论著

文章编号:1000-5404(2009)07-0572-05

重组腺病毒 CD82/KAI1 对小鼠子宫基质细胞内 α5、β3、MMP-9、E-cadherin 和 β-catenin 蛋白表达的影响

尉晓蔚[1],张 倩[1],谭冬梅[1],赵邦霞[1],何通川[2],谭 毅[1] (重庆医科大学:[1]实验动物中心,重庆 400016;[2]美国芝加哥大学分子肿瘤实验室)

摘 要:目的 研究 CD82/KAI1 对着床窗口期小鼠子宫基质细胞内整合素 α5、β3、MMP-9、E-cadherin 和 β-catenin 蛋白表达的影响。**方法** 采用基因工程技术,构建 CD82/KAI1 腺病毒;用免疫细胞化学技术观察妊娠小鼠子宫基质细胞感染 CD82/KAI1 腺病毒后,细胞内 α5、β3、MMP-9、E-cadherin 和 β-catenin 的表达变化情况。**结果** ①构建的小鼠重组腺病毒的滴度达到 6.5×10^{12} pfu/ml,感染原代培养的小鼠子宫基质细胞 48 h 后,CD82/KAI1 蛋白有明显表达。②妊娠 4 d 的小鼠子宫基质细胞中 E-cadherin、β-catenin、α5、MMP-9 均有表达,没有检测到 β3 的表达;对照组未妊娠小鼠细胞中均没有检测到 E-cadherin、β-catenin、α5、MMP-9 和 β3 的表达。③与导空腺病毒组相比,妊娠 4 d 的小鼠子宫基质细胞感染 CD82/KAI1 腺病毒后,β-catenin 和 MMP-9 表达显著上升($P<0.05$),α5 表达显著下降($P<0.05$),E-cadherin 的表达量没有显著变化($P>0.05$),未检测到 β3 的表达。**结论** 成功构建含小鼠 CD82/KAI1 全基因的重组腺病毒。胚胎植入前小鼠子宫基质细胞内整合素 α5、MMP-9、E-cadherin 和 β-catenin 的表达可能受 CD82/KAI1 的影响。

关键词: CD82/KAI1 基因;重组腺病毒;子宫基质细胞;原代培养

中图法分类号: R322.65; R394-33; R394.2 **文献标识码:** A

Effect of CD82/KAI1 on expression of integrin α5 and β3, MMP-9, E-cadherin and β-catenin in mice uterine stromal cells

WEI Xiao-wei[1], ZHANG Qian[1], TAN Dong-mei[1], ZHAO Bang-xia[1], HE Tong-chuan[2], TAN Yi[1] ([1]Laboratory Animal Center, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; [2] Molecular Tumor Laboratory, Chicago University, USA)

Abstract: Objective To investigate the effect of recombinant adenovirus containing CD82/KAI1 on the expressions of integrin α5, integrin β3, MMP-9, E-cadherin and β-catenin in uterine stromal cells. Methods Uterine stromal cells were isolated from pregnant mice during implantation window and cultured primarily. The recombinant adenovirus containing mouse CD82/KAI1 gene was constructed. Protein expression of integrin α5, integrin β3, MMP-9, E-cadherin and β-catenin were detected by immunocytochemical methods in the cultured cells with or without CD82/KAI1 adenovirus transfection. Results When the cells which were cultured for 48 h were transfected with the recombinant adenovirus vector at a titer of 6.5×10^{12} pfu/ml, CD82/KAI1 were obviously upregulated in the primary uterine stromal cells. In the uterine stromal cells from pregnant mice on the 4 d after gestation, integrin α5, E-cadherin, β-catenin and MMP-9 were detected, while, integrin β3 were not. But in the cells of nonpregant rats, no expression of these 5 proteins was found. Compared with the cells transfected with blank adenovirus, the recombinant adenovirus encoding CD82/KAI1 upregulated the expressions of β-catenin and MMP-9 ($P<0.05$), and down-regulated the expressions of integrin α5 ($P<0.05$), but there was no obvious change in E-cadherin expression ($P>0.05$) and no integrin β3 was detected in the stromal cells of pregnant mice on day 4 of gestation. Conclusion The recombinant adenovirus containing mouse CD82/KAI1 gene is successfully constructed. CD82/KAI1 might have certain effect on the expressions of integrin α5, MMP-9, E-cadherin and β-catenin in mouse uterine stromal cells before embryo implantation.

Key words: CD82/KAI1 gene; recombinant adenovirus; uterine stromal cells; primary cell culture

基金项目: 国家自然科学基金(30470654)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30470654)

作者简介: 尉晓蔚,女,山东省青岛市人,硕士研究生,主要从事胚胎着床方面的研究。E-mail:angelwei2003@163.com

通信作者: 谭 毅,电话:(023)68485997,E-mail:tanyee66@hotmail.com

收稿日期: 2008-07-17;**修回日期:** 2008-08-28

CD82/KAI1 基因定位于人染色体 11pl1.2,编码含有 267 个氨基酸的蛋白质,为细胞膜糖蛋白,属于四跨膜蛋白超家族(transmembrane 4 superfamily, TM4SF)家族成员,与肿瘤细胞转移抑制相关,被称为肿瘤转移抑制基因。目前关于 CD82/KAI1 基因在胚胎植入过程中的作用还属未知,但其在细胞的集聚、黏附、迁移、增殖中均有调节作用。本实验室前期研究表明,CD82/KAI1 在小鼠动情周期、早孕及假孕子宫内膜中均有规律表达[1-3]。由于正常胚胎植入过程中,滋养层细胞对子宫内膜的侵入行为与肿瘤细胞的侵袭转移过程存在大量相似之处,本实验从胚胎植入与肿瘤侵袭转移相似性的角度出发,构建 CD82/KAI1 腺病毒感染原代培养的小鼠子宫基质细胞,观察在 CD82 蛋白高表达的情况下,在肿瘤细胞中蛋白量变化明显的整合素 α5、β3、MMP-9、E-cadherin 和 β-catenin 等因子的蛋白表达变化情况,从而寻找 CD82/KAI1 在胚胎植入过程中可能参与的信号通路和作用机制。

1　材料与方法

1.1　主要材料和试剂

1.1.1　菌株和质粒　　含红色荧光蛋白(red fluorescent protein, RFP)的穿梭质粒 pAdTrack-cMV 由美国芝加哥大学分子肿瘤实验室构建。BJ5183 和 DH10B 菌株、腺病毒基因组质粒 pAdEasy-1 和扩增质粒 pIRES2-EGFP 由重庆医科大学医学检验系分子肿瘤实验室赠送。

1.1.2　主要试剂　　各种限制性内切核酸酶、T_4 连接酶、PCR 试剂盒、质粒抽提试剂盒等购于 TaKaRa 公司,兔抗 CD82/KAI1 多克隆抗体(Sc-1087)、兔抗小鼠 E-cadherin 多克隆抗体(Sc-7870)、山羊抗小鼠 β-catenin 多克隆抗体(Sc-1496)、兔抗小鼠 Integrin α5 多克隆抗体(Sc-10729)、山羊抗小鼠 Integrin β3 多克隆抗体(Sc-6627)、山羊抗小鼠 MMP-9 多克隆抗体(Sc-6840)、小鼠抗小鼠角蛋白多克隆抗体 Sc-32329、山羊抗小鼠波形蛋白多克隆抗体(Sc-7557)均购自美国 Santa Cruz 公司,生物素化羊抗兔二抗、兔抗羊二抗、山羊抗小鼠二抗、链霉素亲和素-过氧化物酶复合物以及 DAB 显色试剂盒等购自北京中山生物技术有限公司,胎牛血清购自 GIBCO 生物公司,胶原酶购自美国 Sigma 公司,分散酶购自罗氏公司。

1.1.3　引物设计与合成　　根据 GenBank 公布的 CD82/KAI1 cDNA 编码区序列(登录号:NM_007656)两端核苷酸序列,采用引物设计软件 Primer Premier 5.0 设计引物。其上下游分别引入 *Bgl* Ⅱ和 *Sal* Ⅰ酶切位点,交由 TaKaRa 公司合成。上游引物:5′-CATAGATCTACCATGGGGGCAGGCTGTGT-3′,下游引物:5′-TCAGTCGACTCAGTACTTGGGGACCTTGC-3′。PCR 条件:94 ℃ 预变性 2 min,94 ℃ 变性 30 s, 57.5 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 1 min,30 个循环,最后 72 ℃延伸 5 min。扩增产物的大小为 822 bp。

1.2　实验方法

1.2.1　CD82/KAI1 重组腺病毒的制备、扩增和纯化　　质粒的转化、提纯、酶切、连接参照 Tan 等[4]的方法。用 *Bgl* Ⅱ和 *Sal* Ⅰ酶切、线性化穿梭质粒 pAdTrack-cMV 并纯化,然后与从 pIRES2-EGFP 载体上经 *Bgl* Ⅱ和 *Sal* Ⅰ切下的 CD82/KAI1 片段相连,转化大肠杆菌 DH5α,随机挑选转化菌落并提取质粒 DNA。参照 He 等[5]的方法,用 *Pme* Ⅰ酶线性化 1 μl (500 ng/μl) pAdTrack-cMV/CD82/KAI1 穿梭质粒,并与 1 μl (100 ng/μl) pAdEasy-1 质粒混匀,电穿孔法(2 500 V, 200 Ω, 25 μF)转化入 BJ5183,LB 卡那霉素抗性培养 20 h 左右,挑选小菌落接种于 LB 培养 10 ~ 15 h,提取质粒 DNA 并经 *Pac* Ⅰ酶切鉴定。再次转化入 DH10B 菌株,提取并纯化质粒 DNA 供转染 293 细胞时使用。将线性化的质粒 DNA 与脂质体共转染融合度为 50% ~ 70% 的 293 细胞,约 2 周后,当绝大多数细胞发出红色荧光时,收获细胞,在干冰/无水乙醇、37 ℃水浴中反复冻融 3 ~ 4 次,离心、收集病毒上清液,继续感染 293 细胞,再次收集含病毒的上清液。最后获得的大量病毒上清液经氯化铯梯度离心、纯化,并用分光光度法测定病毒颗粒滴度。

1.2.2　小鼠子宫基质细胞的原代培养　　将未妊娠以及妊娠第 4 天的雌鼠处死后取子宫(妊娠组需冲胚验证),去除周围的结缔组织和脂肪。将子宫横切成 3 ~ 4 mm 的小段,PBS 中清洗 2 遍后用虹膜剪剪碎。放入 3 ml 分散酶(6 g/L)和胰酶(25 g/L)混合液中,4 ℃培养 1 h。常温下培养组织 1 h,用含 10% 血清培养基终止酶的作用,PBS 清洗子宫组织 2 次,去除上层溶解液。再向子宫组织碎块中加入 2 ml 胶原酶(0.5 g/L),37 ℃培养 30 min。用含 10% 血清培养基终止酶的作用,加入 10 ml PBS,上下混合吸打 8 ~ 10 次。70 μm 的尼龙筛过滤该液体至 15 ml 塑料管中。450 × *g* 离心 7 min,弃上清,用 10 ml 的 PBS 清洗沉淀。再次离心后,加入含 10% 血清培养基,以 1×10^6/ml 细胞数接种到培养瓶内。37 ℃ 培养 2 h。之后 PBS 洗 2 次以去除未贴壁细胞,加入新鲜培养基。37 ℃、5% CO_2 培养箱中培养。

1.2.3　Western blot 检测　　转染重组腺病毒 48 h 后,在冰水浴中刮取贴壁生长的基质细胞,加细胞裂解液(Pierce 公司),提取细胞全蛋白,取 50 μg 细胞全蛋白,10 % SDS-PAGE 电泳,转 PVDF 膜,1∶500 兔抗人多抗 CD82/KAI1,Western blot 检测 CD82/KAI1 蛋白水平。

1.2.4　免疫细胞化学检测　　将原代提取到的基质细胞,爬片于 10% 多聚赖氨酸包被过的无菌盖玻片上。由未妊娠和妊娠 4 d 的雌鼠提取的基质细胞,培养至形成连续的单层细胞后(约 48 h)取出玻片;感染腺病毒的妊娠 4 d 的基质细胞,取 80 μl CD82/KAI1 腺病毒(将病毒原液稀释至 2.2×10^8 pfu/ml),感染约 48 h 后取出玻片。各组均按免疫细胞化学常规步骤进行操作。各种多克隆抗体按 1∶150 ~ 1∶200 稀释,以试剂公司提供的阳性对照照片作为阳性对照,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3　结果判定

免疫细胞化学选择 5 个高倍视野观察细胞有无棕黄染色,根据染色强度及范围分别计分。染色强度:无色(0 分),淡黄(1 分),棕黄(2 分),褐黄(3 分);染色范围:< 5% (0 分),5% ~ 20% (1 分),21% ~ 50% (2 分),> 50% (3 分)。累计 0 ~ 1 分为阴性(-),2 ~ 3 分为弱阳性(+),4 ~ 5 分为阳性(++),6 分为强阳性(+++)。结果是每张片随机选择 5 个高倍视野

的平均值。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 11.0 统计软件进行 t 检验。

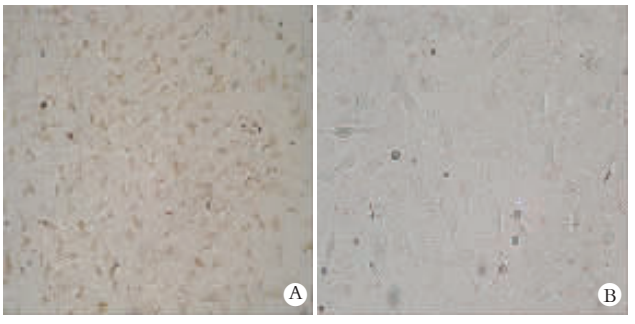
2 结果

2.1 CD82/KAI1 重组腺病毒的获得

PCR 扩增产物经 1.5% 琼脂糖电泳,得到的特异片段大小(822 bp)与预期的 CD82/KAI1 基因大小一致。转入质粒 pIRES2-EGFP 后的序列测定结果经 BLAST 软件分析比较,与 GenBank 收录的标准序列的同源性达 99.6%。大规模制备病毒颗粒,将最后获得的上清液经氯化铯梯度离心、纯化。分光光度法测定病毒颗粒滴度为 6.5×10^{12} pfu/ml。

2.2 子宫基质细胞的纯度鉴定

原代培养的小鼠子宫基质细胞呈梭形或锐三角形,贴壁生长。采用基质细胞特异的波形蛋白抗体对细胞进行免疫化学染色。波形蛋白的阳性染色为棕色,主要分布在细胞质区域(图 1A);阴性对照组无阳性反应(图 1B)。显微镜下随机选择 5 个不同的区域,计数不同区域内细胞总数和免疫染色阳性细胞数。结果表明,提取的基质细胞纯度为(98.1±0.3)%。

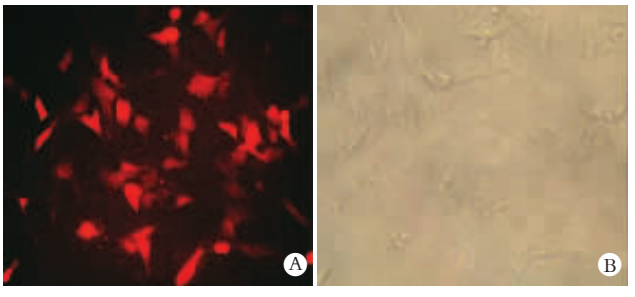


A:波形蛋白的表达;B:阴性对照

图 1 小鼠子宫基质细胞的鉴定 (S-P×200)

2.3 CD82/KAI1 重组腺病毒感染小鼠子宫基质细胞

感染约 48 h 后,荧光显微镜下可见绝大多数基质细胞均发出红色荧光(图 2A),而同一光镜视野下无任何红色荧光(图 2B)。

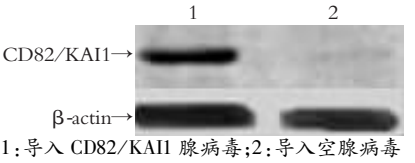


A:荧光显微镜;B:光镜

图 2 原代培养小鼠子宫基质细胞感染 CD82/KAI1 腺病毒 48 h 后观察 (×200)

2.4 小鼠基质细胞 CD82/KAI1 蛋白表达

重组腺病毒转染小鼠子宫基质细胞 48 h 后,Western blot 检测 CD82/KAI1 蛋白水平,结果表明 CD82/KAI1 重组腺病毒组有 CD82/KAI1 蛋白表达,而空腺病毒组无 CD82/KAI1 蛋白表达(图 3)。



1:导入 CD82/KAI1 腺病毒;2:导入空腺病毒

图 3 重组腺病毒转染原代子宫基质细胞 48 h 后 CD82/KAI1 蛋白的表达

2.5 免疫细胞化学结果

CD82/KAI1 蛋白表达于小鼠子宫基质细胞的细胞膜和细胞质。感染 CD82/KAI1 腺病毒 48 h 后,基质细胞中 CD82/KAI1 蛋白明显为强阳性着色,某些细胞甚至异位表达于细胞核内;β-catenin 和 MMP-9 蛋白表达于基质细胞的细胞质;E-cadherin、整合素 α5 和 β3 表达于小鼠子宫基质细胞的细胞膜和细胞质。

与未妊娠组比较,妊娠 4 d 的小鼠子宫基质细胞中 E-cadherin、β-catenin、α5、MMP-9 均开始出现表达,而 β3 没有表达。与空腺病毒组比较,感染 CD82/KAI1 腺病毒的妊娠 4 d 的小鼠基质细胞,β-catenin 和 MMP-9 表达显著上升($P<0.05$),α5 表达显著下降($P<0.05$),E-cadherin 的表达量没有明显变化($P>0.05$),β3 没有表达。各蛋白在各组小鼠子宫基质细胞的表达见表 1 和图 4。

表 1 基质细胞内 α5、β3、MMP-9、E-cadherin 和 β-catenin 蛋白表达结果

抗体	CD82/KAI1	E-cadherin	β-catenin	整合素 α5	整合素 β3	MMP-9
未妊娠	+	−	−	−	−	−
妊娠4 d	+	+	+	+++	−	+
妊娠4 d 感染空腺病毒	+	+	+	+++	−	+
妊娠4 d 感染 CD82/KAI1 腺病毒	+++	+	+++	++	−	+++

3 讨论

胚胎着床是胎生哺乳动物及人类生殖生理的重要环节,是母体子宫与胚胎同步发育,在特定时期即“着床窗”开放期间精确调节、快速完成的生理现象。胚胎着床的关键步骤是胚胎滋养层细胞对子宫内膜的侵入,进而与母体成分共同形成胎盘。滋养层细胞与子宫内膜上皮细胞和基质细胞之间、上皮细胞和基质细胞之间的“对话”,精确地调节滋养层细胞的增殖分化和子宫内膜的蜕膜化,从而保证滋养层细胞的适度侵入。侵入过程中,滋养层细胞与子宫内膜上皮细胞的贴附、细胞外基质的降解与重组、基质细胞的蜕膜化、血管生成是胚胎成功着床的标志性进程。

CD82/KAI1 是肿瘤转移抑制基因,它的正常表达能抑制肿瘤的转移能力。CD82/KAI1 对前列腺癌、肺

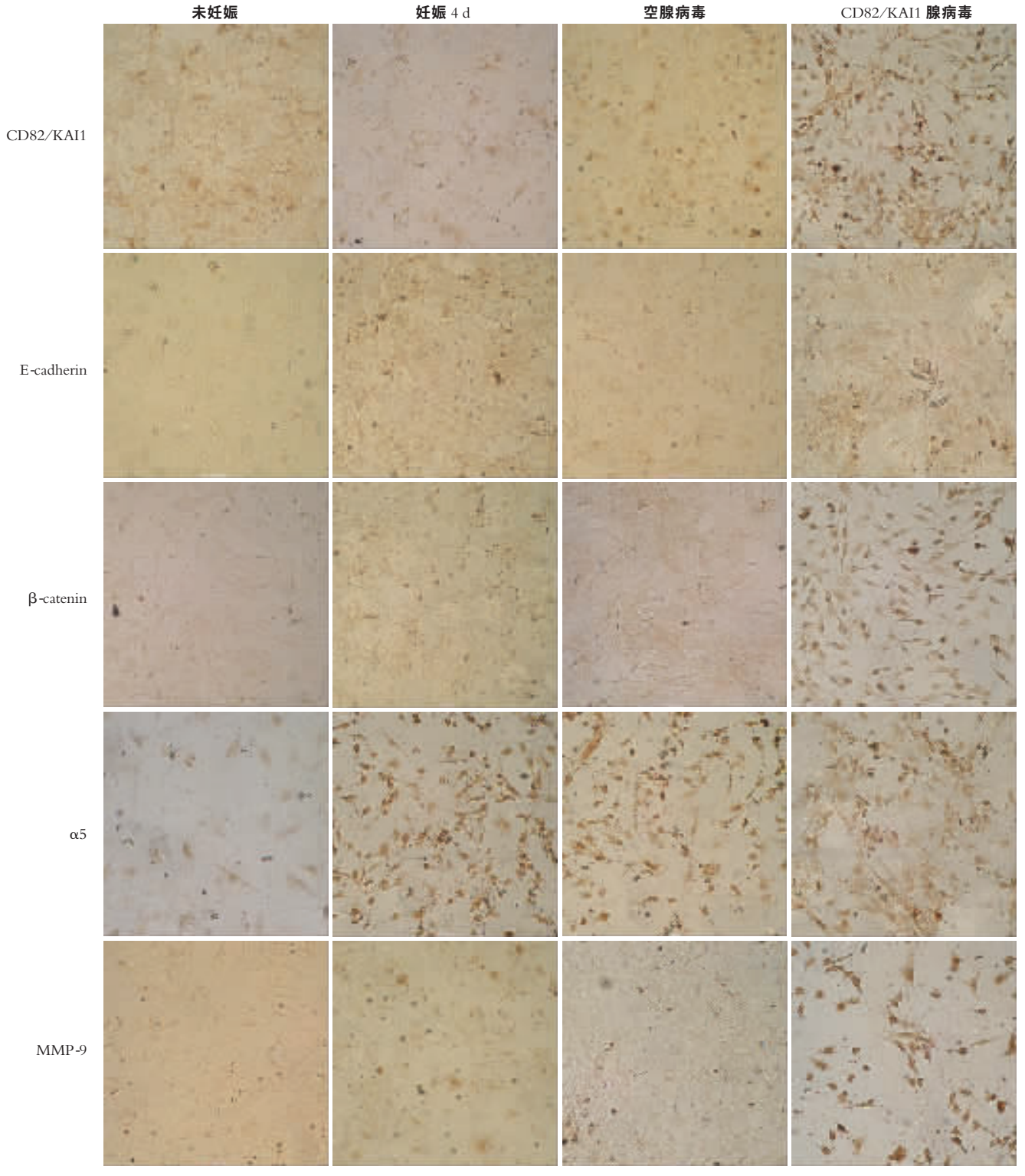


图 4　各因子在各组小鼠子宫基质细胞中的表达　（S-P × 200）

癌、胰腺癌、乳腺癌、结肠癌等多种组织学类型肿瘤具有抑制作用。CD82/KAI1 与其他 TM4SF 蛋白，或与整合素、E-cadherin 结合，在细胞表面形成复合物，介导同型或异型细胞间的黏附，从而抑制肿瘤细胞的运动和侵袭能力[6,7]。研究证实，早期胚胎细胞与恶性肿瘤细胞在病理生理过程、细胞增殖分裂、细胞凋亡、新生血管形成、免疫逃逸、胚胎植入和肿瘤侵袭、转移等诸多生物学行为方面具有惊人的相似性。本实验室前期研究表明 CD82/KAI1 在小鼠动情周期、早孕及假孕子宫内膜中均有规律表达。大量研究显示，整合素 α5、β3、金属基质蛋白酶 MMP-9、E-cadherin 和 β-catenin 在肿瘤侵袭转移过程中发挥了十分重要的作用，同

时这些因子在胚胎着床过程中也起到了重要的作用，但作用机制仍不详。迄今为止，少见报道证实 CD82/KAI1 基因是否与上述各种黏附分子相互作用，共同参与调控胚胎发育和滋养层细胞的适度侵入。为验证这一设想，我们构建了含目的基因 CD82/KAI1 和示踪基因 RFP 的腺病毒载体，并体外原代培养小鼠子宫基质细胞，将 CD82/KAI1 腺病毒感染子宫基质细胞，观察在 CD82 蛋白高表达的情况下，在肿瘤细胞中蛋白量变化明显的整合素 α5、β3、MMP-9、E-cadherin 和 β-catenin 等因子的蛋白表达变化情况。

CD82 增加细胞-细胞间同质性黏附，降低细胞-基质间异质性黏附。前期研究显示妊娠 1～8 d 的小鼠子宫上皮细胞均有 CD82 蛋白的表达。在胚胎着窗窗口期，CD82 在子宫基质细胞内开始出现表达，并持续上升，可能是为抗滋养层细胞的侵袭做准备。

E-cadherin 是介导细胞间相互聚集的黏附分子。E-cadherin 通过相关蛋白 β-catenin 在细胞内区与细胞骨架的微丝系统相连。β-catenin 是 E-cadherin 发挥正常功能所必需的。二者同时或其中之一功能降低或丧失，不能形成 E-cadherin/β-catenin 复合物，导致上皮细胞间的黏附能力下降或丧失，从而引起浸润与转移。本实验免疫细胞化学显示，未妊娠时 E-cadherin 没有表达，在着床窗口期 E-cadherin 出现弱阳性表达，感染 CD82/KAI1 腺病毒组和空腺病毒组，其表达没有统计学差异，说明 CD82 没有改变细胞表面和细胞水平的 E-cadherin，也没有改变 E-cadherin 的定位，但有研究证实，CD82 诱导的同型细胞黏附能被 E-cadherin 功能所调节[8]。着床窗口期 β-catenin 的表达和 E-cadherin 相一致，较未妊娠期均出现表达，感染 CD82/KAI1 腺病毒后，β-catenin 出现明显上调。提示我们 CD82 可能是 β-catenin 的上游调控因子。

Lessey 等研究发现 α5β3 在子宫内膜上皮周期特征性表达，植人窗整合素 α5β3 等表达水平的增高，与内膜“着床窗”开放的时间相吻合，可作为子宫内膜容受性的标志[9,10]。本实验结果显示，着床窗口期 α5 表达较未妊娠组显著上升。感染 CD82/KAI1 腺病毒后，基质细胞中整合素 α5 表达降低，推测 CD82 可能与整合素形成复合体，从而调节整合素介导的细胞黏附和迁移，致使游离态的整合素 α5 大量减少。在未妊娠和妊娠 4 d 的基质细胞中，β3 几乎均没有表达，感染 CD82/KAI1 腺病毒和空腺病毒也无表达，说明 β3 可能不参与基质细胞在着床窗口期的变化过程。但本实验室后期研究发现，它参与子宫上皮细胞对胚胎的容受作用。

胚泡侵入母体组织要先对着床部位的细胞外基质（ECM）极性降解，这个过程需要能够降解 ECM 的相应酶类，如 MMP-9[11]。本实验显示感染 CD82/KAI1 腺病毒后，MMP-9 表达不但没有朝预期那样出现下调，反而明显上升。Jee 等[12]将 CD82 感染肿瘤细胞 H1299 后，发现其明显抑制细胞侵入，MMP-9 的 mRNA 和蛋白表达反而都增加，但明胶酶谱结果发现 MMP-9 活力下降，认为这种现象类似于补偿效应。CD82 抑制肿瘤侵入可能是通过诱导 MMP-9 失活和上调其抑制剂 TIMP1 实现的。在没有更确切的证据之前，我们推测 MMP-9 在胚胎着床中也发挥了这样的作用。总之，本实验成功构建了重组腺病毒 CD82/KAI1，为进一步研究 CD82/KAI1 基因对妊娠小鼠子宫基质细胞、子宫上皮细胞和滋养层细胞三者之间的相互作用奠定了基础。

参考文献：

[1] 何明忠，王焕英，谭冬梅，等. CD82/KAI1 在早孕小鼠子宫内膜组织的表达研究[J]. 四川动物，2006，25（4）：886－888.

[2] 王焕英，谭冬梅，何明忠，等. 肿瘤转移抑制因子 CD82/KAI1 基因在小鼠子宫内膜的动态表达[J]. 生殖与避孕，2007，27(1)：16－20.

[3] 谭冬梅，赵邦霞，尉晓蔚，等. 肿瘤转移抑制因子 CD82/KAI1 在假孕小鼠子宫的表达及其对小鼠胚胎着床的影响[J]. 生殖与避孕，2007，27(9)：567－572.

[4] Tan Y，Li M，Cox S，*et al*. HB-EGF directs stromal cell polyploidy and decidualization *via* cyclin D3 during implantation[J]. Dev Biol，2004，265(1)：181－195.

[5] He T C，Zhou S，da-costa L T，*et al*. A simplified system for generating recombinant adenoviruses[J]. Proc Natl Acad Sci U S A，1998，95(5)：2509－2514.

[6] White A，Lamb P W，Barrett J C. Frequent downregulation of KAI1 (CD82) metastasis suppressor protein in human cancer cell lines[J]. Oncogene，1998，16(24)：3143－3149.

[7] Zhang X A，Lane W S，Charrin S，*et al*. EWI2/PGRL associates with the metastasis suppressor CD82/KAI1 and inhibits the migration of prostate cancer cells[J]. Cancer Res，2003，63(10)：2665－2674.

[8] Abe M，Sugiura T，Takahashi M，*et al*. A novel function of CD82/KAI-1 on E-cadherin-mediated homophilic cellular adhesion of cancer cells[J]. Cancer Lett，2008，266(2)：163－170.

[9] Pierro E，Minici F，Alesiani O，*et al*. *In vitro* regulation of beta1 and beta3 integrin subunits in endometrial epithelial cells from normal endometrium[J]. Am J Reprod Immunol，2003，49(6)：373－376.

[10] Takkunen M，Ainola M，Vainionpaa N，*et al*. Epithelial-mesenchymal transition downregulates laminin alpha5 chain and upregulates laminin alpha4 chain in oral squamous carcinoma cells[J]. Histochem Cell Biol，2008，130(3)：509－525.

[11] Bany B M，Harvey M B，Schultz G A. Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in the mouse uterus during implantation and oil-induced decidualization[J]. J Reprod Fertil，2000，120(1)：125－134.

[12] Jee B K，Park K M，Surendran S，*et al*. KAI1/CD82 suppresses tumor invasion by MMP9 inactivation *via* TIMP1 up-regulation in the H1299 human lung carcinoma cell line[J]. Biochem Biophys Res Commun，2006，342(2)：655－661.

（编辑 张 维）