

# 非分泌型 CXCL16 在乳腺癌细胞系中的表达及其生物学特性的影响\*

方业颖<sup>1,2</sup>, 雷倩倩<sup>1,2</sup>, 李燕<sup>1</sup>, 陈念永<sup>1△</sup>

1. 四川大学华西医院 肿瘤中心 放疗科 (成都 610041); 2. 四川大学华西医院 肿瘤分子诊断研究室 (成都 610041)

**【摘要】 目的** 通过检测非分泌型 CXCL16 在不同侵袭性乳腺癌细胞系(SK-BR-3、MCF-7、MDA-MB-231、MDA-MB-435S)及正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 的表达,探讨非分泌型 CXCL16 表达对乳腺癌细胞生物学特性的影响。**方法** 采用 RT-PCR 检测 CXCL16 mRNA 在 MCF-10A、SK-BR-3、MCF-7、MDA-MB-231、MDA-MB-435S 细胞系的表达,将 pEGFP-CXCL16 真核表达质粒转染到低表达 CXCL16 的 MDA-MB-231 细胞,通过实时荧光定量 PCR 和 Western blot 验证 CXCL16 过表达,采用体外迁移、侵袭实验及甲基四唑蓝(MTT)法分别检测过表达 CXCL16 对 MDA-MB-231 细胞迁移、侵袭和增殖活性的影响。**结果** CXCL16 mRNA 在高侵袭性的 MDA-MB-231 细胞低表达,在低侵袭性的 MCF-7 细胞高表达,过表达 CXCL16 使得 MDA-MB-231 细胞的迁移、侵袭减弱,而增殖未受到影响。**结论** 非分泌型 CXCL16 表达与乳腺癌细胞系的侵袭性相关,其表达可以抑制乳腺癌细胞的体外迁移、侵袭。

**【关键词】** CXCL16 MDA-MB-231 迁移 侵袭 增殖

**Expression of Non-secretory CXCL16 and Its Impact on Biological Characteristics in Breast Cancer Cell Lines** FANG Ye-ying<sup>1,2</sup>, LEI Qian-qian<sup>1,2</sup>, LI Yan<sup>1</sup>, CHEN Nian-yong<sup>1△</sup>. 1. Department of Radiation Oncology, Cancer Center, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Laboratory of Tumor Molecular Diagnosis, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: nchenyy@gmail.com

**【Abstract】 Objective** To detect the expression of non-secretory CXCL16 and its impact on malignant biological behaviors in breast cancer cell lines. **Methods** RT-PCR was carried out to examine the expression of CXCL16 mRNA in breast cancer cell lines with different aggressiveness SK-BR-3, MCF-7, MDA-MB-231, MDA-MB-435S and human mammary normal epithelial cell MCF-10A. The eukaryotic expression plasmid of CXCL16 was transfected into MDA-MB-231 cells and overexpression of CXCL16 was confirmed by Real time PCR and Western blot. Boyden Chamber assay was used to determine cell migration and invasion, while MTT assay was performed to determine cell proliferation. **Results** Among four breast cancer cell lines, CXCL16 mRNA was highly expressed in MCF-7, lowly expressed in MDA-MB-231, while MCF-10A faintly expressed CXCL16. Overexpression of CXCL16 led to a decrease in cell migration, invasion but not proliferation in MDA-MB-231 cells. **Conclusion** Expression of non-secretory CXCL16 is associated with aggressiveness of breast cancer cell lines, and CXCL16 expression inhibits cell migration and invasion in vitro.

**【Key words】** CXCL16 MDA-MB-231 Migration Invasion Proliferation

CXCL16 是新近发现的趋化因子,以膜结合型和分泌型两种方式存在,其相应受体为七次跨膜 G 蛋白偶联受体 CXCR6<sup>[1]</sup>。与大多数趋化因子家族的成员一样,CXCL16 因参与炎症发展而受到关注。炎症部位分泌的 CXCL16 可以密度依赖性的方式趋化白细胞表面的 CXCR6,促使白细胞在血循环中运动,穿出血管内皮细胞到达炎症部位,参与炎症反

应。肿瘤细胞的体内转移须先从原发灶脱落,穿透血管基底膜进入血循环,然后穿出血管内皮细胞,最终迁移至特定器官形成转移灶,这一过程与白细胞迁移极为相似,因而 CXCL16 与肿瘤发展的关系逐渐受到关注<sup>[2]</sup>。研究发现,多种癌细胞(前列腺癌、乳腺癌、结直肠癌和非小细胞肺癌)表达 CXCL16 mRNA,并且前列腺癌骨、肝脏转移灶 CXCL16 mRNA 表达高于原发灶和良性组织<sup>[3]</sup>。另有报道显示,结直肠癌、肾癌患者的癌组织高表达 CXCL16 者预后好于低表达者<sup>[4,5]</sup>。研究表明分泌型的

\* 四川省科技支撑计划项目(No. 2009SZ0146)资助

△ 通讯作者, E-mail: nchenyy@gmail.com

CXCL16 作用于肿瘤细胞可促进其增殖、侵袭和血管生成<sup>[6]</sup>;然而,保留在肿瘤细胞内未分泌的 CXCL16 在肿瘤发展中的作用尚不明确。为此,本研究以女性高发的乳腺癌为模型,检测不同侵袭性癌细胞中非分泌型 CXCL16 的表达,并通过真核表达质粒过表达癌细胞中的非分泌型 CXCL16,以研究其对乳腺癌细胞生物学特性的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 细胞与主要试剂

SK-BR-3、MCF-7 为低侵袭性人乳腺癌细胞系,MDA-MB-231 和 MDA-MB-45S 为高侵袭性人乳腺癌细胞系,均购买于美国菌种保藏中心(ATCC)并由四川大学华西医院肿瘤分子诊断研究室保存。人正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 购于上海拜力生物公司。Biozol 总 RNA 提取试剂购于 Bioflux 公司,RT-PCR 试剂盒购于康为世纪,实时荧光定量 PCR 试剂由 Bio Rad 公司提供,细胞蛋白 RIPA 裂解液及 Bradford 蛋白定量试剂购于碧云天生物技术有限公司,pEGFP-CXCL16 真核表达质粒由上海吉凯公司构建,CXCL16 兔抗人多克隆抗体购于 ABCAM 公司,PVDF 膜购于 Millipore 公司,MTT 试剂购于 Sigma 公司,Boyden 小室购于 Millipore 公司。PCR 所有引物由上海生工公司合成,转染试剂 Lipofectamine<sup>TM</sup> 2000 购于美国 Invitrogen 公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 正常乳腺上皮细胞及乳腺癌细胞系的培养与传代** 所有细胞系均培养于含 5% CO<sub>2</sub> 的潮湿孵箱,使用 DMEM 培养基,含 10% 胎牛血清、青霉素 100 U/mL、链霉素 100 μg/mL,以 0.25% 胰酶消化传代。

**1.2.2 RNA 提取及半定量 RT-PCR** 收集 2×10<sup>6</sup> 个单层贴壁细胞,按 Biozol 试剂盒标准步骤提取总 RNA,经反转录成 cDNA,使用 Mastermix 试剂进行 PCR 扩增。CXCL16 上游引物 5'-GCCATCGGTTCAAGTTCA-3',下游引物 5'-CAATCCCGAGTAAGCAT-3'。内参 β-actin 上游引物 5'-GTCCTCTCCCAAGTCCACACA-3',下游引物 5'-CTGGTCTCAAGTCAGTGACAGGTAA-3'。PCR 反应条件:94℃ 预变性 2 min;94℃ 变性 15 s,54℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 15 s,30 个循环;最后再于 72℃ 延伸 10 min。扩增产物用 20 g/L 琼脂糖电泳。以 CXCL16 扩增条带的灰度对比内参 β-actin

条带得到 CXCL16 mRNA 相对表达量。

**1.2.3 细胞转染及分组** 选取低表达 CXCL16 mRNA 的 MDA-MB-231 细胞进行转染,实验分 3 组:MDA-MB-231 未处理组(对照组),空载组和实验组。细胞培养至 70%~80% 贴壁时,参照转染试剂说明书,在无血清 DMEM 培养基中使用 Lipofectamine<sup>TM</sup> 2000 将质粒转染至 MDA-MB-231 细胞,12 h 后更换成新鲜完全培养基继续培养,48 h 后提取总 RNA 和总蛋白,验证细胞内非分泌型 CXCL16 的过表达。

**1.2.4 实时荧光定量 PCR 验证 CXCL16 mRNA 表达** RNA 提取及 cDNA 合成同 RT-PCR,使用 Bio Rad Ssofast 试剂行 PCR 扩增并制作溶解曲线。CXCL16 基因上游引物 5'-GCCCCACCAGAAGCATTAC-3',下游引物 5'-CTGAAGATGCCCCCTCTGAG-3'。内参 GAPDH 上游引物 5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3',下游引物 5'-GAAGATGTGTATGGGATTTC-3'。分别绘制 CXCL16 和 GAPDH 的标准曲线得出扩增效率,以公式  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算细胞中 CXCL16 mRNA 表达量。

**1.2.5 Western blot 验证 CXCL16 蛋白的表达** 用冰浴的 RIPA 裂解液[50 mmol/L Tris(pH7.4),150 mmol/L NaCl,1% Triton X-100,1% Sodium deoxycholate,1 g/L SDS 和多种蛋白酶抑制剂]提取细胞的总蛋白,并以 Bradford 法测蛋白浓度。每组取 30 μg 蛋白于 120 g/L 聚丙烯酰胺凝胶电泳,随即转印至 PVDF 膜,使用 50 g/L 脱脂奶粉室温封闭 PVDF 膜 1 h,以免抗人 CXCL16 多克隆抗体 4℃ 振荡孵育过夜,次日 TTBS 洗涤 PVDF 膜 3 次后,以辣根过氧化物酶标记羊抗兔 IgG 在室温下孵育 1 h,经 TTBS 洗涤 3 次后用 ECL Western blot 试剂显色。以目的蛋白与内参 β-actin 的光密度(OD)比值为目的蛋白 CXCL16 的相对表达量。

**1.2.6 细胞增殖检测** 增殖活性采用 MTT 法测定,细胞以 2×10<sup>3</sup>/孔的密度接种于 96 孔板。每经过 24 h,以 0.5 mg/mL 终浓度加入 MTT,置于 37℃ 孵箱继续培养 4 h,弃上清,每孔加入 150 μL 二甲基亚砜(DMSO),将 96 孔板置于振荡器上缓慢振荡 10 min,于 490 nm 波长测 OD 值,以时间为横坐标,OD 值为纵坐标代表细胞的增殖数绘制细胞生长曲线,实验重复 3 次。

**1.2.7 细胞迁移、侵袭实验** 侵袭和迁移实验使用标准的 Boyden 小室(8 μm 微孔膜)操作。对于侵袭实验,先使用无血清 DMEM 培养基将上室的基质

膜水化,于 37 ℃ 5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培育 4 h。于上室中接种 2×10<sup>4</sup> 个乳腺癌细胞,下室使用 1 mL 含 10% 胎牛血清的完全培养基趋化。孵箱中培育 24 h后,用棉签将未穿过微孔膜的上室细胞擦掉,将膜置于 40 g/L 多聚甲醛室温固定 20 min,然后使用吉姆萨染色侵袭细胞并于 100×显微镜下随机取 5 个视野计数。穿膜的细胞数量代表其侵袭活性。迁移实验中,上室无基质膜,余步骤与侵袭实验相同。实验均重复 3 次。

**1.2.8 统计学方法** 数据用  $\bar{x} \pm s$  表示。用 ANOVA 分析组间差异, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各细胞系中 CXCL16 mRNA 的表达

见图 1。CXCL16 在正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 呈低表达,而在乳腺癌细胞系中,CXCL16 高表达于 MCF-7 细胞,SK-BR-3 次之,而 MDA-MB-231 与 MDA-MB-435S 均低表达。因此,我们选择 MDA-MB-231 细胞,转染 pEGFP-CXCL16 真核表达质粒,以研究细胞内非分泌型 CXCL16 表达对乳腺癌细胞生物学特性的影响。

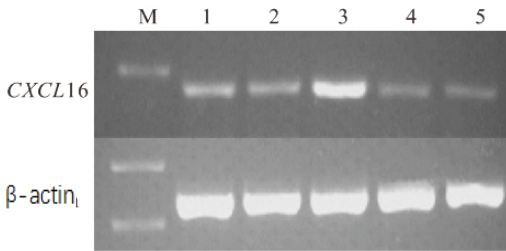


图 1 CXCL16 mRNA 在各细胞系的表达

Fig 1 Expression of CXCL16 mRNA in cell lines

M: DNA maker; 1: MCF-10A; 2: SK-BR-3; 3: MCF-7; 4: MDA-MB-231; 5: MDA-MB-435S

### 2.2 转染 pEGFP-CXCL16 质粒细胞 CXCL16 过表达的鉴定

由附表可见,转染 48 h 后,实验组细胞中

附表 转染细胞 CXCL16 mRNA 和蛋白的表达

Table The relative expression of CXCL16 in transfected MDA-MB-231 cells with real time PCR and Western blot

| Group   | CXCL16 mRNA    | CXCL16 protein |
|---------|----------------|----------------|
| Control | 0.0071±0.0001  | 0.0318±0.0195  |
| NC      | 0.0078±0.0008  | 0.0355±0.0248  |
| CXCL16  | 3.3299±0.1419* | 0.7041±0.1150* |

NC: Empty vector; CXCL16: pEGFP-CXCL16 transfection.

\*  $P<0.05$ , vs. control and NC group

CXCL16 mRNA和蛋白表达较对照组和空载组显著上调。Western 结果显示,实验组可以检测到 CXCL16 总蛋白表达,而对照组和空载组无 CXCL16 总蛋白表达(图 2)。

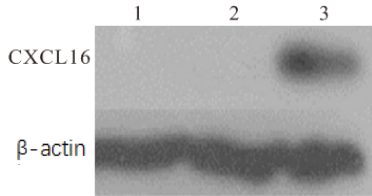


图 2 重组 CXCL16 质粒转染 MDA-MB-231 细胞后 CXCL16 的表达  
Fig 2 Overexpression of CXCL16 in MDA-MB-231 cells after transfection

1: Control; 2: NC; 3: CXCL16. NC and CXCL16: The same as table

### 2.3 CXCL16 过表达对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 细胞生物学特性的影响

**2.3.1 CXCL16 过表达对 MDA-MB-231 细胞增殖活性影响** 经过 5 d 培养,对照组、空载组和实验组之间 OD 值差异均无统计学意义,见图 3,说明过表达 CXCL16 未影响 MDA-MB-231 细胞的体外增殖活性。

**2.3.2 CXCL16 过表达对 MDA-MB-231 细胞迁移能力影响** 图 4 所示,相比对照组和空载组,转染了 CXCL16 重组质粒的 MDA-MB-231 细胞的迁移数降低了 47%,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

**2.3.3 CXCL16 过表达对 MDA-MB-231 细胞侵袭性影响** 如图 5 所示,相比对照组和空载组, CXCL16 过表达使得 MDA-MB-231 细胞的体外侵袭数量降低了 28.9%,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

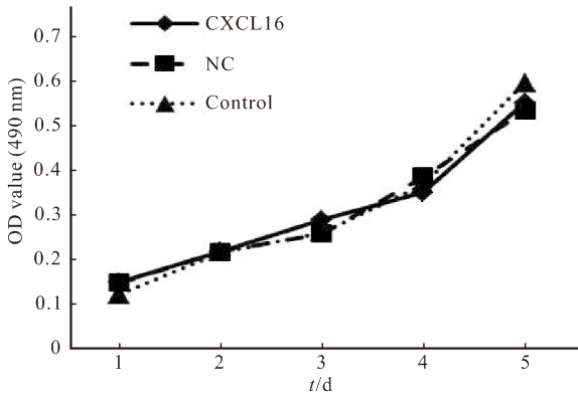


图 3 过表达 CXCL16 对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响

Fig 3 The effect of CXCL16 on cell proliferation

NC and CXCL16: The same as table

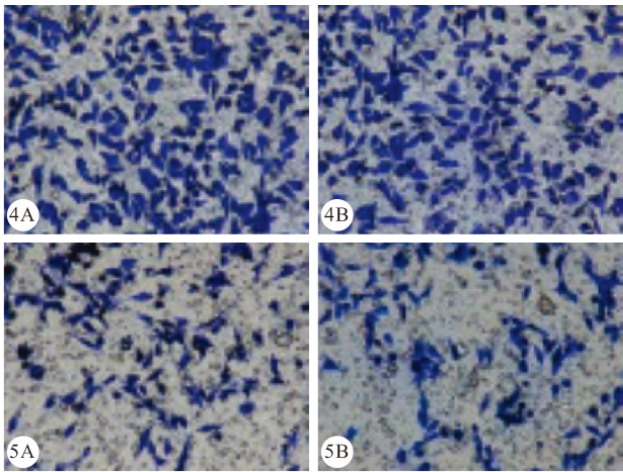


图 4 CXCL16 过表达对 MDA-MB-231 细胞迁移的影响。×100

Fig 4 The effect of CXCL16 overexpression on migration of MDA-MB-231 cells. ×100

invasion. ×100

A, B and C: Control, NC and CXCL16 group. NC and CXCL16: The same as table

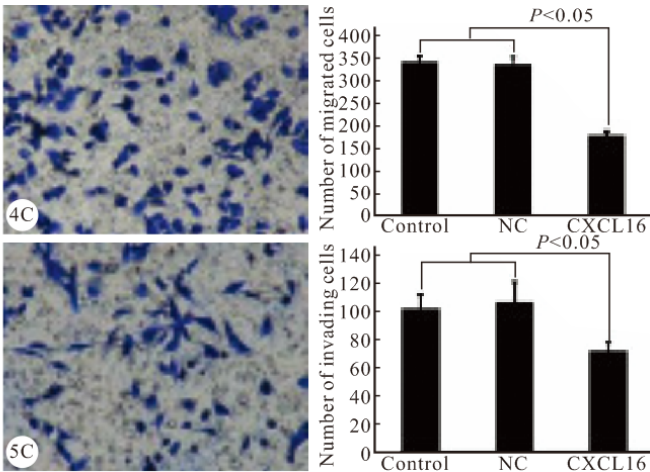


图 5 CXCL16 过表达对 MDA-MB-231 细胞体外侵袭的影响。×100

Fig 5 The effect of CXCL16 overexpression on cell

### 3 讨论

CXCL16 于 2000 年首次由 Matloubian 等克隆。一级结构上, CXCL16 由胞外至胞内依次由趋化因子结构域、粘蛋白结构域、跨膜结构域和胞浆结构域共 4 段组成<sup>[1]</sup>。去整合素金属蛋白酶 ADAM10 和 ADAM17 可以水解胞外的粘蛋白结构域, 使其趋化因子结构域能以分泌形式释放于细胞外, 其余部分则以膜结合型蛋白形式保留于胞内<sup>[7]</sup>。由于存在膜结合型和分泌型 CXCL16 两种形式, CXCL16 的功能比其他趋化因子复杂。膜结合型 CXCL16 表达于免疫细胞表面, 可直接介导细胞-细胞间黏附, 并可作为清道夫受体参与细胞吞噬作用。分泌型的 CXCL16 则发挥与其他趋化因子相似的功能, 以密度依赖性的方式趋化白细胞表面的受体 CXCR6, 促使白细胞迁移。

肿瘤细胞的体内转移与白细胞运动极为相似, 因而诱导白细胞迁移的 CXCL16 也参与了肿瘤的发生发展<sup>[2]</sup>。事实上, CXCL16 mRNA 表达于多种肿瘤细胞, 并且与前列腺癌细胞侵袭性正相关<sup>[3]</sup>。此外, 有研究发现分泌型 CXCL16 是结直肠癌患者的不良预后指标。然而, 结直肠癌、肾癌患者癌组织高表达 CXCL16 者存活率高于低表达者<sup>[4,5]</sup>。肿瘤细胞内同时存在膜结合型和分泌型 CXCL16, 两者相互作用对癌细胞有何影响尚不清楚。本研究通过 RT-PCR 法检测乳腺癌细胞中 CXCL16 mRNA 的表达, 并选取低表达 CXCL16 的 MDA-MB-231 细

胞, 使用质粒转染表达 CXCL16, 研究肿瘤细胞内未分泌的 CXCL16 对乳腺癌细胞生物学特性的影响。结果显示, CXCL16 在 MCF-7 的表达最高, SK-BR-3 次之, 而 MDA-MB-231 和 MDA-MB-435S 都是低表达 CXCL16。MCF-7 和 SK-BR-3 为激素依赖性, 属于低侵袭性乳腺癌细胞; 而 MDA-MB-231 和 MDA-MB-435S 则不表达雌激素受体、孕激素受体及表皮生长因子受体 Her-2, 为高侵袭性乳腺癌细胞<sup>[8]</sup>, CXCL16 表达与癌细胞侵袭性呈负相关。而 Lu 等<sup>[3]</sup>的研究则发现 CXCL16 表达与前列腺癌、非小细胞肺癌细胞的侵袭性正相关, 可能是由于 CXCL16 表达存在组织异质性。

外源性的分泌型 CXCL16 刺激前列腺癌细胞, 可以促进其侵袭迁移<sup>[6]</sup>, 而细胞内非分泌型的 CXCL16 对其侵袭迁移等行为有何作用尚不明确。为此, 我们用重组 pEGFP-CXCL16 质粒转染 MDA-MB-231 细胞, 分析细胞内 CXCL16 表达被直接干预对癌细胞侵袭、迁移和增殖的影响。结果发现, CXCL16 表达被上调之后, MDA-MB-231 细胞的体外迁移、侵袭能力都显著降低, 可能是由于细胞膜上的膜结合型 CXCL16 作为黏附分子促进肿瘤细胞之间的黏附, 抑制了癌细胞的脱落和转移。然而, 由于无法完全区分出细胞内膜结合型和分泌型 CXCL16, 两者各自对乳腺癌细胞迁移、侵袭的作用仍不清楚, 因此将其称为非分泌型 CXCL16。肿瘤的另外一个重要特征是无限增殖, 然而本研究 CXCL16 表达被上调却并未影响(下转第 530 页)

表达水平,且宫内香烟烟雾暴露可能导致新生大鼠延髓 H<sub>2</sub>S 的生成增加,进而发挥对宫内香烟烟雾暴露致延髓呼吸中枢损伤的保护作用,这一现象可能是机体应对此种病理损伤的自我保护机制之一。

### 参 考 文 献

- 1 Fleming P, Blair PS. Sudden infant death syndrome and parental smoking. *Early Hum Dev*, 2007; 83(11): 721-725.
- 2 Lavezzi AM, Ottaviani G, Matturri L. Adverse effects of prenatal tobacco smoke exposure on biological parameters of the developing brainstem. *Neurobiol Dis*, 2005; 20(2): 601-607.
- 3 金红芳, 杜军保, 唐朝枢. “废气不废”: 气体信号分子硫化氢的研究进展. *生理学报*, 2010; 62(6): 495-504.
- 4 Hu H, Shi Y, Chen Q, *et al.* Endogenous hydrogen sulfide is involved in regulation of respiration in medullary slice of neonatal rats. *Neuroscience*, 2008; 156(4): 1074-1082.
- 5 Eto K, Ogasawara M, Umemura K. Hydrogen sulfide is produced in response to neuronal excitation. *J Neurosci*, 2002; 22(9): 3386-3391.
- 6 Shibuya N, Tanaka M, Yoshida M, *et al.* 3-Mercaptopyruvate sulfurtransferase produces hydrogen sulfide and bound sulfane sulfur in the brain. *Antioxid Redox Signal*, 2009; 11(4): 703-714.
- 7 Wang T, Han SX, Zhang SF, *et al.* Role of chymase in cigarette smoke-induced pulmonary artery remodeling and pulmonary hypertension in hamsters. *Respir Res*, 2010; 11(1):

36.

- 8 Abe K, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci*, 1996; 16(3): 1066-1071.
- 9 Zhao W, Zhang J, Lu Y, *et al.* The vasorelaxant effect of H<sub>2</sub>S as a novel endogenous gaseous KATP channel opener. *EMBO J*, 2001; 20(21): 6008-6016.
- 10 Li L, Bhatia M, Moore PK. Hydrogen sulphide—a novel mediator of inflammation? *Curr Opin Pharmacol*, 2006; 6(2): 125-129.
- 11 Ren C, Du A, Li D, *et al.* Dynamic change of hydrogen sulfide during global cerebral ischemia-reperfusion and its effect in rats. *Brain Res*, 2010; 1345: 197-205.
- 12 Tay AS, Hu LF, Lu M, *et al.* Hydrogen sulfide protects neurons against hypoxic injury via stimulation of ATP-sensitive potassium channel/protein kinase C/extracellular signal-regulated kinase/heat shock protein 90 pathway. *Neuroscience*, 2010; 167(2): 277-286.
- 13 Pan JG, Zhang J, Zhou H, *et al.* Protective action of endogenously generated H<sub>2</sub>S on hypoxia-induced respiratory suppression and its relation to antioxidation and down-regulation of c-fos mRNA in medullary slices of neonatal rats. *Respir Physiol Neurobiol*, 2011; 178(2): 230-234.
- 14 Smith JC, Ellenberger HH, Ballanyi K, *et al.* Pre-Bötzinger complex: a brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals. *Science*, 1991; 254(5032): 726-729.

(2012-12-13 收稿, 2013-03-29 修回)

编辑 汤 洁

(上接第 525 页)

MDA-MB-231 细胞的增殖活性。

以上研究表明,细胞内的非分泌型 CXCL16 与乳腺癌细胞的恶性表型相关,低侵袭的癌细胞高表达 CXCL16,增加肿瘤细胞非分泌型 CXCL16 的表达可以抑制 MDA-MB-231 细胞的侵袭和迁移,而不影响其增殖活性。本研究探讨了 CXCL16 表达对乳腺癌细胞生物学特性的作用,为乳腺癌发生发展机制的研究提供了参考,其具体的分子机制仍需进一步研究阐明。

### 参 考 文 献

- 1 Matloubian M, David A, Engel S, *et al.* A transmembrane CXC chemokine is a ligand for HIV-coreceptor Bonzo. *Nat Immunol*, 2000; 1(4): 298-304.
- 2 Zlotnik A, Burkhardt AM, Homey B. Homeostatic chemokine receptors and organ-specific metastasis. *Nat Rev Immunol*, 2011; 11(9): 597-606.
- 3 Lu Y, Wang J, Xu Y, *et al.* CXCL16 functions as a novel chemotactic factor for prostate cancer cells *in vitro*. *Mol Cancer Res*, 2008; 6(4): 546-554.

- 4 Hojo S, Koizumi K, Tsuneyama K, *et al.* High-level expression of chemokine CXCL16 by tumor cells correlates with a good prognosis and increased tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer. *Cancer Res*, 2007; 67(10): 4725-4731.
- 5 Gutwein P, Schramme A, Sinke N, *et al.* Tumoural CXCL16 expression is a novel prognostic marker of longer survival times in renal cell cancer patients. *Eur J Cancer*, 2009; 45(3): 478-489.
- 6 Wang J, Lu Y, Koch AE, *et al.* CXCR6 induces prostate cancer progression by the AKT/mammalian target of rapamycin signaling pathway. *Cancer Res*, 2008; 68(24): 10367-10376.
- 7 Ludwig A, Hundhausen C, Lambert MH, *et al.* Metalloproteinase inhibitors for the disintegrin-like metalloproteinases ADAM10 and ADAM17 that differentially block constitutive and phorbol ester-inducible shedding of cell surface molecules. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2005; 8(2): 161-171.
- 8 Davison Z, de Blacquièr GE, Westley BR, *et al.* Insulin-like growth factor-dependent proliferation and survival of triple-negative breast cancer cells: implications for therapy. *Neoplasia*, 2011; 13(6): 504-515.

(2013-01-04 收稿, 2013-03-07 修回)

编辑 沈 进