

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.000264

促肝细胞再生磷酸酶 1 基因对舌癌细胞侵袭的影响

潘 丽, 季 平, 刘 平, 时恩来, 徐 望

(重庆医科大学附属口腔医院口腔颌面外科, 口腔疾病与生物医学重庆市重点实验室, 重庆 400015)

【摘要】目的:探讨促肝细胞再生磷酸酶 1(phosphatase of regenerating liver cell-1, PRL-1)对舌癌细胞侵袭能力的影响及其可能的机制。**方法:**应用 siRNA-PRL-1 慢病毒载体转染处理舌癌 TCA8113 细胞株后,分别采用荧光定量 PCR 和蛋白质印迹检测 PRL-1 基因和基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9) mRNA 和蛋白水平;采用 Transwell 小室模型实验检测癌细胞的侵袭能力。**结果:**siRNA-PRL-1 慢病毒转染组癌细胞 PRL-1 在 RNA($0.425 0 \pm 0.010 0$)和蛋白($2.720 0 \pm 0.110 0$)水平明显下调($P=0.000, P=0.000$),同时 MMP-2 及 MMP-9 在 RNA($0.562 2 \pm 0.180 0, 0.617 1 \pm 0.100 0$)及蛋白($0.592 4 \pm 0.010 0, 0.476 2 \pm 0.020 0$)表达水平降低($P=0.024, P=0.010, P=0.000, P=0.000$);Transwell 实验 siRNA-PRL-1 慢病毒转染组细胞通过数(64.33 ± 4.04)明显减少($P=0.000$)。**结论:**siRNA-PRL-1 转染可抑制舌癌细胞侵袭,其机制可能与 PRL-1 基因下调 MMP-2 及 MMP-9 的表达有关。

【关键词】舌癌;侵袭;促肝细胞再生磷酸酶-1;基质金属蛋白酶

【中图分类号】R739.8

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-12-17

Effects of phosphatase of regenerating liver cell-1 on invasion of human tongue cancer cells

Pan Li, Ji Ping, Liu Ping, Shi Enlai, Xu Wang

(The Affiliated Hospital of Stomatology, Chongqing Medical University, Chongqing key Laboratory for Oral Diseases and Biomedical Sciences)

【Abstract】Objective: To study the effects of phosphatase of regenerating liver cell-1 (PRL-1) small interfering RNA (siRNA) on invasion of tongue cancer cells (TCA8113) and the mechanism. **Methods:** After tongue squamous cancer cell line TCA8113 being transfected by PRL-1 siRNA, the mRNA and protein of PRL-1 and matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) were determined by real-time PCR and Western blot assay, respectively. TCA8113 cell invasiveness was detected through Transwell chamber using model test. **Results:** After transfection by PRL-1 siRNA, the level of mRNA ($0.425 0 \pm 0.010 0$) and protein ($2.720 0 \pm 0.110 0$) of PRL-1 was down-regulated ($P=0.000, P=0.000$). The mRNA level of MMP-2 and MMP-9 ($0.562 2 \pm 0.180 0, 0.617 1 \pm 0.100 0$) as well as the protein level of MMP-2 and MMP-9 ($0.592 4 \pm 0.010 0, 0.476 2 \pm 0.020 0$) were decreased obviously ($P=0.024, P=0.010, P=0.000, P=0.000$). The invasion ability of human tongue squamous cancer cell was reduced (64.33 ± 4.04) ($P=0.000$). **Conclusion:** PRL-1 gene might play an important role in development of human oral squamous cell carcinoma and down-regulation of PRL-1 could inhibit invasion of human tongue squamous cancer cell. This may be related to the lower expression of MMP-2 and MMP-9.

【Key words】 tongue squamous cancer; invasion; phosphatase of regenerating liver cell-1; matrix metalloproteinase

肿瘤的侵袭转移是指肿瘤细胞脱离原发生长部位,通过各种途径的转运,在机体内远离原发部位的器官、组织继续生长,形成转移瘤的过程。其发生限制了手术、放疗等根治性治疗手段的应用,严

重影响患者的预后及生存,是肿瘤复发、不易根治的最主要原因,因此深入研究肿瘤转移的相关机制,对于探索有效的肿瘤治疗方法具有非常重要的意义。近年来,促肝细胞再生磷酸酶因子(phosphatase of regenerating liver, PRLs)调控肿瘤细胞侵袭转移的功能受到了研究者的广泛关注。PRLs 家族在多种肿瘤中异常表达,并可参与调控恶性肿瘤的侵袭和转移^[1-6]。本课题组前期实验发现 PRLs 家族成员中促肝细胞再生磷酸酶 1(phosphatase of regenerating liver cell-1, PRL-1)在舌癌组织标本与正常组织标

作者介绍:潘 丽, Email: panli1112@126.com,

研究方向:口腔颌面部肿瘤。

通信作者:季 平, Email: jiping_62@hotmail.com。

基金项目:重庆市重点课题资助项目(编号:2009-1-33);重庆市卫生局重点资助项目(编号:2013-1-030)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyxh.000264.html>

本中表达存在差异^[7]。因此,本研究借助于 RNA 干扰(RNA interference, RNAi)技术,用 siRNA-PRL-1 慢病毒载体转染处理舌癌 TCA8113 细胞,观察转染前后舌癌细胞侵袭力的变化,探索 PRL-1 基因对舌癌侵袭力的影响及其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

人舌鳞癌 TCA8113 细胞系(重庆医科大学生命科学研究院提供)。siRNA-PRL-1 慢病毒载体由上海吉凯基因化学技术有限公司合成。PRL-1 抗体购自 Abgent 公司。全蛋白提取试剂盒购自凯基, RNA 提取试剂盒、cDNA 一步法逆转录试剂盒、一步法荧光定量试剂盒购自 TAKARA 公司。Transwell 小室购自 millipore。

1.2 方法

1.2.1 siRNA-PRL-1 慢病毒载体构建 按照 GeneBank 中 PRL-1 的 mRNA 序列(NM_003463), 针对该序列设计合成 5 对 PRL-1 基因的 siRNA 的寡核苷酸序列, BLAST 分析序列特异性。将设计好的 PRL-1 基因特异性 siRNA 序列构建至慢病毒表达载体 GV248 上, 同时构建 PRL-1 过表达质粒, 共转染 293T 细胞, Western blot 外源筛选有效 RNAi 载体。siRNA 有效载体慢病毒包装及滴度测定。以上实验由上海吉凯基因化学有限公司完成。

1.2.2 稳定转染 PRL-1 基因细胞株的筛选 人舌癌 TCA8113 细胞在含 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养液、37℃、5%CO₂ 饱和湿度环境的条件下连续培养。实验设空白对照组(CON): 未经任何处理的 TCA8113 细胞; KD 组: 稳定转染 LV-siRNA-PRL-1 的 TCA8113 细胞; NC 组: 转染空白病毒载体的 TCA8113 细胞。转染前 1 d, 将生长状态良好的对数期细胞接种于 6 孔板培养, 每孔约 5×10^4 个细胞培养过夜, 次日进行转染。根据细胞感染复数(multiplicity of infection, MOI)值, 加入适宜量的病毒, 12 h 后观察细胞状态: 如果没有明显的细胞毒性作用, 继续培养 24 h 后更换培养基; 如果有明显的细胞毒性作用, 立即更换培养基, 感染 3 d 后观察慢病毒上报告基因绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的表达情况, 同时更换含有嘌呤霉素的完全培养基继续培养, 筛选稳定转染病毒的 TCA8113 细胞。

1.2.3 各组 PRL-1、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)基因 mRNA 水平的检测 采用荧光定量 PCR 法。取对数生长期各组细胞, 分别加入 1 ml Trizol 试剂, 提取细胞总 RNA, 经鉴定后, 逆转录合成 cDNA, 于 -20℃保存。设计引物序列如下: PRL-1 扩增上游引物序列: 5'-GGGTGCCTAATGCTACTG-3', PRL-1 扩增下游引物序列: 5'-GAGGTTGCCAAATCTGTC-3', 扩增产物长度为 155 bp; MMP-2 扩增上游引物序列: 5'-ACATCAAGGGCATTACAGGAGC-3', 扩增下游引物序列 5'-CAGTCCGCCAAATGAACCG-3'; 扩增长

度为 120 bp。MMP-9 扩增上游引物序列: 5'-ACGCGCTGGGCT-TAGATCAT-3', 扩增下游引物序列: 5'-TTCAGGGCGAGGAC-CATAGAG-3'; 扩增长度为 115 bp。内参 h GAPDH 扩增上游序列: 5'-TGACTTCAACAGCGACACCCA-3', 扩增下游序列: 5'-CACCCTGTTGCTGTAGCCAAA-3', 扩增产物长度为 121 bp。real-time PCR 用 TaKaRa SYBR Green 荧光定量一步法试剂盒, 总反应体系 25 μ l: 12.5 μ l SYBR Green, 10.5 μ l 焦碳酸二乙酯, 正反引物各 0.5 μ l, cDNA 1 μ l。反应条件: 95℃ 30 s; 95℃ 5 s, 52℃ 30 s, 65℃ 5 s, 40 个循环, 待测样品与内参同时检测, 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [$\Delta Ct = Ct(\text{目的基因}) - Ct(\text{内参基因})$], $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct(\text{处理组}) - \Delta Ct(\text{对照组})$] 法表示基因表达的相对变化, 计算得到处理组与对照组相同基因表达差异。每组实验重复 3 次。

1.2.4 各组 PRL-1、MMP-2 及 MMP-9 基因蛋白水平的检测

Western blot 检测各组细胞 PRL-1、MMP-2 及 MMP-9 基因蛋白的表达: 各组细胞, 提取蛋白, BCA 法测浓度, 进行凝胶电泳, 转膜至聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜, 5%脱脂奶粉封闭, 鼠抗人单克隆一抗(PRL-1、MMP-2、MMP-9)4℃孵育过夜, PBST 漂洗后山羊抗鼠二抗 37℃孵育 1 h, 漂洗后暗室化学发光法凝胶成像系统显影, Quantity one 系统采集扩增条带的吸光度值作为蛋白的强度指标。以 β -actin 为内参对照。以目的基因与 β -actin 条带的吸光度比值作为分析指标, 每组实验重复 3 次。

1.2.5 Transwell 小室模型实验 取对数生长期的各组细胞, 胰酶消化, 离心、洗涤并重悬于无血清的 RPMI1640 培养液中, 调整细胞密度为 5×10^6 个/ml, 在 24 孔板预选定的孔内加入 600 μ l 含有 10%胎牛血清的 RPMI1640 完全培养基, 放入 Transwell 小室。在 Transwell 小室上室加入调整好细胞密度的细胞约 1×10^5 个细胞, 体积调整为 200 μ l。37℃、5%CO₂ 细胞培养箱内培养 24 h。捞出 Transwell 小室, 用棉签轻轻拭去上室膜上的细胞。磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)洗, 摇床 5 min, 3 次。多聚甲醛固定 20 min, 快速吉姆萨染色, 倒置显微镜下采图。实验重复 3 次。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析, 各组数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用单因素方差分析进行多组间比较, 组间两两比较采用 LSD-*t* 法, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 慢病毒构建与感染 TCA8113 细胞株

Western blot 外源筛选有效 RNAi 载体 PRL-1/GV248RNAi 序列信息: PRL-1/GV248RNAi: 正义链: 5'-CCGGCAATCCAA-CCAATGCGACCTTCTCGAGAAGGTGCGATTGGTTGGATTGT-TTTTG-3', 反义链: 5-AATTCAAAAACAATCCAACCAATGCG-ACCTTCTCGAGAAGGTGCGATTGGTTGGATTG-3'。阳性克隆测序结果(图 1)。感染 3 d 后荧光显微镜下观察 GFP 表达情况(图 2)。

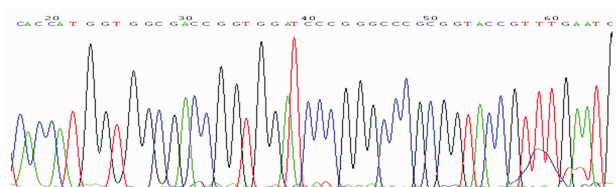


图 1 目的重组质粒部分基因测序图

Fig.1 A part of the gene sequencing graph of the purpose plasmid

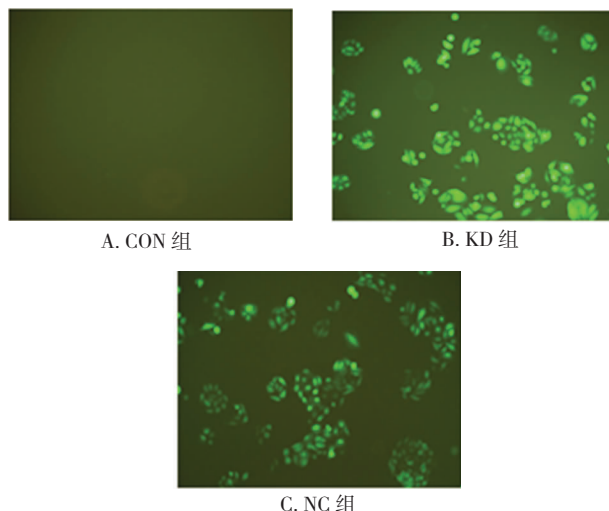


图 2 病毒转染 TCA8113 细胞 72 h 后的荧光图片 (100×)
Fig.2 TCA8113 cell infected with si-RNA-PRL-1 lentivirus examined by fluorescent microscopy at 72 h after the infection (100×)

2.2 siRNA-PRL-1 沉默舌癌细胞 PRL-1 基因的表达

经 real-time PCR 和蛋白质印迹检测 3 组中 PRL-1 基因 mRNA 和蛋白水平,结果显示,CON 组、NC 组及 KD 组 3 组中 PRL-1 基因 mRNA 及蛋白表达水平存在统计学差异 ($F=108.807, P=0.000; F=1432.965, P=0.000$)。与 CON 组 (0.9705 ± 0.0500) 相比, KD 组 mRNA 相对表达量 (0.4250 ± 0.0100) 平均约降低 56% ($P=0.000$), 而 NC 组 (0.9156 ± 0.0700) 与 CON 组 mRNA 表达差异则无统计学意义 ($P=0.226$) (图 3)。KD 组 PRL-1 蛋白的相对表达量 (2.7200 ± 0.1100) 与 CON 组 (5.4900 ± 0.0400) 相比, 表达降低约 50%, 差异有统计学意义 ($P=0.000$) (图 4A, 图 4B)。而 NC 组 (5.3767 ± 0.5500) 与 CON 组 (5.4900 ± 0.0400) 蛋白表达差异则无统计学意义 ($P=0.101$)。说明所构建 siRNA-PRL-1 慢病毒特异性抑制了 PRL-1 基因的表达。

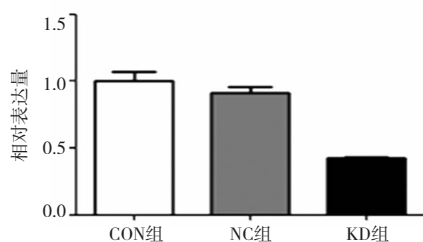
图 3 PRL-1 mRNA 相对表达量 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.3 Relative expression level of PRL-1 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

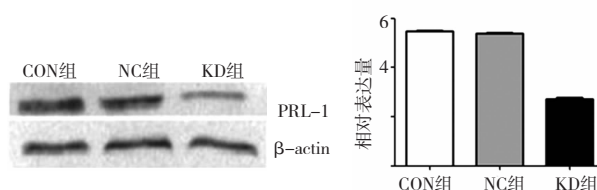


图 4A Western blot 检测 PRL-1 蛋白表达情况

Fig.4A Protein expression level of PRL-1 detected by Western bolt

图 4B PRL-1 蛋白相对表达量 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.4B Relative protein expression level of PRL-1 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.3 沉默 PRL-1 基因后, MMP-2 及 MMP-9 表达降低

Real-time PCR 结果分析显示, CON 组、NC 组及 KD 组 3 组中 MMP-2 及 MMP-9 基因 mRNA 表达存在差异 ($F=5.247, P=0.048; F=8.045, P=0.020$)。与 CON 组 (1.0228 ± 0.2500) 相比, KD 组 MMP-2 表达量 (0.5622 ± 0.1800) 平均降低 45% ($P=0.024$), 而 NC 组 (0.9538 ± 0.1000) 与 CON 组 (1.0228 ± 0.2500) 组表达差异则无统计学意义 ($P=0.669$) (图 5A); 与 CON 组 (0.9951 ± 0.1200) 相比, KD 组 MMP-9 表达量 (0.6171 ± 0.1000) 平均降低约 38% ($P=0.010$), 而 NC 组 (0.9506 ± 0.1600) 与 CON 组 (0.9951 ± 0.1200) 组表达差异则无统计学意义 ($P=0.681$) (图 5B)。Western blot 结果显示, MMP-2 及 MMP-9 蛋白表达在 3 组中存在差异 ($F=221.528, P=0.000; F=149.982, P=0.000$)。与 CON 组 (0.8557 ± 0.0100) 相比, KD 组 MMP-2 蛋白表达量 (0.5924 ± 0.0100) 平均降低 31% ($P=0.000$), 而 NC 组 (0.8264 ± 0.0200) 与 CON 组 (0.8557 ± 0.0100) MMP-2 蛋白表达则无统计学差异 ($P=0.077$); KD 组 MMP-9 蛋白表达量 (0.4762 ± 0.0200) 与 CON 组 (0.8015 ± 0.0100) 相比平均降低 40% ($P=0.000$), 而 NC 组 (0.7616 ± 0.0400) 与 CON 组 (0.8015 ± 0.0100) MMP-9 蛋白表达差异则无统计学意义 ($P=0.099$)。 (图 6A/6B/6C)。说明 siRNA-PRL-1 慢病毒转染, 可引起 MMP-2 和 MMP-9 表达改变, MMP-2 及 MMP-9 表达均降低。

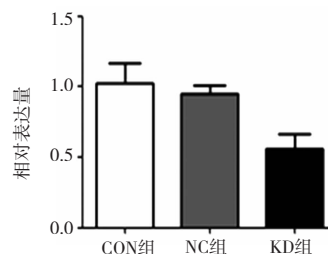
图 5A MMP-2 mRNA 相对表达量 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.5A Relative mRNA expression level of MMP-2 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

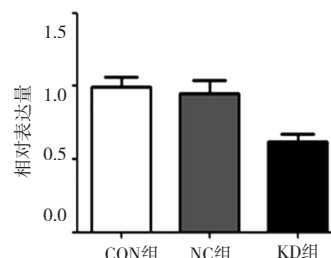


图 5B MMP-9 mRNA 相对表达量

Fig.5B Relative mRNA expression level of MMP-9

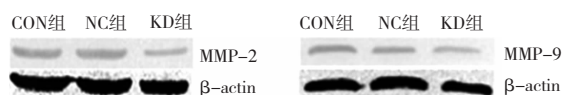


图 6A Western blot 检测各组 MMP-2、MMP-9 蛋白表达情况
($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.6A Relative protein expression level of MMP-2 and MMP-9 detected by Western blot ($\bar{x} \pm s, n=3$)

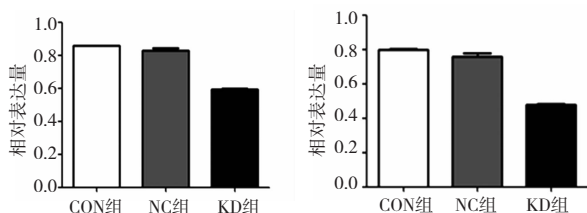


图 6B MMP-2 蛋白相对表达量
($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.6B Relative protein expression level of MMP-2
($\bar{x} \pm s, n=3$)

图 6C MMP-9 蛋白相对表达量
($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.6C Relative protein expression level of MMP-9
($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.4 siRNA-PRL-1 慢病毒转染对舌癌细胞侵袭能力的影响

分别在转染 24 h 后终止 Transwell 小室细胞的培养,采集图片如图 7,分析结果显示,CON 组、NC 组及 KD 组 3 组细胞通过的细胞数存在统计学差异 ($F=824.229, P=0.000$)。KD 组的细胞通过数 (64.33 ± 4.04) 较 CON 组 (164.33 ± 4.04) 明显减少 ($P=0.000$),而 NC 组细胞通过数 (160.33 ± 1.53) 与 CON 组 (164.33 ± 4.04) 细胞通过数差异则无统计学意义 ($P=0.201$)。说明沉默 PRL-1 基因的表达会抑制 TCA8113 细胞的侵袭能力。

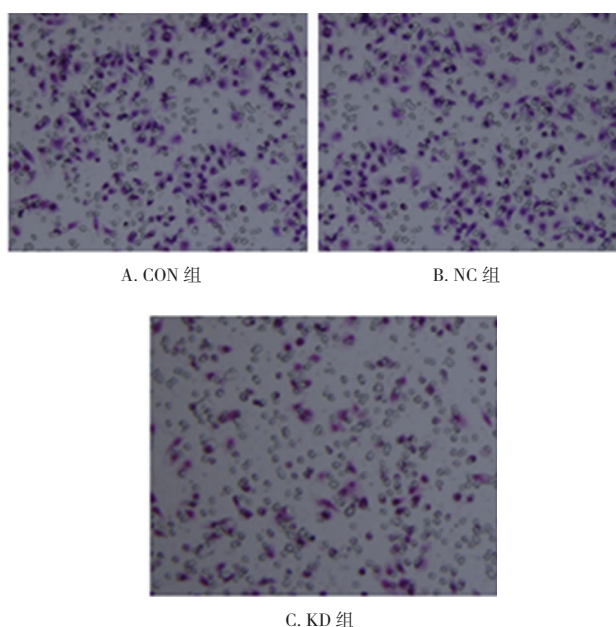


图 7 Transwell 小室检测细胞侵袭能力 (200 ×)

Fig.7 Cell invasion ability detected by Transwell chamber
(200 ×)

3 讨论

口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)是头颈部最常见的恶性肿瘤,也是人类 10 种最常见的恶性肿瘤之一,占口腔恶性肿瘤发病率的 90% 以上^[8-9]。近年来口腔鳞癌有发病率增高且发病年龄年轻化的趋势。OSCC 具有侵袭性强、转移率高的特点,尽管治疗手段在不断改进,但患者的 5 年生存率仍然不高,尤其是转移的病人。因此研究 OSCC 转移相关因素,对完善口腔肿瘤转移规律及机理的认识,发现减少转移的治疗方法,提高治疗水平有重要意义。

肿瘤细胞侵袭转移是一个多步骤、多阶段、多途径、涉及多基因变化的一系列复杂过程,包括肿瘤细胞从黏附到细胞外基质(extra cellular matrix, ECM),侵入血管或淋巴管,迁移、黏附于适宜部位诱导肿瘤血管形成,对抗宿主抗肿瘤免疫,最终在远处形成转移灶。近年来,肿瘤分子生物学的研究重点逐渐转入分离和克隆肿瘤转移基因与肿瘤转移抑制基因,并对这些基因的调控因子和转移过程中的作用机制进行深入研究,期望在基因水平揭示肿瘤转移的本质,为改进肿瘤的诊断方法和治疗手段提供依据。目前报道的参与肿瘤转移调控的基因很多,如 nm23、CD44v、S100A4、TIAMI、PRLs 等。

PRLs 近年来因其在肿瘤发生和发展中的作用,受到研究者广泛关注。PRLs 包括 PRL-1、PRL-2、PRL-3 三个成员,分别定位在 6q12、1p35、8q24.3 染色体上^[10],是蛋白酪氨酸磷酸酶(protein tyrosine phosphatase, PTP)家族重要成员之一。PTP 调控着蛋白的磷酸化和去磷酸化,这一调节广泛涉及到细胞的增殖、凋亡、信号转导等各个过程中^[11-13]。蛋白质的磷酸化和去磷酸化平衡的稳定维持着机体正常生理功能,当平衡失衡时机会发生炎症性疾病或肿瘤^[14]。PRL-1 是肝细胞再生磷酸酶重要成员之一,广泛表达于人类各种正常组织中,但在不同的组织其表达水平有很大差异^[15],参与调解组织的生长和发育。同时实验研究证实 PRL-1 在不同的肿瘤细胞系如肺癌、胰腺癌等中高表达,敲除或降低 PRL-1 基因的表达会降低肿瘤的移行性及侵袭能力^[16-18]。本课题组前期实验研究表明 PRL-1 在舌癌组织中的表达显著高于正常舌组织,且 PRL-1 与舌癌转移的相关性研究还鲜有报道。因此本实验拟采用 RNA 干扰技术进一步研究 PRL-1 基因对舌癌细胞侵袭

力的影响及其可能的机制。

RNAi 技术是利用双链 RNA 高效、特异性降解细胞内同源信使 RNA,从而阻断特定基因表达,使细胞出现靶基因缺失的表型。该技术广泛应用于探索基因功能及恶性肿瘤的治疗领域。RNAi 在基因沉默方面具有高效性和简单性,本实验成功构建了 siRNA-PRL-1 慢病毒载体,荧光定量 PCR 及蛋白质印迹实验结果显示,siRNA-PRL-1 慢病毒转染组细胞 PRL-1 基因 mRNA 和蛋白水平明显降低,提示 PRL-1 siRNA 转染成功。Transwell 小室模型实验观察 PRL-1 siRNA 转染对舌癌细胞侵袭的影响,结果显示,PRL-1 siRNA 转染组穿膜细胞数明显下降,提示 PRL-1 下调可抑制舌癌细胞的侵袭能力。

大量实验证明,癌细胞侵袭转移能力与癌细胞诱导产生蛋白酶降解细胞外基质、基底膜的能力密切相关。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是一类锌离子依赖的细胞外蛋白水解酶,可降解基底膜,在肿瘤的侵袭转移中起着重要的作用^[9],其家族成员中的 MMP-9 和 MMP-2 能有效的分解基底膜的主要成分 IV 型胶原蛋白,与肿瘤的侵袭转移关系最为密切。本研究结果显示,与对照组比较,siRNA-PRL-1 慢病毒转染组 MMP-9 及 MMP-2 基因 mRNA 及蛋白表达水平明显降低。它提示 MMP-9 及 MMP-2 基因表达下调,是 PRL-1 siRNA 转染抑制舌癌细胞侵袭转移的重要途径。这与 Achiwa 和 Lazo 等^[20]在肺癌中的研究结果一致。

本研究结果表明,PRL-1 在舌癌的侵袭中发挥着重要的作用,下调 MMP-2、MMP-9 表达,可能是 PRL-1 调控舌癌细胞侵袭作用的重要途径之一。因此,在 PRL-1 基因影响舌癌侵袭能力方面更深入的研究,以及该基因通过调节 MMPs 的表达影响细胞侵袭能力方面更深入的探讨,可以为舌癌的侵袭转移机理提供新的理论依据。

参 考 文 献

- [1] Cates CA, Michael RL, Staybrook KR, et al. Prenylation of oncogenic human PTP (CAAX) protein tyrosine phosphatases[J]. Cancer Letters, 1996, 110(1-2): 49-55.
- [2] Zeng Q, Dong JM, Guo K, et al. PRL-3 and PRL-1 promote cell migration, invasion, and metastasis[J]. Cancer Res, 2003, 63(11): 2716-2722.
- [3] Sun JP, Luo Y, Yu X, et al. Phosphatase activity, trimerization, and the C-terminal polybasic region are all required for PRL1-mediated cell growth and migration[J]. Journal of Biological Chemistry, 2007, 282(39): 29043-29051.
- [4] Guo K, Tang JP, Tan CP, et al. Monoclonal antibodies target intracellular PRL phosphatases to inhibit cancer metastases in mice[J]. Cancer Biol Ther, 2008, 7(5): 750-757.
- [5] Ming J, Liu N, Gu Y, et al. PRL-3 facilitates angiogenesis and metastasis by increasing ERK phosphorylation and up-regulating the levels and activities of Rho-A/C in lung cancer[J]. Pathology, 2009, 41(2): 118-126.
- [6] Nakashima M, Lazo JS. Phosphatase of regenerating liver-1 promotes cell migration and invasion and regulates filamentous actin dynamics[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2010, 334(2): 627-633.
- [7] 漆小娟, 季平, 潘丽, 等. PTP4A1 在舌鳞癌组织及 TCA8113 细胞中的表达及意义[J]. 重庆医科大学学报, 2013, 38(8): 854-858.
- [8] Scully C, Bagan JV. Recent advances in oral oncology 2008: squamous cell carcinoma imaging, treatment, prognostication and treatment outcomes[J]. Oral Oncol, 2009, 45(6): e25-e30.
- [9] Chen YJ, Chang JT, Liao CT, et al. Head and neck cancer in the betel quid chewing area: recent advances in molecular carcinogenesis[J]. Cancer Sci, 2008, 99(8): 1507-1514.
- [10] Zhou H, Gallina M, Mao H, et al. ¹H, ¹³C and ¹⁵N resonance assignments and secondary structure of the human protein tyrosine phosphatase, PRL-2[J]. J Biomol NMR, 2003, 27(4): 397-398.
- [11] Pulido R, Stoker AW, Hendriks WJ. PTPs emerge as PIPs: protein tyrosine phosphatases with lipid-phosphatase activities in human disease[J]. Hum Mol Genet, 2013, 15; 22(R1): R66-R76.
- [12] Lyon MA, Ducruet AP, Wifp P, et al. Dual-specificity phosphatases as targets for antineoplastic agents[J]. Nat Rev Drug Discov, 2002, 1(12): 961-976.
- [13] Hoffman BT, Nelson MR, Burdick K, et al. Protein tyrosine phosphatases: strategies for distinguishing proteins in a family containing multiple drug targets and anti-targets[J]. Curr Pharm Des, 2004, 10(10): 1161-1181.
- [14] Alonso A, Sasin J, Bottini N, et al. Protein tyrosine phosphatases in the human genome[J]. Cell, 2004, 117(6): 699-771.
- [15] Dumauld CM, Sandusky GE, Crowell PL, et al. Cel, phosphatase regulates c-Src levels, adherence, and invasion in human lung cancer cells[J]. Cancer Res, 2007, 67(2): 643-650.
- [17] Stephens B, Han H, Hostetter G, et al. Small interfering RNA-mediated knockdown of PRL phosphatases results in altered Akt phosphorylation and reduced clonogenicity of pancreatic cancer cells[J]. Mol Cancer Ther, 2008, 7(1): 202-210.
- [18] Luo Y, Liang F, Zhang ZY. PRL1 promotes cell migration and invasion by increasing MMP2 and MMP9 expression through Src and ERK1/2 pathways[J]. Biochemistry, 2009, 48(8): 1838-1846.
- [19] Stetler-Stevenson WG, Yu AE. Proteases in invasion: matrix metalloproteinases[J]. Semin Cancer Biol, 2001, 11(2): 143-152.
- [20] Achiwa H, Lazo JS. PRL-1 tyrosine phosphatase regulates c-Src levels, adherence, and invasion in human lung cancer cells[J]. Cancer Res, 2007, 67(2): 643-650.

(责任编辑:唐宗顺)