基础研究 文章编号:0253-3626(2010)07-1021-05

Darbufelone 对胃癌 SGC-7901 细胞侵袭转移能力的影响

石建华,刘纯伦,罗 访,潘 敏,徐晓萌
(重庆医科大学附属第一医院消化内科,重庆 400016)

【摘 要】目的:观察环氧合酶-2/5-脂氧合酶(COX-2/5-LOX)双重抑制剂 Darbufelone 对人胃癌 SGC-7901 细胞异质粘附、侵袭、迁移、血管形成能力的影响,并初步探讨其可能机制。方法:用 Darbufelone 处理 SGC-7901 细胞,MTT 法检测其粘附能力的变化;Transwell Chamber 膜侵袭系统观察其侵袭和迁移能力的改变;观察 SGC-7901 细胞条件培养基诱导内皮细胞形成血管管腔能力;RT-PCR 和免疫细胞化学分析 SGC-7901 细胞中骨桥蛋白(Osteopontin,OPN)和基质金属蛋白酶-2(Matrix metalloproteinases-2,MMP-2)的 mRNA 与蛋白表达变化。结果:经 1.5×10^{-5} mol/L 的 Darbufelone 处理后,SGC-7901 细胞粘贴率明显降低($P<0.05$),游走穿膜细胞数(93.00±6.56)、侵袭穿膜细胞数(50.00±3.67)均显著低于对照组(143.00±9.82,82.00±7.14,$P<0.01$);诱导内皮细胞形成血管管腔数(82.70±4.58)与管腔长度[(172.20±6.41)μm]均较对照组[142.00±5.86,(214.60±9.44)μm]显著减少($P<0.01$);OPN 和 MMP-2 的 mRNA 表达(0.34±0.03、0.33±0.04)与蛋白表达(0.18±0.01、0.26±0.02)分别较对照组的 mRNA 表达(0.54±0.01、0.57±0.09)和蛋白表达(0.26±0.03、0.33±0.03)明显降低($P<0.05$)。结论:COX-2/5-LOX 双重抑制剂 Darbufelone 能有效抑制 SGC-7901 细胞的侵袭转移,其作用机制可能与抑制 OPN 和 MMP-2 的表达有关。

【关键词】SGC-7901 细胞;环氧合酶-2;5-脂氧合酶;侵袭;转移
【中国图书分类法分类号】R735.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-06-25

Inhibition of gastric cancer cells invasion and metastasis by Darbufelone in vitro

SHI Jian-hua, et al
(*Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the effects of Darbufelone on the invasion and metastasis of human gastric cancer cells SGC-7901 in vitro. *Methods*: The adhesion ability was determined by MTT. Invasion and metastasis was observed in Transwell Chamber membrane invasion culture system. The capability of SGC-7901 cell condition medium in inducing endothelial cell to form blood vessel in 24 well plate was detected.RT-PCR and cell-immunohistochemistry were used to observe the expressions of OPN and MMP-2. *Results*: In the membrane invasion culture system, the numbers of invading and migrating SGC-7901 cells were significantly lower in Darbufelone

作者介绍:石建华(1982-),女,硕士,研究方向:消化道肿瘤。
通讯作者:刘纯伦,男,副教授,E-mail:lcl728@medmail.com.cn。
基金项目:重庆市卫生局课题(编号:05-2-155)。

异常增生,6 周时呈中度异常增生,8 周时呈重度异常增生,部分出现原位癌的表现,10 周时上皮已发生癌变,且基底膜欠完整,癌细胞侵入黏膜下组织,12 周时表现为浸润接近肌层的高分化鳞状细胞癌。该研究从肉眼下组织学改变和光镜下显微组织学改变两方面对金黄地鼠颊囊黏膜癌变过程多阶段、多步骤的连续动态观察分析,为临床医师在临床上对 OSCC 的早期诊断提供指导,为阐明口腔黏膜癌变的发病机制和治疗提供有效的方法和思路,同时也为进一步从基因组学和蛋白质组学进行多阶段、多步骤的深入研究提供时间分期基础。

参 考 文 献

[1] Smith.WHO collaborating centre of oral precancerous lesion[J].Oral Surg, 1978,46(3):518.
[2] Ragin C R,Modugno F,Gollin S M. The epidemiology and risk factors of head and neck cancer:a focus on human papillomavirus[J].J Dent Res,2007,86(2):104-114.
[3] Choi S,Myers J N.Molecular pathogenesis of oral squamous cell carcinoma: implications for therapy[J].J Dent Res,2008,87(1):14-32.
[4] Reshmi S C,Gollin S M. Chromosomal instability in oral cancer cells [J].J ent Res,2005,84(2):107-117.
[5] Ziober B L,Mauk M G,Falls E M,et al. Lab-on-a-chip for oral cancer screening and diagnosis[J].Head Neck,2008,30(1):111-121.
[6] Mauk M G,Ziober B L,Chen Z,et al. Lab-on-a-chip technologies for oral-based cancer screening and diagnostics: capabilities, issues, and prospects[J].Ann N Y Acad Sci,2007,1098(1):467-475.
[7] Gimenez I B,Slaga T J.The hamster cheek pouch carcinogenesis model[J].J Cell Biochem,1993,9(1):83-90.
[8] 高 静,译.癌的生物学基础[M].北京:清华大学出版社,2003.27.
[9] 刘以训,主译.癌生物学[M].第 2 版.北京:科学出版社,2002.8-9.

(责任编辑:关蕴良)

treated groups compared with those in the control groups($P<0.05$). The vessel number and the length of vessel were significantly lower in Darbufelone treated groups compared with those in the control groups($P<0.05$).The adhesion rate, OPN and MMP-2 expression were down regulated in Darbufelone groups($P<0.05$). *Conclusion*: Darbufelone can inhibit the migration and invasion of SGC-7901 cells in vitro, probably via down-regulation of OPN and MMP-2.

【Key words】SGC-7901 cells; COX-2; 5-LOX;Invasion;Metastasis

花生四烯酸(Arachidonic acid,AA)是含二十碳的不饱和脂肪酸,其代谢产物是多种肿瘤的高危因素,环氧合酶-2(COX-2)、5-脂氧合酶(5-LOX)是AA代谢途径的关键酶,研究表明COX-2和5-LOX参与多种肿瘤的发生、发展和转移[1-3],我们的前期研究表明COX-2/5-LOX双重抑制剂对SGC-7901细胞有增殖抑制和诱导凋亡的作用[4],也有研究显示选择性COX-2抑制剂对胰腺癌细胞侵袭力有抑制作用[5],但COX-2/5-LOX双重抑制剂是否对胃癌的侵袭转移有抑制作用以及其作用机制目前尚未见报道。本研究选用COX-2/5-LOX双重抑制剂—Darbufelone,观察其对胃癌SGC-7901细胞侵袭转移的影响,初步探讨其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

人胃癌细胞株SGC-7901、小鼠成纤维细胞株NIH3T3、人脐静脉内皮细胞株ECV304均由重庆市神经病学重点实验室传代培养;Darbufelone购自北京高盟化工有限公司;RPMI1640培养液购自Gibco公司;新生牛血清购自杭州四季清公司;Transwell Chamber购自Costar USA,膜孔径8 μm;细胞外基质(Extracellular matrix,ECM)购自sigma公司。鼠抗人骨桥蛋白(Osteopontin,OPN)和MMP-2单抗、SP试剂盒、DAB显色剂均购自北京中杉生物有限公司;RT-PCR试剂盒购自Takara公司,PCR引物由上海生物工程有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 SGC-7901细胞、NIH3T3细胞、ECV304细胞均用含10%小牛血清的RPMI1640,37℃、5%CO_2常规培养。

1.2.2 药物浓度和作用时间的选取 本课题组前期研究表明Darbufelone呈时间和剂量依赖性抑制SGC-7901细胞增殖生长,24、48、72 h的IC_{50}值分别为6.1×10^{-5} mol/L、5.0×10^{-5} mol/L、3.0×10^{-5} mol/L。故选取72 h及其1/2 IC_{50}(1.5×10^{-5} mol/L)的Darbufelone作为本研究的作用时间和药物浓度。

1.2.3 条件培养基收集

1.2.3.1 SGC-7901细胞上清收集 取对数生长期SGC-7901细胞,配成浓度为2×10^5个/ml的细胞悬液,取细胞悬液5 ml置培养瓶内,处理组加入终浓度为1.5×10^{-5} mol/L的Darbufelone,对照组加入等体积无血清RPMI1640,常规培养,72 h后倾去培养液,换用无血清RPMI1640继续培养,24 h后收集上清,离心(1 500 r/min,10 min),过滤,备用。

1.2.3.2 小鼠成纤维细胞NIH3T3细胞上清收集 取对数生长期NIH3T3细胞,无血清RPMI1640培养24 h后收集上清,离心(1 500 r/min,10 min),过滤,备用。

1.2.4 MTT法检测Darbufelone对SGC-7901细胞异质粘附能力的影响 取对数生长期SGC-7901细胞,处理组加入终浓度为1.5×10^{-5} mol/L的Darbufelone,对照组加入等体积无血清RPMI1640,培养72 h后,取各组细胞进行粘附能力测定:0.1%胰蛋白酶消化,配成5×10^5个/ml的细胞悬液,每孔0.2 ml细胞悬液加入96孔培养板(每孔10 μl ECM,紫外光消毒灭菌)常规培养,每组细胞均设30、60、90、120 min组及本组内对照组,每组8个平行孔,分别于30、60、90、120 min吸出培养液及悬浮细胞,加0.2 ml无血清RPMI1640,120 min后离心(1 500 r/min 10 min),吸去各组上清,加0.2 ml无血清RPMI1640,20 μl 5 mg/ml MTT继续培养,4 h后离心(1 500 r/min 10 min),吸去上清,加200 μl二甲亚砜,自动酶标读数仪(Bio-Rad-550型,美国,波长570 nm)测定A值,粘贴率=At/A本组内对照组×100%,t=30、60、90、120 min,粘附抑制率(IR%)=[(对照组粘贴率-处理组粘贴率)/对照组粘贴率]×100%,实验重复3次。

1.2.5 Transwell Chamber膜侵袭系统检测Darbufelone对SGC-7901细胞侵袭迁移能力的影响 取对数生长期SGC-7901细胞,处理组加入终浓度为1.5×10^{-5} mol/L的Darbufelone,对照组加入等体积无血清RPMI1640,72 h后取各组细胞进行侵袭迁移能力测定:每组5个Transwell Chamber(每室40 μl ECM均匀铺于膜上,紫外光消毒灭菌),每室0.2 ml细胞悬液(含2×10^5个细胞)。小室下每孔0.6 ml NIH_3T_3细胞条件培养液。24 h后取出Transwell Chamber,擦净小室内细胞及ECM,95%酒精固定,HE染色,切下聚碳酸酯膜,晾干,中性树胶封片。光镜下每膜随机计数上下左右中5个不同视野的细胞数,取其均值,并计数小室下孔内细胞数。侵袭细胞数=小室膜粘附细胞数+孔内细胞数,侵袭抑制率(IR%)=[(对照组穿膜细胞数—给药组穿膜细胞数)/对照组穿膜细胞数]×100%。游走实验与侵袭实验相似,但Transwell Chamber膜上不铺ECM。

1.2.6 Darbufelone对SGC-7901细胞诱导内皮细胞形成管腔能力的影响 参照文献[6],取对数生长期ECV304细胞,每孔1×10^5个接种24孔板(每孔50 μl ECM均匀铺开,紫外光消毒灭菌),每组8个复孔,次日吸去培养液,处理组每孔加入1 ml经Darbufelone处理的SGC-7901细胞条件培养

基，对照组加 1 ml 未经 Darbufelone 处理的 SGC-7901 细胞条件培养基，常规培养，8 h 后 10×10 低倍镜下观察 10 个管型分布均匀的视野拍照，计数管腔数，取均值。并用医学图像分析系统随机测定 10 个视野管腔的长度，取均值。

1.2.7 RNA 抽提和 RT-PCR 检测

1.2.7.1 总 RNA 抽提 取对数生长期 SGC-7901 细胞，处理组加入终浓度为 1.5×10^{-5} mol/L 的 Darbufelone，对照组加入等体积的无血清 RPMI1640，培养 72 h 后按 Trizol 试剂盒说明书提取总 RNA，紫外线分光光度计检测 RNA 浓度和纯度。

1.2.7.2 RT-PCR 检测（引物序列、产物长度及退火温度见表 1）RT 反应条件：37 ℃ 15 min，85 ℃ 5 s；PCR 反应条件：94 ℃预变性 5 min，94 ℃变性 30 s，最佳退火温度 30 s，72 ℃延伸 1 min，30 个循环，最后 72 ℃延伸 10 min。

1.2.7.3 结果分析 取 3 μl PCR 扩增产物，经 0.1%琼脂糖电泳，Quantity-One 图像分析软件进行光密度扫描，以 β-actin 条带为内参照，以目的基因/β-actin 的比值表示相对表达水平，实验重复 3 次，取均值进行分析。

1.2.8 免疫细胞化学 取对数生长期 SGC-7901 细胞，处理组加入终浓度为 1.5×10^{-5} mol/L 的 Darbufelone，对照组加入等体积的无血清 RPMI1640，培养 72 h，4%多聚甲醛固定，按免疫细胞化学试剂盒说明书操作，DAB 显色（OPN 和 MMP-2 均为胞浆胞膜表达），苏木素复染。Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统进行结果分析，取平均光密度值（Average Optical density，AOD）。

1.2.9 统计学处理 所有数据均用 $\bar{x}\pm s$ 表示，用 t 检验进行分析，$P<0.05$ 有统计学意义。采用 SPSS 10.0 软件进行数据统计分析。

2 结 果

2.1 随时间延长，SGC-7901 细胞粘附率增加。经 Darbufelone 处理后，相同时间点 SGC-7901 细胞粘附率均较对照组明显下降（$P<0.05$），见表 2。

2.2 Darbufelone 处理后，胃癌 SGC-7901 细胞的迁移及侵袭穿膜细胞数显著下降（$P<0.01$），见表 3 及图 1。

2.3 经 Darbufelone 处理后，SGC-7901 细胞诱导内皮细胞形成管腔的能力显著降低（$P<0.01$），见表 4 及图 2。

2.4 经 Darbufelone 处理后，SGC-7901 细胞 OPN 和 MMP-2 的 mRNA 和蛋白表达明显降低（$P<0.05$），见表 5 及图 3、4。

表 1 PCR 引物

基因	引物序列	产物长度 /bp	退火温度
OPN	forward：5'-GAC AGC CAG GAC TCC ATT GA-3' reverse：5'-GTC AGC CGT GAA TTC CAC AG-3'	533	60
MMP-2	forward：5'-GGCCCTGTCACTCCTGAGAT-3' reverse：5'-GGCATCCAGGTTATCGGGGA-3'	474	61
β-actin	forward：5'-CCATGTACGTTGCTATCCAGG-3' reverse：5'-TCTCCTTAATGTCACGCACGA-3'	252	55

表 2 Darbufelone 对 SGC-7901 细胞粘附能力的影响（$\bar{x}\pm s$）

组别	粘附率(%)		粘附率抑制率(%)
	对照组	处理组	
30 min	34.99 ± 2.12	27.10 ± 3.44*	22.20 ± 5.58
60 min	60.60 ± 4.89	46.36 ± 4.52*	23.57 ± 1.61
90 min	70.65 ± 5.20	50.37 ± 7.90*	28.98 ± 5.97
120 min	84.62 ± 7.52	58.01 ± 9.22*	31.79 ± 4.52

* $P<0.05$ 与对照组比较

表 3 Darbufelone 对 SGC-7901 细胞游走迁移与侵袭的影响（$\bar{x}\pm s$）

组别	对照组	处理组	抑制率(%)
迁移细胞数	143.00 ± 9.82	93.00 ± 6.56*	34.92 ± 2.50
侵袭细胞数	82.00 ± 7.14	50.00 ± 3.67*	38.96 ± 1.09

* $P<0.01$ 与对照组比较

表 4 Darbufelone 对 SGC-7901 细胞诱导内皮细胞形成管腔能力的影响（$\bar{x}\pm s$）

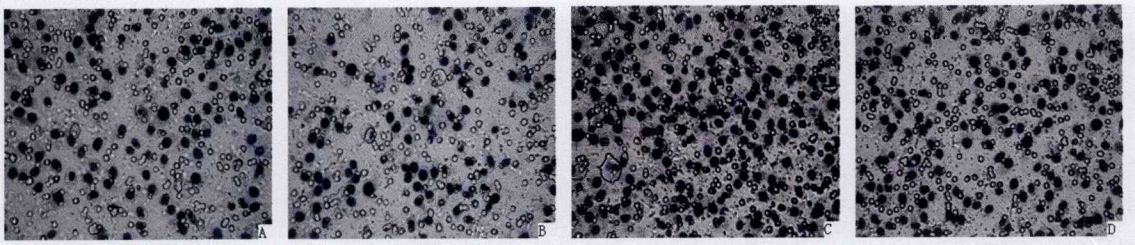
组别	管腔数	管腔长度（μm）
对照组	142.00 ± 5.86	214.60 ± 9.44
处理组	82.70 ± 4.85*	172.20 ± 6.41*

* $P<0.01$ 与对照组比较

表 5　Darbufelone 对 SGC-7901 细胞 OPN 和 MMP-2 的 mRNA 及蛋白质表达的影响($\bar{x} \pm s$)

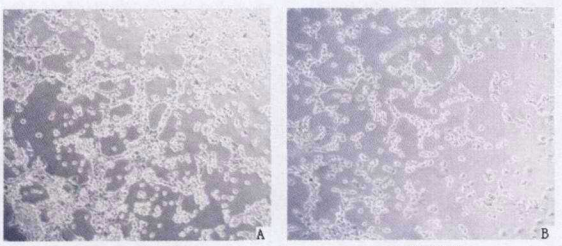
组别	mRNA		蛋白	
	OPN	MMP-2	OPN	MMP-2
对照组	0.54 ± 0.01	0.57 ± 0.09	0.26 ± 0.03	0.33 ± 0.03
处理组	0.34 ± 0.03*	0.33 ± 0.04*	0.18 ± 0.01*	0.26 ± 0.02*

* $P<0.05$ 与对照组比较



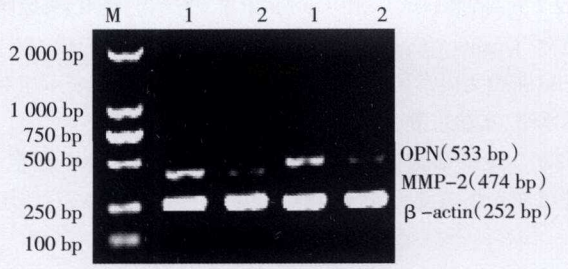
A. 侵袭对照组　B. 侵袭处理组　C. 迁移对照组　D. 迁移处理组

图 1　Darbufelone 对 SGC-7901 细胞侵袭迁移能力的影响(SP × 200)



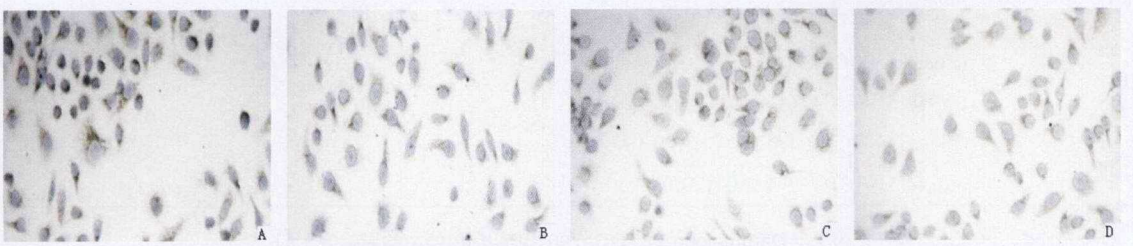
A. 对照组　B. 处理组

图 2　Darbufelone 对 SGC-7901 细胞诱导内皮细胞形成血管能力的影响(SP × 200)



M.Marker；1. 对照组；2. 处理组

图 3　Darbufelone 对 SGC-7901 细胞 OPN 和 MMP-2 表达的影响



A.（MMP-2）对照组；B.（MMP-2）处理组；C.（OPN）对照组；D.（OPN）处理组

图 4　Darbufelone 对 SGC-7901 细胞 OPN 和 MMP-2 蛋白质表达的影响(SP × 200)

3　讨　论

侵袭、转移是恶性肿瘤的重要生物学行为，是影响抗肿瘤疗效及预后的重要因素之一，主要包括肿瘤细胞与 ECM 的异质粘附、降解及穿透移行 3 个相互联系的基本过程。在肿瘤细胞侵袭转移过程中，异质粘附是前提，细胞外基质的降解是关键，穿透移行又是侵润周围组织，侵入及穿出血管的根本。肿瘤细胞通过与细胞外基质结合，溶解、穿过细胞外基质，进入血循环，进一步形成转移灶。故本研究用 ECM 反映胃癌 SGC-7901 细胞的异质粘附、侵袭、迁移能力。癌细胞的生长、增殖、侵袭、迁移均需要血管生成为之提供营养，血管生成是内皮细胞、细胞外基质和肿瘤细胞等多种组分相互作用的结果，是肿瘤发生发展的重要因素之一。肿瘤细胞释放血管形成因子激活内皮细胞，并产生蛋白酶降解细胞外基质，促使内皮细胞形成毛细血管样结构。体外培养的肿瘤细胞上清液含肿瘤细胞分泌的多种因子，本研究用胃癌细胞上清液诱导 ECV304 细胞形成管腔能显示胃癌 SGC-7901 细胞诱导内皮细胞生成血管的能力，能有效地在体外模拟了肿瘤细胞的体内侵袭转移过程；结果显示，Darbufelone 能显著降低 SGC-7901 细胞的异质黏附、侵袭、迁移和诱导内皮细胞形成血管能力，其机制尚不清楚。

基质金属蛋白酶在肿瘤的侵袭转移中起重要作用，MMP-2 是基质金属蛋白酶家族中的主要成员之一，MMP-2 主要降解Ⅳ、Ⅴ、Ⅶ、Ⅹ型胶原和弹性纤维，是肿瘤侵袭转移过程中重要的调控分子之一：首先，MMP - 2 可降解基质胶原，利于快速增殖的肿瘤细胞摆脱细胞外基质的束缚而迁移，是肿瘤细胞向周围浸润的前提和基础；其次，MMP-2 还与肿瘤新生血管生成有关[7,8]。本研究结果显示，Darbufelone 作用后，SGC-7901 细胞 MMP-2 的 mRNA 及蛋白质表达明

显降低。Darbufelone 显著降低 SGC-7901 细胞的异质黏附、侵袭、迁移和诱导内皮细胞形成血管能力，可能是通过抑制 MMP-2 的转录和蛋白质表达而实现的。

近年来研究发现，OPN 在肿瘤侵袭及转移过程中也有重要作用[9-11]，OPN 广泛分布于体内多种组织和细胞中，是一种含精氨酸－甘氨酸－天冬氨酸序列的分泌型钙结合磷酸化糖蛋白，能促进细胞的趋化、粘附和迁移。研究发现 OPN 主要是通过与其受体整合素（αvβ3、αvβ5）及 CD44 等相互作用，进而激活基质金属蛋白酶[12]、尿激酶[13]、诱导血管内皮生长因子表达[14]等促进肿瘤细胞的浸润和转移。更重要的是，OPN 和 MMP-2 在促进肿瘤细胞侵袭、转移、血管形成方面存在相互作用。Philip 等[15]报道在鼠黑色素瘤细胞株 BI6F10 中，OPN 通过 ZKB-α（NF-KB 抑制蛋白）/IKK 激活 NF-KB，诱导 MTI-MMP 表达，刺激肿瘤生长，同时激活 Pro-MMP2（MMP-2 酶原）为 MMP-2。本研究结果显示，Darbufelone 显著降低 SGC-7901 细胞的 OPN 和 MMP-2 的转录及蛋白表达。因此，我们推测 Darbufelone 可能是通过直接抑制 OPN 和 MMP-2 的转录及蛋白表达，也可能是通过抑制 OPN 表达进而抑制 MMP-2 的表达，从而降低 SGC-7901 细胞的异质黏附、侵袭、迁移和诱导内皮细胞形成血管能力；是否还存在其他途径尚不清楚，有待进一步研究。

综上所述，Darbufelone 可能是通过抑制 OPN 和 MMP-2 的表达，或通过抑制 OPN 的表达间接影响 MMP-2 的表达与活性，使胃癌 SGC-7901 细胞的异质粘附、侵袭、迁移和诱导内皮细胞形成血管能力显著降低。但本研究仅在体外模拟肿瘤细胞体内侵袭转移的过程，在体内 Darbufelone 是否也能抑制胃癌的侵袭转移，还有待于进一步研究。

参 考 文 献

[1] Young E J, Ik J C, Yong K P, et al. Expression of cyclooxygenase-2, p53 and Ki-67 in gastric cancer[J]. J Korean Med Sci, 2006, 21(5): 871-876.

[2] Myung S J, Kim I H. Role of prostaglandins in colon cancer [J]. Korean J Gastroenterol, 2008, 51(5): 274-279.

[3] Goossens L, Pommery N, H é nichart J P. COX-2/5-LOX dual acting anti- inflammatory drugs in cancer chemotherapy[J]. Curr Top Med Chem, 2007, 7(3): 283-296

[4] 潘 敏，刘纯伦，方晓杰，等. Darbufelone 对胃癌 SGC-7901 细胞增殖、凋亡的影响[J]. 中国药理学通报，2009，25(4)：523-527.

[5] Xu Gang, Wang Xing-peng, Wu Kai, et al. Inhibition of invasive potential of pancreatic carcinoma cells by celecoxib in combination with gemcitabine [J]. Chin J Hepatobiliary Surg, 2007, 13(3): 187-191.

[6] Wang Z, Banerjee S, Kong D, et al. Down-regulation of forkhead Box M1 transcription factor leads to the inhibition of invasion and angiogenesis of pancreatic cancer Cells[J]. Cancer Res, 2007, 67(17): 8293 -8300.

[7] John A, Tuszynski G. The role of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis and tumor metastasis[J]. Pathol Oncol Res, 2001, 7(1): 14-23.

[8] Nagakawa Y, Aoki T, Kasuya K, et al. Features of venous invasion, expression of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9, and the relation with liver metastasis in pancreatic cancer[J]. Pancreas, 2002, 24(2): 169-178.

[9] Matusan K, Dordevic G, Stipic D, et al. Osteopontin expression correlate with prognostic variables and survival in clear cell renal cell carcinoma[J]. J Surg Oncol, 2006, 94(4): 325-311.

[10] Rittling S R, Chambers A F. Role of osteopontin in tumor progression [J]. Br J Cancer, 2004, 90(10): 1877-1881.

[11] Wai P Y, Kuo P C. The role of osteopontin in tumor metastasis[J]. J Surg Res, 2004, 121(2): 228-241.

[12] Philip S, Bulbule A, Kundu G C. Matrix metalloproteinase-2: mechanism and regulation of NF-kappaB-mediated activation and its role in cell motility and ECM invasion [J]. Glycoconj J, 2004, 21(8-9): 429-441.

[13] Tuck A B, Arsenauh D M, O'Malley F P, et al. Osteopontin induces increased invasiveness and plasminogen activator expression of human mammary epithelial cells [J]. Oncogene, 1999, 18(29): 4237-4246.

[14] Takano S, Tsuboi K, Tomono Y, et al. Tissue factor, osteopontin, alphavbeta3 integrin expression in microvasculature of gliomas associated with vascular endothelial growth factor expression [J]. Br J Cancer, 2000, 82(12): 1967-1973.

[15] Philip S, Kundu G C. Osteopontin induces nuclear factor kappa B-mediated promatrix metallo-proteinase-2 activation through I kappa B alpha/IKK signaling pathways, and curcumin (diferulolylmethane) down-regulates these pathways [J]. J Biol Chem, 2003, 278(16): 14487-14497.

（责任编辑：关蕴良）