论著

文章编号:1000-5404(2011)14-1492-05

CD147对体外破骨细胞分化过程中基质金属蛋白酶-2、基质金属蛋白酶-9分泌的影响

余世明,初同伟,廖通权,胡 旭,刘玉刚,周 跃 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院骨科)

[摘要] **目的** 建立体外破骨细胞(osteoclasts,OCs)诱导分化模型,研究CD147对体外破骨细胞分化过程中基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinases 2,MMP-2)和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinases 9, MMP-9)合成与分泌的影响。**方法** 采用健康成人外周血分离单个核细胞贴壁培养,应用巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony stimulating factor,M-CSF)与NF-κB受体活化因子配体(receptor or activator of NF-κB ligand,RANKL)诱导单个核细胞向Ocs分化。实验分为对照组(RANKL + M-CSF)与蛋白诱导组(RANKL + M-CSF + CD147蛋白)。应用抗酒石酸酸性磷酸酶染色(tartrate-resistant acid phosphatase,TRAP)及骨吸收实验检测鉴定OCs的分化成熟,Real-time PCR技术检测CD147、MMP-2和MMP-9 mRNA在破骨前体细胞(osteoclast precursor cells,OPCs)中表达变化,酶联免疫吸附实验(ELISA)检测细胞上清液中MMP-2、MMP-9的表达。**结果** ①TRAP染色和骨吸收实验检测到破骨样细胞形成并具有骨吸收功能,建立体外Ocs诱导分化模型成功。②在24、48 h蛋白诱导组CD147 mRNA [(1.344 ± 0.207)、(1.816 ± 0.222)]、MMP-2 mRNA [(1.187 ± 0.077)、(1.437 ± 0.231)]及MMP-9 mRNA [(1.128 ± 0.107)、(2.353 ± 0.679)]的相对表达量均高于相应的对照组($P < 0.05$),且MMP-2、MMP-9 mRNA的相对表达量与CD147 mRNA的表达量呈正相关(r分别为0.818、0.758,$P < 0.01$)。③24、48 h蛋白诱导组MMP-2蛋白[(386.71 ± 40.66)、(367.35 ± 20.72) μg/L]、MMP-9蛋白[(1 177.78 ± 66.42)、(1 514.37 ± 68.56) μg/L]表达均高于相应对照组($P < 0.05$),蛋白诱导组MMP-2蛋白的表达在24 h与48 h间无统计学差异($t = 1.190$,$P > 0.05$),而MMP-9蛋白的表达在48 h显著高于24 h($t = 7.589$,$P < 0.05$)。**结论** 外源性CD147蛋白可以促进OCs分化成熟过程中MMP-2及MMP-9的合成与分泌,但MMP-2分泌的增加不呈时间依赖性。

[关键词] CD147;破骨细胞;MMP-2;MMP-9
[中图法分类号] R336;R329.28;R392.3 [文献标志码] A

Effect of exogenous CD147 protein on synthesis and secretion of matrix metalloproteinases-2 and 9 during differentiation and maturation of osteoclasts *in vitro*

Yu Shiming, Chu Tongwei, Liao Tongquan, Hu Xu, Liu Yugang, Zhou Yue (Department of Orthopedics, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[**Abstract**] **Objective** To establish a model of differentiation and maturation of osteoclasts (OCs) *in vitro*, and to study the effect of CD147 on the synthesis and secretion of matrix metalloproteinases-2 and 9 (MMP-2 and MMP-9) during the differentiation and maturation of OCs *in vitro*. **Method** Human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were obtained from healthy adults by attachment culture. Macrophage colony stimulating factor (M-CSF) and receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand (RANKL) were used to induce the differentiation of PBMCs into OCs. PBMCs were divided into a control group (RANKL + M-CSF) and a protein induction group (RANKL + M-CSF + CD147). The differentiation and maturation of OCs were identified by tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) staining and bone resorption test. The mRNA expression levels of CD147, MMP-2 and MMP-9 in osteoclast precursor cells (OPCs) were detected by real-time PCR. The protein expression levels of MMP-2 and MMP-9 in the cell supernatant were detected by ELISA. **Results** OC-like cells were detected and showed a bone resorption function in TRAP staining and bone resorption test. The mRNA expression levels of CD147 (1.344 ± 0.207 and 1.816 ± 0.222), MMP-2 (1.187 ± 0.077 and 1.437 ± 0.231) and MMP-9 (1.128 ± 0.107 and 2.353 ± 0.679) in the protein induction group at 24 h and

[通信作者] 初同伟,电话:(023)68774080,E-mail:chtw@sina.com

48 h were higher than those in the control group ($P<0.05$), and the mRNA expression levels of MMP-2 and MMP-9 were positively correlated with those of CD147 ($r=0.818$, $P<0.01$; $r=0.758$, $P<0.01$) The protein expression levels of MMP-2 (386.71 ±40.66 μg/L and 367.35 ±20.72 μg/L) and MMP-9 (1 177.78 ± 66.42 μg/L and 1 514.37 ±68.56 μg/L) in the protein induction group at 24 h and 48 h were higher than those in the control group ($P<0.05$). The protein expression levels of MMP-2 in the protein induction group showed no significant difference at 24 h and 48 h ($t=1.19$, $P>0.0.05$), but the protein expression levels of MMP-9 at 48 h were higher than that at 24 h ($t=7.589$, $P<0.05$). **Conclusion** Exogenous CD147 protein can promote the synthesis and secretion of MMP-9 and MMP-2 during the differentiation and maturation of OCs. However, the secretion increase of MMP-2 is not time-dependent.

[**Key words**] CD147; osteoclasts; MMP-2; MMP-9

Corresponding author: Chu Tongwei, Tel:86-23-68774080, E-mail:chtw@sina.com

骨骼是恶性肿瘤晚期转移的最常见部位。肿瘤骨转移后所形成的微环境常常导致宿主自身破骨细胞(osteoclasts, OCs)异常活化从而引起溶骨性骨破坏,给患者造成诸如脊髓压迫、病理性骨折、顽固性骨痛等并发症,严重威胁患者健康及生活质量[1]。CD147作为免疫蛋白超家族成员,发现表达于胶质瘤、乳腺癌等多种侵袭性肿瘤的外周[2-4],并作为基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)的上游调节因子而发挥作用。研究发现MMPs能够降解肿瘤基底膜、组织间隙基质及为肿瘤转移准备所需的微环境,在肿瘤侵袭转移中发挥了重要作用[5]。在风湿性关节炎与牙周炎的研究中发现CD147能够参与单核-巨噬细胞的活化调节,并介导MMPs和炎性因子的分泌,参与骨组织的降解与破坏[6-7]。本实验组前期研究发现CD147在破骨前体细胞(osteoclast precursor cells, OPCs)上表达并参与OCs的分化成熟,抑制CD147表达时,OCs分化成熟出现障碍[8]。由此我们推测CD147可能参与OCs的活性调节,并介导MMPs的分泌。本实验通过应用人重组CD147蛋白作用于体外OCs,观察CD147对体外OCs分化成熟过程中基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinases-2, MMP-2)和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinases-9, MMP-9)合成和分泌的影响,了解其对OCs活化的调节作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

外周血采自12名健康志愿者,其中男女各6名,年龄18~30岁,平均25岁,共采得外周血13 ml,10 ml用于体外分离单个核细胞,3 ml用于血常规检查,白细胞计数均在正常范围。人重组NF-κB受体活化因子配体(receptor or activator of NF-κB ligand, RANKL)蛋白(Biovision)、人重组巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony stimulating factor, M-CSF)蛋白(Peprotech)、人重组CD147蛋白(recombinant human EMMPRIN Fc Chimera, R&D)、D-Hanks液(HyClone)、α-最低必须培养基(α-MEM, HyClone)、胎牛血清(FBS, Gibco)、人淋巴细胞分离液(中国医学科学院生物工程所)、青链霉素双抗(碧云天产品)、EDTA/胰蛋白酶及抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP)染色试剂盒(Sigma)、人MMP-2及MMP-9酶联免疫检测试剂盒(上海迪奥生物制品)、RNAout试剂盒(天净沙制品)。

1.2 方法

1.2.1 骨磨片的制备及处理 将新鲜牛股骨切成厚200 μm的薄片,采用不同型号的砂纸打磨至50 μm,并剪成4 mm×4 mm的正方形,超声波清洗5 min×3次后,置于4 ℃冰箱中备有;使用前浸泡于75%的酒精过夜,取出骨片α-MEM培养基充分清洗后,紫外灯下照射正反面各2 h后预置于96孔板中。

1.2.2 外周血单个核细胞的分离与纯化 即时抽取健康人新鲜外周血13 ml严格按照人淋巴细胞分离液说明书操作,分离出的单个核细胞中加入含10%胎牛血清的α-MEM培养基中充分吹打混匀后细胞计数,接种5×10^6个单核细胞与100 ml细胞培养瓶中,置于37 ℃,5% CO_2培养箱孵育48 h[9]。弃上清,α-MEM培养基反复冲洗,去除未贴壁细胞,0.25% 胰蛋白酶/0.02% EDTA消化培养瓶中贴壁细胞,收集消化后的贴壁细胞,1 500 r/min离心10 min,α-MEM培养基分管重复洗涤细胞1~2次,即得所需外周血单个核细胞。

1.2.3 实验分组及体外OCs诱导分化模型建立[9] 本实验分为对照组(10% FBS + α-MEM + 青链霉素100 U/ml + 25 ng/ml M-CSF + 30 ng/ml RANKL)及蛋白诱导组(10% FBS + α-MEM培养基 + 青链霉素100 U/ml + 25 ng/ml M-CSF + 30 ng/ml RANKL + 0.5 μg/ml CD147蛋白),将洗涤后收集到单个核细胞按照分组的情况用含10% FBS及青链霉素各100 U/ml的α-MEM培养基将细胞计数调整到10^7/ml,按实验要求将不同体积细胞悬液均匀接种于96孔预置骨片培养板中,并培养在37 ℃,5% CO_2的恒温细胞培养箱中隔天换液。

1.2.4 TRAP染色及骨吸收陷凹染色鉴定 50 μl的细胞悬液接种于96孔预置骨片培养板中培养,调整体系为100 μl培养15 d,隔2天换液1次。15 d后作TRAP染色观察OCs分化情况,TRAP染色按照Sigma公司TRAP染色试剂盒说明书操作,染色后应用苏木精复染胞核,倒置相差显微镜观察TRAP染色阳性细胞(细胞核≥3个)的形态并摄片。对预置的骨磨片进行2.5%戊二醛固定及1%甲苯胺蓝染色,倒置相差显微镜下观察骨磨片骨吸收陷凹的形态并摄片。

1.2.5 Real-time PCR检测CD147、MMP-2和MMP-9 mRNA的表达情况 1 ml细胞悬液接种于6孔板中,调整体系为2 ml,分别培养24 h与48 h,贴壁细胞用PBS漂洗2遍后,提取细胞RNA按照RNAout试剂盒说明书操作,取2 μl提取的RNA样品在微量核酸分析仪上测定RNA浓度,选取$D(260)/D(280)$比值为1.8~2.0的RNA样品进行逆转录,逆转录按照PrimeScript Rtreagent Kit(TaKaRa)说明书进行。引物采用Primer Premier 5.0软件设计,并由上海生工生物技术有限公司合成,CD147引物序列:上游引物5′-AAGACCTTGGCTCCAAGATAC-3′,下游引物5′-CTTGAACTCCGTTTTCTGGCC-3′,片段长度134 bp;β-actin引物序列:上游引物5′-CGGGAAATCGTGCGTGAC-3′,下游引物5′-GAAGGAAGGCTGGAAGAGTG-3′,片段长度180 bp;MMP-9引物序列:上游引物5′-CTGGCACCACCACAACATCAC-3′,下游引物5′-TACACGCGAGTGAAGGTGAGC-3′,片段长度135 bp;MMP-2引物序列:上游引物5′-CTACGATGATGACCGCAAGTGG-3′,下游引物5′-GACGGAAGTTCTTGGTGTAGGTGT-3′,片段长度158 bp;按照60 μl的PCR反应体系,体系中包括2.5×RealMasterMix+20×CYBR solution(Tiangen公司)27 μl;超纯水28.2 μl;cDNA模板2.4 μl;上游引物1.2 μl;下游引物1.2 μl。每个反应孔20 μl体系,每个目的基因均设立3个复孔,每组均设立阴性对照,对照组中只加入引物,不加cDNA模板。反应条件设置:预变性条件设94 ℃ 2 min 1个循环,变性设94 ℃ 20 s,退火设60 ℃ 30 s,延伸设68 ℃ 45 s,共40个循环。反应在ABI 7500 Real-time PCR定量仪(美国)上进行,每个循环的末期均会自动记录荧光强度值。应用ABI 7500 System SDS software1.3.1软件对检测结果进行数据处理,采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法对各检测指标的相对表达量进行计算。

1.2.6 酶联免疫吸附实验(ELISA)检测MMP-2与MMP-9蛋白表达情况 将100 μl的细胞悬液接种于96孔细胞培养板中,调整体系为200 μl,并按照实验组诱导培养要求培养24 h和48 h后提取细胞培养上清液,提取液经1 000 r/min离心10 min去除上清液中颗粒和聚合物,运用ELISA法检测细胞上清中MMP-2及MMP-9蛋白浓度(μg/L),所有检测采用复孔检测,具体操作按MMP-2及MMP-9 ELISA试剂盒说明书严格操作,最终反应板在TECAN F039300酶标仪(奥地利)上测定,并根据标准品MMP-2及MMP-9的抗原系列浓度值为X轴,所对应的$D(450)$光密度值为Y轴,分别建立标准曲线的直线回归方程($y=130.51x-18.78$,$r^2=0.990\ 2$,$y=352.76x-59.408$,$r^2=0.993\ 7$),各个样品的浓度即可有标准曲线获得。

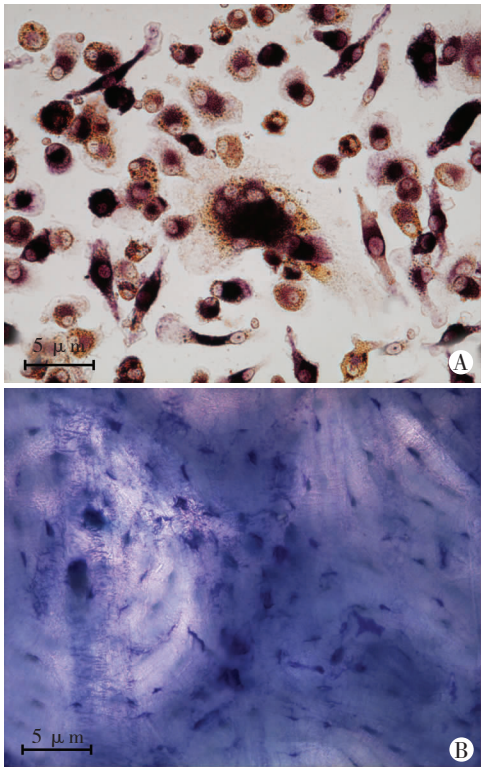
1.3 统计学分析

独立重复实验3次,数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPASS 17.0统计软件,组间比较行t检验及行Pearson相关性分析。

2 结果

2.1 外周血单个核细胞向破骨细胞诱导分化模型的建立及鉴定

外周血单个核细胞在RANKL和M-CSF诱导15 d后,经TRAP染色后可见多个核破骨样细胞胞质内有红色颗粒均匀沉积(图1A);骨磨片采用甲苯胺蓝染色后可见虫蚀状陷窝、陷窝边缘线不规则有放射状“毛刺”、颜色相对较深、陷窝面积较大呈现出破骨细胞样形态(图1B);结果显示获得成熟的TRAP染色阳性细胞,并具有骨吸收能力,说明所培养细胞为破骨样细胞,成功建立外周血单个核细胞向OCs诱导分化模型。



A:破骨样细胞染色鉴定(TRAP);B:骨吸收陷窝染色观察(甲苯胺蓝)

图1 破骨样细胞形态及功能鉴定

2.2 Real-time PCR检测CD147、MMP-2及MMP-9 mRNA的表达及相关性分析

细胞培养24、48 h后,Real-time PCR检测CD147、MMP-2和MMP-9 mRNA的相对表达量(表1):在24、48 h蛋白诱导组CD147、MMP-2和MMP-9 mRNA的相对表达量均显著高于相应的对照组24、48 h($P<0.05$),且经Pearson相关分析,24、48 h MMP-2和MMP-9 mRNA的相对表达量与CD147 mRNA的相对表达量均呈显著正相关关系(r值分别为0.818、0.758,$P<$

0.05)。CD147、MMP-2 和 MMP-9 mRNA 的相对表达量在 CD147 蛋白的作用下均增强,说明外源性 CD147 蛋白可以促进 OPCs 细胞本身 CD147、MMP-2 和 MMP-9 基因的表达。

表1 蛋白诱导组 CD147、MMP-2 与 MMP-9 mRNA 的相对表达量 ($\bar{x} \pm s$)

时相点	CD147	MMP-2	MMP-9
24 h	1.344 ± 0.207[a]	1.187 ± 0.077[a]	1.128 ± 0.107[a]
48 h	1.816 ± 0.222[b]	1.437 ± 0.231[b]	2.353 ± 0.679[b]

对照组 CD147、MMP-2 与 MMP-9 mRNA 的相对表达量在 24、48 h 设为 1
a: $P<0.05$,与对照组 24 h 比较;b: $P<0.05$,与对照组 48 h 比较

2.3 ELISA 检测破骨细胞分化过程中 MMP-2 与 MMP-9 蛋白表达情况

细胞培养 24、48 h 后,运用 ELISA 法检测细胞培养上清中 MMP-2 及 MMP-9 蛋白的表达情况。蛋白诱导组 MMP-2 蛋白浓度在 24、48 h[分别为(386.71 ± 40.66)、(367.35 ± 20.72) μg/L]均显著高于相应对照组 24、48 h[分别为(269.25 ± 17.42)、(276.54 ± 25.52) μg/L,t 值分别为 6.661、4.975,$P<0.05$],而对照组、蛋白诱导组的 MMP-2 蛋白浓度在 24 h 与 48 h 间比较均无统计学差异(t 值分别为 0.459、1.190,$P>0.05$);蛋白诱导组 MMP-9 蛋白浓度在 24、48 h[分别为(1 177.78 ± 66.42)、(1 514.37 ± 68.56) μg/L]均显著高于相应对照组 24、48 h[分别为(1 046.38 ± 57.04)、(1 320.65 ± 137.21) μg/L,t 值分别为 13.919、6.245,$P<0.05$],且对照组、蛋白诱导组48 h MMP-9 蛋白浓度均显著高于 24 h(t 值分别为 4.003、7.589,$P<0.05$),结果显示细胞培养上清中 MMP-9 蛋白在 CD147 蛋白作用下表达增强,且随 OCs 分化成熟时间的增加而表达增强,而 MMP-2 蛋白在 CD147 蛋白作用下表达增强,但其不随 OCs 分化成熟时间的增加而增强,以上说明外源性 CD147 蛋白能够促进 OCs 分化成熟过程中 MMP-2 及 MMP-9 蛋白的表达,但 MMP-2 蛋白的增加却不呈时间依赖性。

3 讨论

MMPs 是一组锌离子依赖性内酞酶,能够破坏基底膜及组织间隙基质的平衡,使肿瘤细胞突破其组织学屏障,获得侵袭转移的先决条件[10]。而 CD147 又名细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(EMMPRIN),其在体内正是通过 MMPs 降解基底膜及组织间隙基质的作用促进肿瘤的浸润与转移的[11]。近年研究中发现 CD147 能够参与单核细胞-巨噬细胞活化的调节,却少见针对 CD147 与来源于单核巨噬细胞谱系的破骨细胞活化作用的研究,而肿瘤骨转移溶骨性骨破坏作为肿瘤侵袭的主要表现,正是由于宿主自身的破骨细胞在肿瘤微环境下异常活化所导致的。因此,本实验组通过体外细胞实验研究 CD147 对破骨细胞的活化作用。在前期结果中我们发现 CD147 在破骨前体细胞膜上能够表达,并且参与 OCs 的分化成熟[8]。为进一步研究其对 OCs 的活化机制,本研究通过 RANKL 和 M-CSF 蛋白诱导外周血单个核细胞向 OCs 分化,并经 TRAP 染色和骨吸收实验检测到破骨样细胞形成并具有骨吸收功能,从而成功建立体外 OCs 诱导分化模型,同时引入外源性 CD147 蛋白检测外周血单个核细胞向 OCs 分化过程中 MMP-2 和 MMP-9 的合成及分泌情况。检测结果显示在 OCs 分化过程中 CD147、MMP-2 及 MMP-9 mRNA 的相对表达量均显著增高,同时 MMP-2 与 MMP-9 mRNA 相对表达量与 CD147 mRNA 的相对表达量成正相关关系。因此,外源性 CD147 蛋白能够促进 OCs 分化过程中 OPCs 细胞本身 CD147、MMP-2 及 MMP-9 基因表达的增加,同时 CD147 基因表达的增加可以调节 MMP-2 及 MMP-9 基因的表达。本研究进一步对细胞培养 24 h 与 48 h 后的上清液进行检测,发现外源性 CD147 蛋白诱导组上清液中 MMP-2 及 MMP-9 蛋白浓度均比对照组显著增高,但我们通过对比 CD147 蛋白作用 24 h 后与 48 h 后的 MMP-2 及 MMP-9 蛋白浓度,发现 MMP-2 蛋白浓度的增强在两时相点间没有明显变化,说明细胞培养上清中 MMP-2 蛋白不随 OCs 分化成熟时间的增加而表达增强,而 MMP-9 蛋白在 CD147 蛋白作用 48 h 的浓度却显著高于作用 24 h 后的浓度,说明 MMP-9 蛋白在 CD147 蛋白作用下不仅分泌增强,且随 OCs 分化成熟时间的增加而分泌增强,呈现时间依赖性。这与相关研究认为 MMP-2 和 MMP-9 与肿瘤浸润转移及骨破坏关系密切,尤其是 MMP-9 在 OCs 内大量表达,被认为是 OCs 分化成熟及骨吸收过程中降解骨基质中有机成分的主要蛋白酶之一的结论相符合[12]。而细胞培养上清中 MMP-2 蛋白的表达却未呈现时间依赖性,可能由于 MMP-2 蛋白未参与 OCs 分化成熟的全过程,其原因还有待进一步研究。

由于 OCs 所介导的骨质吸收是在多个水平受到多种因子调控的生理或病理过程,包括无机成分和有机成分降解 2 个方面,其中有机成分由蛋白水解酶主要是 MMPs 和组织蛋白酶两类所降解,因此对 OCs 与蛋白水解酶活性的调控是对骨破坏过程调控的 2 个重要方面[13]。本研究中我们在正常诱导培养的 OCs 分化模型中检测到 CD147、MMP-2 与 MMP-9 在 mRNA 水平均有表达,且细胞上清液中也能检测到 MMP-2 与

MMP-9蛋白的表达,而当引入外源性CD147蛋白后MMP-2及MMP-9在基因和蛋白水平均表达增高,且CD147基因表达的增高能够调节MMP-2和MMP-9基因的表达,但在上清中MMP-2蛋白的表达没有时间依赖性。因此我们认为外源性CD147蛋白能够促进OCs分化成熟过程中MMP-2及MMP-9的合成与分泌,但MMP-2分泌的增加不呈时间依赖性。说明肿瘤细胞分泌的CD147分子在肿瘤-骨微环境中不仅仅参与肿瘤的浸润转移,其可能介导MMPs的合成与分泌参与OCs的活性调节,造成骨破坏。且CD147本身既是受体也是配体,存在多种活性形式,其不仅表达于细胞膜表面,也有多种可溶性的活性形式作用于远处细胞发挥生物学效应[14]。由此推测CD147可能是以自分泌或旁分泌的方式诱导OCs活化分泌MMPs,从而在促进肿瘤骨转移后骨基质降解与破坏的进程中发挥重要作用。人们对肿瘤细胞CD147诱导MMPs合成相关的信号途径研究发现,应用MAPK/ERK信号途径抑制剂U-0126能够降低MMP-2、MMP-9的表达和活性[15]。Mon等[16]通过对刀豆素A依赖性MMP-2、MMP-9的信号转导机制的研究中发现FAK信号途径在MMPs的分泌中也发挥重要作用。因此CD147可能是通过多种信号途径诱导OCs活化并分泌MMPs,这还有待进一步研究。

综上所述,CD147作为肿瘤浸润转移的关键因子,能够促进来源于单核巨噬细胞系的OCs的活化,其调节作用可能是通过促进OCs中MMP-2、MMP-9的分泌而发挥作用,我们相信对CD147与肿瘤溶骨性破坏中OCs活化MMPs合成及分泌的关系研究,能够初步了解恶性肿瘤骨转移后破骨细胞异常活化造成骨破坏的病因及机制,将有望为我们提供一条有效遏制恶性肿瘤骨转移溶骨性骨破坏进展的新思路。

参考文献:

[1] Coleman R E. Metastatic bone disease: clinical features, pathophysiology and treatment strategies[J]. Cancer Treat Rev, 2001, 27(3): 165-176.

[2] 王祥军, 周士福, 时伟峰, 等. CD147和MMP-9在乳腺浸润性导管癌中的表达及其相关性[J]. 实用癌症杂志, 2009, 24(2): 141-143.

[3] 王晓澍, 游潮, 孙晓川. MCT1、CD147在人胶质瘤中的表达、相关性及其与预后的关系[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(9): 985-988.

[4] 陈旻静, 武海龙. 皮肤鳞状细胞癌组织中CD147、MMP-9及TIMP-2蛋白的表达[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2009, 44(1): 110-112.

[5] Taylor P M, Woodfield R J, Hodgkin M N, *et al*. Breast cancer cell-derived EMMPRIN stimulates fibroblast MMP2 release through a phospholipase A(2) and 5-lipoxygenase catalyzed pathway[J]. Oncogene, 2002, 21(37): 5765-5772.

[6] Jia J, Wang C, Shi Z, *et al*. Inhibitory effect of CD147/HAb18 monoclonal antibody on cartilage erosion and synovitis in the SCID mouse model for rheumatoid arthritis[J]. Rheumatology (Oxford), 2009, 48(7): 721-726.

[7] Liu L, Li C, Cai C, *et al*. Cyclophilin A (CypA) is associated with the inflammatory infiltration and alveolar bone destruction in an experimental periodontitis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 391(1): 1000-1006.

[8] 廖通权, 刘玉刚, 胡旭, 等. CD147对体外破骨细胞分化成熟的影响[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(24): 2623-2626.

[9] 黄红铭, 姜华, 张慧, 等. 外周血单个核细胞诱导培养破骨细胞[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2008, 28(1): 10-13.

[10] Foda H D, Zucker S. Matrix metalloproteinases in cancer invasion, metastasis and angiogenesis[J]. Drug Discov Today, 2001, 6(9): 478-482.

[11] Iacono K T, Brown A L, Greene M I, *et al*. CD147 immunoglobulin superfamily receptor function and role in pathology[J]. Exp Mol Pathol, 2007, 83(3): 283-295.

[12] Itoh T, Matsuda H, Tanioka M, *et al*. The role of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in antibody-induced arthritis[J]. J Immunol, 2002, 169(5): 2643-2647.

[13] Kawatani M, Osada H. Osteoclast-targeting small molecules for the treatment of neoplastic bone metastases[J]. Cancer Sci, 2009, 100(11): 1999-2005.

[14] Belton R J Jr, Chen L, Mesquita F S, *et al*. Basigin-2 is a cell surface receptor for soluble basigin ligand[J]. J Biol Chem, 2008, 283(26): 17805-17814.

[15] Yang J M, Xu Z, Wu H, *et al*. Overexpression of extracellular matrix metalloproteinase inducer in multidrug resistant cancer cells[J]. Mol Cancer Res, 2003, 1(6): 420-427.

[16] Mon N N, Hasegawa H, Thant A A, *et al*. A role for focal adhesion kinase signaling in tumor necrosis factor-alpha-dependent matrix metalloproteinase-9 production in a cholangiocarcinoma cell line, CCKS1[J]. Cancer Res, 2006, 66(13): 6778-6784.

(**收稿**:2011-01-19;**修回**:2011-02-24)

(编辑 王 红)