基础研究 文章编号:0253-3626(2010)11-1619-04

骨形态发生蛋白 9 对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖与凋亡的作用研究

冯红蕾,王 科,孙笑笑,罗进勇,张 彦
(重庆医科大学临床检验诊断学教育部重点实验室,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究骨形态发生蛋白 9(Bone morphogenetic protein 9,BMP9)对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 增殖、周期及凋亡的影响。方法:半定量 RT-PCR 法检测高转移性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和低转移性乳腺癌细胞 MCF-7 中 BMP9 的表达,用人 BMP9 重组腺病毒(AdBMP9)感染 MDA-MB-231 细胞作为实验组,含 GFP 的空载腺病毒(AdGFP)感染 MDA-MB-231 细胞作为对照组,MTT 法观察细胞增殖的变化,流式细胞仪分析周期及凋亡的变化。结果:半定量 RT-PCR 显示,乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中未检测到 BMP9 mRNA 的表达;MTT 结果显示,AdBMP9 处理可引起 MDA-MB-231 细胞增殖抑制,第 5 d MDA-MB-231/BMP9 组的细胞增殖率(0.886 0±0.053 2)显著低于 MDA-MB-231/GFP 组(1.224 0±0.103 1)(P<0.05);流式细胞仪分析结果显示,腺病毒感染后第 2 d 和第 3 d,MDA-MB-231/BMP9 组细胞周期各相发生变化,G_2/M 期细胞明显增加,分别为 MDA-MB-231/GFP 组的 3.2 倍和 2.4 倍(P<0.05);同时 BMP9 可诱发细胞凋亡,腺病毒感染后第 3 d MDA-MB-231/BMP9 组细胞凋亡百分率(31.55%±8.26%)明显高于 MDA-MB-231/GFP 组(3.80%±0.46%)(P<0.05)。结论:提示 BMP9 可通过阻滞细胞周期进程和诱导细胞凋亡来抑制乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的增殖。

【关键词】骨形态发生蛋白 9;乳腺癌;增殖;周期;凋亡
【中国图书分类法分类号】R730.43 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-07-24

The effects of BMP9 expressions on proliferation and apoptosis of human breast cancer cell line MDA-MB-231

FENG Hong-lei, et al
(*the Key Laboratory of Laboratory Medical Diagnostics, Ministry of Education, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effects of bone morphogenetic protein 9 on the proliferation, cell cycle and apoptosis of breast cancer cell line MDA-MB-231. *Methods*: The expression of BMP9 in high-metastatic cell line MDA-MB-231 and low-metastatic cell line MCF-7 were detected by Semi-quantitative PCR respectively, MDA-MB-231 were transfected with AdBMP9 (as experimental groups) and AdGFP (as control groups) respectively, Then the ability of cell proliferation was detected by MTT, cell cycle and apoptosis were detected by flow cytometry. *Results*: The BMP9 mRNA was not detected in human breast cancer cell line MDA-MB-231. After transfection with AdBMP9, the MDA-MB-231 cells showed an inhibited proliferation, On the fifth day, the growth rate of experimental groups (0.886 0±0.053 2)was significantly lower than that of control groups (1.224 0±0.103 1)(P<0.05); The results of flow cytometry showed that, BMP9 could induce the cell cycle arrest in MDA-MB-231, On the second day and third day after transfection, the cell number of G_2/M phase increased significantly, which were 3.2 fold and 2.4 fold that of control groups respectively; It's also found that after 72h treatment, the apoptosis rate of experimental groups(31.55%±8.26%) was significantly higher than that of control group (3.80%±0.46%)(P<0.05). *Conclusion*: These data demonstrated that BMP9 could inhibit the proliferation of MDA-MB-231 by blocking cell cycle and inducing apoptosis.

【Key words】BMP9; Breast cancer; Proliferation; Cell cycle; Apoptosis

骨形态发生蛋白(Bone morphogenetic proteins,BMPs)是一组可诱导骨形成的生长因子,对骨骼的发育及修复起重要作用[1],它参与调节多种生物学行为,包括细胞的生长,分化,转移等[2]。BMP9 目前被认为是 BMPs 家族成骨作用最强的因子,主要作用包括诱导骨形成和血管发生,调节糖脂代谢、铁稳态和胆碱能神经元的分化等[3,4],有研究报道 BMP9 可抑制

作者介绍:冯红蕾(1984-),女,硕士,
研究方向:肿瘤骨转移分子机制。
通讯作者:张 彦,女,副教授,E-mail:zy2753@hotmail.com。
基金项目:国家自然科学基金(编号:30800658)。

前列腺癌细胞的生长和转移[5],促进卵巢癌细胞增殖[6],而关于 BMP9 对其他肿瘤的作用及机制目前研究甚少。乳腺癌是一类恶性程度高、容易转移和复发、临床治疗较为困难的肿瘤,关于 BMP9 在乳腺癌中的作用,目前尚无报导。因此,本实验以高转移乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 细胞作为研究对象,探讨 BMP9 在乳腺癌中的作用,为进一步探讨 BMP9 在肿瘤中的作用机制,寻找新的乳腺癌治疗靶点或抑制因子奠定基础。

1 材料与方法

1.1 细胞株及主要试剂

乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 购自上海中科院细胞库,AdGFP 和 AdBMP9 由美国芝加哥大学分子肿瘤实验室何通川教授惠赠,L15 培养液、Trizol 购自美国 Invitrogen 公司,胎牛血清购自美国 GIBCO 公司,MTT 试剂为 Solarbio 公司产品,Annexin V-PE/7-AAD 细胞凋亡检测试剂盒购自南京 KeyGEN 生物公司,BMP9 引物和 β-actin 引物由大连宝生物技术公司合成。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 MDA-MB-231 细胞用含 10%胎牛血清、100 U/ml 青霉素和 100 μg/ml 硫酸链霉素的 L15 培养基在 37℃常规培养,待其贴壁生长至 70%~80%融合率时,用 0.25%的胰酶进行消化,传代。

MCF-7 细胞用含 10%胎牛血清、100 U/ml 青霉素和 100 μg/ml 硫酸链霉素的 DMEM 高糖培养基在 37℃,5%CO_2 条件下常规培养,待其贴壁生长至 70%~80%融合率时,用 0.25%的胰酶进行消化,传代。

1.2.2 半定量逆转录聚合酶链反应(RT-PCR) Trizol 法提取 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞总 RNA,取 2 μg 逆转录合成 cDNA,以 1 μl cDNA 为模板进行 PCR 反应。BMP9 上游引物 5'-CTGCCCTTCTTTGTTGTCTT-3',下游引物 5'-CCTTACACTCGTAGGCTTCATA-3',产物长度 322 bp。内参 β-actin 上游引物 5'-CACCACACCTTCTACAATGAGC-3',下游引物 5'-GTGATCTCCTTCTGCATCCTGT-3',产物长度 695 bp。PCR 条件:预变性 94℃ 5 min,变性 94℃ 30 s,退火 52℃ 30 s,延伸 72℃ 30 s,34 个循环,最后延伸 72℃ 10 min。

1.2.3 MTT 检测 取对数生长期 MDA-MB-231 细胞,以(1~3)×10^4 个/ml 的密度(保证细胞 5 d 生长状态良好)接种于 24 孔板中,每孔 500 μl,设空白对照组(MDA-MB-231 组),空载腺病毒 AdGFP 感染组(MDA-MB-231/GFP 组),重组腺病毒 AdBMP9 感染组(MDA-MB-231/BMP9 组)3 个组,每组设 5 个平行孔,在 37℃常规培养;待细胞贴壁后,加腺病毒感染,感染后 8~12 h 换液,换成 1% 血清浓度的 L15 培养基继续培养;分别在换液后 1~5 d 定时进行 MTT 检测,检测前每孔更换为 500 μl 无血清的 RPMI1640 培养液并加入 50 μl MTT 溶液(5 mg/ml),继续培养 4 h;终止培养,弃孔内培养基,每孔加入 450 μl DMSO,摇床上低速振荡 10 min,使结晶物充分溶解,吸取 100 μl 溶解物至 96 孔板中,用酶标仪在 OD_{492nm} 处检测各孔吸光度值。

1.2.4 流式细胞术分析细胞周期 MDA-MB-231 细胞接种于 50 cm^2 细胞培养瓶,细胞密度控制在 10%~20%(保证细胞 3 d 生长状态良好),设空白对照组(MDA-MB-231 组),空载腺病毒 AdGFP 感染组(MDA-MB-231/GFP 组),重组腺病毒 AdBMP9 感染组(MDA-MB-231/BMP9 组)3 个组,37℃常规培养;细胞贴壁后,加腺病毒感染,感染后 8~12 h 换液,换成 1%血清 L15 培养基,分别在 24、48、72 h 消化收集细胞,用预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次,最后用 70% 冰乙醇固定,4℃冰箱保存。送重庆医科大学儿童医院儿研所检测。

1.2.5 流式细胞术分析细胞凋亡 MDA-MB-231 细胞接种于 50 cm^2 细胞培养瓶,细胞密度控制在 10%~20%(保证细胞 3 d 生长状态良好),设空白对照组(MDA-MB-231 组),空载腺病毒 AdGFP 感染组(MDA-MB-231/GFP 组),重组腺病毒 AdBMP9 感染组(MDA-MB-231/BMP9 组)3 个组,37℃培养;细胞贴壁后,加腺病毒感染,感染后 8~12 h 换液,换成 1%血清 L15 培养基,分别在 24、48、72 h 收集细胞,收集细胞用胰酶(不含 EDTA)消化,预冷的 PBS 洗涤细胞两次后重悬,冰上运送到儿童医院儿研所检测。

1.3 统计学方法

采用 SPSS16.0 统计软件进行统计学分析,所测数据均以($\bar{x} \pm s$)表示,两组之间比较采用 Student's t 检验,$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 BMP9 在乳腺癌细胞 MDA-MB-231,MCF-7 中的表达情况

BMP9 mRNA 在乳腺癌高转移细胞 MDA-MB-231 中无表达,在乳腺癌低转移细胞 MCF-7 中有较高表达(图 2)。

2.2 BMP9 抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖

MTT 检测结果显示(图 3),腺病毒处理后的前 3 d,3 个组细胞增殖率无显著差异;第 4 d,MDA-MB-231/BMP9 组(0.714 2±0.132 4)较 MDA-MB-231/GFP 组(0.948 0±0.016 4)细胞增殖率明显降低($P<0.05$),而 MDA-MB-231 组(1.038 0±0.052 2)与 MDA-MB-231/GFP 组(0.948 0±0.016 4)无显著差异;第 5 d,MDA-MB-231/BMP9 组(0.886 0±0.053 2)的细胞增殖率显著低于 MDA-MB-231/GFP 组(1.224 0±0.103 1)($P<0.05$),而 MDA-MB-231 组(1.390 0±0.041 8)和MDA-MB-231/GFP 组(1.224 0±0.103 1)细胞增殖情况无显著差异,说明高表达 BMP9 可抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖。

2.3 BMP9 使 MDA-MB-231 细胞阻滞在 G_2/M 期

流式细胞仪周期分析显示(图 4),腺病毒感染后第 1 d,3 个组细胞周期分布无显著差异,第 2 d 和第 3 d,MDA-MB-231 组和 MDA-MB-231/GFP 组周期分布无显著差异,而

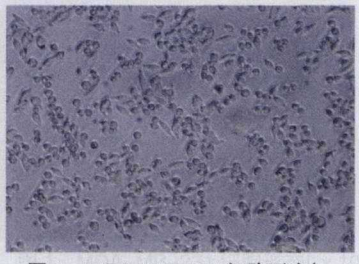


图 1 MDA-MB-231 细胞形态（×100）

MDA-MB-231/BMP9 组的 G_2/M 期细胞百分比明显增加（分别为 MDA-MB-231/GFP 组的 3.2 倍和 2.4 倍），G_0/G_1 期细胞相对减少，说明高表达 BMP9 可使 MDA-MB-231 细胞阻滞在 G_2/M 期。

2.4 BMP9 诱导 MDA-MB-231 细胞发生凋亡

流式周期分析结果显示（图 5），在腺病毒感染后第 3 d，MDA-MB-231/BMP9 组出现了凋亡峰，而 MDA-MB-231 组和 MDA-MB-231/GFP 组无凋亡峰出现，说明高表达 BMP9 可引起 MDA-MB-231 细胞凋亡。

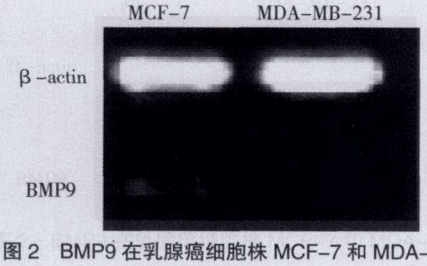
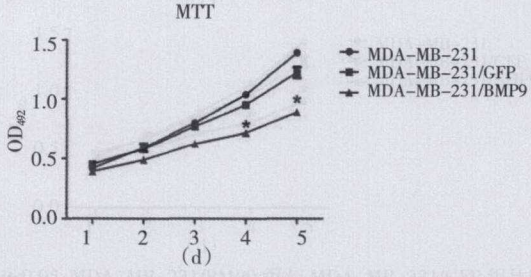


图 2 BMP9 在乳腺癌细胞株 MCF-7 和 MDA-MB-231 中的表达情况

Annexin V/7-AAD 双染结果显示（图 6），腺病毒感染后第 3 d，与 MDA-MB-231 组（2.30%±0.49%、MDA-MB-231/GFP 组（3.80%±0.46%）相比，MDA-MB-231/BMP9 组（31.55%±8.26%）凋亡细胞的百分比明显增加，而 3 个组死亡细胞百分比无明显差异，说明高表达 BMP9 可诱导乳腺癌 MDA-MB-231 细胞发生凋亡。

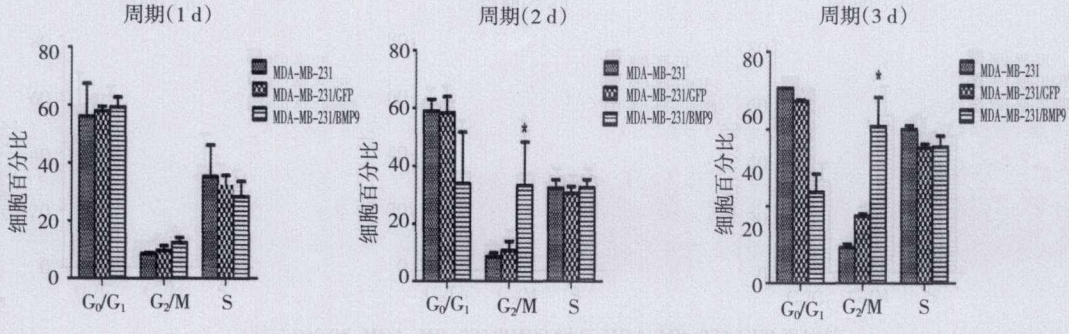
3 讨 论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一，全世界发病率高达 10%~15%，并以 0.2%~8.0%的幅度逐年上升。乳腺癌恶性程度较高，易于转移，严重威胁患者生命。目前，早期乳腺癌的治疗以外科手术为主，但术后复发率高，对于转移、复发的晚期乳腺癌主要采取化学药物治疗，但化疗药物可对人体产生较大的毒副作用，如骨髓抑制、脱发等。因此，探寻疗效确切且高效、低毒的抗肿瘤药物成为当前乳腺癌治疗学研究



注 *P<0.05 MDA-MB-231/BMP9 组与 MDA-MB-231/GFP 组比较

图 3 高表达 BMP9 对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响



注 *P<0.05 MDA-MB-231/BMP9 组与 MDA-MB-231/GFP 组比较

图 4 高表达 BMP9 对 MDA-MB-231 细胞周期的影响

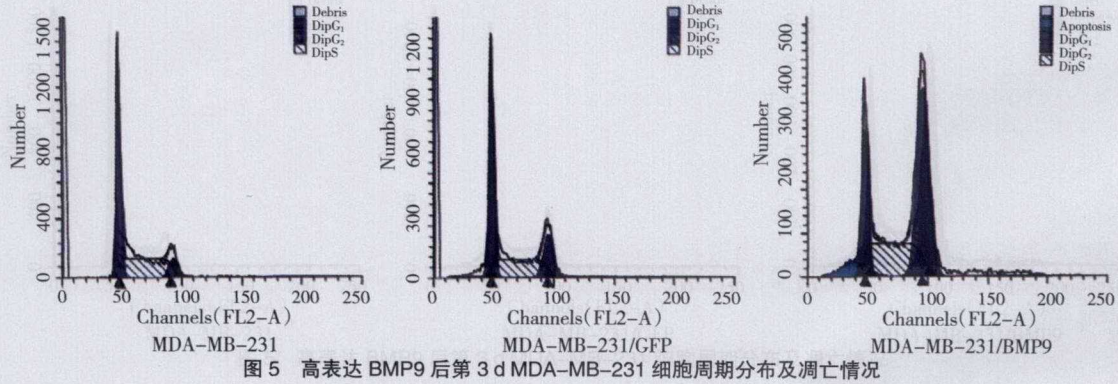
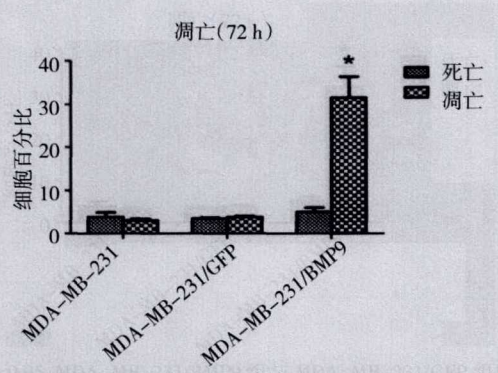


图 5 高表达 BMP9 后第 3 d MDA-MB-231 细胞周期分布及凋亡情况



注*P<0.05 MDA-MB-231/BMP9 组与 MDA-MB-231/GFP 组比较

图 6 高表达 BMP9 对 MDA-MB-231 细胞凋亡的影响

的热点之一。

BMPs 除 BMP1 以外均属于转化生长因子-β(Transforming growth factor β,TGF-β)超家族的成员,至今已分离和鉴定出 20 余种 BMPs,BMPs 最初是作为诱导骨与软骨形成的因子为人们所认识的,后经研究发现,BMPs 在胚胎发育、组织稳态、肌腱修复、神经系统发育和修复、造血组织发育中均起重要调节作用,另外,BMPs 参与调节细胞的多种生物学行为,包括增殖,分化,凋亡,粘附和侵袭等,其中 BMPs 对肿瘤细胞的生长具有双向调节作用,很大程度取决于肿瘤细胞的类型,肿瘤的发展阶段,肿瘤细胞所处的微环境等,例如 BMP2 在胰腺癌和前列腺癌中可通过抑制 TNF-α 诱导的细胞凋亡来间接促进肿瘤的生长[7,8],而在骨髓瘤和骨肉瘤中,BMP2 可使细胞周期阻滞在 G_1 期,并且可诱导肿瘤细胞分化,从而抑制肿瘤的发展[9]。其他 BMPs 家族成员也都与肿瘤的发生发展有密切的关系,如 BMP7 可抑制乳腺癌和前列腺癌生长和转移,被认为是一个潜在的肿瘤抑制因子[10-12],BMP6 可通过上调 P21,P18,P19 等细胞周期素依赖性激酶抑制剂来抑制前列腺癌细胞 DU-145 的生长[13],BMP4 的过表达可促进恶性黑色素细胞瘤和前列腺癌的转移[14]。

BMP9 目前被认为是 BMPs 家族成骨作用最强的因子,主要参与调节糖脂代谢、铁稳态和胆碱能神经元的分化等,关于 BMP9 与肿瘤的关系,有研究报道 BMP9 过表达可抑制前列腺癌 PC-3 细胞的增殖、粘附、迁移和侵袭[5],可以通过经典 BMP/SMAD 通路上调分化抑制因子 ID1 的表达促进卵巢癌细胞增殖[6],能够通过人活化素受体样激酶 1(ALK1)抑制脐静脉内皮细胞增殖,侵袭和迁移[15]。而关于 BMP9 与乳腺癌的关系目前尚无明确报道,我们研究发现,在乳腺癌 MCF-7(ER^+)中 BMP9 有表达,而在 MDA-MB-231(ER^-)中 BMP9 无表达,BMP9 在恶性程度不同的乳腺癌细胞中表达情况不一致,提示 BMP9 可能与乳腺癌的发生发展相关。

本实验采用重组腺病毒 AdBMP9 体外感染乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的方法探讨 BMP9 对乳腺癌细胞的作用,细胞增殖实验结果表明,腺病毒处理后第 4 d 开始 MDA-MB-231/BMP9 组细胞生长率较 MDA-MB-231/GFP 组明显减慢;细胞周期分析结果表明,BMP9 可引起 MDA-MB-231 细胞周期阻滞在 G_2/M 期,腺病毒处理后第 2 d 和第 3 d MDA-MB-231/BMP9 组 G_2/M 期细胞百分比较 MDA-MB-231/GFP 组分别增加了 3.2 倍和 2.4 倍;Annexin V/7-AAD 双染结果显示,MDA-MB-231/BMP9 组细胞凋亡率明显高于 MDA-MB-231/GFP 组,而细胞死亡率无显著差别,说明 BMP9 可诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡,而对该细胞死亡无影响。以上结果表明 BMP9 可通过引起细胞周期阻滞和诱导细胞凋亡来抑制 MDA-MB-231 细胞的生长,因此,BMP9 可能是一个潜在的乳腺癌抑制因子,外源性 BMP9 的应用可能会成为临床乳腺癌综合治疗的重要辅助手段。但是目前仅仅是体外的一些研究,尚有更多的工作需要进一步证实。

以往的研究表明,BMPs 主要是通过依赖 Smad 的经典信号通路来发挥生物学功能,但是最近越来越多的研究发现,BMPs 也可通过不依赖 Smad 的非经典信号通路(如 MAPKs、PI3K 等)发挥作用,因此关于 BMP9 在乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中具体的信号转导机制还有待于进一步的研究。

参 考 文 献

[1] Kang Q, Sun M H, Cheng H, et al. Characterization of the distinct orthotopic bone-forming activity of 14 BMPs using recombinant adenovirus-mediated gene delivery [J]. Gene Ther, 2004, 11(17): 1312-1320.

[2] Tylzanowski P, Verschueren K, Huylebroeck D, et al. Smad-interacting protein is a repressor of liver/bone/kidney alkaline phosphatase transcription in bone morphogenetic protein-induced osteogenic differentiation of C2C12 cells[J]. J Biol Chem, 2001, 276(43): 40001-40007.

[3] Upton P, Rachel J D, Richard C T, et al. Bone morphogenetic protein (BMP) and activin type Ⅱ receptors balance BMP9 signals mediated by activin receptor-like kinase-1 in human pulmonary artery endothelial cells[J]. J Biol Chem, 2009, 284(23): 15794-15804.

[4] Marion S, Maarten V D, Liu Z, et al. BMP-9 signals via ALK1 and inhibits bFGF-induced endothelial cell proliferation and VEGF-stimulated Angiogenesis[J]. J Cell Sci, 2007, 120: 964-972.

[5] Lin Y, Howard K and Wen G J. Bone Morphogenetic protein-9 induces apoptosis in prostate cancer cells, the role of prostate apoptosis response-4[J]. Mol Cancer Res, 2008, 6(10): 1594-1606.

[6] Blanca H, Maarten V D, Peter T D, et al. Autocrine bone morphogenetic protein-9 signals through activin receptor-like kinase-2/Smad1/Smad4 to promote ovarian cancer cell proliferation[J]. Cancer Res, 2009, 69(24): 9254-9362.

[7] Pouliot F, Blais A, and Labrie C. Overexpression of a dominant negative type Ⅱ bone morphogenetic protein receptor inhibits the growth of human breast cancer cells [J]. Cancer Res, 2003, 63(15): 277-281.

[8] Rothhammer T, Poser I, Soncin F, et al. Bone morphogenetic proteins are overexpression in malignant melanoma and prostate cell invasion and migration [J]. Cancer Res, 2005, 65(2): 448-456.

[9] Kawamura C, Kizaki M, Yamato K, et al. Bone morphogenetic proteins-2 induces apotosis in human myeloma cells with modulation of STAT3 [J]. Blood, 2000, 96(6): 2005-2011.

[10] Alarmo E L, Korhonen T. Bone morphogenetic protein 7 expression

基础研究 文章编号:0253-3626(2010)11-1623-04

乌司他丁对 A549 细胞在缺氧条件下 ENaC-α 表达影响的研究

邓 嘉,李长毅,王导新

(重庆医科大学附属第二医院呼吸内科,重庆 400010)

【摘 要】目的:研究乌司他丁对缺氧 A549 细胞 ENaC-α mRNA 和蛋白表达水平的影响。方法:将 A549 细胞分组为缺氧对照组和乌司他丁组,分别在 3%O_2 和 0%O_2 的缺氧条件下,用 1 250、2 500、5 000 U/ml 浓度乌司他丁作用 A549 细胞,用 RT-PCR 半定量 ENaC-α mRNA 表达量,用 Western blot 半定量 ENaC-α 蛋白浓度。结果:在不同缺氧程度下,乌司他丁组的 ENaC-α mRNA 和蛋白表达均高于对照组,呈浓度依赖方式。结论:乌司他丁能够对抗缺氧对 ENaC-α 表达的抑制作用,提示乌司他丁在急性肺损伤(Acute lung injury,ALI)的治疗过程中具有缓解肺水肿、减轻肺损伤的作用。

【关键词】乌司他丁;上皮钠通道;急性肺损伤;缺氧

【中国图书分类法分类号】R563.8 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-06-29

Ulinastatin inhibits the action of Hypoxia on ENaC-α mRNA and protein expression

DENG Jia, et al

(*Department of Respiratory Medicine, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the effect of Ulinastatin on ENaC-α mRNA and protein of human alveolar epithelial A549 cells which are treated with hypoxia. *Methods*: A549 cells were divided into two groups, hypoxia group and ulinastatin group. A549 cells were treated with Ulinastatin at the doses of 1 250, 2 500 U/ml and 5 000 U/ml for 48 h when cotreated with 3% O_2 or 0% O_2. The mRNA and protein levels of ENaC-α were determined by semiquantitative RT-PCR and Western blot. *Results*: Incubation of A549 with 1 250 U/ml, 2 500 U/ml and 5 000 U/ml of Ulinastatin for 48 h could significantly upregulate the expression of ENaC-α in a concentration-dependent manner. *Conclusion*: Ulinastatin could reverse the inhibitory effect of hypoxia on the expression of ENaC-α, which suggests that ulinastatin can promote lung fluid clearance and pulmonary edema reduction.

【Key words】Ulinastatin; Epithelial sodium channel; Acute lung injury; Hypoxia

急性呼吸窘迫综合征(Acute respiratory distress syndrome,ARDS)以肺部炎症、肺毛细血管通透性增加为特征,引起肺弥散功能障碍、肺内分流和死腔样通气,从而导致肺泡缺氧。缺氧导致作为肺泡内钠离子和液体清除主要驱动力的肺泡上皮钠通道(Epithelial sodium channel,ENaC)功能障碍[1],促使肺水肿形成。缺氧和肺水肿互为因果,构成恶性循环。乌司他丁是一种从男性尿中分离纯化的尿胰蛋白酶抑制剂,具有抑制炎性介质释放和清除氧自由基等作用。它在急性肺损伤

作者介绍:邓 嘉(1981-),男,博士,
研究方向:呼吸危重症的基础和临床研究。
通讯作者:王导新,男,教授,E-mail: wangdaoxin1@163.com。

基金项目:国家自然科学基金(编号:30971303)。

associates with bone metastasis in breast carcinomas[J].Annals of Oncology,2008,19(2):308-314.

[11] Pierrick G,Fournier J and Theresa A G. BMP7:A New Bone Metastases Prevention[J]?Am J Pathol,2007,171(3):739-743.

[12] Yang S X,Chen Z,Frenkel,et al. Diverse biological effect and smad signaling of bone morphogenetic protein 7 in prostate tumor cells [J]. Cancer Res, 2005,65(13): 5769-5777.

[13] Dominik R,Haudens C, Sabrina M,et al. Bone morphogenetic protein (BMP)-6 signaling and BMP antagonist noggin in prostate cancer [J]. Cancer Res,2004,64(22):8276-8284.

[14] Tanja R,Ina P,Fabrice S,et al. Bone morphogenic proteins are overexpressed in malignant melanoma and promote cell invasion and migration[J]. Cancer Res,2005,65(2): 448-456.

[15] Laurent D,Christine M,Michelle K,et al. Bone morphogenetic protein-9 is a circulating vascular quiescence factor[J].Circ Res,2008, 102(8):914-922.

(责任编辑:关蕴良)