) suppresses growth and enhances cisplatin-induced apoptosis in ovarian cancer cells [J]. Journal of Ovarian Research, 2015(1):1–8.
- [19] Westphal D, Dewson G, Czabotar PE, et al. Molecular biology of bax and bak activation and action [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research, 2011(4):521–531.
- [20] Matthew B, Weir DB, Anthony R, et al. Procaspace-3 regulates fibronectin secretion and influences adhesion, migration and survival independently of catalytic function. [J]. Journal of Cell Science, 2014(10):2217–2226.
- [21] Katkoori VR, Basson MD, Bond VC, et al. Nef-M1, a peptide antagonist of CXCR4, inhibits tumor angiogenesis and epithelial-to-mesenchymal transition in colon and breast cancers[J]. Oncotarget, 2015(29):5821–5825.
- [22] Hamdan R, Zhou Z, Kleinerman ES. Blocking SDF-1 α /CXCR4 downregulates PDGF-B and inhibits bone marrow-derived pericyte differentiation and tumor vascular expansion in Ewing tumors. [J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2014(2):483–491.
- [23] 张焱, 李巧玉, 袁志诚, 等. 缺氧诱导因子-1 α 对恶性肿瘤细胞侵袭性生长的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2011(2):258–260.
- [24] Krook MA, Nicholls LA, Scannell CA, et al. Stress-induced CXCR4 promotes migration and invasion of ewing sarcoma. [J]. Molecular Cancer Research, 2014(6):601–606.

(2016-03-05 收稿, 2016-05-21 修回)

中文编辑: 刘 平; 英文编辑: 赵 毅